



UNIVERSITAS INDONESIA

**SINTESIS MINYAK DIASILGLISEROL SECARA ENZIMATIS
MELALUI REAKSI SERI HIDROLISIS-ESTERIFIKASI
DALAM REAKTOR MEMBRAN HOLLOW FIBER BESERTA
PROSES PEMISAHANNYA**

SKRIPSI

**MUHAMAD FIRDAUS MUTTAQI
0606076583**

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA
DEPOK
JANUARI 2011**



UNIVERSITAS INDONESIA

**SINTESIS MINYAK DIASILGLISEROL SECARA ENZIMATIS
MELALUI REAKSI SERI HIDROLISIS-ESTERIFIKASI
DALAM REAKTOR MEMBRAN HOLLOW FIBER BESERTA
PROSES PEMISAHANNYA**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik

**MUHAMAD FIRDAUS MUTTAQI
0606076583**

**FAKULTAS TEKNIK
PROGRAM STUDI TEKNIK KIMIA
DEPOK
JANUARI 2011**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

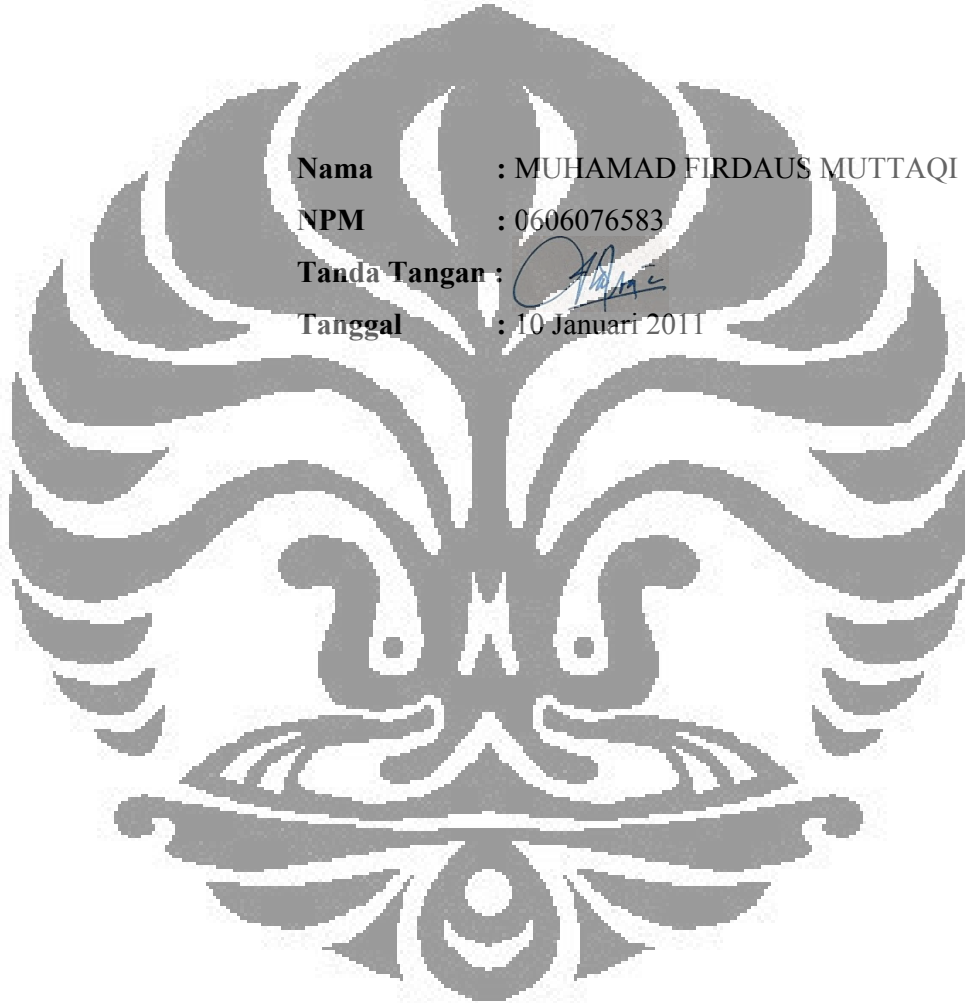
Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : MUHAMAD FIRDAUS MUTTAQI

NPM : 0606076583

Tanda Tangan : 

Tanggal : 10 Januari 2011

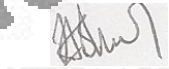
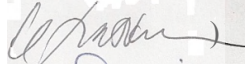
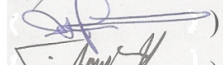
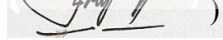


HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Muhamad Firdaus Muttaqi
NPM : 0606076583
Program Studi : Teknik Kimia
Judul Skripsi : Sintesis Minyak Diasilgliserol Secara Enzimatik
Melalui Reaksi Seri Hidrolisis-Esterifikasi Dalam
Reaktor Membran Hollow Fiber Beserta Proses
Pemisahannya

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 : Dr. Heri Hermansyah, S.T., M.Eng. ()
Penguji : Prof. Dr. Ir. Mohamad Nasikin, M.Eng. ()
Penguji : Dr. Ing. Ir. Misri Gozan, M. Tech ()
Penguji : Dr. Eng. Muhamad Sahlan, S.Si, M. Eng ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 10 Januari 2011

KATA PENGANTAR

Rasa syukur yang dalam kami sampaikan ke hadapan Allah SWT, karena berkat pertolongan dan kemurahan-Nya skripsi ini dapat diselesaikan sesuai yang diharapkan. Skripsi dengan judul “Sintesis Minyak Diasilgliserol Secara Enzimatis Melalui Reaksi Seri Hidrolisis-Esterifikasi Dalam Reaktor Membran Hollow Fiber Beserta Proses Pemisahannya” ini disusun sebagai salah satu prasyarat dalam menyelesaikan studi program sarjana pada Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.

Dalam proses pendalaman materi skripsi ini, tentunya penulis banyak mendapatkan bimbingan, arahan, koreksi dan saran, untuk itu rasa terima kasih yang dalam-dalamnya penulis sampaikan kepada :

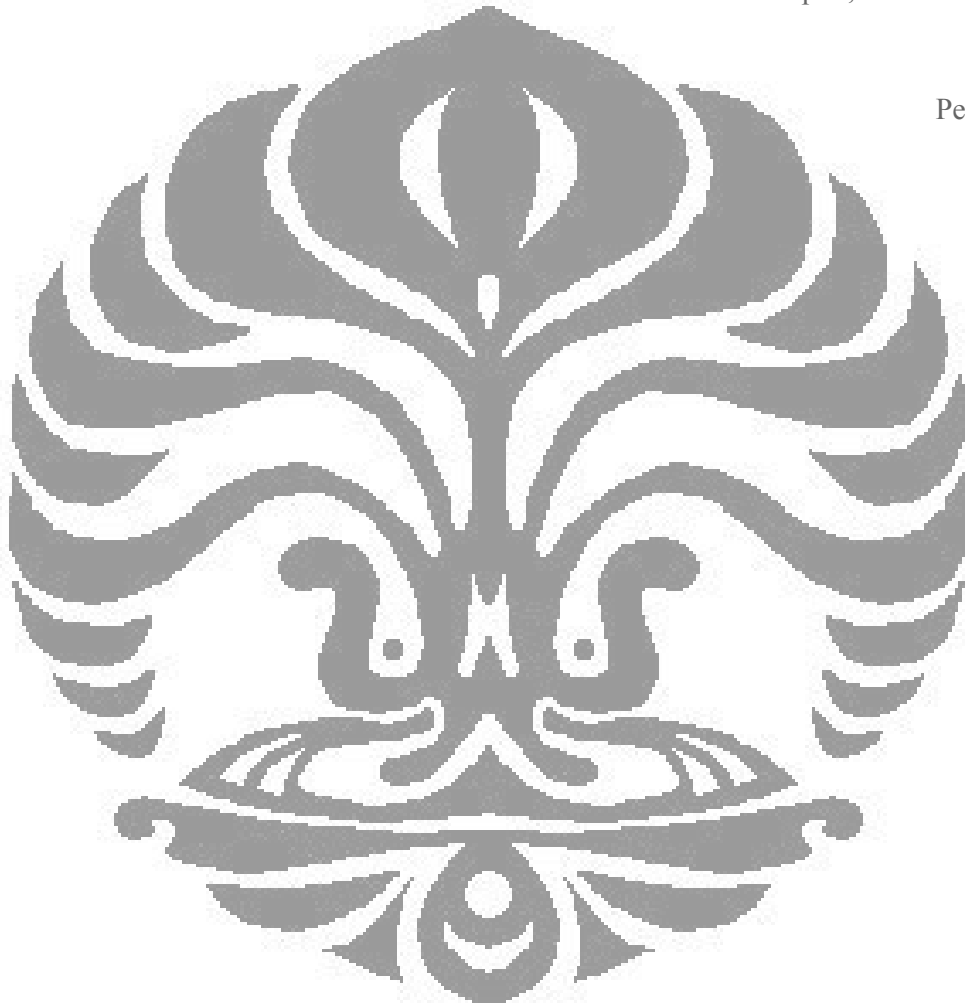
1. Bapak Dr. Heri Hermansyah, ST., M.Eng. selaku pembimbing skripsi atas segala ide, kritik, serta sarannya kepada penulis.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Widodo W.Purwanto, DEA selaku Ketua Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
3. Bapak Ir. Dijan Supramono M.Sc selaku Pembimbing Akademik penulis.
4. Ibu Ir. Dianursanti M.T. selaku Kepala Laboratorium Bioproses.
5. Bapak Prof. Dr. Ir. Anondho Wijanarko, M.Eng, Dr. Eng. Muhamad Sahlan, S.Si, M. Eng, Ibu Tania Surya Utami, S.T., M.T. dan Ir. Rita Arbianti, M.Si atas dukungan moril dan semangat yang diberikan.
6. Mas Eko, Kang Jajat, Mang Izal, Mas Taufik, dan Ius atas bantuan, semangat, serta serjasamanya.
7. Kedua orang tua dan keluarga penulis atas do'a, dukungan, dan kepercayaan yang telah diberikan.
8. Saudari Novi Dwi Aryani atas dukungan dan motivasi, serta canda tawanya dalam menyelesaikan skripsi ini.
9. Teman-teman bioproses, Diandra, Fadli, Ponco, Antony, Canggih, Nova, Witta, Anin dan Maudhi, Lia, Cynthia, dan Dipank, atas dukungan dan motivasi serta canda dan tawanya dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Rekan-rekan mahasiswa Teknik Kimia 2006, 2007, 2008 atas semua dukungannya.

11. Serta berbagai pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu untuk segala kontribusinya.

Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik untuk memperbaiki penulisan di masa yang akan datang.

Depok, Januari 2011

Penulis



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

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

Nama : Muhamad Firdaus Muttaqi
NPM : 0606076583
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 :

“Sintesis Minyak Diasilgliserol Secara Enzimatis Melalui Reaksi Seri Hidrolisis-Esterifikasi Dalam Reaktor Membran Hollow Fiber Beserta Proses Pemisahannya”

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini, Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan 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 : 10 Januari 2011

Yang menyatakan



(Muhamad Firdaus Muttaqi)

ABSTRAK

Nama : Muhamad Firdaus Muttaqi
Program Studi : Teknik Kimia
Judul : Sintesis Minyak Diasilgliserol Secara Enzimatis Melalui Reaksi
Seri Hidrolisis-Esterifikasi Dalam Reaktor Membran Hollow
Fiber Beserta Proses Pemisahannya

Minyak diasilgliserol (DAG) merupakan minyak yang terbukti klinis dapat mencegah obesitas. Minyak DAG telah diproduksi di Jepang dan Amerika, namun harga yang dijual masih terlalu mahal. Untuk itu perlu adanya produksi minyak DAG yang murah dan memiliki konsentrasi yang tinggi. Pada penelitian sebelumnya minyak DAG yang terbentuk dari hasil reaksi, mengalami penjuhan menjadi endapan putih, sehingga perlu adanya proses pemisahan. Pada penelitian ini akan dilakukan sintesis diasilgliserol secara enzimatis melalui reaksi seri hidrolisis-esterifikasi dalam *hollow fiber membrane* reaktor beserta proses pemisahannya. Hal yang akan dilakukan yaitu mengetahui pengaruh konfigurasi sistem reaksi, pengaruh komposisi enzim, pengaruh waktu tinggal, uji stabilitas reaksi serta dilakukan proses pemisahan minyak DAG yang telah jenuh. Konsentrasi DAG yang tertinggi di dapat dengan kondisi operasi suhu 37°C , laju alir $0,05\text{ ml/s}$, komposisi enzim *Candida rugosa lipase* (3) : *Porcine pancreatic lipase* (1), serta konfigurasi sistem reaksi dimana minyak berada di bagian lumen sedangkan buffer dan gliserol berada di bagian shell reaktor menghasilkan konsentrasi DAG sebesar 71,65 %. Proses pemisahan minyak DAG dilakukan dengan menggunakan prinsip pembekuan untuk mempercepat penjuhan dan proses sentrifugasi untuk mempercepat proses pengendapan.

Kata kunci :

Minyak DAG, seri hidrolisis-esterifikasi, *hollow fiber reactor*, pemisahan.

ABSTRACT

Name : Muhamad Firdaus Muttaqi
Study Program : Chemical Engineering
Judul : Synthesis of Diacylglycerol Oil by Enzymatic Hydrolysis-
Esterification Series Reaction In Hollow Fiber Membrane
Reactor With Separation Process

Diacylglycerol oil (DAG), clinically can prevent fat accumulation and obesity. DAG oil has been produced in Japan and America, but the price is too high. In previous studies, DAG oil which formed from the reaction, has been saturated into white precipitate, so that must be separation. This research will be synthesis of diacylglycerol by enzymatic hydrolysis-esterification series reaction in hollow fiber membrane reactor with separation proses. In this reaseach will be done of influence of the reaction system configuration, influence the composition of the enzyme, influence of residence time, stability test reaction, and separation process of saturated DAG oil. The highest concentration of DAG be obtained with operation conditon using temperature 37 °C, flow rate 0,05 ml/s, the compotition of enzyme 3 (*Candida rugosa* lipase) : 1 (*Porcine pancreatic lipase*), the reaction system configuration where the oil is in the lumen side while buffer and glycerol was in the shell side of reactor to produce DAG with concentration achieve 71.65 %. DAG oil separation process, be done by using freezing principle to accelerate the saturation process and centrifugation process to accelerate precipitate process.

Keyword :

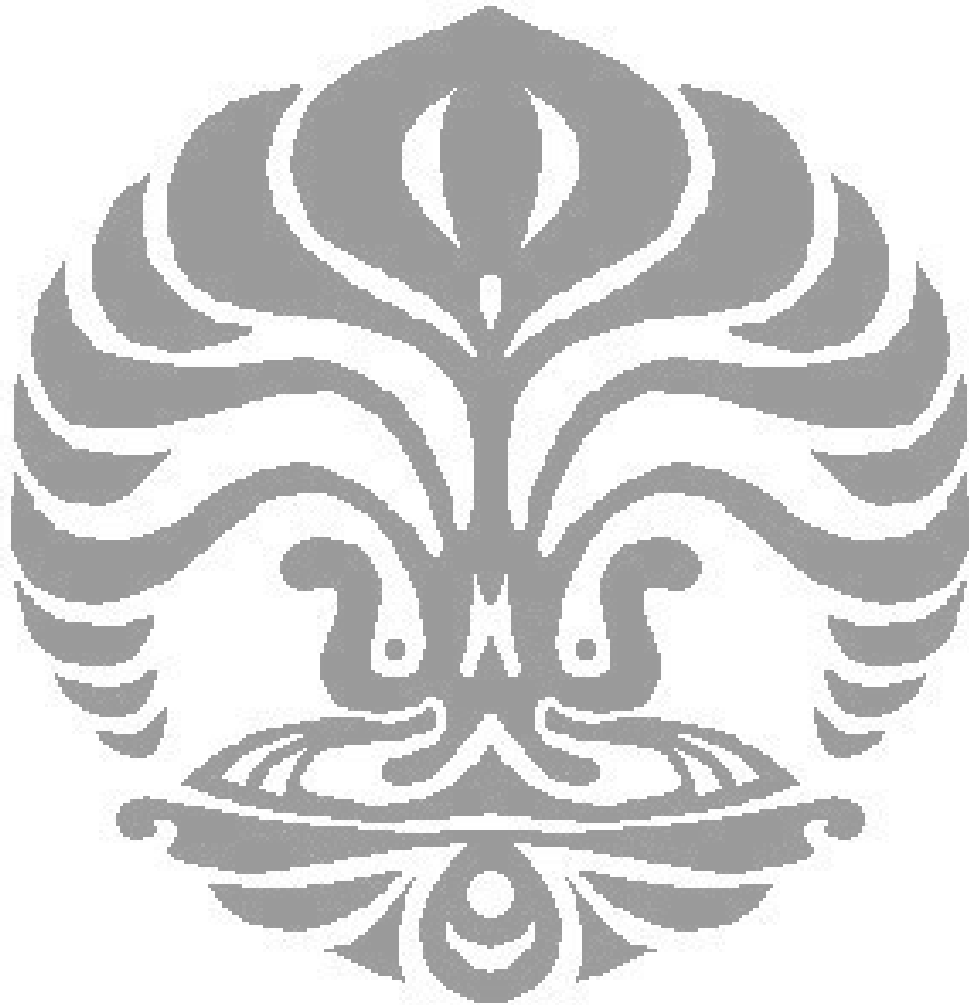
DAG oil, hydrolysis-esterification series, hollow fiber reactor, separation.

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iv
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xv
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Batasan Penelitian.....	3
1.5 Sistematika Penulisan.....	4
BAB 2.....	5
TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Kelapa Sawit.....	5
2.1.1 Minyak Kelapa Sawit.....	6
2.1.2 Standar Mutu Minyak Kelapa Sawit.....	10
2.2 Diasilgliserol (DAG).....	12
2.2.1 Minyak Diasilgliserol.....	13
2.2.2 Sifat Kimia dan Fisika Minyak Diasilgliserol.....	14
2.2.3 Manfaat Mengonsumsi Minyak Diasilgliserol.....	15
2.3 Produksi Diasilgliserol Secara Enzimatis.....	18
2.3.1 Produksi Diasilgliserol pada Reaktor Batch Berpengaduk.....	20
2.3.2 Perlakuan pada Lipase Yang Diimmobilisasi.....	21
2.3.3 Pembuangan Air.....	21
2.3.4 Migrasi Asil.....	22
2.3.5 Produksi DAG di <i>Packed-Bed Bioreactor</i>	23
2.3.6 Kesimpulan Mengenai Produksi Enzimatis DAG.....	25
2.4. Enzim Lipase sebagai Biokatalis.....	26
2.5 Asam Lemak Bebas (<i>Free Fatty Acid</i>).....	27
2.5.1 Pemurnian Asam Lemak (Fatty Acid).....	28
2.5.2 Metode Pemurnian Minyak yang Digunakan oleh Industri.....	30
2.6 Immobilisasi Enzim.....	32

2.7 Hollow Fiber Membran	34
2.8 State Of The Art.....	35
BAB 3	39
METODOLOGI PENELITIAN	39
3.1 Alur Penelitian	39
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	41
3.2.1 Alat Penelitian	41
3.2.2 Bahan Penelitian.....	43
3.3 <i>Hollow Fiber Membrane Bioreactor</i> untuk Sintesis DAG	44
3.3.1 Desain Sistem Reaktor Overall	44
3.3.2 Sistem Reaktor Hollow Fiber Membran.....	45
3.4 Percobaan Imobilisasi Enzim	48
3.4.1 Imobilisasi Enzim.....	48
3.4.2 Penentuan Enzim <i>Loading</i>	49
3.5 Percobaan Produksi Minyak DAG.....	51
3.5.1 Pengaruh Konfigurasi Sistem Reaksi	51
3.5.2 Pengaruh Komposisi Enzim.....	52
3.5.3 Pengaruh Variasi Waktu Tinggal	53
3.5.4 Pengaruh Uji Stabilitas Reaksi.....	55
3.6 Percobaan Pemisahan Minyak DAG.....	56
3.6.1 Investigasi Pengendapan.....	56
3.6.2 Percobaan Pemisahan.....	58
BAB 4	60
HASIL DAN PEMBAHASAN	60
4.1 Hasil Imobilisasi Biokatalis	60
4.1.1 Kurva Kalibrasi Penentuan <i>Enzyme Loading</i>	60
4.1.2 Hasil Perhitungan Enzim <i>Loading</i>	61
4.2 Hasil Produksi Minyak DAG.....	62
4.2.1 Hasil Konfigurasi Sistem Reaksi.....	66
4.2.2 Hasil Variasi Komposisi Enzim	67
4.2.3 Hasil Variasi Waktu Tinggal.....	69
4.2.4 Hasil Uji Stabilitas Reaksi	71
4.3 Hasil Analisis Pemisahan Minyak DAG.....	72
4.3.1 Hasil Investigasi Pengendapan.....	72
4.3.2 Hasil Percobaan Pemisahan	75
BAB 5	80

KESIMPULAN 80
DAFTAR PUSTAKA..... 82

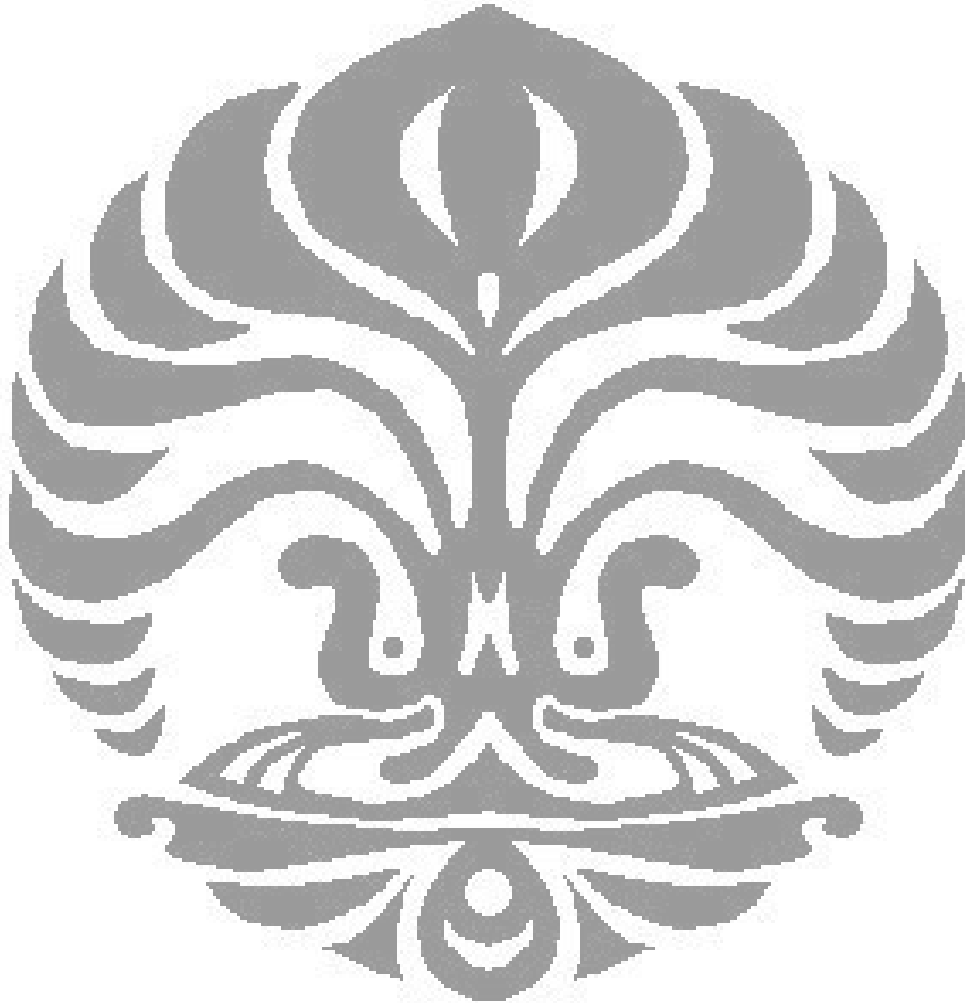


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1.	Buah kelapa sawit.....	6
Gambar 2. 2.	Data kebutuhan CPO dunia dan ekspor dari Indonesia	7
Gambar 2. 3.	Aneka jenis minyak bermerk yang berbahan baku kelapa sawit..	8
Gambar 2. 4.	<i>Crude palm oil</i>	9
Gambar 2. 5.	Digliserida dengan dua asam lemak	12
Gambar 2. 6.	Struktur diasilgliserol (Yasukawa, 2004)	12
Gambar 2. 7.	Reaksi pembentukan diasilgliserol dengan reaksi hidrolisis dan esterifikasi	13
Gambar 2. 8.	Penyusunan kristal dari sn-1,3-DAG bentuk β dan sn-1,2-DAG bentuk β' (Seong, 2007).....	15
Gambar 2. 9.	Persen perubahan rata-rata \pm SEM pada berat badan dari basis diantara subjek yang ditandai untuk kelompok minyak DAG dan minyak TAG. Nilai-P mewakili hasil dari perulangan pengukuran ANOVA. (Maki, 2002).....	16
Gambar 2. 10.	Analisis produk pencernaan (Watanabe, 1997).....	17
Gambar 2. 11.	Karakteristik metabolisme diasilgliserol (DAG) pada perbandingan dengan triasilgliserol (TAG)	18
Gambar 2. 12.	Reaksi esterifikasi menggunakan 1,3-regioselektif lipase.	19
Gambar 2. 13.	Diagram reaktor batch berpengaduk dengan reaksi esterifikasi.	20
Gambar 2. 14.	Laju reaksi esterifikasi menggunakan lipase yang diimmobilisasi dimulai dengan 2,59 M asam lemak dan 1,29 M gliserol. Pada 50°C, rasio molar asam lemak terhadap gliserol sebesar 2 : 0, konsentrasi resin enzim yang diimmobilisasi 5% (basis berat kering). Pembuangan air dilakukan pada keadaan vakum 3 mmHg. (\square), Asam lemak; (\blacktriangle), 1-MAG; (\triangle), 2-MAG; (\bullet), 1,3-DAG; (\circ), 1,2(2,3)-DAG; (\diamond), TAG.....	20
Gambar 2. 15.	Efek kondisi vakum pada sintesis 1,3-DAG. Reaksi dilakukan pada 50°C dan rasio molar asam lemak terhadap gliserol sebesar 2,0 dan konsentrasi resin enzim yang diimmobilisasi 5% (basis berat kering). Pembuangan air dilakukan pada keadaan vakum 1 mmHg(Δ), 3 mmHg (\bullet), 6 mmHg (\diamond), 10 mmHg (\blacksquare).....	22
Gambar 2. 16.	Diagram <i>Packed-Bed Reactor</i> yang digunakan untuk reaksi esterifikasi untuk sintesis diasilgliserol [Yamada, 2002].	24
Gambar 2. 17.	Struktur molekul asam lemak bebas	28
Gambar 2. 18.	<i>Short path distillation evaporator</i>	32
Gambar 3. 1.	Diagram Alir Penelitian	39
Gambar 3. 2.	Reaktor hollow fiber membran.....	41
Gambar 3. 3.	Beaker glass.....	41
Gambar 3. 4.	Spektrofotometer	41
Gambar 3. 5.	pH meter.....	41
Gambar 3. 6.	Termometer	41
Gambar 3. 7.	Timbangan.....	41
Gambar 3. 8.	Pompa peristaltik	41
Gambar 3. 9.	Stopwatch.....	41
Gambar 3. 10.	Pipet tetes	42
Gambar 3. 11.	Botol sampel.....	42

Gambar 3. 12.	Selang silikon	42
Gambar 3. 13.	Unit HPLC	42
Gambar 3. 14.	Tabung Ulir	42
Gambar 3. 15.	Centrifuge.....	42
Gambar 3. 16.	Stirer.....	42
Gambar 3. 17.	Magnetic Stirer.....	42
Gambar 3. 18.	Kaca Arlogi	42
Gambar 3. 19.	<i>Candida rugosa lipase</i>	43
Gambar 3. 20.	<i>Porcine pancreatic lipase</i>	43
Gambar 3. 21.	Minyak goreng	43
Gambar 3. 22.	Gliserol.....	43
Gambar 3. 23.	Buffer phosphate	43
Gambar 3. 24.	Lowry reagent.....	43
Gambar 3. 25.	Phenol reagent	43
Gambar 3. 26.	<i>Bovine serum albumin</i>	43
Gambar 3. 27.	Desain Reaktor Overall.....	44
Gambar 3. 28.	Skema reaktor hollow fiber membran dan hollow fiber membran.....	45
Gambar 3. 29.	Sistem Reaktor Aktual (Tampak Depan).....	46
Gambar 3. 30.	Sistem Pemanas (Tampak Belakang).....	46
Gambar 3. 31.	<i>Control Panel</i>	47
Gambar 3. 32.	Proses pembuatan larutan enzim	48
Gambar 3. 33.	Sampel-sampel yang akan diambil pada setiap waktu perubahan	57
Gambar 4. 1.	BSA yang digunakan sebagai standar untuk kalibrasi konsentrasi enzim.....	60
Gambar 4. 2.	Kurva standar BSA (metode Lowry).....	61
Gambar 4. 3.	Diagram skematik alat pada sintesis minyak DAG	63
Gambar 4. 4.	Diagram skematik proses reaksi hidrolisis (kanan) dan esterifikasi (kiri)	64
Gambar 4. 5.	Minyak DAG <i>fresh</i> (kiri) dan minyak goreng BIMOLI (kanan).....	64
Gambar 4. 6.	Kandungan senyawa dalam minyak goreng BIMOLI.....	65
Gambar 4. 7.	Variasi konfigurasi sistem reaksi (eksperimen 2)	66
Gambar 4. 8.	Perbandingan konsentrasi TAG, DAG, dan MAG pada eksperimen pengaruh konfigurasi system reaksi.....	67
Gambar 4. 9.	Perbandingan konsentrasi TAG, DAG, dan MAG pada eksperimen pengaruh komposisi enzim.....	69
Gambar 4. 10.	Perbandingan konsentrasi TAG, DAG, dan MAG pada pengaruh waktu tinggal.....	70
Gambar 4. 11.	Perbandingan konsentrasi TAG, DAG, dan MAG pada uji stabilitas	72
Gambar 4. 12.	Minyak DAG Fresh (kiri), mulai timbul endapan putih (tengah), endapan putih stabil (kanan)	73
Gambar 4. 13.	Endapan putih yang belum dipisahkan (kiri) dan minyak DAG yang sudah dipisahkan dari endapan putih (kanan).....	73
Gambar 4. 14.	Perubahan Konsentrasi TAG dan DAG dari waktu ke waktu berdasarkan perubahan fisik yang terjadi	74

Gambar 4. 15. Minyak dengan proses pendinginan (kiri) dan minyak tanpa proses pendinginan (kanan).....	76
Gambar 4. 16. Konsentrasi minyak pada metode pemisahan minyak.....	77
Gambar 4. 17. Temperatur lemari es yang dihasilkan.....	77
Gambar 4. 18. Perbandingan antara minyak DAG <i>fresh</i> (kiri), minyak DAG yang beku (tengah), dan minyak DAG yang telah dicentrifuge (kanan)	78
Gambar 4. 19. Minyak hasil pembekuan dan centrifuge	78



DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1.	Sifat fisika kimia CPO	9
Tabel 2. 2.	Komposisi beberapa asam lemak dalam tiga jenis minyak nabati ...	10
Tabel 2. 3.	Standar mutu minyak goreng berdasarkan SNI – 3741- 1995	11
Tabel 2. 4.	Kandungan minyak goreng DAG (Nishide, 2004).....	13
Tabel 2. 5.	Sifat kimia dan fisika minyak DAG dan TAG (Nakajima, 2004)....	14
Tabel 2. 6.	Hasil produksi diasilgliserol dalam <i>Packed-Bed Reactor</i> (Yamada, 2005).....	25
Tabel 2. 7.	<i>State of the art</i>	38
Tabel 2. 8.	Perbandingan dengan penelitian sebelumnya	38
Tabel 3. 1.	Spesifikasi reaktor <i>hollow fiber membran</i>	47
Tabel 3. 2.	Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat kurva kalibrasi	50
Tabel 3. 3.	Variasi konfigurasi system konfigurasi	51
Tabel 3. 4.	Variasi komposisi enzim.....	52
Tabel 3. 5.	Variasi waktu tinggal.....	54
Tabel 3. 6.	Parameter eksperimen yang dilakukan.....	56
Tabel 3. 7.	Pengambilan sampel pada investigasi pengendapan	57
Tabel 4. 1.	Data enzim loading pada reaktor.....	62
Tabel 4. 2.	Data variasi konfigurasi sistem reaksi	66
Tabel 4. 3.	Konsentrasi masing-masing eksperimen	67
Tabel 4. 4.	Data perbandingan komposisi enzim.....	68
Tabel 4. 5.	Konsentrasi masing-masing eksperimen	68
Tabel 4. 6.	Data kondisi operasi yang digunakan.....	69
Tabel 4. 7.	Data komposisi minyak DAG Eksperimen 3 dan 8	70
Tabel 4. 8.	Konsentrasi minyak pada eksperimen 3 dan 8.....	70
Tabel 4. 9.	Data komposisi minyak DAG Eksperimen 3 dan 6	71
Tabel 4. 10.	Konsentrasi pada eksperimen 3 dan 6	71
Tabel 4. 12.	Data komposisi minyak berdasarkan perubahan fisik yang terjadi..	73
Tabel 4. 13.	Komposisi minyak dalam persentase	74
Tabel 4. 14.	Komposisi minyak pada metode pemisahan DAG	76

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Selama bertahun-tahun, kelapa sawit memainkan peranan penting dalam perekonomian Indonesia dan merupakan salah satu komoditas andalan dalam menghasilkan devisa. Indonesia dan Malaysia merupakan negara penghasil kelapa sawit terbesar di dunia. Indonesia dapat menghasilkan CPO (*crude palm oil*) sebesar 20 juta ton per tahun, sedangkan Malaysia sebesar 16 juta ton per tahun (Pikiran Rakyat Online, Mei 2010). Dari seluruh CPO yang diproduksi oleh Indonesia hanya sekitar 20 % yang dijual ke pasar domestik, sisanya di ekspor ke luar negeri. Nilai jual CPO sangatlah rendah, sehingga para peneliti banyak yang berupaya untuk meningkatkan nilai jual CPO dengan mengubahnya menjadi produk lain. Bahan bakar biodiesel dan minyak goreng untuk masak yang biasa di jual di Indonesia merupakan produk yang berasal dari CPO. Sebagian besar produksi CPO Indonesia di ekspor ke luar negeri, sangat disayangkan jika Indonesia hanya dapat mengekspor bahan bakunya saja. Jika Indonesia dapat meningkatkan nilai jual CPO dan dapat di ekspor ke luar negeri, tentu pendapatan devisa akan naik dan kesejahteraan rakyat akan meningkat.

Diasilgliserol (DAG) adalah komponen alami dari berbagai minyak (terutama minyak nabati) yang dapat dimakan dan biasanya digunakan di makanan sebagai emulsifier [Watanabe, 2003]. Manusia secara tidak sadar telah mengkonsumsi diasilgliserol (DAG) sejak bertahun-tahun yang lalu, namun komposisi DAG dalam minyak nabati (minyak goreng dari kelapa sawit) sangatlah rendah. Studi klinis yang dilakukan oleh para peneliti menunjukkan bahwa diasilgliserol, khususnya pada isomer 1,3, memiliki efek metabolisme yang berbeda dengan minyak konvensional yang kaya akan triasilgliserol (TAG).

Jika kita mengkonsumsi minyak goreng biasa yang banyak mengandung TAG, maka konsentrasi TAG dalam darah meningkat dan mencapai puncaknya sekitar empat jam kemudian. Lalu kadar TAG ini akan berangsur-angsur turun. Kadar TAG dalam darah yang terlalu tinggi akan menyebabkan berbagai penyakit seperti hiperlipidemia yang beresiko pada penyakit kardiovaskular.

Dengan demikian, mengkonsumsi minyak DAG dalam jangka panjang memiliki efek menurunkan kadar lemak tubuh. Studi klinis yang telah dilakukan oleh peneliti menyebutkan bahwa minyak dengan kandungan DAG yang cukup tinggi dapat mencegah obesitas dan penyakit lainnya yang disebabkan oleh gaya hidup. Studi yang dilakukan oleh Yamada dkk, menunjukkan perbedaan penurunan berat yang signifikan ketika minyak DAG digunakan dibandingkan pada penggunaan TAG pada diet lemak [Yamada, 2005].

Kao memperkenalkan sebuah penerapan baru minyak diasilgliserol (DAG) kepada konsumen Jepang (1999). Peneliti di Kao telah menemukan bahwa minyak DAG memiliki karakteristik metabolik yang berbeda dari minyak konvensional yang mengandung triasilgliserol (TAG). Dengan mengkonsumsi minyak DAG diklaim dapat mengurangi tingkat postprandial serum TAG dan dengan demikian menguntungkan bagi pencegahan dan pengelolaan obesitas. DAG sering digunakan dalam diet lemak karena memiliki efek yang menguntungkan sehubungan dengan pencegahan dan manajemen obesitas dan peningkatan kadar lemak tubuh secara berlebihan setelah makan [Tada, 2003].

Teknologi produksi minyak DAG yang berkembang di Jepang saat ini terdiri dari dua step yaitu hidrolisis minyak kelapa sawit menggunakan teknologi *Colgate-Emmery* dan dilanjutkan dengan proses esterifikasi asam lemak (*fatty acid*) dengan gliserol menggunakan biokatalis. Teknologi produksi yang dua step ini mengakibatkan harga minyak goreng DAG sangat mahal yaitu 11 kali lipat minyak goreng konvensional.

Berdasarkan hal tersebut, maka penelitian sebelumnya (Diandra, 2010) mengkombinasikan teknologi produksi DAG dua langkah menjadi satu langkah langsung dari minyak kelapa sawit (TAG), dengan mengkombinasikan proses reaksi yaitu proses parsial hidrolisis dan parsial esterifikasi menggunakan teknologi biokatalis yang diimobilisasi dalam reaktor *hollow fiber membrane*. Penelitian tersebut belum sempurna dan perlu dilanjutkan sehingga penelitian ini berdasarkan apa yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya. Minyak DAG hasil reaksi pada penelitian sebelumnya, ketika di diamkan akan terjadi penjuhan dan membentuk endapan putih sehingga perlu adanya pemisahan. Dengan menggunakan reaktor dan sistem reaksi yang sedikit berbeda, penelitian

ini akan melihat efek dari variasi konfigurasi sistem reaksi, variasi komposisi enzim, variasi waktu tinggal, uji stabilitas reaksi, serta pemisahan minyak yang mengalami penjuhan. Pemisahan endapan putih pada minyak DAG hasil reaksi dilakukan dengan menggunakan prinsip pendinginan untuk mempercepat proses penjuhan dan menggunakan *centrifuge* untuk mempercepat proses pengendapan.

1.2. Rumusan Masalah

Adapun yang menjadi permasalahan dalam penelitian ini adalah bagaimana cara mensintesis minyak diasilgliserol yang murah dengan konsentrasi yang tinggi berdasarkan data yang di dapat pada penelitian sebelumnya dan bagaimana cara memisahkan minyak DAG yang telah jenuh menjadi endapan putih.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilaksanakannya penelitian ini adalah:

- Mensintesis minyak DAG secara enzimatik melalui reaksi seri hidrolisis-esterifikasi menggunakan reaktor hollow fiber membran.
- Menyelesaikan variasi yang belum dilakukan pada penelitian sebelumnya.
- Memisahkan minyak DAG yang berbentuk endapan putih secara fisik.

1.4 Batasan Penelitian

Batasan-batasan yang digunakan adalah :

- Minyak yang digunakan adalah minyak goreng kelapa sawit yang merupakan minyak nabati.
- Reaktor yang digunakan merupakan reaktor membran hollow fiber.
- Enzim yang digunakan adalah *Porcine pancreatic lipase* dan *Candida rugosa lipase*.
- Reaksi yang akan digunakan yaitu hidrolisis dan esterifikasi.
- Suhu yang digunakan sebesar 37 °C

1.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan yang digunakan dalam makalah seminar ini adalah:

BAB I : PENDAHULUAN

Bab ini terdiri atas latar belakang, rumusan masalah, tujuan penelitian, pembatasan masalah, dan sistematika penulisan.

BAB II : TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini menjelaskan berbagai informasi yang didapatkan dari berbagai pustaka mengenai teori yang menjadi dasar penelitian ini.

BAB-III : METODE PENELITIAN

Bab ini terdiri atas mekanisme dan prosedur penelitian.

DAFTAR PUSTAKA



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kelapa Sawit

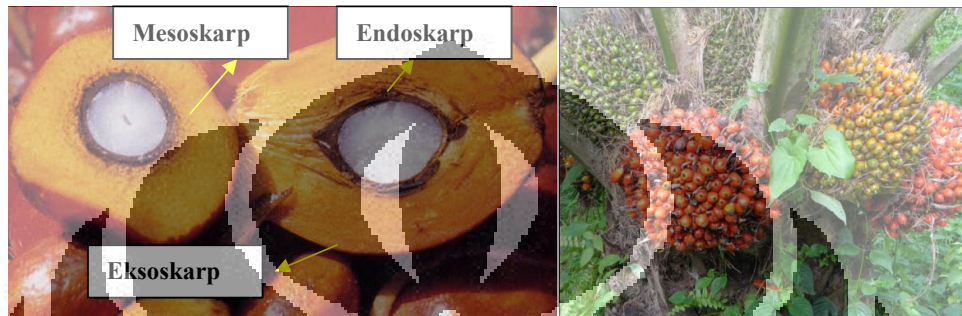
Indonesia merupakan salah satu penghasil komoditas kelapa sawit terbesar di dunia. Kebutuhan buah kelapa sawit meningkat tajam seiring dengan meningkatnya kebutuhan CPO dunia, seperti yang terjadi beberapa bulan terakhir ini. Dengan meningkatnya harga minyak mentah dunia, menjadikan CPO sebagai pilihan untuk bahan baku pembuatan bio energi. Peluang industri pengolahan kelapa sawit masih sangat prospek untuk memenuhi pasar dalam dan luar negeri.

Kelapa sawit (*Elaeis*) adalah tumbuhan industri penting penghasil minyak masak, minyak industri, maupun bahan bakar (biodiesel). Indonesia adalah penghasil minyak kelapa sawit terbesar di dunia dengan penyebarannya di daerah Aceh, pantai timur Sumatra, Jawa, dan Sulawesi. Kelapa sawit berbentuk pohon dan tingginya dapat mencapai 24 meter. Akar serabut tanaman kelapa sawit mengarah ke bawah dan samping. Selain itu juga terdapat beberapa akar napas yang tumbuh mengarah ke samping atas untuk mendapatkan tambahan aerasi. Daun berwarna hijau tua, tersusun majemuk menyirip, dan pelepah berwarna sedikit lebih muda. Penampilannya sedikit mirip dengan tanaman salak, hanya saja dengan durinya tidak terlalu keras dan tajam. Batang tanaman diselubungi bekas pelepah hingga umur 12 tahun setelah itu pelepah yang mengering akan terlepas sehingga penampilan menjadi mirip dengan kelapa.

Bunga jantan dan betina terpisah namun berada pada satu pohon (*monoecious diclin*) dan memiliki waktu pematangan berbeda sehingga sangat jarang terjadi penyerbukan sendiri. Bunga jantan memiliki bentuk lancip dan panjang sementara bunga betina terlihat lebih besar dan mekar. Tanaman sawit dengan tipe cangkang pisifera bersifat *female steril* sehingga sangat jarang menghasilkan tandan buah dan dalam produksi benih unggul digunakan sebagai tetua jantan. Buah sawit mempunyai warna bervariasi dari hitam, ungu, hingga merah tergantung bibit yang digunakan. Buah bergerombol dalam tandan yang muncul dari tiap pelepah. Minyak dihasilkan oleh buah dimana kandungan minyaknya bertambah sesuai kematangan buah. Setelah melewati fase matang,

kandungan asam lemak bebas (*free fatty acid*) akan meningkat dan buah akan rontok dengan sendirinya. Buah terdiri dari tiga lapisan:

- Eksoskarp, bagian kulit buah berwarna kemerahan dan licin.
- Mesoskarp, serabut buah
- Endoskarp, cangkang pelindung inti



Gambar 2. 1. Buah kelapa sawit

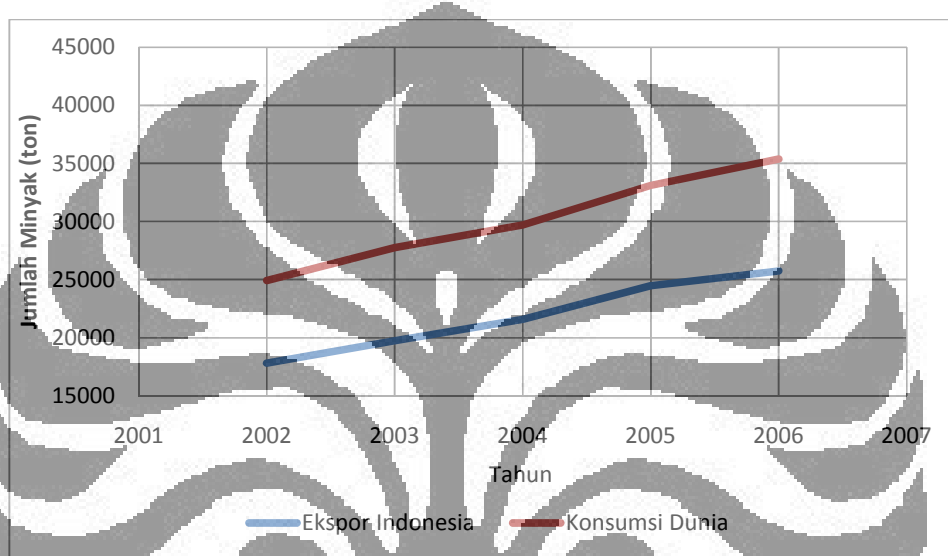
Inti sawit (kernel, yang sebenarnya adalah biji) merupakan endosperma dan embrio dengan kandungan minyak inti berkualitas tinggi.

Kelapa sawit berkembang biak dengan cara generatif. Buah sawit matang pada kondisi tertentu embrionya akan berkecambah menghasilkan tunas (plumula) dan bakal akar (radikula). Habitat aslinya adalah daerah semak belukar. Sawit dapat tumbuh dengan baik di daerah tropis (15° LU – 15° LS). Tanaman ini tumbuh sempurna di ketinggian 0-500 m dari permukaan laut dengan kelembaban 80-90%. Sawit membutuhkan iklim dengan curah hujan stabil, 2000-2500 mm setahun, yaitu daerah yang tidak tergenang air saat hujan dan tidak kekeringan saat kemarau. Pola curah hujan tahunan mempengaruhi perilaku pembungaan dan produksi buah sawit. Kelapa sawit yang dibudidayakan terdiri dari dua jenis: *E. guineensis* dan *E. oleifera*. Jenis pertama adalah yang pertama kali dan terluas dibudidayakan orang. *E. oleifera* sekarang mulai dibudidayakan pula untuk menambah keanekaragaman sumber daya genetik.

2.1.1 Minyak Kelapa Sawit

Minyak kelapa sawit adalah salah satu minyak bahan pangan yang paling banyak dikonsumsi disamping minyak kedelai. Minyak sayur, minyak kedelai,

minyak sawit, dan minyak bunga matahari merupakan yang paling dominan karena paling banyak diproduksi yaitu sekitar 73% dari keseluruhan produksi minyak di dunia. Produksi minyak sawit meningkat tajam, terutama pada dua dekade terakhir. Jumlah perdagangan minyak sawit di dunia juga meningkat secara dramatis. Dari semua tanaman penghasil minyak, kelapa sawit adalah tumbuhan yang paling banyak menghasilkan minyak yaitu 5-7 ton minyak per hektar.



(Sumber dari <http://www.kamusilmiah.com>)

Gambar 2. 2. Data kebutuhan CPO dunia dan ekspor dari Indonesia

Minyak kelapa sawit adalah minyak yang dihasilkan dari inti kelapa sawit (*palm kernel oil*). Minyak kelapa sawit terutama dikenal sebagai bahan mentah minyak dan lemak pangan yang digunakan untuk menghasilkan minyak goreng, *shortening*, margarin, dan minyak makan lainnya. Minyak sawit mengandung asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh yang ikatannya mudah dipisahkan dengan alkali.



Gambar 2. 3. Aneka jenis minyak bermerk yang berbahan baku kelapa sawit

Dengan kandungan karoten yang tinggi, minyak sawit merupakan sumber pro-vitamin A yang murah dibandingkan dengan bahan baku lainnya. Minyak sawit dihasilkan dari proses ekstraksi bagian sabut buah dan biji buah kelapa sawit. Minyak yang dihasilkan dari bagian kulit atau sabut tersebut dikenal dengan nama *Crude Palm Oil* (CPO) dan bagian dari biji buahnya disebut *Palm Kernel Oil* (PKO).

Proses ekstraksi minyak kelapa sawit biasanya dilanjutkan dengan proses *bleaching* (pemutihan) dan *deodorizing* (penghilangan bau) agar minyak tersebut menjadi jernih, bening dan tidak berbau atau biasa disebut *refined, bleached and deodorized* (RBD) *stearine* dan *olein*. RBD olein dan stearin ini dengan proses pemisahan (*fractionation*) akan dihasilkan bermacam-macam produk yang biasa disebut industri *oleochemical*.

Kelebihan minyak nabati dari kelapa sawit adalah harganya yang murah, rendah kolesterol dan memiliki kandungan kartoen tinggi. Minyak kelapa sawit selain diolah menjadi bahan baku minyak goreng juga diolah menjadi bahan baku margarin.

Crude Palm Oil (CPO) merupakan hasil olahan daging buah kelapa sawit melalui proses perebusan Tandan Buah Segar (TBS), perontokan, dan pengepresan. CPO ini diperoleh dari bagian mesokarp buah kelapa sawit yang telah mengalami beberapa proses, yaitu sterilisasi, pengepresan, dan klarifikasi. Minyak ini merupakan produk level pertama yang dapat memberikan nilai tambah sekitar 30% dari nilai tandan buah segar.



Gambar 2. 4. *Crude palm oil*

CPO dapat digunakan sebagai bahan baku industri minyak goreng, industri sabun, dan industri margarin. Dilihat dari proporsinya, industri yang selama ini menyerap CPO paling besar adalah industri minyak goreng (79%), kemudian industri oleokimia (14%), industri sabun (4%), dan sisanya industri margarin (3%). Pemisahan CPO dan PKO dapat menghasilkan oleokimia dasar yang terdiri atas asam lemak dan gliserol. Secara keseluruhan proses produksi minyak sawit tersebut dapat menghasilkan 73% olein, 21% stearin, 5% *Palm Fatty Acid Distillate* (PFAD), dan 0.5% buangan.

Tabel 2. 1. Sifat fisika kimia CPO

Sifat Fisika Kimia	Nilai
Trigliserida	95 %
Asam lemak bebas (FFA)	2 – 5 %
Warna (5/4” Lovibond Cell)	Merah orange
Kelembaban & Impurities	0.15 – 3.0 %
Bilangan Peroksida	1 -5.0 (meq/kg)
Bilangan Anisidin	2 – 6 (meq/kg)
Kadar β -carotene	500-700 ppm
Kadar fosfor	10-20 ppm
Kadar besi (Fe)	4-10 ppm
Kadar Tokoferols	600-1000 ppm
Digliserida	2-6 %
Bilangan Asam	6,9 mg KOH/g minyak
Bilangan Penyabunan	224-249 mg KOH/g minyak
Bilangan iod (wijs)	44-54
Titik leleh	21-24°C
Indeks refraksi (40°C)	36,0-37,5

Minyak kelapa sawit seperti umumnya minyak nabati lainnya adalah merupakan senyawa yang memiliki komponen penyusun utamanya trigliserida dan nontrigliserida. Seperti halnya lemak dan minyak lainnya, minyak kelapa sawit terdiri atas trigliserida yang merupakan ester dari gliserol dengan tiga molekul asam lemak.

Minyak kelapa sawit mengandung asam lemak tidak jenuh dan jenuh dengan perbandingan yang hampir sama, yaitu 40 % asam oleat, dan 44 % asam palmitat. Minyak sawit juga merupakan sumber vitamin E, tokoferol dan tokotrienol yang berperan sebagai antioksidan (suatu zat yang dapat mencegah terjadinya oksidasi). Tokoferol dan tokotrienol dapat menangkap radikal bebas dan mencegah kanker. Minyak sawit juga merupakan sumber beta-karoten, yaitu prekursor vitamin A.

Tabel 2. 2. Komposisi beberapa asam lemak dalam tiga jenis minyak nabati

Asam Lemak	Jumlah Atom C	Minyak Sawit (%)	Minyak Kelapa (%)
Asam Lemak Jenuh			
Oktanoat	8	-	8
Dekanoat	10	-	7
Laurat	12	1	48
Miristat	14	1-2	17
Palmitat	16	32-47	9
Stearat	18	4-10	2
Asam Lemak Tidak Jenuh			
Oleat	18	38-50	6
Linoleat	18	5-14	3
Linolenat	18	1	-

Sumber : *Majalah Sasaran No.4 Th.1, 1986*

(Tim Penulis PS, 1992)

2.1.2 Standar Mutu Minyak Kelapa Sawit

Mutu minyak kelapa sawit dapat dibedakan menjadi dua arti, pertama, benar-benar murni dan tidak bercampur dengan minyak nabati lain. Mutu minyak kelapa sawit tersebut dapat ditentukan dengan menilai sifat-sifat fisiknya, yaitu

dengan mengukur titik lebur angka penyabunan dan bilangan yodium. Kedua, pengertian mutu sawit berdasarkan ukuran. Dalam hal ini syarat mutu diukur berdasarkan spesifikasi standar mutu internasional yang meliputi kadar asam lemak bebas, air, kotoran, logam besi, logam tembaga, peroksida, dan ukuran pemucatan.

Kebutuhan mutu minyak kelapa sawit yang digunakan sebagai bahan baku industri pangan dan non pangan masing-masing berbeda. Oleh karena itu keaslian, kemurnian, kesegaran, maupun aspek higienisnya harus lebih diperhatikan. Rendahnya mutu minyak kelapa sawit sangat ditentukan oleh banyak faktor. Faktor-faktor tersebut dapat langsung dari sifat induk pohonnya, penanganan pasca panen, atau kesalahan selama pemrosesan dan pengangkutan. Syarat mutu inti kelapa sawit menggunakan SP-SMP (Standar Pengujian Standar Mutu Produksi) adalah sebagai berikut:

- a. Kadar minyak minimum (%): 48; cara pengujian SP-SMP-13-1975
- b. Kadar air maksimum (%): 8,5 ; cara pengujian SP-SMP-7-1975
- c. Kontaminasi maksimum (%): 4,0; cara pengujian SP-SMP-31-19975
- d. Kadar inti pecah maksimum (%): 15; cara pengujian SP-SMP-31-1975

Standar Mutu Minyak Goreng

Untuk memproduksi minyak goreng, haruslah mengikuti standar yang telah ditentukan. Jika mengikuti standar di Indonesia maka harus berdasarkan SNI-3741-1995.

Tabel 2. 3. Standar mutu minyak goreng berdasarkan SNI – 3741- 1995

No	Kriteria	Persyaratan
1	Bau dan Rasa	Normal
2	Warna	Muda Jernih
3	Kadar Air	Max 0,3%
4	Berat Jenis	0,900 g/liter
5	Asam lemak bebas	Max 0,3%
6	Bilangan Peroksida	Max 2 Meg/Kg
7	Bilangan Iod	45-46
8	Bilangan Penyabunan	196-206
9	Index Bias	1,448-1,450
10	Cemaran Logam	Max 0,1 mg/kg kecuali seng

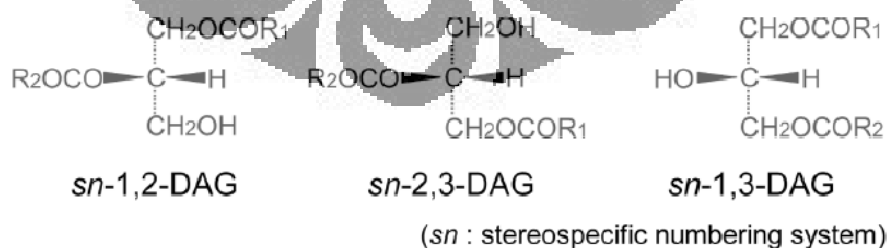
2.2 Diasilgliserol (DAG)

Diacylglyceride atau dikenal juga sebagai *diacylglycerol* adalah suatu *glyceride* yang mengandung dua rantai asam lemak yang terikat secara kovalen terhadap *glycerol* melalui suatu ester.

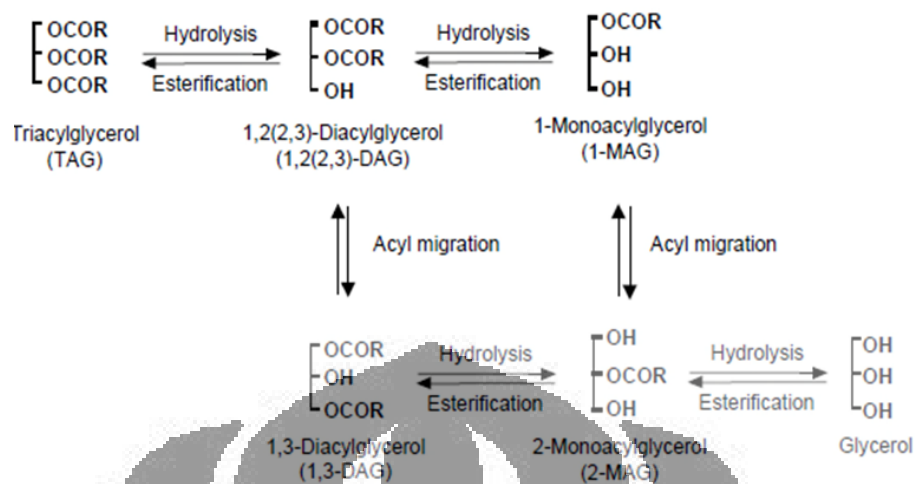
Diasilgliserol (DAG) adalah satu dari asilgliserol yang merupakan komponen alami dari lemak hewani dan nabati yang terdapat dalam berbagai minyak yang dapat dimakan, selain monoasilgliserol (MAG), dan triasilgliserol (TAG). Tubuh manusia juga memproduksi DAG, sebagai hasil dari pencernaan TAG. DAG telah lama digunakan dan ditambahkan dalam makanan sebagai emulsifier.

Gambar 2. 5. Digliserida dengan dua asam lemak

DAG terdiri dari dua isoform, yaitu, *sn*-1,2(2,3)-diasilgliserol (1,2-DAG) dan *sn*-1,3-diasilgliserol (1,3-DAG) seperti ditunjukkan pada gambar 2.6. Isoform 1,2-DAG diakui sebagai perantara metabolik yang terbentuk setelah pencernaan dari TAG. DAG yang terkandung dalam minyak nabati sebagian besar dikonversi menjadi 1,3-isoform oleh perpindahan dari gugus asil selama proses produksi dalam suhu tinggi.



Gambar 2. 6. Struktur diasilgliserol (Yasukawa, 2004)



Gambar 2. 7. Reaksi pembentukan diasilgliserol dengan reaksi hidrolisis dan esterifikasi

2.2.1 Minyak Diasilgliserol

Minyak goreng (minyak nabati) merupakan minyak hasil akhir dari proses pemurnian minyak yang berasal dari tumbuhan (nabati) dan terdiri atas berbagai senyawa pembentuknya, dimana triasilgliserol merupakan komponen terbanyak yang terkandung di dalamnya. Minyak goreng berguna sebagai medium pemanas yang memiliki pengaruh dalam memberikan rasa, aroma, dan tekstur makanan.

Minyak diasilgliserol merupakan minyak yang telah direkayasa agar penyusun komponen utamanya adalah diasilgliserol, dengan kandungan > 80 %. Namun dari beberapa isomer pembentuknya, 1,3 diasilgliserol merupakan isomer yang paling bermanfaat. Sehingga dapat dikatakan bahwa minyak diasilgliserol merupakan minyak yang memiliki kandungan utama adalah 1,3 diasilgliserol sebesar >80 %.

Tabel 2. 4. Kandungan minyak goreng DAG (Nishide, 2004)

Minyak DAG (80% diasilgliserol)	99,42– 99,83%
Emulsifier	0,07– 0,35%
Antioksidan <i>Tocopherols</i>	0,1– 0,23%
L-Ascorbyl palmitat	

2.2.2 Sifat Kimia dan Fisika Minyak Diasilgliserol

Minyak DAG mengandung aditif seperti antioksidan dan gliserin dalam jumlah kecil. Aditif ini mempengaruhi tegangan interfasial, nilai asam awal, dan stabilitas oksidatif minyak DAG, namun tidak mempengaruhi sifat fisika kimia minyak DAG.

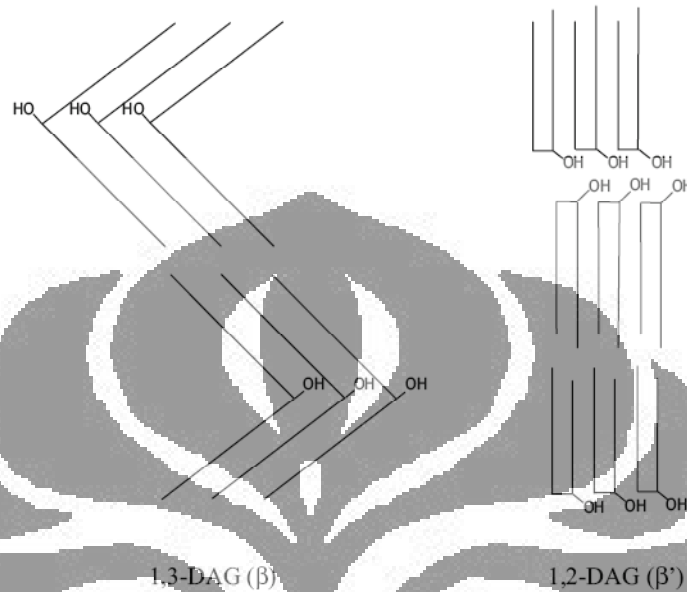
Tabel 2. 5. Sifat kimia dan fisika minyak DAG dan TAG (Nakajima, 2004)

Karakteristik	Suhu	Minyak DAG	Minyak TAG
Specific gravity (g/mL)	8,8 °C	0,923	0,922
	20,0 °C	0,926	0,914
	30,0 °C	0,920	0,908
Viskositas (mPa.s)	8,8 °C	84,8	74,5
	20,0 °C	55,3	50,1
	30,0 °C	37,9	35,3
Melting point (°C)		-2,0	-24,0
Smoke point (°C)		220	250
Flash point (°C)		298	344
Fire point (°C)		320	354
Auto-ignition point (°C)		416	435
Tegangan permukaan (mN/m pada °C)		33,8 (33,9 ^b)	33,7
Tegangan interfasial (mN/m pada °C)		11,9 (14,6 ^b)	23,8

^b pengukuran pada DAG tanpa aditif.

Secara umum, titik leleh sn-1,3-DAG lebih tinggi 10°C dari TAG, dan titik leleh sn-1,2-DAG 10°C lebih rendah dari sn-1,3-DAG, pada komposisi lemak yang sama (Bockish,1998). Pengaruh dari perbedaan titik leleh ini terletak pada kekuatan ikatan hidrogen dari gugus hidroksil dan penyusunan rantai asam lemak dari isomer DAG. Sn-1,3-DAG memiliki susunan rantai asam lemak berbentuk V, sementara sn-1,2-DAG memiliki penyesuaian berbentuk *hairpin* (gambar 2.8). Jenis-jenis penyusunan molekul isomer DAG berhubungan dengan bentuk polimorfiknya. Tidak seperti polimorfik TAG, DAG memiliki 2 tipe bentuk polimorfik. Sn-1,2-DAG memiliki bentuk α dan β' tetapi tidak memiliki bentuk β , sementara sn-1,3-DAG tidak memiliki

bentuk α tetapi memiliki dua bentuk β , yaitu β_1 dan β_2 yang tidak stabil. (Nakajima, 2004)



Gambar 2. 8. Penyusunan kristal dari sn-1,3-DAG bentuk β dan sn-1,2-DAG bentuk β' (Seong, 2007)

2.2.3 Manfaat Mengonsumsi Minyak Diasilgliserol

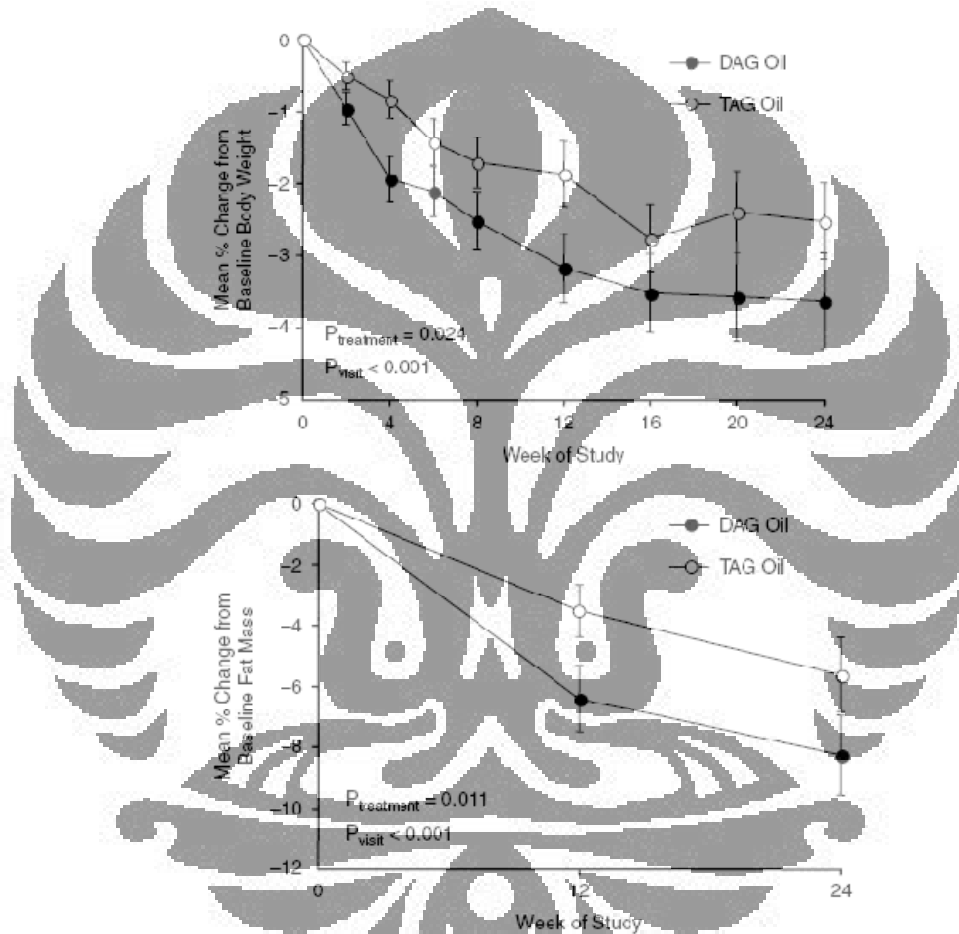
Manfaat yang dapat dirasakan setelah mengonsumsi minyak DAG dibandingkan dengan mengonsumsi minyak goreng biasa (TAG), yaitu :

1. Postprandial lipemia yang lebih rendah

Ketika emulsi lemak ditelan, konsentrasi TAG darah meningkat dan mencapai puncak ketinggian pada sekitar empat jam setelah menelan minyak dan menurun secara berangsur-angsur pada manusia. Peningkatan konsentrasi TAG darah setelah makan ini terlihat lebih rendah ketika minyak DAG digunakan, dibandingkan dengan minyak TAG. Efek penurunan hipertrigliseridemia (kadar gliserida dalam darah berlebih) ini adalah salah satu karakteristik DAG. TAG dalam serum adalah sumber lemak yang diakumulasi di tubuh dan hiperlipidemia setelah makan adalah faktor yang beresiko pada penyakit kardiovaskular.

2. Menurunkan kadar lemak pada tubuh Manusia

Chicago Center for Clinical Research melakukan sebuah studi paralel *double-blind* pada 131 pria dan wanita obesitas atau kelebihan berat yang mencerna diet DAG dan TAG selama 24 minggu (Maki, 2002). Penurunan berat badan dan lemak tubuh secara signifikan lebih tinggi pada kelompok DAG daripada kelompok TAG (gambar 2.9).

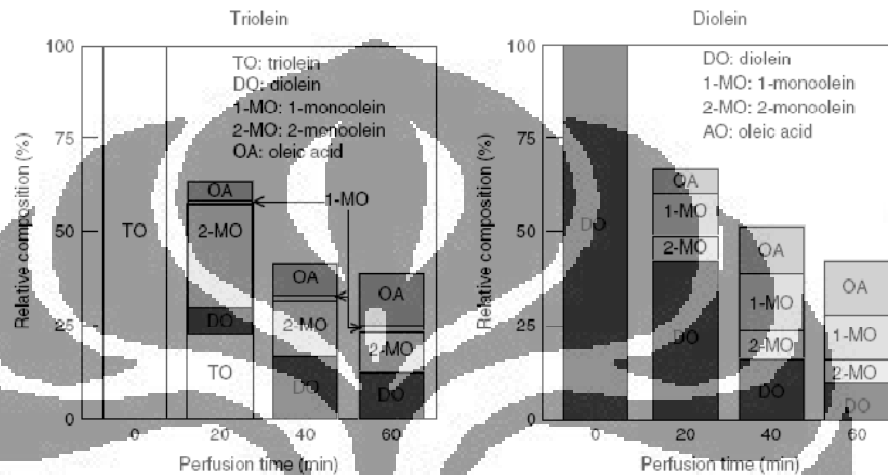


Gambar 2. 9. Persen perubahan rata-rata \pm SEM pada berat badan dari basis diantara subjek yang ditandai untuk kelompok minyak DAG dan minyak TAG. Nilai-P mewakili hasil dari perulangan pengukuran ANOVA. (Maki, 2002)

3. Pencernaan dan Penyerapan DAG Dibandingkan dengan TAG

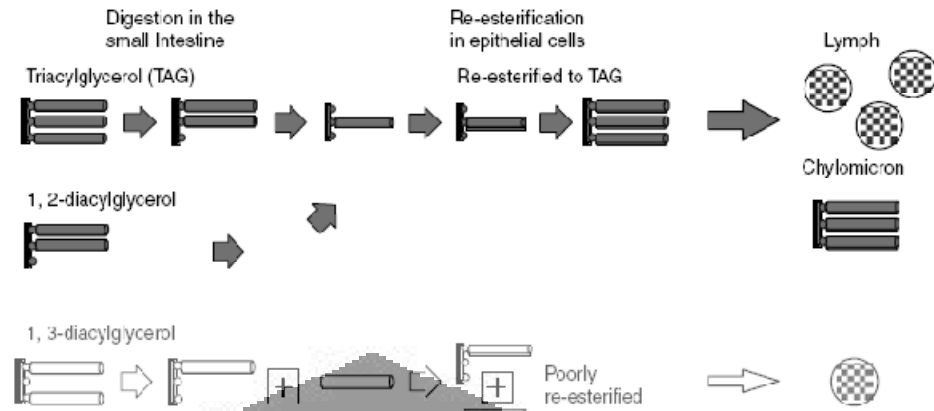
Proses pencernaan dan absorpsi DAG diinvestigasi dalam eksperimen yang melibatkan perubahan waktu pada komposisi lemak setelah perfusi triolein and diolein (1,2-:1,3-diolein = 3:7) dalam bidang

intestinal pada tikus. Kondo et al. melaporkan bahwa, ketika DAG diinfusi di usus dua belas jari pada pembentukan emulsi, TAG dicerna menjadi 1,2-DAG, 2-MAG, dan FFA, sedangkan 1,3-DAG dicerna menjadi 1(3)-MAG dan FFA. Dengan demikian, pembentukan 1(3)-MAG dibandingkan 2-MAG mungkin merupakan salah satu ciri khas metabolisme DAG.



Gambar 2. 10. Analisis produk pencernaan (Watanabe, 1997)

Jalur pembentukan kembali TAG di sel etelial intestinal termasuk jalur 2-MAG dan jalur gliserofosfat, dengan TAG yang lebih dominan. Mengingat 2-MAG adalah substrat yang baik dalam reaksi dari jalur 2-MAG, reaktivitas 1(3)-MAG sangat kecil. Gliserol bebas adalah substrat pada jalur gliserofosfat, namun laju reaksinya lebih rendah dari yang ada pada jalur 2-MAG, dan kontribusinya pada pembentukan ulang TAG cukup kecil. Penggabungan ¹⁴C-terlabeli asam linoleat menjadi TAG secara signifikan diperlambat di *mucosa intestinal* tikus yang diinfuskan emulsi minyak DAG dibandingkan emulsi minyak TAG (Kondo, 2003).



Gambar 2. 11. Karakteristik metabolisme diasilgliserol (DAG) pada perbandingan dengan triasilgliserol (TAG)

Dalam hal efek menguntungkan selain efek nutrisi, kami menemukan bahwa waktu pengosongan perut lebih cepat ketika minyak DAG digunakan dibandingkan dengan minyak TAG pada telur dadar. Subjek menelan telur dadar yang dimasak dengan atau tanpa minyak uji. Waktu pengosongan perut untuk telur dadar yang dimasak menggunakan minyak DAG lebih singkat dibandingkan yang dimasak menggunakan minyak kontrol TAG (Yasunaga, 2000).

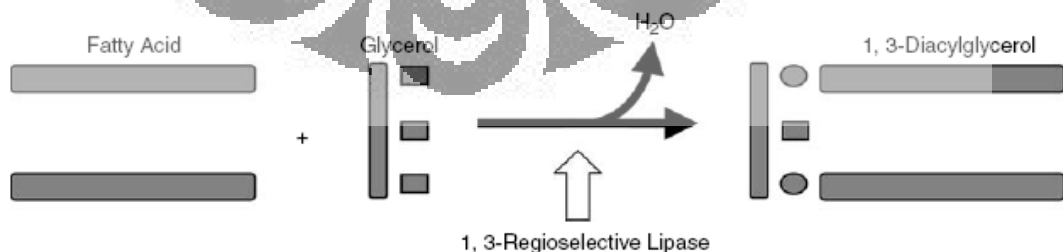
2.3 — Produksi Diasilgliserol Secara Enzimatis

Campuran monoasilgliserol (MAG) dan diasilgliserol (DAG) sejak lama telah digunakan sebagai emulsifier dan penstabil pada industri makanan. Monoasilgliserol dan diasilgliserol umumnya disintesis dari lemak dan minyak dengan gliserol melalui reaksi gliserolisis kimia pada suhu di atas 200°C menggunakan katalis alkali. Distribusi komponen seperti monoasilgliserol, diasilgliserol, dan triasilgliserol tergantung pada rasio molar antara gliserol dan gugus asil yang digunakan pada reaksi [Sontang, 1982]. Gliserolisis kimia adalah proses yang telah lama digunakan untuk memproduksi mono- dan diasilgliserol. Namun demikian proses tersebut tidak ideal untuk memproduksi minyak dengan kandungan DAG yang tinggi karena produk utama dari gliserolisis kimia adalah MAG. Sedangkan produk yang diinginkan adalah minyak dengan

kandungan DAG yang tinggi yang diperuntukkan mengganti minyak konvensional. Persyaratannya adalah sebagai berikut:

- Memiliki kandungan DAG yang tinggi untuk meningkatkan efek keuntungan pada kesehatan
- Kondisi proses yang ringan untuk meminimalkan penurunan dan pergantian komposisi asam lemak
- Sifat fisik yang dapat dibandingkan dengan minyak konvensional yang berperan pada rasa dan aroma makanan yang dimasak.

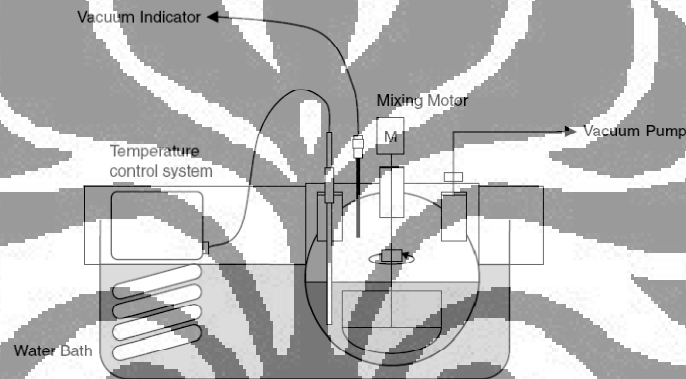
Beberapa peneliti melaporkan produksi DAG menggunakan lipase melalui jalur alternatif. Hirota et al. mematenkan metode pengolahan sebuah minyak yang mengandung DAG murni dengan kadar tinggi melalui esterifikasi asam lemak, menggunakan 1,3-regioselektif lipase, yang dikombinasikan dengan pembuangan air secara simultan, dimana 1,3-DAG disintesis dari esterifikasi asam lemak dengan gliserol menggunakan 1,3-regioselektif lipase yang diimmobilisasi (gambar 2.12). Dengan cara yang sama Rosu et al. menggunakan reaksi esterifikasi dari beberapa asam lemak dan gliserol pada sistem tanpa pelarut dengan pembuangan air menggunakan *Lypozime IM*. Hasilnya, mereka mendapatkan 85% hasil, 1,3-DAG ketika asam caplilat digunakan [Rosu, 1999] Demikian metode-metode esterifikasi tersebut, maka dapat digunakan secara luas untuk memproduksi minyak yang kaya akan DAG. Penggunaan kembali enzim menjadi penting untuk menekan biaya enzim, sehingga teknik immobilisasi enzim sangatlah berpengaruh dalam biaya produksi. Hanya beberapa enzim lipase yang dapat diimmobilisasi dan dimanfaatkan.



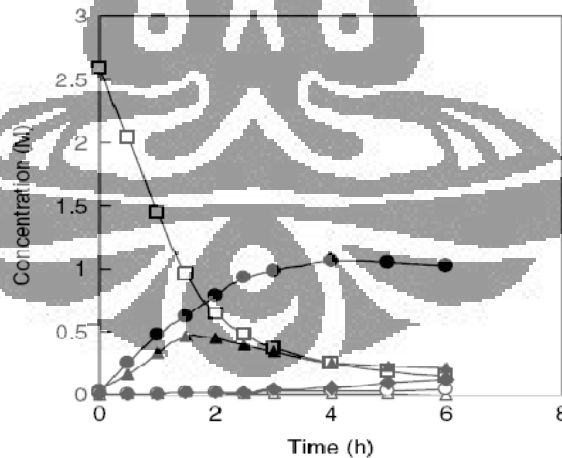
Gambar 2. 12 Reaksi esterifikasi menggunakan 1,3-regioselektif lipase.

2.3.1 Produksi Diasilgliserol pada Reaktor Batch Berpengaduk

Esterifikasi asam lemak dengan gliserol pada sistem bebas pelarut menggunakan *Lipozyme RM IM* pada reaktor batch berpengaduk telah diinvestigasi sebelumnya [Watanabe 2003]. Asam lemak yang digunakan sebagai bahan esterifikasi didapatkan dari minyak lobak dan minyak kacang kedelai, yang direduksi menjadi asam lemak jenuh. Karena titik leleh DAG lebih tinggi dari TAG dengan komposisi asam lemak yang sama, perlu digunakan asam lemak jenuh tereduksi sebagai substrat untuk minyak kaya DAG. Gambar 2.13 memperlihatkan hasil yang khas dari esterifikasi menggunakan reaktor batch berpengaduk pada 50°C dan 3 mmHg.



Gambar 2. 13 Diagram reaktor batch berpengaduk dengan reaksi esterifikasi



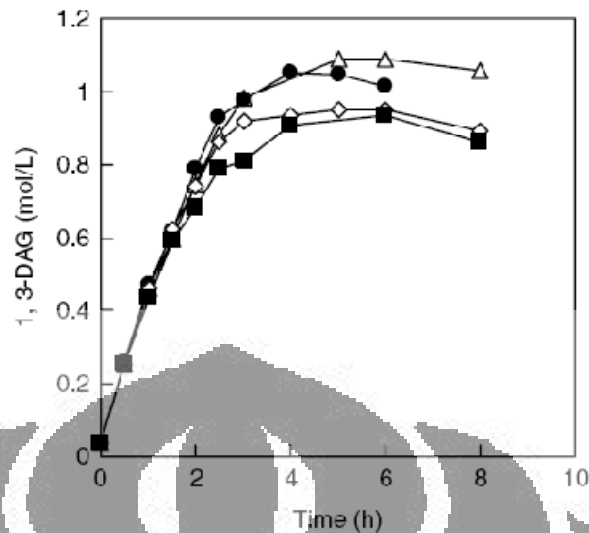
Gambar 2. 14 Laju reaksi esterifikasi menggunakan lipase yang diimmobilisasi dimulai dengan 2,59 M asam lemak dan 1,29 M gliserol. Pada 50°C, rasio molar asam lemak terhadap gliserol sebesar 2 : 0, konsentrasi resin enzim yang diimmobilisasi 5% (basis berat kering). Pembuangan air dilakukan pada keadaan vakum 3 mmHg. (□),Asam lemak; (▲),1-MAG; (△), 2-MAG; (●),1,3-DAG; (○),1,2(2,3)-DAG; (◆),TAG.

2.3.2 Perlakuan pada Lipase Yang Diimmobilisasi

Reaksi lipase terjadi pada permukaan lapisan minyak-air, namun pada reaksi yang menggunakan lipase yang diimmobilisasi, reaksi asam lemak dengan gliserol akan terjadi pada fasa minyak dan bukan pada fasa gliserol [Watanabe 2003]. Data eksperimen mengindikasikan bahwa reaksi esterifikasi tidak terjadi ketika terjadi kontak pertama kali antara enzim yang diimmobilisasi dengan gliserol diikuti asam lemak. Oleh karena itu, enzim yang diimmobilisasi awalnya sebaiknya dijenuhkan dalam asam lemak (fasa minyak) lebih dulu untuk penambahan gliserol. Penggunaan gliserol yang teradsorpsi pada silika gel adalah metode yang efektif untuk esterifikasi asam lemak dengan gliserol pada pelarut organik. Metode tersebut juga menghindari kontak langsung antara gliserol dengan lipase yang diimmobilisasi [Yamada, 2005].

2.3.3 Pembuangan Air

Pembuangan air yang dibentuk pada reaksi esterifikasi adalah hal yang penting, karena kesetimbangan mungkin bergeser ke arah esterifikasi seiring pembuangan kandungan air. Beberapa metode untuk membuang air dapat dimanfaatkan, misalnya penggunaan aliran gas nitrogen, agen pengering seperti silika gel atau penyaring molekular, dan penggunaan pompa vakum. Sistem vakum lebih disukai untuk produksi komersial DAG. Berbagai kondisi vakum antara 1 hingga 10 mmHg telah diperiksa, dan hasilnya, yield maksimum 1,3-DAG didapatkan pada konsentrasi 1,09 M pada 1 mmHg (gambar 2.15). Hasil ini menyarankan bahwa kondisi vakum yang lebih tinggi (laju pembuangan air yang lebih tinggi) akan lebih menguntungkan pada produksi 1,3-DAG. Telah diketahui bahwa air memegang peranan penting dalam mengatur struktur enzim dan aktivitas katalitiknya. Dengan demikian, pembuangan kelebihan air mungkin memudahkan deaktivasi enzim. Percobaan pada kondisi vakum 3 mmHg, kandungan air termasuk pada enzim yang diimmobilisasi sekitar 3% pada akhir reaksi, serupa dengan reaksi sebelumnya. Dengan demikian, jumlah air yang dibutuhkan selama reaksi dapat diatur selama esterifikasi pada kondisi vakum, ketika enzim lipase yang diimmobilisasi digunakan.



Gambar 2.15. Efek kondisi vakum pada sintesis 1,3-DAG. Reaksi dilakukan pada 50°C dan rasio molar asam lemak terhadap gliserol sebesar 2,0 dan konsentrasi resin enzim yang diimmobilisasi 5% (basis berat kering). Pembuangan air dilakukan pada keadaan vakum 1 mmHg(Δ), 3 mmHg (●), 6 mmHg (◇), 10 mmHg (■).

2.3.4 Migrasi Asil

Pembentukan TAG tidak diharapkan pada produksi DAG karena hal tersebut menyebabkan penurunan kemurnian DAG. Proses separasi TAG dari minyak produk sangat sulit, sehingga TAG yang diproduksi selama reaksi esterifikasi, mungkin tetap berada pada produk akhir minyak. Menurunkan kandungan TAG menjadi penting untuk mendapatkan minyak kaya DAG. Pada reaksi esterifikasi menggunakan Lipozyme RM IM, yaitu 1,3-regioselektif lipase, 1,3-DAG yang diproduksi sangat baik dengan jumlah 1,2-DAG yang dapat diabaikan. Migrasi asil, yaitu dari 1,3-DAG menjadi 1,2-DAG, terjadi selama reaksi berlangsung, dan ketika 1,2-DAG terbentuk, maka dengan mudah akan diubah menjadi TAG oleh lipase. Akibatnya, kadar rendah TAG membuat peningkatan migrasi asil menjadi lebih rendah. Efek dari berbagai faktor seperti kandungan air, suhu, enzim yang diisi, dan waktu reaksi pada migrasi asil pada reaksi transesterifikasi diinvestigasi oleh Xu et al. [Xu, 1999]. Hasilnya menunjukkan bahwa semua faktor tersebut memiliki pengaruh positif pada migrasi asil. Efek berbagai faktor terhadap peningkatan migrasi asil juga diinvestigasi untuk reaksi esterifikasi menggunakan Lipozyme RM IM

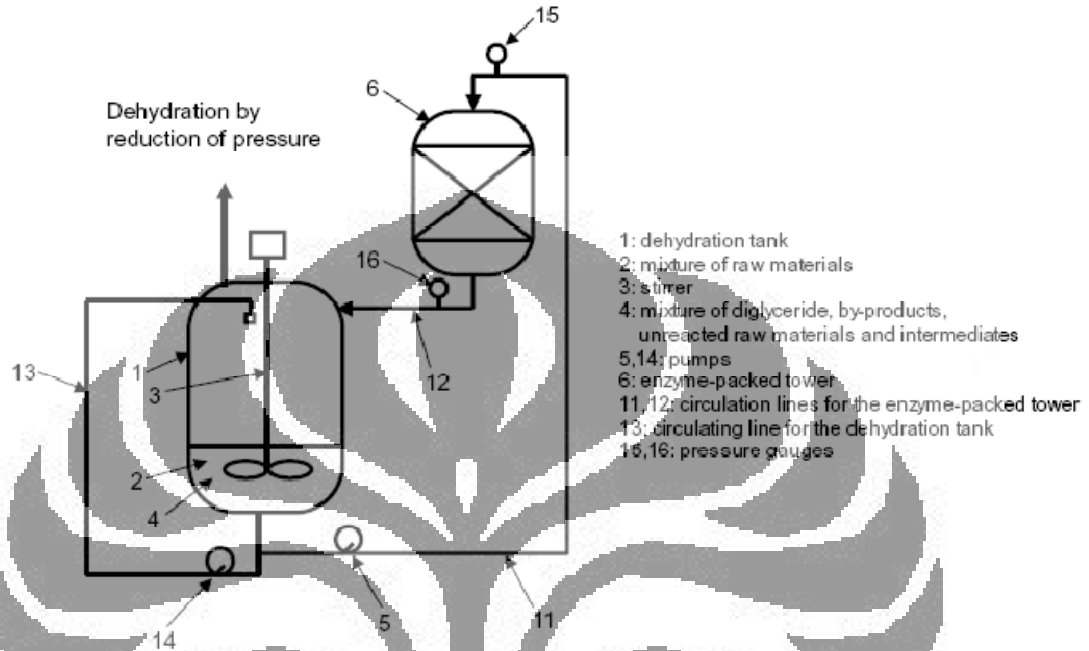
[Watanabe, 2003]. Sebagai hasil, pada produksi 1,3-DAG menggunakan Lipozyme RM IM semakin tinggi suhu dan enzim yang diisi menunjukkan kenaikan konsentrasi TAG, daripada laju reaksi yang lebih tinggi. Hasil tersebut menyarankan bahwa suhu dan jumlah enzim yang lebih rendah akan lebih menguntungkan pada produksi 1,3-DAG yang lebih tinggi. Penentuan suhu reaksi dan jumlah enzim optimal yang diisi adalah hal penting pada produksi DAG pada skala industri baik dari sudut pandang laju produksi 1,3-DAG maupun kemurnian DAG.

2.3.5 Produksi DAG di *Packed-Bed Bioreactor*

Sebuah reaktor terpadati unggun (*packed-bed reactor*) sering digunakan sebagai reaktor enzim yang diimmobilisasi pada skala industri karena memiliki keuntungan yaitu ukurannya yang tidak terlalu besar. Keuntungan lainnya meliputi pemisahan produk dan produksi yang berkelanjutan.

Reaksi enzimatis menggunakan lipase pada *packed-bed reactor* telah diinvestigasi oleh sejumlah peneliti untuk transesterifikasi dan untuk alkoholisis asam lemak dengan alkohol. Reaksi di *packed-bed reactor* untuk esterifikasi asam lemak dan gliserol belum dipelajari secara meluas. Air umumnya krusial untuk mengatur struktur dan stabilitas enzim. Namun demikian, pada kasus esterifikasi, kelebihan air dihasilkan selama reaksi. Dengan demikian sebuah sistem untuk mengurangi air yang dibentuk selama reaksi menjadi penting untuk mendapatkan hasil yang tinggi pada reaksi esterifikasi menggunakan kolom *packed-bed*. Akumulasi air pada *packed-bed reactor* juga menyebabkan penurunan stabilitas enzim. Karenanya, metode untuk mencegah akumulasi air di dalam reaktor dilaporkan pada kasus reaksi esterifikasi menggunakan pelarut organik, seperti penggunaan pelarut polar, pengeringan secara periodik dengan aliran udara, atau dengan pelarut murni. Acros dan tim, mempelajari esterifikasi tanpa pelarut untuk asam lemak dengan gliserol dalam *packed-bed reactor* kontinyu berisi lipase yang diimmobilisasi dari *Mucor meihei*. Mereka menggunakan gliserol berlebih untuk mengurangi air, yaitu gliserol berlebih digunakan untuk melarutkan air yang dihasilkan oleh reaksi esterifikasi. Meskipun konversi asam lemak mencapai 90%, namun konsentrasi DAG pada minyak yang dihasilkan hanya 48%. Sistem

produksi DAG yang efektif menggunakan *packed-bed reactor* diinvestigasi oleh Sugiura et al. yaitu sistem yang meliputi kolom *packed-bed* dan bejana pembuang air eksternal pada kolom *packed-bed* seperti pada gambar 2.16 [Yamada, 2005].



Gambar 2. 16 Diagram *Packed-Bed Reactor* yang digunakan untuk reaksi esterifikasi untuk sintesis diasilgliserol [Yamada, 2002].

Pada sistem ini, pembuangan air dicapai dengan menggunakan kondisi vakum. Sistem produksi DAG dari asam lemak dan gliserol menggunakan Lipozyme RM IM ini meliputi operasi batch berulang, sebagaimana diperlihatkan pada tabel 2.6. Sistem ini memiliki keuntungan dalam pengontrolan kandungan air oleh kondisi vakum. Hasil DAG yang diperoleh dari asam lemak lobak dan kacang kedelai sekitar 60%. Kemurnian DAG mencapai 80% atau lebih dicapai dengan menggunakan Lipozyme RM IM pada sistem ini.

Tabel 2. 6. Hasil produksi diasilgliserol dalam *Packed-Bed Reactor* (Yamada, 2005)

	1	2	3
Ukuran <i>batch</i> (kg)	100	100	100
Asam oleat (kg)	86	86	86
Gliserol (kg)	14	14	14
Enzim yang diimmobilisasi	Lipozyme IM	Lipozyme IM	Lipozyme IM
Ukuran rata-rata partikel d (mm)	0,43	0,43	0,43
Jumlah (kg)	5	5	20
Ketebalan lapisan (m)	0,18	0,18	0,7
Kecepatan superfisial U (mm/s)	4,4	2,2	3,7
Waktu tinggal (s)	40	79	190
Kehilangan tekanan P (kg/cm ²)	2,6	1,5	9,5
Pipa semprot	Digunakan	Digunakan	Digunakan
Diameter droplet (mm)	1	1	1
Sirkulasi pada sisi spray (m ³ /jam)	1,2	1,2	1,2
Waktu reaksi (jam)	3,5	3,5	3,5
Produk reaksi (% berat)			
Asam oleat	14,1	15,4	11,6
Gliserol	0,3	0,7	0,4
Monogliserida (M)	14,1	18,3	15,0
Digliserida (D)	65,6	58,1	55,7
Trigliserida (T)	5,9	7,5	17,3
Total	100,0	100,0	100,0
Hasil reaksi (D + T) (% berat)	71,5	65,6	73,0
Kemurnian digliserida (D/D + T) (% berat)	91,7	88,6	76,3

2.3.6 Kesimpulan Mengenai Produksi Enzimatis DAG

Esterifikasi asam lemak dan gliserol menggunakan 1,3-regioselektif lipase, yang sangat selektif terhadap isomer 1,3, dapat memastikan produksi 1,3-DAG secara efisien. Lipozyme RM IM, yang diimmobilisasi pada resin. Memiliki kinerja yang signifikan bukan hanya terkait selektivitasnya, namun juga stabil. Kemurnian DAG yang tinggi didapatkan di dalam reaktor batch berpengaduk juga di dalam *packed-bed reactor*. Sebuah *packed-bed reactor* dengan sistem vakum dapat digunakan untuk produksi industrial minyak dengan kandungan DAG yang tinggi. Kandungan 1,3-DAG dalam total DAG lebih besar dari 90% dengan reaksi esterifikasi ini. Namun, sebagian 1,3-DAG dikonversikan menjadi 1,2-DAG selama proses fabrikasi yang melibatkan pemanasan minyak. Akhirnya, akan dihasilkan campuran dari sekitar 70% 1,3-DAG dan 30% 1,2-DAG sebagai hasil dari kesetimbangan.

Kandungan air pada campuran reaksi memiliki efek yang dapat dipertimbangkan pada hasil 1,3-DAG dalam reaksi esterifikasi. Kandungan air

dikontrol umumnya dengan menyeimbangkan air yang dihasilkan oleh reaksi esterifikasi dan air yang dibuang oleh sistem vakum. Karena itu, pemilihan kondisi vakum yang sesuai adalah poin penting untuk efisiensi produksi DAG pada skala industri.

Meskipun produksi enzimatik DAG terlihat efektif, pengembangan lebih lanjut teknik enzim pada bagian ini penting untuk peningkatan proses produksi.

2.4. Enzim Lipase sebagai Biokatalis

Lipase adalah enzim yang dapat memecah lemak. Lipase mikrobial (*glycerol ester hydrolases*) memiliki peran yang penting dalam bioteknologi modern. Lipase tidak tergantung dalam reaksi biokonversi gliserolisis lemak atau lipid (triasilgliserol) dalam satu organisme atau antar organisme. Lipase yang berasal dari mikroorganisme merupakan enzim ekstraseluler, yang disekresikan oleh mikroorganisme ke dalam medium pertumbuhannya untuk mencerna lemak atau minyak.

Lipase bersifat aktif dalam pelarut organik dimana ia dapat berfungsi sebagai katalis dalam reaksi esterifikasi, transesterifikasi, sintesis peptida, dan bahan kimia lainnya.

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.

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 di atas suhu 45°C.

2.5 Asam Lemak Bebas (*Free Fatty Acid*)

Asam lemak bebas adalah asam lemak yang terpisahkan dari trigliserida, digliserida, monogliserida, dan gliserin bebas. Asam lemak bebas dapat berupa asam lemak oleat, linoleat, stearat, dan lain-lain yang tidak terikat pada molekul gliserin. Hal ini dapat disebabkan oleh pemanasan dan terdapatnya air sehingga terjadi proses hidrolisis. Oksidasi juga dapat meningkatkan kadar asam lemak bebas dalam minyak nabati. Komposisi FFA yang rendah menandakan bahwa minyak tersebut segar dan berkualitas. Di dalam pemurnian minyak yang baik, maka tingkat asam lemak bebasnya harus kurang dari 0,05 %.

Asam lemak bebas terjadi akibat reaksi antara air dan lemak. Tingkat asam lemak bebas yang sangat tinggi (sekitar 3-4%) bisa menghasilkan asap yang berlebih, rasa yang tidak sedap, serta bau tengik. Asam lemak bebas dapat digunakan dalam penilaian syarat dari minyak yang berkualitas baik. Pengaruh kadar asam lemak bebas yang tinggi terhadap mutu minyak goreng yaitu :

1. Timbulnya ketengikan dalam minyak

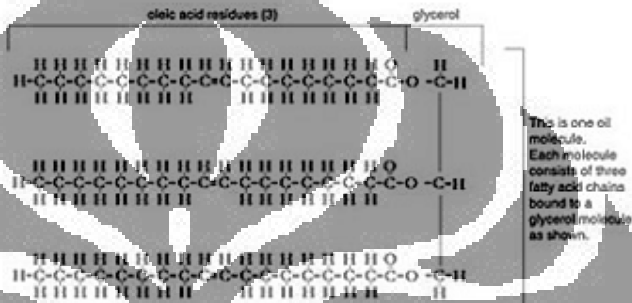
Ketengikan padat diartikan sebagai kerusakan atau perubahan bau dalam minyak akibat aktivitas enzim-enzim oksidasi, enzim lipase, dan enzim peroksida yang dapat menghidrolisis molekul lemak. Ketengikan juga dapat terjadi jika minyak disimpan dalam jangka yang panjang, sehingga akan terjadi proses oksidasi.

2. Meningkatnya kadar kolesterol dalam minyak

Pada dasarnya minyak kelapa sawit terdiri dari sejumlah asam lemak tidak jenuh yang mengandung fitosterol. Asam lemak bebas di dalam minyak kelapa sawit dihitung sebagai asam palmitat yang merupakan asam lemak jenuh yang mengandung kolesterol. Semakin besar asam lemak bebas yang terdapat di dalam minyak maka semakin besar pula kadar kolesterol di dalamnya.

Sifat fisika asam lemak bebas

- Rumus molekul : $C_{16}H_{32}O_2$ (80 % Asam Palmitat)
- Berat molekul : 256 kg/kmol
- Densitas (pada 50 °C, 1 atm) : 860,221 kg/m³
- Titik didih : 204 °C
- Titik leleh : 29 °C



Gambar 2. 17. Struktur molekul asam lemak bebas

2.5.1 Pemurnian Asam Lemak (Fatty Acid)

Pemurnian asam lemak, termasuk asam lemak bebas telah dilakukan sejak dahulu dengan berbagai metode. Metode pemurnian asam lemak yang sudah ada diantaranya adalah

- *Distillation*

Distilasi merupakan teknik pemisahan suatu campuran senyawa, yang didasarkan pada perbedaan titik didih senyawa masing-masing. Fraksi distilasi pada tekanan rendah awalnya digunakan untuk memisahkan asam lemak dengan ester yang terbentuk dari lemak alami. Awalnya distilasi seperti ini sangat tidak efisien. Namun perkembangannya begitu pesat sehingga teknologi pemurnian asam lemak yang digunakan adalah teknologi menggunakan prinsip distilasi.

Proses distilasi awalnya dilakukan pada tahun 3600 sebelum masehi, ditemukan di Mesopotamia, dimana peralatannya setinggi 48 cm, diameter sebesar 53 cm dengan kapasitas 40 liter, dan kapasitas distilat sebesar 2 liter. Alat ini digunakan untuk membuat parfum (*Great Chemists, E Farber ed,*

Interscience, NY 1961). Perkembangan metode distilasi kemudian berkembang pesat sejak adanya hukum-hukum fisika Dalton (1766-1844) and Raoult (1830-1901).

Pembuatan peralatan distilasi untuk laboratorium kimia dilakukan pada awal abad 19 (Underwood). Setelah itu banyak penemuan-penemuan metode distilasi seperti kolom distilasi bubble-plate, open tubes and spiral-type column (Warren, 1864), high vacuum distillation (Krafft, 1903), packed columns (Podbielniak, 1935), theoretical plates (Privett OS et al), molecular distillation (*Bills CE et al., 1938*).

- *Salt-solubility methods*

Asam lemak jenuh dan tidak jenuh membentuk garam dengan ion logam, dimana kelarutan dalam air dan pelarut organik yang berbeda dengan sifat ion logam dan panjang rantai, tingkat kejenuhan, serta karakteristik lain dari asam radikal.

Metode paling lama dan banyak digunakan yaitu metode pemisahan garam logam, dimana tergantung pada perbedaan kelarutan garam atau sabun dari asam lemak dalam eter (Gusserow CA, 1828). Modifikasi yang terpenting diperkenalkan oleh Twitchell (1921) yang telah mengganti etanol dengan dietil eter. who substituted ethanol for diethyl ether. Metode ini tidak mungkin digunakan untuk memisahkan campuran yang mengandung asam lemak tidak jenuh dengan panjang rantai karbon lebih dari 18, dan asam lemak jenuh dengan panjang rantai karbon lebih dari 14 atau lebih pendek. Metode ini dapat di aplikasikan pada minyak nabati, tetapi tidak yang berasal dari kelapa sawit.

- *Low-temperature crystallization*

Kristalisasi asam lemak dan ester dari campuran pada suhu rendah diperkenalkan pada tahun 1930 dimana distilasi fraksi sedang berkembang. Umumnya metode ini digunakan untuk memisahkan asam lemak dan monoester, dan juga untuk memisahkan gliserida dan senyawa lemak lainnya.

- *Liquid chromatography*

Konsep dan teknik *chromatography* pertama kali, pada dasarnya dilakukan untuk memisahkan pigmen tanaman (karoten). Namun Kuhn R et al,

menemukan konsep lain dari *chromatography* dalam studi karoten. *Chromatography* dapat diaplikasikan pada asam lemak. Pemisahan kromatografi pertama kali hanya dilakukan pada asam lemak rantai pendek.

- *Gas-liquid chromatography*

Penggunaan metode *Gas-liquid chromatography* pada asam lemak dilakukan pada 1952 oleh James AT et al, dimana pemisahan hanya dilakukan pada asam lemak dengan rantai karbon 1-12.

- *Membrane*

Aplikasi dari proses pemisahan menggunakan membrane pada minyak dan lemak telah mendapat perhatian yang tinggi. Dalam industry, pemisahan membrane telah diaplikasikan dengan baik pada proses recovery dan pemurnian protein. Selain itu, proses menggunakan membrane juga efisien dan selektif. Pemisahan asam lemak dari triasilgliserol menggunakan membrane telah banyak dilakukan. Campuran triasilgliserol dan asam lemak diekstraksi dengan menggunakan alcohol, kemudian hasil ekstraksi akan diproses untuk recovery minyak menggunakan teknik pemisahan membran. Jenis membrane yang digunakan dapat berupa *cellulosic* dan *non cellulosic*, namun jenis polyamide memiliki selektifitas yang lebih baik dalam memisahkan asam lemak setelah dibandingkan dengan *cellulose acetate* dan *polysulfone*.

2.5.2 Metode Pemurnian Minyak yang Digunakan oleh Industri

Dalam proses pembuatan minyak konvensional, terdapat proses pemurnian minyak dengan menghilangkan kandungan asam lemak bebas. Metode yang telah digunakan dalam proses pemurnian minyak adalah sebagai berikut :

- *Short Path Distillation*

Minyak goreng nabati umumnya mengalami proses pemurnian dengan menggunakan *short path distillation* untuk memisahkan minyak dari asam lemak bebas (FFA). *Short path distillation* atau yang lebih dikenal dengan *molecular distillation* merupakan proses pemisahan fisik yang didasarkan pada perbedaan titik didih dari senyawa yang akan dipisahkan. Prinsipnya

sama dengan proses distilasi yang kita ketahui, perbedaannya hanya pada kondisi operasi dimana pada *short path distillation* beroperasi pada tekanan vakum antara 10^{-3} - 1 mbar dan sistem alat yang sedikit berbeda. Dengan adanya penurunan tekanan maka titik didih dari senyawa yang akan dihilangkan pun akan turun dan menyebabkan suhu operasi yang digunakan juga mengalami penurunan. Suhu yang digunakan pada *short path distillation* biasanya diantara suhu 200-350 °C Pada *short path distillation* tidak terjadi *pressure drop* diantara permukaan evaporator dan condenser dalam. Hal tersebut terjadi karena jarak antara evaporator dan condenser yang sangat dekat. Ketika jarak antara evaporator dan condenser pendek, itu berarti molekul uap memiliki jalan yang bebas. *Short path distillation* umumnya digunakan pada proses pemurnian yang memiliki perbedaan panas yang tidak terlalu jauh, contohnya dalam bidang

- Kimia

- Vitamin sintetik, poligliserol, *paraffin wax*

- Farmasi

- Kosmetik

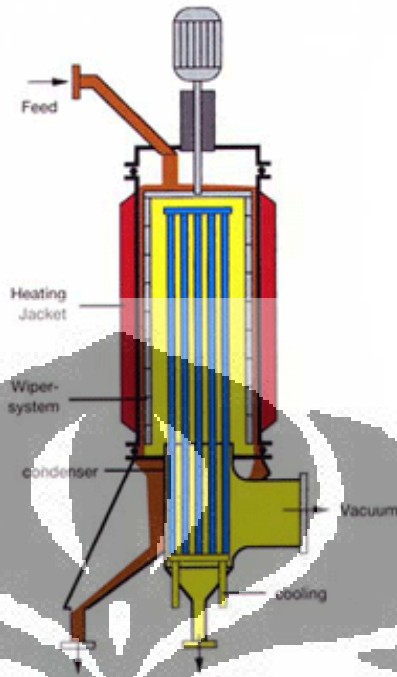
- Wool alcohol, wool wax, pewangi*

- Pengolahan minyak bumi

- Minyak pelumas, vacuum residues, waxes*

- Makanan

- Pemurnian minyak, monoasilgliserol, asam lemak bebas



Gambar 2. 18. *Short path distillation evaporator*

2.6 Immobilisasi Enzim

Immobilisasi enzim adalah proses menggabungkan suatu enzim dengan suatu matrik padat, (*support*) secara fisik, sehingga dapat digunakan secara berulang kali dan secara kontinyu (Worsfold, 1995). Keuntungan jika kita mengimmobilisasi enzim adalah sebagai berikut: (D'Souza, 2008)

- Enzim dapat digunakan berulang kali
- Dapat digunakan pada proses yang kontinyu
- Meningkatkan kestabilan enzim
- Produk yang dihasilkan memiliki kemurnian yang lebih tinggi
- Kontrol yang lebih besar terhadap reaksi enzimatis

Penggunaan lipase memiliki potensi yang bagus untuk menjadikan biaya produksi lebih efektif ketika enzim digunakan dalam bentuk terimmobilisasi dibanding dalam bentuk tersuspensi. Pada prinsipnya, teknik immobilisasi lipase ini ditujukan untuk mengembangkan produksi secara kontinyu dan komersil dalam skala besar yang memiliki efisiensi tinggi per unit volume reaktor (Malcata, 1991). Penggunaan immobilisasi lipase juga dapat mengurangi potensi produk

terkontaminasi melalui sisa lipase. Hal tersebut tentu saja menguntungkan, karena dapat menghindari perlakuan tambahan untuk memurnikan produk.

Dengan immobilisasi, penggunaan lipase sebagai biokatalis dapat digunakan secara berulang. Selain itu juga dapat memberikan kontrol yang lebih baik pada proses maupun kualitas produk. Namun kekurangan dari immobilisasi adalah (Ramachandra, 2002):

- Kemungkinan terjadinya deaktivasi lipase selama proses immobilisasi
- Keterbatasan substrat dalam berdifusi
- Terdapatnya lipase yang tidak terikat oleh *support*

Metode Immobilisasi Enzim

1. Adsorpsi

Prinsip metode ini yaitu penyerapan enzim ke dalam permukaan padatan bahan pendukung (*support*) didasari oleh adanya interaksi antara permukaan enzim dan bahan pendukung. Proses immobilisasi enzim secara ionik, adsorpsi, dan desorpsi enzim tergantung dari ion exchange-nya. Metode ini memiliki biaya lebih murah dibandingkan dengan metode yang lain, lebih mudah dilakukan, dan memberikan gangguan kestabilan protein yang rendah.

2. Ikatan Kovalen

Enzim dihubungkan secara kovalen ke *support* melalui suatu gugus fungsi di dalam enzim, yang tak berpengaruh terhadap aktivitas katalitik. 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.

3. Sol-Gel

Sol adalah sistem di mana enzim terjebak dalam jaringan partikel padat. Proses sol-gel itu sendiri terdiri dari reaksi hidrolisis dan kondensasi yang berlangsung secara simultan selama proses sintesis gel, meskipun ada kemungkinan salah satu reaksi tersebut berjalan dengan lebih dominan. Dari proses ini, ketika sol menjadi tidak stabil dan terhidrolisis lalu terkondensasi, ia berubah menjadi gel. Pembentukan sol menjadi gel dapat

berlangsung dalam beberapa detik, namun dapat pula berjalan lama yaitu dalam beberapa hari. Pelapisan dengan metode sol-gel dapat dilakukan dengan melapisi *support* dengan sol, lalu menghidrolisis dan mengkondensasikannya sehingga membentuk gel.

4. Intermolecular Cross-Linking

Proses immobilisasi enzim ini adalah dengan menghubungkan secara silang ikatan kovalen antar molekul protein. Metode ini sangatlah mahal dan tidak mencukupi kebutuhan katalis yang besar, selain itu enzim yang terbentuk memiliki aktivitas sangat rendah.

2.7 Hollow Fiber Membran

Hollow fiber membran biasa digunakan sebagai pemisah antar fasa satu dengan fasa lainnya dalam suatu reaksi. Struktur serat di dalam modul hollow fiber membran yang asimetrik memiliki diameter dalam sekitar 42 mikron (0.0016 inci) dan diameter luar sekitar 85 mikron (0.0033 inci). Jutaan serat ini akan dibentuk menjadi bundel dan dilipat setengah dengan konfigurasi kerapatan pengepakan yang paling tinggi mencapai $30000 \text{ m}^2/\text{m}^3$. (Margareta, 2010).

Unit hollow fiber membran dapat beroperasi pada aliran non-turbulen atau laminar dan juga dapat digunakan dengan berbagai orientasi aliran (berlawanan arah atau searah) dan flat vertikal ataupun horizontal. Hollow fiber membran tidak tahan terhadap tekanan dan temperatur tinggi (Margareta, 2010). Aplikasi hollow fiber membran dalam bidang industri, yaitu

1. Industri Kimia dan Petrokimia
 - Pemisahan Gas
 - Desalinasi
2. Kesehatan
 - Fraksinasi darah
 - Unit ginjal buatan
3. Industri Bioteknologi dan Biokimia
 - Proses hilir
 - Bioreaktor membran

Immobilisasi enzim menggunakan metode adsorpsi dalam reaktor hollow fiber membran memiliki beberapa keuntungan, diantaranya (Hong, 1986):

- Rasio luas area permukaan terhadap volume reaktor yang sangat tinggi.
- Selektivitas untuk reaktan dengan menggunakan membran padat memiliki permeabilitas berbeda atau karakteristik biaya tetap.
- Tidak memerlukan proses pemisahan enzim dari aliran produk limbah yang mahal.
- Memungkinkan operasi dalam keadaan *steady*.
- Melindungi enzim dari pengotor makromolekul di aliran umpan seperti enzim proteolitik.
- Mudah dalam regenerasi atau penggantian enzim.

2.8. State Of The Art

Penelitian mengenai diasilgliserol telah dilakukan oleh banyak peneliti. Sintesis diasilgliserol melalui reaksi esterifikasi asam lemak dan gliserol dengan menggunakan enzim biokatalis 1,3-regioselektif lipase yang diimmobilisasi disertai pembuangan air secara simultan telah ditemukan dan dipatenkan. Rosu melakukan esterifikasi asam lemak dengan cara yang sama pada sistem tanpa pelarut menggunakan Lipozyme RM dan mendapatkan konversi hingga 85% (kemurnian 96%) dengan menambahkan asam kaprilat [Watanabe, 2003]. Kemudian Plou, J.F melakukan sintesis 1,3-DAG dengan jalan yang berbeda yaitu dengan menghidrolisis triolein (TAG) menggunakan enzim lipase, namun yield-nya hanya mampu menghasilkan DAG sebesar 43 % dan sebagian besar membentuk produk samping (MAG) [Watanabe, 2003]. Watanabe menginvestigasi kinetika dan kondisi reaksi esterifikasi asam lemak dan gliserol menggunakan *Lipozyme RM IM* yang diproduksi Novozymes. Hasilnya menunjukkan bahwa peningkatan suhu dan jumlah enzim yang diisi meningkatkan konsentrasi triasilgliserol yang terbentuk pada akhir reaksi . Lalu Yamane melakukan penelitian dan berhasil menghasilkan yield 1,3-DAG sekitar 90% dengan menggunakan suhu antara 48-60 °C, tekanan operasi sekitar 0,2-0,4 KPa, serta menggunakan reaksi esterifikasi antara gliserol dengan asam lemak di dalam *packed bed reactor* [Watanabe, 2003]. Namun masih belum maksimal, karena memerlukan waktu yang lama

sehingga kurang ekonomis untuk diproduksi. Akhirnya Watanabe melakukan reaksi esterifikasi antara gliserol dengan asam lemak dengan menggunakan enzim 1,3-regioselektif lipase dalam *stirred-tank bioreactor* pada suhu 50 °C dan tekanan vakum (1 mm Hg) [Yamada, 2005]. Hasilnya didapatkan yield sebesar 84 % dan kemurnian 90 %, tetapi reaktor yang digunakan tidak dapat digunakan untuk waktu yang lama (diproduksi oleh industri). Hal tersebut dikarenakan imobilisasi enzim tidak dapat dilakukan di reaktor pada massa jenis yang tinggi [Watanabe, 2004]. Kemudian watanabe kembali mencoba dengan melakukan reaksi esterifikasi antara gliserol dengan asam lemak dengan menggunakan enzim 1,3-regioselektif lipase yang terimobilisasi di dalam *packed bed bioreactor* pada suhu 50 °C dan tekanan vakum (0,4 kPa). Didapatkan DAG yield 70 % dan kemurnian sebesar 90 % (mol rasio asam lemak dan gliserol adalah 2:1). Walaupun telah berhasil menghasilkan yield yang besar, namun biaya produksi untuk menghasilkan 1,3-DAG sangatlah besar (tidak ekonomis). Hal ini dikarenakan proses esterifikasi 1,3-DAG dilakukan dengan 2 tahap, sehingga menambah biaya produksi. Untuk menyelesaikan permasalahan tersebut dilakukanlah penelitian oleh Kristensen dengan menghidrolisis TAG menggunakan berbagai enzim (Novozym 435, Lipase PS-D, dan sebagainya), namun yield DAG yang dihasilkan hanya berkisar 60-65%. Penelitian pun kembali dilakukan oleh Ling-Zhi dengan menghidrolisis minyak kelapa sawit (minyak goreng) menggunakan enzim 1,3-regioselektif lipase dalam *packed bed reactor* pada suhu 65 °C [Ling Zhi, 2007]. Hasilnya, didapatkan yield DAG sebesar 60 % sehingga masih belum dapat menggantikan cara melalui esterifikasi.

Sintesis dengan mengkombinasikan reaksi hidrolisis dan esterifikasi pada *packed bed reactor* telah dilakukan [Yamada, 1999]. Yamada melakukan hidrolisis minyak kelapa sawit dengan menggunakan uap panas sehingga minyak kelapa sawit (TAG) terhidrolisis menjadi asam lemak. Kemudian asam lemak ini akan di esterifikasi dengan gliserol secara enzimatik menghasilkan DAG dengan konsentrasi > 80%.

Sintesis DAG dengan kombinasi parsial hidrolisis dan esterifikasi menggunakan reaktor *hollow fiber membrane* secara enzimatik menggunakan enzim *Candida Rogusa* dan *Porcine Pancreatic Lipase* dengan perbandingan 3

(CRL) : 1 (PPL) telah dilakukan [Diandra, 2010]. Hasil reaksi hidrolisis tersebut yaitu asam lemak akan dilakukan reaksi esterifikasi menggunakan gliserol sehingga terbentuk senyawa DAG. Variasi yang telah dilakukan adalah variasi konsentrasi enzim, konfigurasi system reaktor, dan waktu tinggal. Kondisi operasi yang optimum pada penelitian ini yaitu 37 °C, laju alir 0,05 ml/s, konsentrasi enzim 5 mg/ml menghasilkan konsentrasi DAG sebesar 79,19 %.

Pada penelitian sebelumnya, minyak DAG yang terbentuk sebagian besar merupakan rantai ikatan jenuh dan akan mengendap, sehingga perlu pemisahan untuk mendapatkan minyak tersebut. Hal yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya yaitu pengaruh variasi konfigurasi sistem reaksi, pengaruh waktu tinggal (*residence time*), serta pengaruh konsentrasi enzim. Berdasarkan pada hasil penelitian sebelumnya, maka penelitian ini akan melakukan pengaruh komposisi enzim, uji stabilitas reaksi, serta proses pemisahan DAG dengan menggunakan reaktor yang sedikit berbeda ukurannya dengan penelitian sebelumnya.



Tabel 2. 7. State of the art

	Katalis	Rute		
		Hidrolisis	Esterifikasi	Kombinasi Hidrolisis dan Esterifikasi
Non Enzim	Katalis Alkali	Sontang, 1984		
Biokatalis Enzim Lipase	Lipase PS-D	Kristensen, 2005		
	Lipozyme RM IM	Plou, 1996 ; Kristensen, 2005; Ling, 2007,	Hirota, 1988 ; Yamane, 1994; Rosu, 1999 ; Sugiura, 2002 ; Watanabe, 2003, 2004 ; Seong, 2008	Yamada, 1999
	Mucor Meihei		Across, 2000	
	Phosphalipase A1	Wang, 2008		
	Lipase AK	Kristensen, 2005		
	Lipase F-AB15	Kristensen, 2005		
	Lipozyme TL IM	Kristensen, 2005		
	Candida rugosa	Heri H, 2006; Bao, 2007		Diandra, 2010 ; Penelitian ini
Porcine pancreatic				

Tabel 2. 8. Perbandingan dengan penelitian sebelumnya

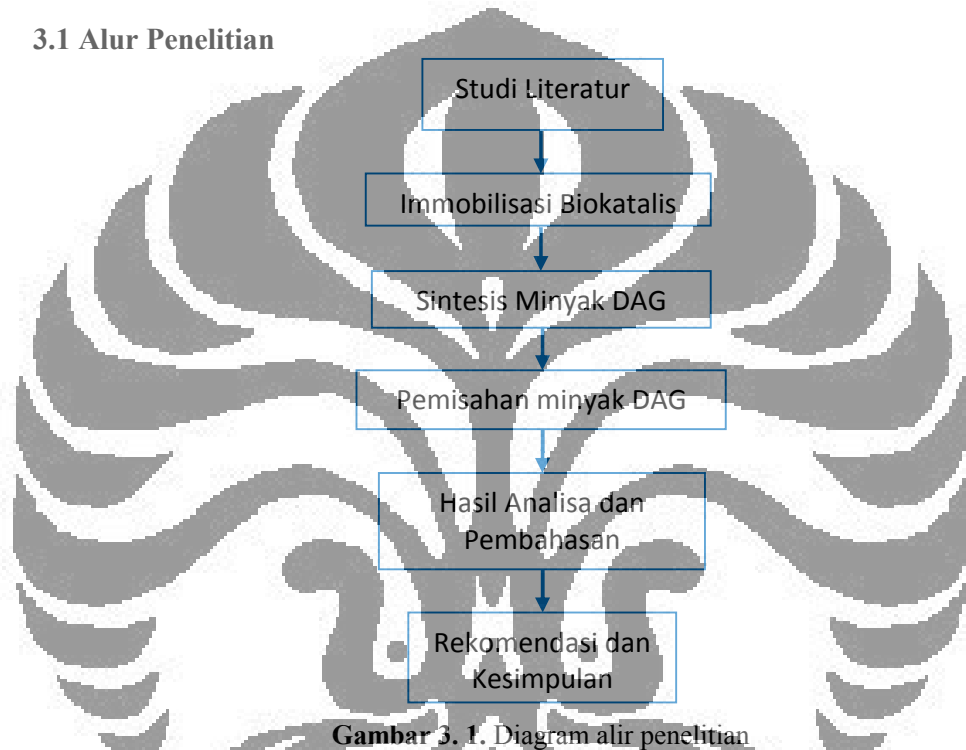
		Rute				
		Kombinasi Hidrolisis-Esterifikasi				
		Hollow Fiber Membran Reactor				
		Konsentrasi enzim	Waktu tinggal	Konfigurasi sistem reaksi	Komposisi enzim	Uji Stabilitas reaksi
Biokatalis Enzim Lipase	<i>Candida rugosa</i> <i>Porcine pancreatic</i>	Diandra [2010]			Penelitian ini Firdaus [2010]	

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

Sebagian besar penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioproses dan Laboratorium Dasar Proses Kimia (DPK), Departemen Teknik Kimia Universitas Indonesia. Sedangkan analisis sampel dilakukan di BPPT Serpong, Banten.

3.1 Alur Penelitian



Gambar 3. 1. Diagram alir penelitian

Penelitian yang dilakukan terdiri dari beberapa pekerjaan utama, yaitu:

1. Studi literatur
2. Immobilisasi Biokatalis

Proses imobilisasi biokatalis dilakukan agar biokatalis terperangkap pada permukaan material membran. Jenis membran yang akan digunakan adalah hollow fiber yang akan berfungsi selain tempat imobilisasi juga berfungsi sebagai tempat terjadinya reaksi parsial hidrolisis dan parsial esterifikasi.

Proses imobilisasi ini digunakan dengan menggunakan kombinasi larutan enzim yaitu enzim *Candida rugosa lipase* dan *Porcine pancreatic*

lipase dengan perbandingan yang divariasikan. Enzim *Candida rugosa lipase* bekerja dominan pada proses hidrolisis, dimana enzim ini berfungsi untuk memotong ikatan *fatty acid* dari triasilgliserol secara optimal sedangkan enzim *Porcine pancreatic lipase* bekerja dominan pada proses esterifikasi, dimana enzim ini bersifat selektif sehingga gliserol dapat mengikat *fatty acid* pada posisi 1,3 membentuk 1,3 diasilgliserol. Enzim dilarutkan dengan menggunakan *phosphate buffer* dengan pH = 7.

3. Sintesis Minyak DAG

Suhu operasi yang digunakan pada penelitian ini yaitu 37 °C karena pada suhu tersebut merupakan kondisi optimum dalam reaksi terbentuknya minyak DAG. Produksi minyak DAG dilakukan dengan memvariasikan waktu tinggal dan variasi perbandingan enzim yang digunakan.

4. Pemisahan Minyak DAG

Minyak hasil akhir reaksi, merupakan minyak yang telah mengandung DAG dengan konsentrasi yang tinggi. Namun, terbentuk endapan putih yang belum diketahui kandungannya. Berdasarkan analisa yang telah dilakukan endapan putih ini merupakan senyawa yang memiliki kandungan DAG, sehingga perlu adanya proses pemisahan. Proses pengendapan secara alami, membutuhkan waktu selama 3 minggu. Waktu tersebut sangatlah tidak efisien jika minyak DAG akan diproduksi secara massal (pabrikasi). Oleh karena itu perlu suatu cara untuk memisahkan endapan putih dengan proses yang cepat.

Proses penjenuhan dengan menurunkan suhu minyak dan proses pengendapan dengan menggunakan *centrifuge* yang dapat mempercepat pemisahan antara endapan putih yang memiliki kandungan DAG dengan minyak.

5. Hasil Analisa dan Pembahasan

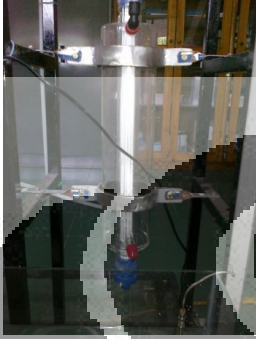






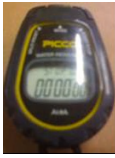
Hasil eksperimen ini diperoleh melalui analisis HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) yang terdapat di LIPI. Dengan alat ini maka kita akan mendapatkan komposisi DAG yang terdapat dalam sampel.






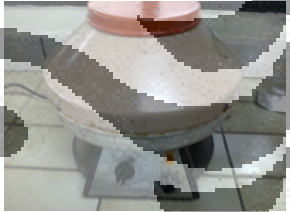

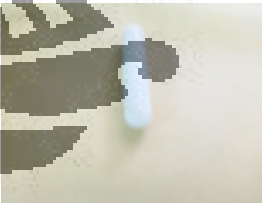
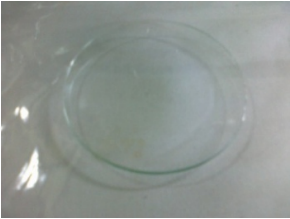
6. Kesimpulan dan Rekomendasi

3.2 Alat dan Bahan Penelitian



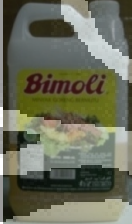
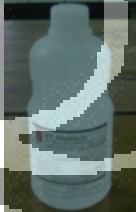
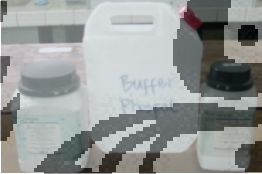



3.2.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut

<ul style="list-style-type: none"> • Reaktor Hollow Fiber beserta sistem pemanas air, sebagai tempat sintesis.  <p>Gambar 3. 2. Reaktor hollow fiber membran</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Beaker Glass, sebagai wadah penampung larutan  <p>Gambar 3. 3. Beaker glass</p>
<ul style="list-style-type: none"> • UV Spektrofotometer, untuk menganalisa konsentrasi enzim  <p>Gambar 3. 4. Spektrofotometer</p>	<ul style="list-style-type: none"> • pH Meter, untuk mengukur pH larutan <i>phosphate buffer</i>  <p>Gambar 3. 5. pH meter</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Termometer, untuk mengukur suhu air pemanas  <p>Gambar 3. 6. Termometer</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Timbangan digital, untuk mengukur berat senyawa dan enzim  <p>Gambar 3. 7. Timbangan</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Pompa peristaltik, untuk mengalirkan larutan menuju reaktor  <p>Gambar 3. 8. Pompa peristaltik</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Stopwatch, untuk mengukur waktu  <p>Gambar 3. 9. Stopwatch</p>

<ul style="list-style-type: none"> • Pipet tetes, untuk mengambil larutan  <p>Gambar 3. 10. Pipet tetes</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Botol sampel, untuk menempatkan sampel minyak  <p>Gambar 3. 11. Botol sampel</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Selang silicon, untuk mengalirkan larutan ke dalam reaktor  <p>Gambar 3. 12. Selang silikon</p>	<ul style="list-style-type: none"> • HPLC (<i>High Performance Liquid Chromatography</i>)  <p>Gambar 3. 13. Unit HPLC</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Tabung Ulir, tempat pemisahan minyak  <p>Gambar 3. 14. Tabung Ulir</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Centrifuge</i>, untuk memisahkan minyak secara fisik  <p>Gambar 3. 15. Centrifuge</p>
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Stirer</i>, untuk memutar <i>magnetic stirer</i>  <p>Gambar 3. 16. Stirer</p>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Magnetic Stirer</i>, untuk mengaduk larutan dengan sempurna  <p>Gambar 3. 17. Magnetic Stirer</p>
<ul style="list-style-type: none"> • Kaca Arlogi, wadah untuk mengukur senyawa.  <p>Gambar 3. 18. Kaca Arlogi</p>	

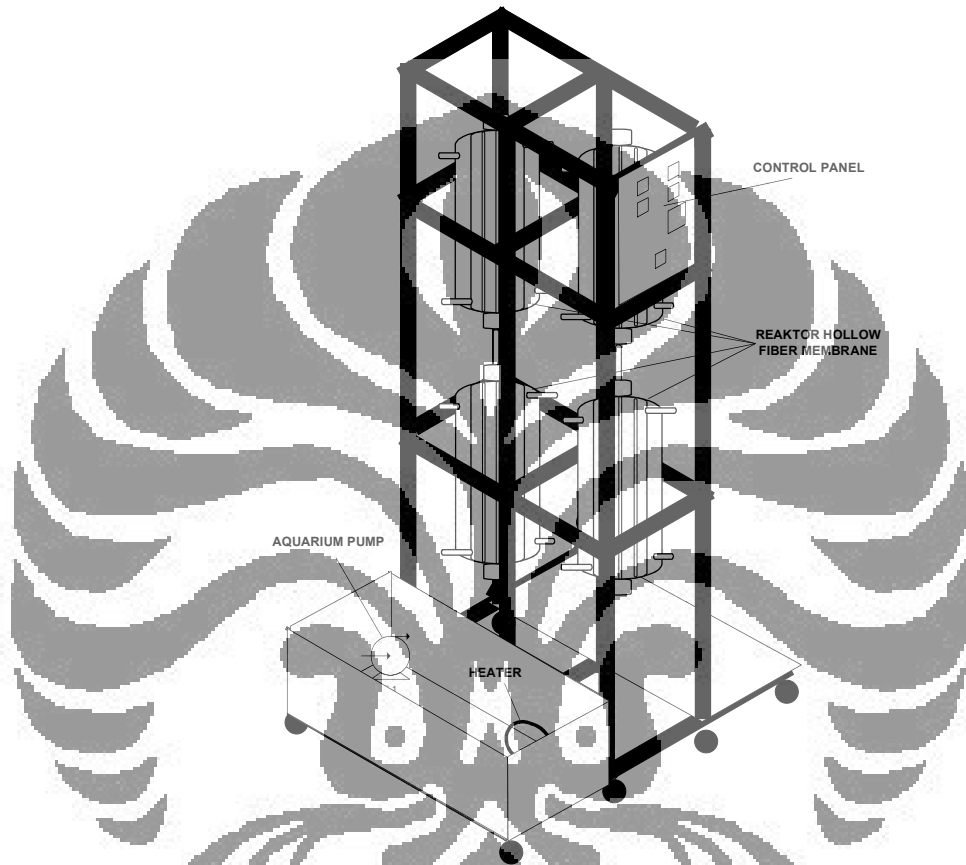
3.2.2 Bahan Penelitian

<ul style="list-style-type: none"> Enzim <i>Candida rugosa</i> lipase (Sigma.Co)  <p>Gambar 3. 19. <i>Candida rugosa</i> lipase</p>	<ul style="list-style-type: none"> Enzim <i>Porcine Pancreas lipase</i> (Sigma.Co)  <p>Gambar 3. 20. <i>Porcine pancreatic lipase</i></p>
<ul style="list-style-type: none"> Minyak goreng (Bimoli)  <p>Gambar 3. 21. Minyak goreng</p>	<ul style="list-style-type: none"> Gliserol (PT. Brataco)  <p>Gambar 3. 22. Gliserol</p>
<ul style="list-style-type: none"> Buffer Phosphate – K_2HPO_4 & KH_2PO_4 (Merck KgaA)  <p>Gambar 3. 23. Buffer phosphate</p>	<ul style="list-style-type: none"> Lowry Reagent (membuat sendiri)  <p>Gambar 3. 24. Lowry reagent</p>
<ul style="list-style-type: none"> Phenol Reagent (membuat sendiri)  <p>Gambar 3. 25. Phenol reagent</p>	<ul style="list-style-type: none"> <i>Bovine Serum Albumin</i> (BSA)  <p>Gambar 3. 26. <i>Bovine serum albumin</i></p>

3.3 Hollow Fiber Membrane Bioreactor untuk Sintesis DAG

3.3.1 Desain Sistem Reaktor Overall

Gambar desain reaktor yang akan digunakan untuk mensintesis minyak yang diperkaya dengan kandungan DAG dapat dilihat pada dibawah ini.



Gambar 3. 27. Desain Reaktor Overall

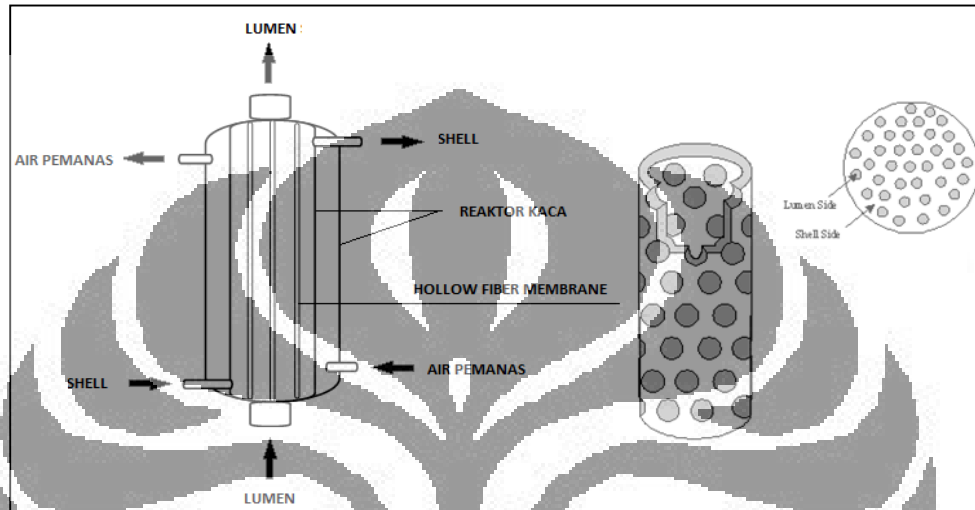
Secara keseluruhan sistem ini terdiri dari reaktor *hollow fiber membrane*, pompa peristaltik, pompa air, dan sistem pemanas.

Di dalam reaktor terdapat 2 buah lubang, yaitu lubang untuk air pemanas dan lubang untuk reaksi (shell). Sedangkan di dalam shell itu sendiri terdapat *hollow fiber membrane* yang nantinya akan berfungsi sebagai tempat reaksi baik reaksi hidrolisis dan esterifikasi.

Sistem pemanas terdiri dari *heater* yang disertai pengontrol suhu, dimana fungsinya untuk mempertahankan suhu operasi. Air yang telah

dipanaskan kemudian akan dialirkan ke dalam reaktor. Suhu operasi yang digunakan yaitu 37 °C.

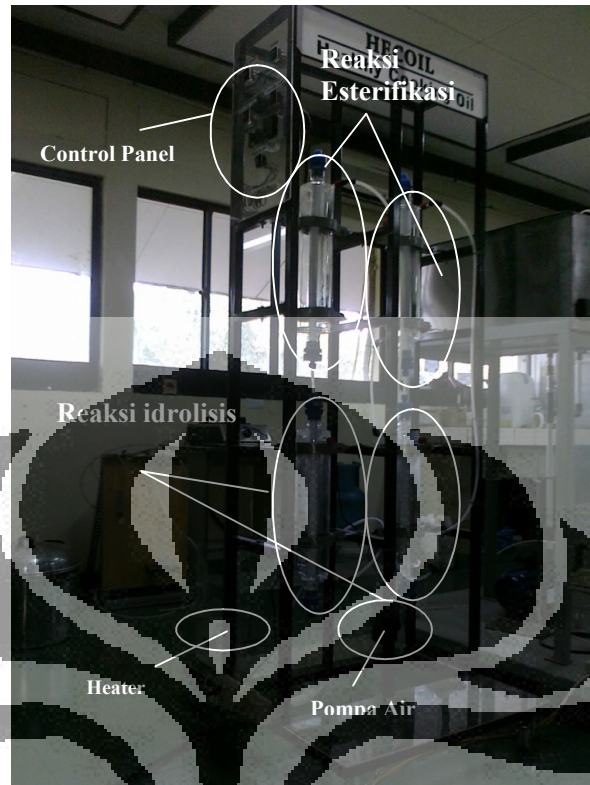
Reaktor yang digunakan dalam penelitian ini adalah reaktor *hollow fiber* membran. Reaktor *hollow fiber* membran memiliki 3 aliran masuk dan 3 aliran keluar. Skema reaktor ini dapat dilihat pada berikut:



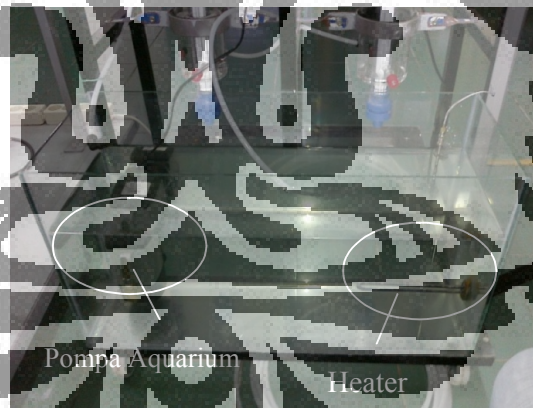
Gambar 3. 28. Skema reaktor hollow fiber membran dan hollow fiber membran

3.3.2 Sistem Reaktor Hollow Fiber Membran

Reaktor pada gambar dibawah ini menunjukkan sistem reaktor aktual yang digunakan dalam sintesis minyak kelapa sawit menjadi minyak DAG.



Gambar 3. 29. Sistem Reaktor Aktual (Tampak Depan)



Gambar 3. 30. Sistem Pemanas (Tampak Belakang)



Gambar 3. 31. *Control Panel*

Tabel 3. 1. Spesifikasi reaktor *hollow fiber membran*

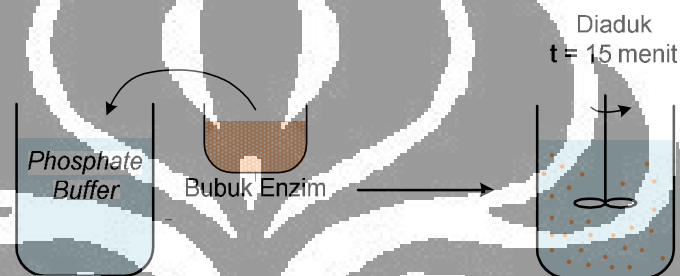
Reaktor 1		Reaktor 2	
Shell		Shell	
• Panjang	50 cm	• Panjang	50 cm
• Diameter	40 mm	• Diameter	40 mm
• Volume	2512 ml	• Volume	2512 ml
• Bahan	Kaca	• Bahan	Kaca
Lumen		Lumen	
• Panjang	50 cm	• Panjang	50 cm
• Diameter	2 mm	• Diameter	2 mm
• Volume	1,57 ml	• Volume	1,57 ml
• Jumlah	20 buah	• Jumlah	20 buah
	Membran		Membran
• Bahan	(polipropilen mikroporos hidrofobik)	• Bahan	(polipropilen mikroporos hidrofobik)

3.4 Percobaan Imobilisasi Enzim

3.4.1 Immobilisasi Enzim

Prosedur immobilisasi biokatalis adalah sebagai berikut :

1. Membuat larutan phosphet buffer 0,05 M, pH 7, dengan melarutkan senyawa K_2HPO_4 sebanyak 5,0256 gr dan KH_2PO_4 sebanyak 2,8775 gr dengan aqudest sampai 1000 ml.
2. Membuat larutan enzim dengan konsentrasi dan komposisi yang diinginkan.



Gambar 3. 32. Proses pembuatan larutan enzim

3. Menyaring larutan enzim dengan kertas saring, dengan kertas saring dan pindahkan ke *beaker glass* yang lain.
4. Mengambil 10 mL larutan enzim untuk mengukur konsentrasi enzim sebelum immobilisasi menggunakan metode Lowry dengan UV spektrofotometer.
5. Masukkan larutan enzim ke dalam *beaker glass* kemudian hubungkan ke pompa peristaltik dengan menggunakan selang. Larutan enzim tersebut akan dialirkan ke bagian *lumen* maupun *shell* pada reaktor.
6. Memastikan reaktor sudah tersambung dengan *beaker glass* (larutan enzim) dan pompa peristaltik.
7. Membuat aliran recycle pada reaktor, dengan memasukkan aliran keluaran reaktor bagian shell dan lumen ke dalam *beaker glass* yang berisi larutan enzim tersebut.

Catatan :

- Hitung berapa kali recycle dilakukan (memasukkan enzim keluaran reaktor ke dalam *beaker glass*) dengan menghitung laju alir larutan enzim dari keluaran reaktor.
8. Menutup rapat *beaker glass* (larutan enzim) yang telah terpasang selang silicon dengan plastic wrap.
 9. Nyalakan pompa peristaltik sedang dengan memvariasikan laju alir yang berbeda setiap 1 jam sekali selama 6 jam.
 10. Matikan pompa peristaltik dan keluarkan larutan enzim yang terdapat di dalam reaktor, jika imobilisasi telah selesai.
 11. Setelah proses imobilisasi selesai kosongkan reaktor baik pada bagian *lumen* maupun pada bagian *shell*.
 12. Mengambil 1 mL larutan enzim setelah imobilisasi kemudian larutan tersebut diencerkan hingga volume 20 mL dengan menggunakan *phosphate buffer* untuk mengukur konsentrasi enzim setelah imobilisasi menggunakan metode Lowry dengan UV spektrofotometer.

3.4.2 Penentuan Enzim Loading

Pembuatan Kurva Kalibrasi Standar

Tujuan dari pembuatan kurva kalibrasi ini adalah untuk mengukur konsentrasi protein dalam larutan. Metode yang digunakan adalah metode Lowry. Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam metode Lowry ini adalah sebagai berikut:

- a. Lowry Reagent (100 mL larutan A + 1 mL larutan B + 1 mL larutan C), dimana:
 - ❖ Larutan A : 2 gram Na_2CO_3 dalam 100 mL 0,1 N NaOH (0,4 gram NaOH dalam 100 mL aquadest)
 - ❖ Larutan B : 0,1 gram NaK Tartrate dalam 10 mL aquadest
 - ❖ Larutan C : 0,1 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dalam 20 mL aquadest
- b. Phenol reagent (5 mL Follin Ciocalteu phenol reagent + 5 mL aquadest)

Prosedurnya adalah sebagai berikut:

- 1) Larutan BSA dengan konsentrasi 2 mg/ml (20 mg BSA dalam 10 ml larutan *phosphate buffer*).

- 2) Memvariasikan konsentrasi BSA menjadi beberapa konsentrasi dengan cara mengencerkan 2 mg/ml larutan BSA yang telah dibuat. Kemudian menyiapkan tiap-tiap larutan pada tabung reaksi.

Tabel 3. 2. Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat kurva kalibrasi

Konsentrasi Awal (mg/ml)	Konsentrasi Akhir ($\mu\text{g/ml}$)	Volume Awal (μl)	Volume Akhir (ml)
2	100	50	1
2	200	100	1
2	500	250	1
2	1000	500	1

- 3) Menambahkan 5 mL Lowry Reagent ke setiap sampel konsentrasi BSA
- 4) Menginkubasi selama 10 menit pada suhu ruang.
- 5) Menambahkan 0,5 mL larutan phenol reagent pada setiap tabung.
- 6) Vortex (melakukan pencampuran dengan bantuan vibrator) segera setiap tabung tersebut.
- 7) Menginkubasi selama 30 menit pada suhu ruang.
- 8) Mengambil tiap sampel ke dalam kuvet.
- 9) Menentukan absorbansi setiap sampel menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 750 nm. (Sampel dibuat triplo dan blanko menggunakan larutan *phosphate buffer*)
- 10) Memplot absorbansi vs gram/mL BSA untuk memperoleh kurva kalibrasi standar.

Pengukuran Enzim Loading

Mengukur absorbansi tiap sampel dengan menggunakan metode Lowry. Enzim *loading* dihitung dengan menggunakan rumus :

$$m_{im} = m_0 - m_t \quad (1)$$

$$\text{Enzyme loading} = \frac{m_{im}}{L_{membran}} \quad (2)$$

Dengan :

m_{im}	= massa enzim ter-immobilisasi	(mg)
m_o	= massa enzim sebelum immobilisasi, $t = 0$	(mg)
m_t	= massa enzim pada waktu t	(mg)
$L_{membran}$	= Luas total membran = 628 cm^2	

3.5 Percobaan Produksi Minyak DAG

3.5.1 Pengaruh Konfigurasi Sistem Reaksi

1. Mengambil 700 ml larutan *phosphate buffer* ke dalam *beaker glass*, tutup *beaker glass* dengan plastic wrap.
2. Mengambil 600 ml larutan gliserol ke dalam *beaker glass*, tutup *beaker glass* dengan plastic wrap.
3. Mengambil minyak goreng ke dalam *beaker glass*, tutup *beaker glass* dengan plastic wrap.
4. Meletakkan ketiga *beaker glass* berisi larutan *phosphate buffer*, gliserol, dan minyak goreng di dekat pompa peristaltik.
5. Memvariasikan posisi larutan sesuai dengan yang diharapkan.

Tabel 3. 3. Variasi konfigurasi system konfigurasi

Eksperimen	Konfigurasi			
	Reaktor 1 (Hidrolisis)		Reaktor 2 (Esterifikasi)	
	Lumen	Shell	Lumen	Shell
1	Minyak	Phosphate buffer	Minyak	Gliserol
2	Phosphate buffer	Minyak	Gliserol	Minyak

6. Memastikan selang silicon sudah tersambung dengan benar pada setiap bagian reaktor sesuai dengan fungsinya.
7. Membuat aliran recycle pada reaktor, dengan memasukkan aliran keluaran reaktor ke dalam *beaker glass* yang berisi masing-masing larutan
8. Menyediakan wadah/*beaker glass* untuk menampung minyak DAG yang keluar.

9. Menutup rapat ketiga *beaker glass* (larutan *phosphate buffer*, gliserol, minyak goreng) yang telah terpasang selang silicon dengan plastic wrap.
10. Menyalakan kedua pompa peristaltik dan set sesuai dengan laju alir laju alir 0,05 ml/s.
11. Memisahkan hasil keluaran (DAG) setiap 1 jam sekali ke botol sampel yang berbeda.
12. Melakukan reaksi tersebut sampai 9 jam reaksi
13. Mematikan pompa peristaltik dan keluarkan seluruh larutan yang terdapat di dalam reaktor, jika reaksi telah selesai.

3.5.2 Pengaruh Komposisi Enzim

1. Memvariasikan komposisi larutan enzim pada proses imobilisasi enzim dengan komposisi jenis enzim yang diinginkan.

Tabel 3. 4. Variasi komposisi enzim

Eksperimen	C _E (mg/ml)	Rasio Perbandingan			
		CRL	Massa (gr)	PPL	Massa (gr)
1	5	1	2,5	1	2,5
3	5	3	3,75	1	1,25
4	5	1	1,25	3	3,75
5	5	1	5	0	0

2. Mengambil 700 ml larutan *phosphate buffer* ke dalam *beaker glass*, tutup *beaker glass* dengan plastic wrap.
3. Mengambil 600 ml larutan gliserol ke dalam *beaker glass*, tutup *beaker glass* dengan plastic wrap.
4. Mengambil minyak goreng ke dalam *beaker glass*, tutup *beaker glass* dengan plastic wrap.
5. Meletakkan ketiga *beaker glass* berisi larutan *phosphate buffer*, gliserol, dan minyak goreng di dekat pompa peristaltik.
6. Menghubungkan selang silicon pada reaktor bawah bagian shell dan *beaker glass* (*phosphate buffer* → hidrolisis) dengan melewatkannya pada pompa peristaltik I (besar).

7. Menghubungkan selang silicon pada reaktor atas bagian shell dengan *beaker glass* (gliserol → esterifikasi) dengan melewatkannya pada pompa peristaltik II (sedang).
8. Menghubungkan selang silicon pada reaktor bawah bagian lumen dengan *beaker glass* (minyak goreng) dengan melewatkannya pada pompa peristaltik III (kecil).
9. Memastikan selang silicon sudah tersambung dengan benar pada setiap bagian reaktor sesuai dengan fungsinya.
10. Membuat aliran recycle pada reaktor, dengan memasukkan aliran keluaran reaktor ke dalam *beaker glass* yang berisi masing-masing larutan
11. Menyediakan wadah/*beaker glass* untuk menampung minyak DAG yang keluar.
12. Menutup rapat ketiga *beaker glass* (larutan *phosphate buffer*, gliserol, minyak goreng) yang telah terpasang selang silicon dengan plastic wrap.
13. Menyalakan kedua pompa peristaltik dan set sesuai dengan laju alir laju alir 0,05 ml/s.
14. Memisahkan hasil keluaran (DAG) setiap 1 jam sekali ke botol sampel yang berbeda.
15. Melakukan reaksi tersebut sampai 9 jam reaksi
16. Mematikan pompa peristaltik dan keluarkan seluruh larutan yang terdapat di dalam reaktor, jika reaksi telah selesai.

3.5.3 Pengaruh Variasi Waktu Tinggal

1. Menggunakan konsentrasi 5 mg/ml dengan komposisi enzim CRL (3) : PPL (1) pada proses imobilisasi enzim.
2. Mengambil 700 ml larutan *phosphate buffer* ke dalam *beaker glass*, tutup *beaker glass* dengan plastic wrap.
3. Mengambil 600 ml larutan gliserol ke dalam *beaker glass*, tutup *beaker glass* dengan plastic wrap.

4. Mengambil minyak goreng ke dalam *beaker glass*, tutup *beaker glass* dengan plastic wrap.
5. Meletakkan ketiga *beaker glass* berisi larutan *phosphate buffer*, gliserol, dan minyak goreng di dekat pompa peristaltik.
6. Menghubungkan selang silicon pada reaktor bawah bagian shell dan *beaker glass* (*phosphate buffer* → hidrolisis) dengan melewatkannya pada pompa peristaltik I (besar).
7. Menghubungkan selang silicon pada reaktor atas bagian shell dengan *beaker glass* (gliserol → esterifikasi) dengan melewatkannya pada pompa peristaltik II (sedang).
8. Menghubungkan selang silicon pada reaktor bawah bagian lumen dengan *beaker glass* (minyak goreng) dengan melewatkannya pada pompa peristaltik III (kecil).
9. Memastikan selang silicon sudah tersambung dengan benar pada setiap bagian reaktor sesuai dengan fungsinya.
10. Membuat aliran recycle pada reaktor, dengan memasukkan aliran keluaran reaktor ke dalam *beaker glass* yang berisi masing-masing larutan
11. Menyediakan wadah/*beaker glass* untuk menampung minyak DAG yang keluar.
12. Menyalakan kedua pompa peristaltik dan set sesuai dengan laju alir yang telah ditentukan.

Tabel 3. 5. Variasi waktu tinggal

Eksperimen	Konsentrasi Enzim (mg/ml)	Suhu Operasi (°C)	Laju Alir Minyak (mL/detik)
3	5	37	0,05
8	5	37	0,02

13. Memisahkan hasil keluaran (DAG) setiap 1 jam sekali ke botol sampel yang berbeda.
14. Melakukan reaksi tersebut sampai 9 jam reaksi
15. Mematikan pompa peristaltik dan keluarkan seluruh larutan yang terdapat di dalam reaktor, jika reaksi telah selesai.

3.5.4 Pengaruh Uji Stabilitas Reaksi

1. Menggunakan komposisi enzim CRL (3) : PPL (1) pada proses imobilisasi enzim.
2. Mengambil 700 ml larutan *phosphate buffer* ke dalam *beaker glass*, tutup *beaker glass* dengan plastic wrap.
3. Mengambil 600 ml larutan gliserol ke dalam *beaker glass*, tutup *beaker glass* dengan plastic wrap.
4. Mengambil minyak goreng ke dalam *beaker glass*, tutup *beaker glass* dengan plastic wrap.
5. Meletakkan ketiga *beaker glass* berisi larutan *phosphate buffer*, gliserol, dan minyak goreng di dekat pompa peristaltik.
6. Menghubungkan selang silicon pada reaktor bawah bagian shell dan *beaker glass* (*phosphate buffer* → hidrolisis) dengan melewatkannya pada pompa peristaltik I (besar).
7. Menghubungkan selang silicon pada reaktor atas bagian shell dengan *beaker glass* (gliserol → esterifikasi) dengan melewatkannya pada pompa peristaltik II (sedang).
8. Menghubungkan selang silicon pada reaktor bawah bagian lumen dengan *beaker glass* (minyak goreng) dengan melewatkannya pada pompa peristaltik III (kecil).
9. Memastikan selang silicon sudah tersambung dengan benar pada setiap bagian reaktor sesuai dengan fungsinya.
10. Membuat aliran recycle pada reaktor, dengan memasukkan aliran keluaran reaktor ke dalam *beaker glass* yang berisi masing-masing larutan.
11. Menyediakan wadah/*beaker glass* untuk menampung minyak DAG yang keluar.
12. Menutup rapat ketiga *beaker glass* (larutan *phosphate buffer*, gliserol, minyak goreng) yang telah terpasang selang silicon dengan plastic wrap.
13. Menyalakan kedua pompa peristaltik dan set sesuai dengan laju alir laju alir 0,05 ml/s.

14. Memisahkan hasil keluaran (DAG) setiap 1 jam sekali ke botol sampel yang berbeda.
15. Melakukan reaksi tersebut sampai 9 jam reaksi
16. Mematikan pompa peristaltik dan keluarkan seluruh larutan yang terdapat di dalam reaktor, jika reaksi telah selesai.

Tabel 3. 6. Parameter eksperimen yang dilakukan

Parameter	Eksperimen 3 & 6
Suhu operasi (°C)	37
Laju alir (ml/s)	0,05
Konsentrasi enzim (mg/ml)	5
Perbandingan komposisi enzim	3 (CRL) : 1 (PPL)
Massa enzim (gr)	CRL : 3,75 PPL : 1,25
Konfigurasi sistem reaksi	<p><u>Reaktor 1</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Shell : PhosphateBuffer ▪ Lumen : Minyak <p><u>Reaktor 2</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Shell : Gliserol ▪ Lumen : Minyak hasil reaktor 1

3.6 Percobaan Pemisahan Minyak DAG

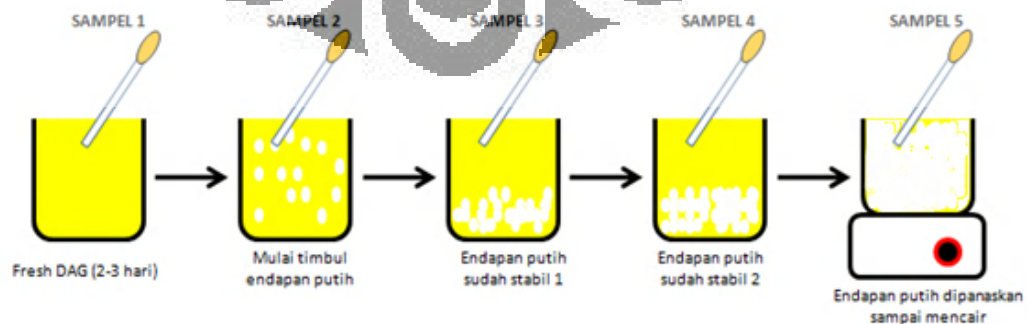
3.6.1 Investigasi Pengendapan

1. Menampung minyak hasil reaksi (*fresh*) pada jam ke-5 sampai jam ke-9, ke dalam botol 1 liter.
2. Membaginya ke dalam 5 botol berbeda
3. Menimbang berat masing-masing minyak dan mencatatnya.
4. Mengambil sampel 1 yaitu minyak hasil reaksi yang masih *fresh* ke dalam botol sampel. Mengambil ± 3 ml minyak sampel 1 untuk dianalisa menggunakan HPLC.
5. Mengambil sampel 2 yaitu minyak hasil reaksi ketika mulai timbul endapan putih ke dalam botol sampel. Mengambil ± 3 ml minyak sampel 2 untuk dianalisa menggunakan HPLC. Amati dan catat waktu yang dibutuhkan sampai minyak hasil reaksi mulai timbul kembali endapan putih.

6. Mengambil sampel 3 yaitu minyak hasil reaksi ketika endapan putih sudah tidak terbentuk (stabil) ke dalam botol sampel. Mengambil ± 3 ml minyak sampel 3 untuk dianalisa menggunakan HPLC. Amati dan catat waktu yang dibutuhkan sampai endapan putih sudah stabil pada waktu 1 .
7. Mengambil sampel 4 yaitu minyak hasil reaksi ketika endapan putih sudah tidak terbentuk (stabil) ke dalam botol sampel. Mengambil ± 3 ml minyak sampel 4 untuk dianalisa menggunakan HPLC. Amati dan catat waktu yang dibutuhkan sampai endapan putih sudah stabil pada waktu 2.
8. Memisahkan minyak yang masih tersisa dari botol 1 liter dengan endapan putih yang terbentuk.
9. Mengambil endapan putih yang terbentuk lalu panaskan dengan suhu suhu $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, sampai mencair seluruhnya kemudian pindahkan kedalam botol sampel. Timbang berat endapan putih yang terbentuk.
10. Mengambil sampel 5, yaitu endapan putih yang telah mencair.

Tabel 3. 7. Pengambilan sampel pada investigasi pengendapan

Sampel	Pengambilan Sampel
1	Setelah selesai reaksi (<i>fresh</i>)
2	Mulai timbul endapan putih
3	Endapan putih sudah stabil waktu 1
4	Endapan putih sudah stabil waktu 2
5	Endapan putih

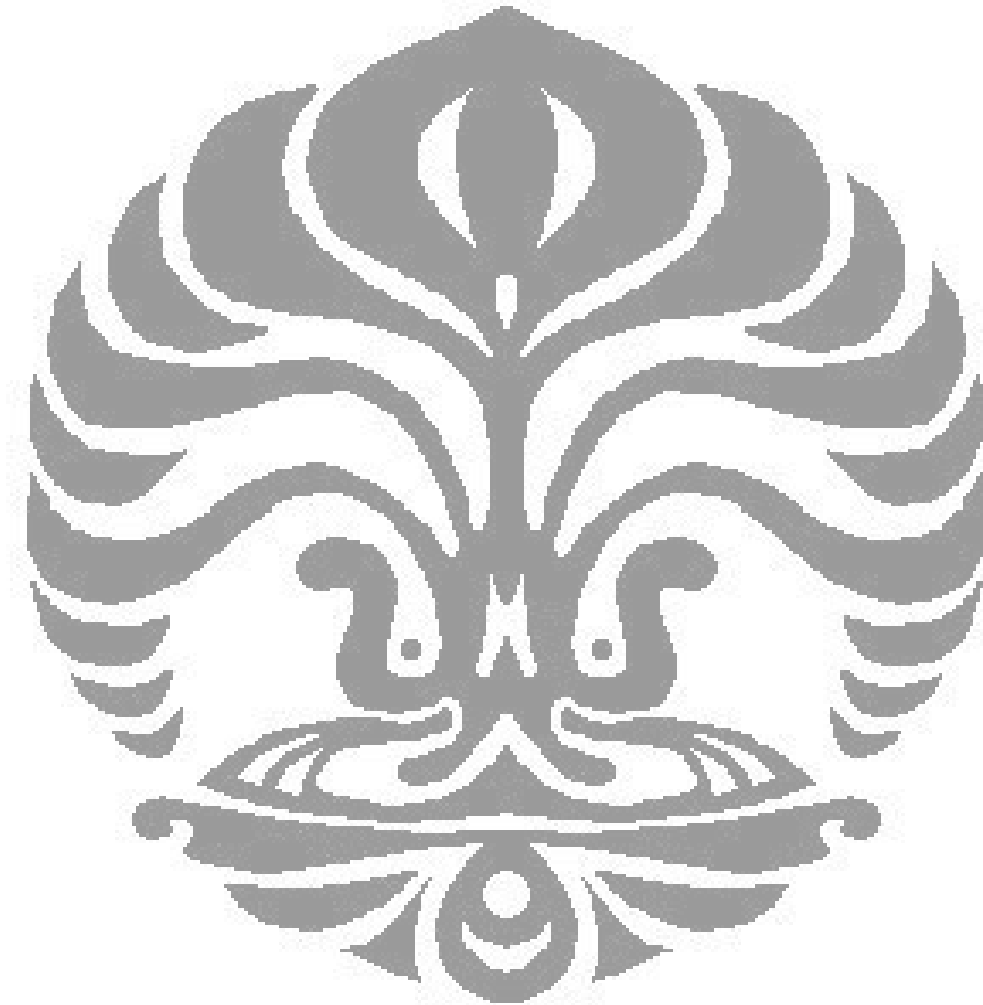


Gambar 3. 33. Sampel-sampel yang akan diambil pada setiap waktu perubahan

3.6.2 Percobaan Pemisahan

1. Mengambil sampel minyak yang sudah mengendap dan akan dipisahkan.
2. Memisahkan antara minyak dengan endapan putih yang terbentuk.
3. Memanaskan endapan putih sampai mencair dan memindahkannya ke dalam tabung *centrifuge*.
4. Memvariasikan proses pemisahan
 - a. Proses pemisahan I (Proses pembekuan dan *centrifuge*)
 - Membekukan sampel minyak di dalam lemari es dengan suhu $\pm 2,08$ °C sampai seluruh sampel membeku (± 10 menit).
 - Memasukkan sampel minyak ke dalam *centrifuge* selama 10 menit, dengan laju putaran 1200-1300 rpm.
 - Memisahkan secara fisik masing-masing minyak dengan endapan putih yang sudah mengendap di dasar tabung.
 - Mengambil sampel minyak (sampel 6) dan endapan putih yang mengendap (sampel 7).
 - b. Proses pemisahan II (Proses pendinginan dan *centrifuge*)
 - Mendinginkan sampel minyak di dalam lemari es dengan suhu $\pm 2,08$ °C sampai seluruh sampel mulai mengental/hampir membeku (± 7 menit).
 - Memasukkan sampel minyak yang sudah didinginkan ke dalam *centrifuge* selama 10 menit, dengan laju putaran 1200-1300 rpm.
 - Memisahkan secara fisik masing-masing minyak dengan endapan putih yang sudah mengendap di dasar tabung.
 - Mengambil sampel minyak (sampel 8) dan endapan putih yang mengendap (sampel 9).
 - c. Proses pemisahan III (*centrifuge*)
 - Memasukkan sampel minyak ke dalam *centrifuge* selama 10 menit, dengan laju putaran 1200-1300 rpm.

- Memisahkan secara fisik masing-masing minyak dengan endapan putih yang sudah mengendap di dasar tabung.
- Mengambil sampel minyak (sampel 10) dan endapan putih yang mengendap (sampel 11).



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Immobilisasi Biokatalis

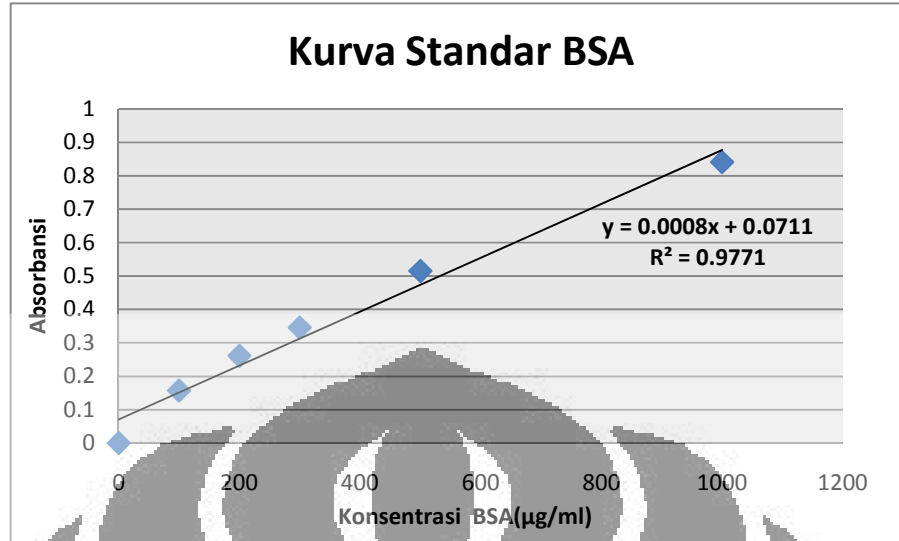
4.1.1 Kurva Kalibrasi Penentuan *Enzyme Loading*

Untuk menentukan enzim loading diperlukan kurva kalibrasi. Pembuatan kurva kalibrasi bertujuan untuk mengukur konsentrasi protein yang terdapat di dalam larutan. Sampel yang diambil akan diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis kemudian dicatat nilai absorbansinya. Metode yang digunakan adalah Metode *Lowry*. Metode ini didasari pada reaksi antara protein dengan *Folin-Ciocalteu* yang menyebabkan perubahan fisis pada larutan. Perubahan fisis ini meliputi perubahan larutan dari bening menjadi berwarna biru. Semakin banyak kadar protein di dalam larutan, warna biru yang dihasilkan akan semakin pekat.



Gambar 4. 1. BSA yang digunakan sebagai standar untuk kalibrasi konsentrasi enzim

Sampel protein yang digunakan dalam pembuatan kurva kalibrasi ini adalah BSA (*Bovine Serum Albumin*) dimana kadar kandungan proteinnya mendekati kemurnian.



Gambar 4. 2. Kurva standar BSA (metode Lowry)

4.1.2 Hasil Perhitungan Enzim Loading

Dari kurva kalibrasi standar protein yang dibuat diperoleh persamaan garis linear $y = 0,0008x + 0,0711$, dimana x merupakan konsentrasi protein (g/mL) dan y adalah absorbansi. Persamaan linear tersebut nantinya digunakan untuk mengukur konsentrasi larutan enzim dari nilai absorbansinya.

Banyaknya enzim yang dapat teradsorpsi ke dalam hollow fiber membran dapat dihitung menggunakan persamaan berikut:

$$m_{im} = m_0 - m_t \quad (3)$$

$$\text{Enzyme loading} = \frac{m_{im}}{L_{membran}} \quad (4)$$

dimana:

m_{im} = massa enzim ter-immobilisasi (mg)

m_0 = massa enzim sebelum immobilisasi, $t = 0$ (mg)

m_t = massa enzim pada waktu t (mg)

$L_{membran}$ = Luas membran reaktor (1256 cm²)

Reaktor 1 = 628 cm²

Reaktor 2 = 628 cm²

Dari persamaan di atas dapat disimpulkan bahwa setelah immobilisasi, konsentrasi enzim akan semakin berkurang. Enzim yang terlarut dalam buffer akan teradsorp pada pori membran seiring dengan teradsorptnya molekul air pada membran. Enzim *loading* dihitung untuk setiap eksperimen.

Data enzim *loading* eksperimen ini disajikan pada tabel dibawah ini. Pada eksperimen ini, immobilisasi enzim seluruhnya dilakukan dengan melakukan sirkulasi enzim di dalam lumen dan shell selama 6 jam, dengan demikian, massa enzim pada saat t (m_t) adalah massa enzim pada waktu 6 jam setelah immobilisasi. Immobilisasi enzim dilakukan sebelum reaksi dilakukan.

Tabel 4. 1. Data enzim loading pada reaktor

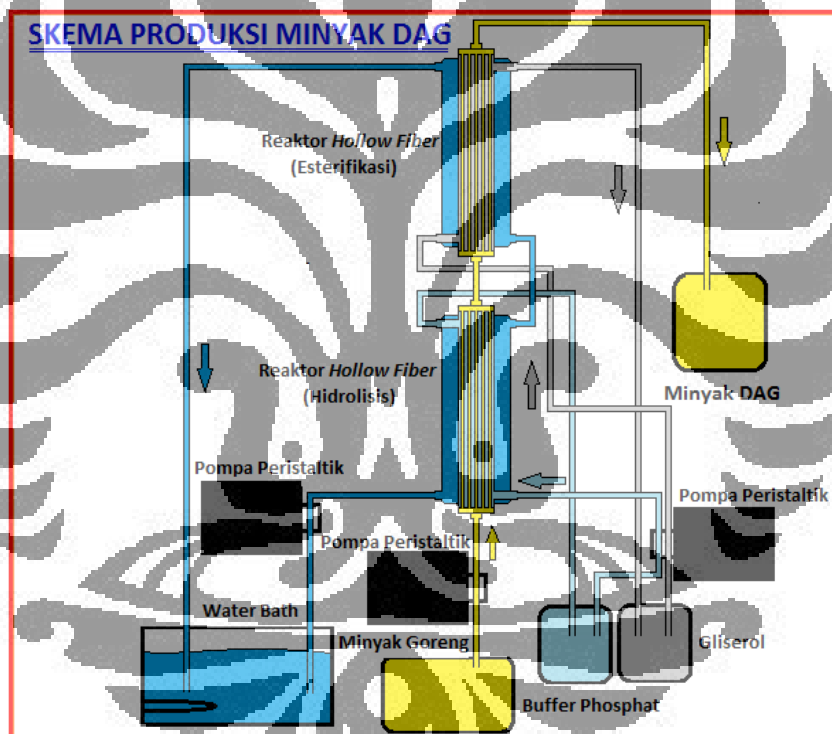
Eksperimen		Absorbansi	Konsentrasi	Massa Enzim	m_{im}	Enzyme loading
			(mg/mL)	(mg)	(mg)	
Eksperimen 1	m_0	0,19	5,00	5000	1261,56	1,0044
	m_t	0,16	3,74	3738,44		
Eksperimen 2	m_0	0,194	5,00	5000	854,35	0,6802
	m_t	0,173	4,15	4145,65		
Eksperimen 3	m_0	0,135	5,00	5000	2347,42	1,8690
	m_t	0,105	2,65	2652,58		
Eksperimen 4	m_0	0,243	5,00	5000	581,73	0,4632
	m_t	0,223	4,42	4418,27		
Eksperimen 5	m_0	0,148	5,00	5000	2795,84	2,2260
	m_t	0,105	2,20	2204,16		
Eksperimen 6	m_0	0,166	5,00	5000	737,62	0,5873
	m_t	0,152	4,26	4262,38		

Enzyme loading sangat ditentukan oleh adsorpsi fisik yang terjadi saat immobilisasi, dan kemampuan menyerap enzim pada permukaan membran sebagai *support*.

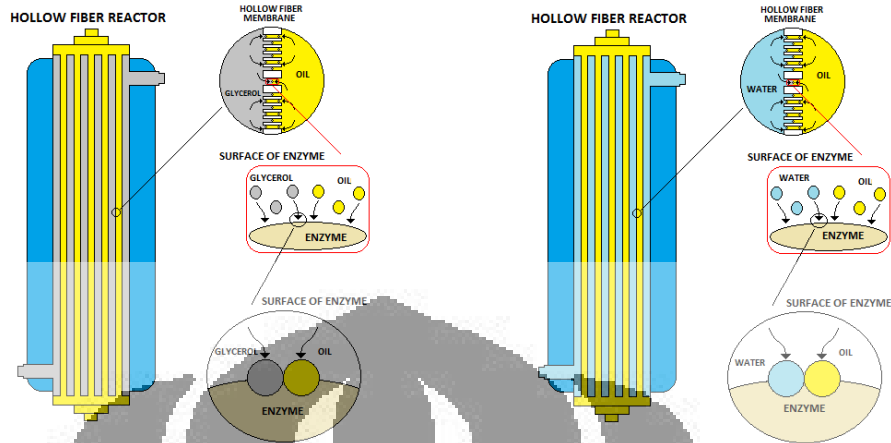
4.2 Hasil Produksi Minyak DAG

Proses reaksi yang terjadi yaitu hidrolisis dan esterifikasi, dimana kedua reaksi tersebut dilakukan secara berturut-turut dalam 2 reaktor *hollow fiber*

membrane yang berbeda. Proses awal dilakukan dengan melakukan proses immobilisasi larutan enzim selama 6 jam pada kedua reaktor. Kemudian setelah kedua reaktor telah terimmobilisasi enzim, reaktor kemudian diisi dengan larutan senyawa yang berbeda tergantung proses reaksi yang akan dilakukan. Untuk proses hidrolisis, reaktor dimasukan larutan *phosphate buffer*. Sedangkan untuk proses esterifikasi, reaktor dimasukan larutan gliserol. Setelah semua persiapan siap, minyak goreng lalu dialirkan menuju reaktor 1, untuk mengalami reaksi hidrolisis antara air (*phospahe buffer*) dengan minyak. Kemudian hasil dari keluaran reaktor 1 akan dimasukkan kembali ke reaktor 2, untuk mengalami reaksi esterifikasi antara FFA dengan gliserol.



Gambar 4. 3. Diagram skematik alat pada sintesis minyak DAG



Gambar 4. 4. Diagram skematik proses reaksi hidrolisis (kanan) dan esterifikasi (kiri)

Kondisi operasi yang digunakan untuk mensintesis minyak DAG menggunakan biokatalis yang terimmobilisasi dalam reaktor *hollow fiber membrane* adalah sebagai berikut:

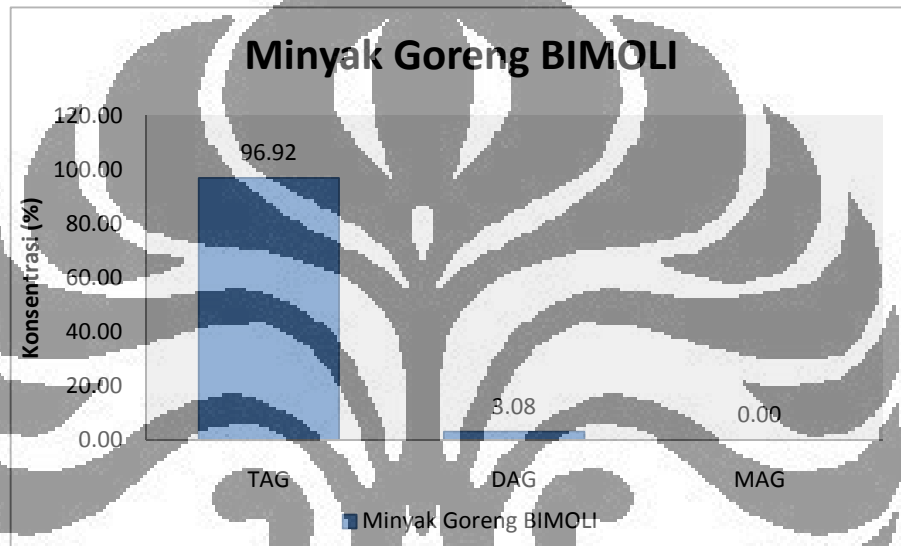
- Temperatur : 37 °C
- Konsentrasi Enzim : 5 mg/ml



Gambar 4. 5. Minyak DAG *fresh* (kiri) dan minyak goreng BIMOLI (kanan)

Kurva hasil analisis HPLC terdiri dari kurva standar HPLC dan kurva HPLC untuk sintesis diasilgliserol melalui reaksi parsial hidrolisis dan parsial

esterifikasi dalam reaktor membran *hollow fiber*. Gambar kurva HPLC dapat dilihat pada lampiran. Standar yang digunakan dalam analisa HPLC adalah standar biodiesel dimana dapat melihat senyawa asam oleat, triolein, diolein, dan monoolein. Dengan demikian TAG diwakili oleh triolein, DAG diwakili oleh diolein, dan MAG diwakili oleh monoolein. Komponen oleat digunakan karena mewakili jumlah komponen asam lemak terbesar di dalam kandungan trigliserida pada minyak kelapa sawit. Data standar HPLC digunakan sebagai acuan untuk menghitung konsentrasi dari sampel.



Gambar 4. 6. Kandungan senyawa dalam minyak goreng BIMOLI

Perhitungan konsentrasi dan kemurnian produk DAG yang dihasilkan dilakukan dengan menggunakan persamaan reaksi dan rumus-rumus seperti di bawah ini.

$$= \frac{3[\] + 2[\] + [\] + [\]}{3[\] + 2[\] + [\] + [\]}$$

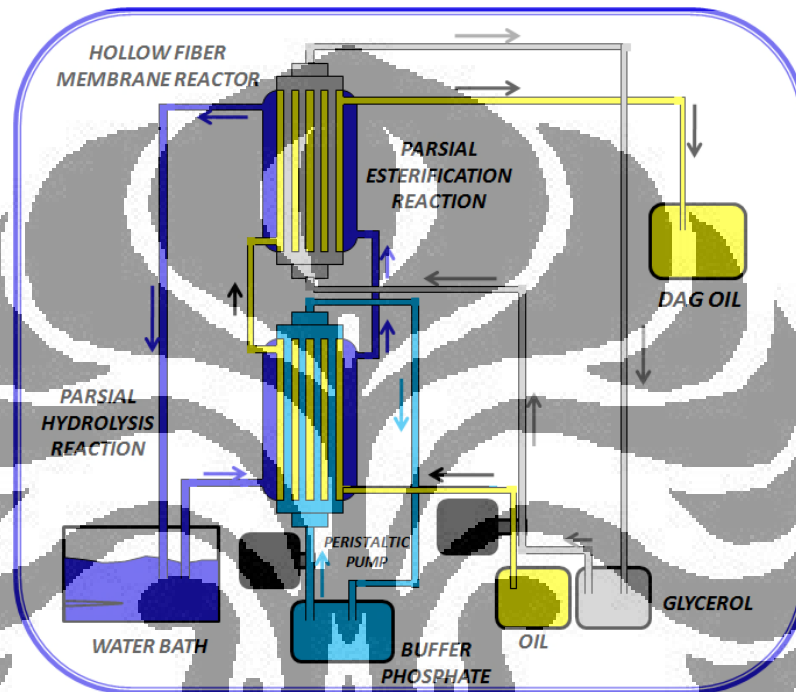
(5)

$$Kemurnian DAG(\%) = \frac{[DAG]}{[DAG] + [TAG] + [DAG]} \times 100\%$$

(6)

4.2.1 Hasil Konfigurasi Sistem Reaksi

Eksperimen variasi konfigurasi ini dilakukan dengan memvariasikan posisi larutan pada masing-masing reaktor. Tujuan dari eksperimen ini adalah untuk melihat konfigurasi arah aliran mana yang dapat menghasilkan konversi minyak DAG yang lebih tinggi.



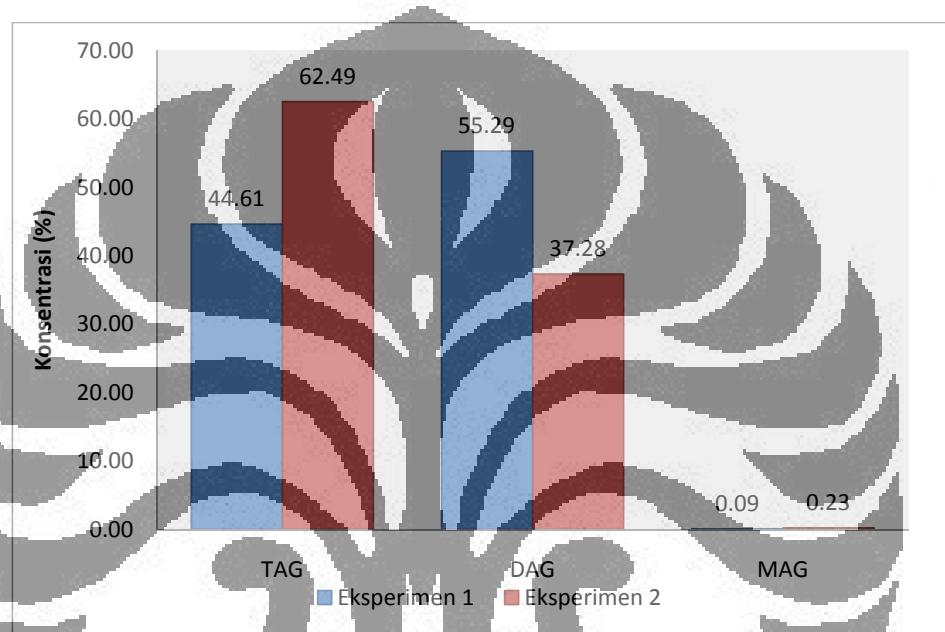
Gambar 4. 7. Variasi konfigurasi sistem reaksi (eksperimen 2)

Tabel 4. 2. Data variasi konfigurasi sistem reaksi

Eksp.	Konfigurasi				Komposisi Minyak			
	Reaktor 1 (Hidrolisis)		Reaktor 2 (Esterifikasi)		TAG (mol/L)	DAG (mol/L)	MAG (mol/L)	FA (mol/L)
	Lumen	Shell	Lumen	Shell				
1	Minyak	Phosphate buffer	Minyak	Gliserol	$5,3 \times 10^{-4}$	$6,5 \times 10^{-4}$	$1,1 \times 10^{-6}$	$3,84 \times 10^{-3}$
2	Phosphate buffer	Minyak	Gliserol	Minyak	$8,3 \times 10^{-4}$	$4,9 \times 10^{-4}$	3×10^{-6}	$1,01 \times 10^{-3}$

Tabel 4. 3. Konsentrasi variasi konfigurasi sistem reaksi

Eksperimen	Komposisi Minyak			Kemurnian DAG (%)
	TAG (%)	DAG (%)	MAG (%)	
1	44,61	55,29	0,09	55,29
2	62,49	37,28	0,23	37,28

**Gambar 4. 8.** Perbandingan konsentrasi TAG, DAG, dan MAG pada eksperimen pengaruh konfigurasi sistem reaksi

Pada gambar 4.8 terlihat bahwa konfigurasi posisi larutan dalam reaktor mempengaruhi hasil reaksi yang terjadi. Konversi DAG yang tertinggi dilakukan dengan menempatkan minyak pada bagian lumen reaktor dan larutan *phosphate buffer* serta gliserol pada bagian shell reaktor (eksperimen 1). Maka dapat disimpulkan bahwa konfigurasi pada eksperimen 1 lebih baik daripada eksperimen 2, karena konversi minyak DAG-nya yang lebih tinggi.

4.2.2 Hasil Variasi Komposisi Enzim

Larutan enzim yang digunakan merupakan larutan enzim yang berasal dari campuran larutan enzim *Candida rugosa Lipase* (CRL) dengan *Porcine pancreatic Lipase* (PPL). Eksperimen ini dilakukan dengan memvariasikan

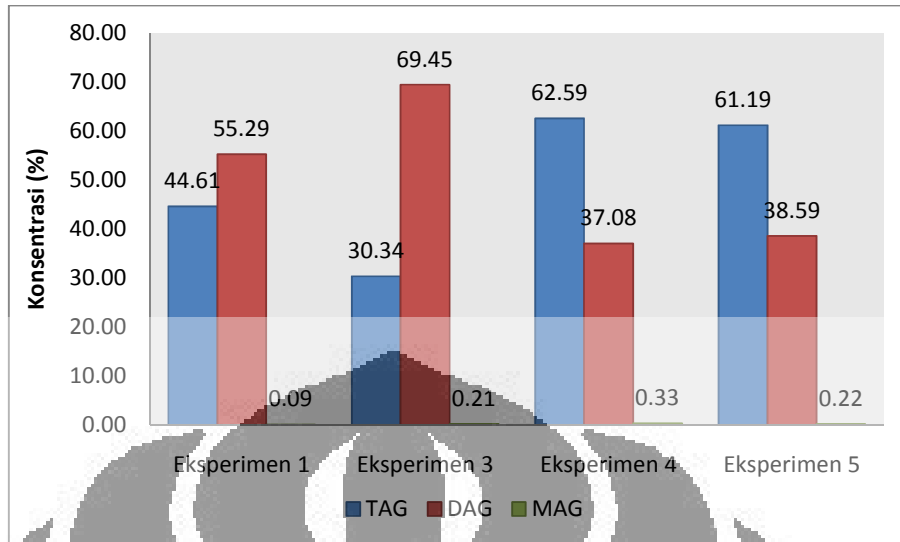
perbandingan komposisi larutan enzim yang akan di immobilisasi di dalam reaktor hollow fiber membran. Tujuan dari eksperimen ini adalah untuk melihat rasio larutan enzim yang optimal pada produksi minyak DAG.

Tabel 4. 4. Data komposisi minyak pada variasi komposisi enzim

Eksp.	C_E (mg/ml)	Rasio Perbandingan				Komposisi Minyak			
		CRL	Massa (gr)	PPL	Massa (gr)	TAG (mol/L)	DAG (mol/L)	MAG (mol/L)	FA (mol/L)
1	5	1	2,5	1	2,5	$5,3 \times 10^{-4}$	$6,5 \times 10^{-4}$	$1,1 \times 10^{-6}$	$3,84 \times 10^{-3}$
3	5	3	3,75	1	1,25	$4,5 \times 10^{-4}$	$1,03 \times 10^{-3}$	$3,2 \times 10^{-6}$	$5,98 \times 10^{-3}$
4	5	1	1,25	3	3,75	$1,25 \times 10^{-3}$	$7,4 \times 10^{-4}$	1×10^{-5}	$1,514 \times 10^{-2}$
5	5	1	5	0	0	$1,23 \times 10^{-3}$	$7,7 \times 10^{-4}$	$4,34 \times 10^{-6}$	$8,97 \times 10^{-3}$

Tabel 4. 5. Konsentrasi pada variasi komposisi enzim

Eksperimen	Komposisi Minyak			Kemurnian DAG (%)
	TAG (%)	DAG (%)	MAG (%)	
1	44,61	55,29	0,09	55,34
3	30,34	69,45	0,21	69,45
4	62,59	37,08	0,33	37,08
5	61,19	38,59	0,22	38,59



Gambar 4. 9. Perbandingan konsentrasi TAG, DAG, dan MAG pada eksperimen pengaruh komposisi enzim

Pada gambar diatas dapat disimpulkan bahwa, perbandingan massa enzim yang memiliki konversi minyak DAG terbesar adalah pada eksperimen 3 yang menggunakan rasio perbandingan enzim 3 (CRL) : 1 (PPL). Hal tersebut dikarenakan enzim CRL termasuk ke dalam enzim spesifik yang dapat mengarahkan konversi ke DAG, namun konsentrasi CRL yang terlalu banyak dapat menyebabkan reaksi berjalan dengan cepat.

4.2.3 Hasil Variasi Waktu Tinggal

Eksperimen variasi waktu tinggal ini dilakukan dengan memvariasikan laju alir minyak, sehingga didapatkan hubungan antara waktu tinggal dengan konversi minyak DAG yang dihasilkan. Waktu tinggal (*residence time*) untuk setiap laju alir dapat dihitung dengan menggunakan persamaan :

$$\tau = \frac{\text{vol. lumen reaktor (mL)}}{\text{laju alir (mL/s)}} \quad (7)$$

Tabel 4. 6. Data kondisi operasi yang digunakan

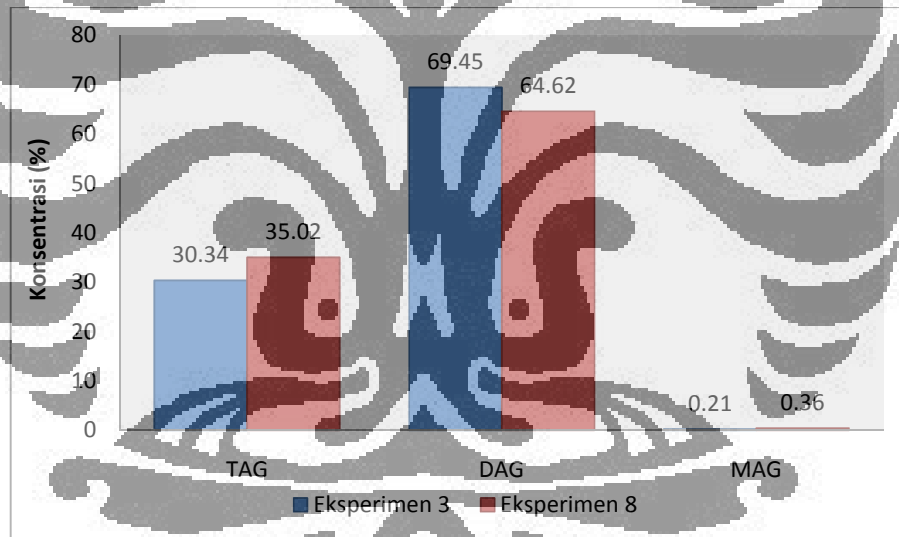
Eksperimen	Konsentrasi Enzim (mg/ml)	Suhu Operasi (°C)	Laju Alir Minyak (mL/detik)	Waktu Tinggal (jam)
3	5	37	0,05	0,349
8	5	37	0,02	0,872

Tabel 4. 7. Data komposisi minyak pada variasi waktu tinggal

Eksperimen	Komposisi Minyak			
	TAG (mol/L)	DAG (mol/L)	MAG (mol/L)	FA (mol/L)
3	$5,3 \times 10^{-4}$	$6,5 \times 10^{-4}$	$1,1 \times 10^{-6}$	$3,84 \times 10^{-3}$
8	$5,1 \times 10^{-4}$	$9,5 \times 10^{-4}$	$5,3 \times 10^{-6}$	$9,93 \times 10^{-3}$

Tabel 4. 8. Konsentrasi minyak pada variasi waktu tinggal

Eksperimen	Komposisi Minyak			Kemurnian DAG (%)
	TAG (%)	DAG (%)	MAG (%)	
3	30,34	69,45	0,21	69,45
8	35,02	64,62	0,36	64,62

**Gambar 4. 10.** Perbandingan konsentrasi TAG, DAG, dan MAG pada pengaruh waktu tinggal.

Dari gambar diatas dapat dilihat bahwa pengaruh waktu tinggal (laju alir) pada reaksi sangat berpengaruh pada besarnya konsentrasi minyak DAG yang dihasilkan. Berdasarkan hasil analisa, semakin kecil waktu waktu tinggal maka konsentrasi DAG akan semakin besar. Hal tersebut dapat dilihat pada tabel 4.8 dimana waktu tinggal untuk eksperimen 3 yang lebih kecil dapat menghasilkan konsentrasi DAG yang lebih besar. Waktu tinggal yang

terlalu lama akan menyebabkan pembentukan struktur TAG yang lebih banyak pada proses esterifikasi. Hal tersebut disebabkan oleh aktifitas enzim yang masih bekerja pada reaktor meskipun telah terbentuk senyawa DAG. Akibatnya konsentrasi DAG yang terbentuk kembali teresterifikasi dengan gliserol membentuk TAG dan air.

4.2.4 Hasil Uji Stabilitas Reaksi

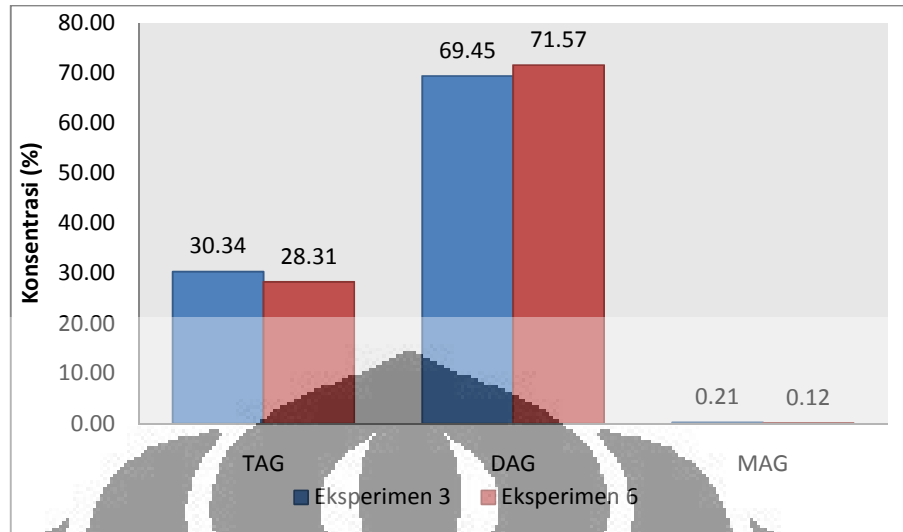
Eksperimen ini dilakukan untuk melihat kestabilan reaksi yang terjadi pada reaktor. Dengan menggunakan cara yang sama, kondisi operasi yang sama, maka akan dilihat kestabilan dari reaktor dan reaksi yang terjadi.

Tabel 4. 9. Data komposisi minyak pada uji stabilitas reaksi

Eksperimen	Komposisi Minyak			
	TAG (mol/L)	DAG (mol/L)	MAG (mol/L)	FA (mol/L)
3	$5,3 \times 10^{-4}$	$6,5 \times 10^{-4}$	$1,1 \times 10^{-6}$	$3,84 \times 10^{-3}$
6	$4,2 \times 10^{-4}$	$1,07 \times 10^{-3}$	$1,7 \times 10^{-6}$	$1,47 \times 10^{-2}$

Tabel 4. 10. Konsentrasi pada uji stabilitas reaksi

Eksperimen	Komposisi Minyak			Kemurnian DAG (%)
	TAG (%)	DAG (%)	MAG (%)	
3	30,34	69,45	0,21	69,45
6	28,31	71,57	0,12	71,57



Gambar 4. 11. Perbandingan konsentrasi TAG, DAG, dan MAG pada uji stabilitas reaksi

Dari gambar di atas dapat disimpulkan bahwa eksperimen ini stabil untuk setiap reaksi dimana tidak ada perubahan nilai yang signifikan jika menggunakan metode dan cara yang sama. Konsentrasi tertinggi yang didapat pada eksperimen 3 dan 6 hampir mirip yaitu $\pm 70\%$.

4.3 Hasil Analisis Pemisahan Minyak DAG

Minyak hasil reaksi yang kaya akan kandungan DAG, tidak dapat langsung digunakan karena minyak yang dihasilkan pada eksperimen ini masih belum dimurnikan. Ketika minyak hasil reaksi tersebut didiamkan selama 1 hari, maka akan timbul endapan-endapan putih yang mulai jernih. Proses penjenuhan endapan putih tersebut jika ditunggu secara alami akan stabil sekitar 20 hari. Jika proses penjenuhan dilakukan secara alami, maka akan sangat tidak efisien.

Endapan putih tersebut masih belum diketahui kandungannya sehingga perlu dianalisis lebih lanjut. Pengujian endapan putih tersebut dilakukan dengan menggunakan analisis HPLC.

4.3.1 Hasil Investigasi Pengendapan

Minyak hasil reaksi ketika didiamkan selama 3 minggu akan terjadi perubahan secara fisik, yaitu timbulnya endapan putih. Untuk mengetahui apakah perubahan fisik tersebut mempengaruhi komposisi minyak didalamnya maka

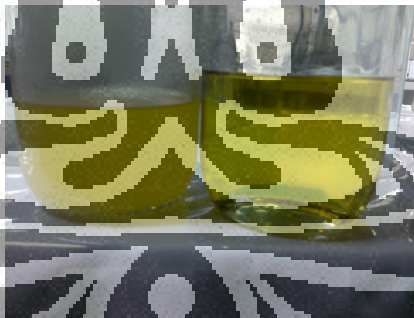
perlu dilakukan analisis menggunakan HPLC. Pada minyak hasil eksperimen 7 didapatkan data sebagai berikut :

Tabel 4. 11. Data komposisi minyak berdasarkan perubahan fisik yang terjadi

Sampel	Komposisi Minyak			
	TAG (mol/L)	DAG (mol/L)	MAG (mol/L)	FA (mol/L)
Minyak Hasil Reaksi Fresh	7×10^{-4}	$6,8 \times 10^{-4}$	$3,8 \times 10^{-6}$	$5,71 \times 10^{-3}$
Mulai Timbul Endapan	8×10^{-4}	$5,4 \times 10^{-4}$	5×10^{-6}	0
Endapan Stabil 1	$9,1 \times 10^{-4}$	$3,9 \times 10^{-4}$	6×10^{-6}	0
Endapan Stabil 2	$9,1 \times 10^{-4}$	$3,7 \times 10^{-4}$	6×10^{-6}	0
Endapan Putih	$6,5 \times 10^{-4}$	$7,5 \times 10^{-4}$	0	$4,92 \times 10^{-3}$



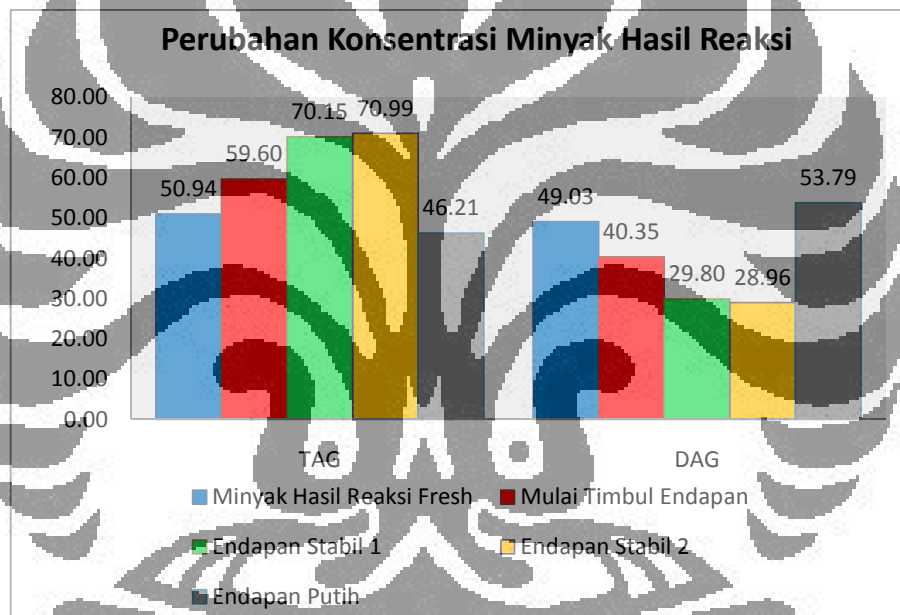
Gambar 4. 12. Minyak DAG Fresh (kiri), mulai timbul endapan putih (tengah), endapan putih stabil (kanan)



Gambar 4. 13. Endapan putih yang belum dipisahkan (kiri) dan minyak DAG yang sudah dipisahkan dari endapan putih (kanan)

Tabel 4. 12. Komposisi minyak dalam persentase

Sampel	Komposisi Minyak			Kemurnian DAG (%)
	TAG (%)	DAG (%)	MAG (%)	
Minyak Hasil Reaksi Fresh	50,94	49,03	0,04	49,03
Mulai Timbul Endapan	59,60	40,35	0,04	40,35
Endapan Stabil 1	70,15	29,80	0,04	29,80
Endapan Stabil 2	70,99	28,96	0,04	28,96
Endapan Putih	46,21	53,79	0,00	53,79



Gambar 4. 14. Perubahan Konsentrasi TAG dan DAG dari waktu ke-waktu berdasarkan perubahan fisik yang terjadi

Dari data dan gambar diatas dapat dilihat bahwa minyak hasil reaksi yang kaya akan kandungan DAG akan berangsur-angsur berkurang komposisinya. Hal tersebut terjadi karena minyak DAG tersebut mengalami penjumlahan menjadi endapan putih. Dalam minyak kelapa sawit, salah satu kandungan terbesar senyawa pembentuknya merupakan asam palmitat yang merupakan asam lemak jenuh dimana pada suhu ruang akan berbentuk padatan. Pada minyak hasil reaksi, minyak yang kaya akan kandungan DAG terbagi menjadi 2, yaitu minyak DAG

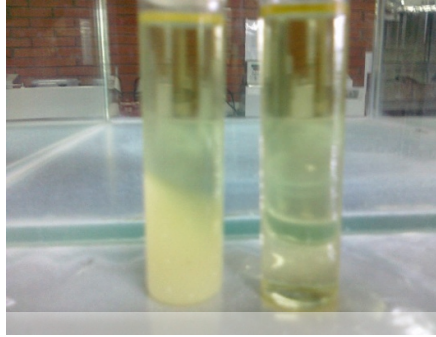
yang jenuh dan tak jenuh. Minyak DAG yang jenuh memiliki rantai asam lemak dasi asam palmitat sedangkan minyak DAG yang tak jenuh memiliki rantai asam lemak oleat. Minyak DAG dengan asam lemak palmitat akan berangsur-angsur berubah menjadi padatan (endapan putih), hal tersebut karena asam palmitat tidak mengandung ikatan rangkap sehingga memiliki titik lebur yang tinggi. Pada gambar 4.14, terlihat bahwa konsentrasi minyak DAG dalam endapan putih mencapai 53,79 %.

4.3.2 Hasil Percobaan Pemisahan

Endapan putih merupakan senyawa yang terbentuk pada proses yang terjadi (hidrolisis dan esterifikasi). Berdasarkan analisa yang telah dilakukan endapan putih ini merupakan senyawa yang memiliki kandungan DAG, sehingga perlu adanya proses pemisahan. Proses pengendapan secara alami, membutuhkan waktu selama 3 minggu. Waktu tersebut sangatlah tidak efisien jika minyak DAG akan diproduksi secara masal (pabrikasi). Oleh karena itu perlu suatu cara untuk memisahkan endapan putih dengan proses yang cepat.

Jika diamati secara fisik, proses penjenuhan minyak tidaklah terlalu lama, sekitar 1-2 hari. Namun proses pengendapannya yang cukup lama, hal tersebut dikarenakan viskositas dari minyak tersebut yang cukup tinggi, serta berat jenis dari endapan putih yang tidak terlalu jauh dengan minyak. Selain itu endapan putih yang terbentuk menyebar merata diseluruh bagian minyak, akibatnya proses pengendapan membutuhkan proses yang cukup lama.

Berdasarkan pengamatan fisik yang dilakukan, proses penjenuhan dan pengendapan dapat dipersingkat dengan menggunakan proses pendinginan dan pemisahan fisik (*centrifuge*). Proses pendinginan dilakukan untuk mempercepat penjenuhan, setelah itu baru dipisahkan antara endapan dan minyak. Bila suatu asam lemak didinginkan, panas yang hilang akan memperlambat gerakan molekul-molekul dalam lemak, sehingga jarak antara molekul-molekul lebih kecil. Jika jarak antara molekul-molekul dalam lemak tersebut mencapai 5\AA , maka akan timbul gaya tarik-menarik antarmolekul yang disebut gaya Van der Walls. Akibat adanya gaya ini, radikal- radikal asam lemak dalam molekul lemak akan tersusun berjajar dan saling bertumpuk serta berikatan membentuk Kristal.

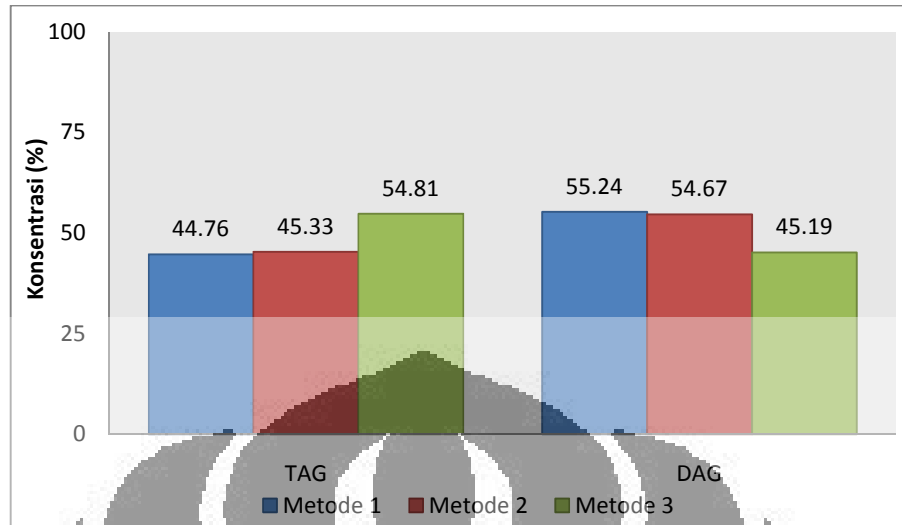


Gambar 4. 15. Minyak dengan proses pendinginan (kiri) dan minyak tanpa proses pendinginan (kanan)

Pada gambar 4.15 dapat dilihat bahwa metode yang paling efektif untuk mempercepat penjumlahan endapan putih yaitu dengan menggunakan metode 1 dan 2 dimana menggunakan proses pendinginan. Dengan menggunakan proses pendinginan, komposisi minyak DAG juga semakin banyak, jika tanpa proses pendinginan.

Tabel 4. 13. Komposisi minyak pada metode pemisahan DAG

Metode	Komposisi Minyak			Kemurnian
	TAG (%)	DAG (%)	MAG (%)	DAG (%)
1	35,78	64,22	0,00	64,22
2	36,47	63,53	0,00	63,53
3	43,56	56,44	0,00	56,44

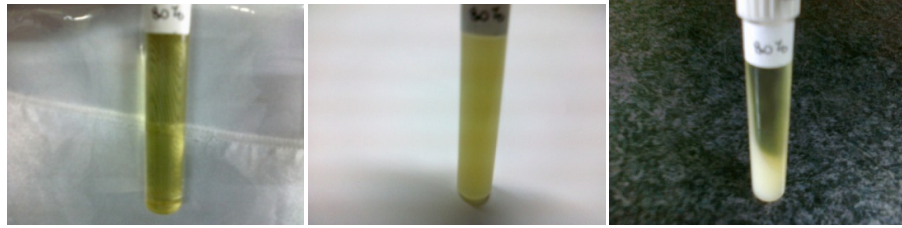


Gambar 4. 16. Konsentrasi minyak pada metode pemisahan minyak

Proses penjuhan dilakukan dengan dengan menurunkan suhu minyak sampai minyak membeku seluruhnya pada suhu 2,8 °C selama 10 menit. Kemudian proses dilanjutkan dengan menggunakan *centrifuge* sehingga akan terpisahkan antara fasa padatan (endapan putih) dan fasa minyak. Selama proses ini minyak akan kembali mencair karena adanya perbedaan suhu yang cukup besar dengan suhu ruang.

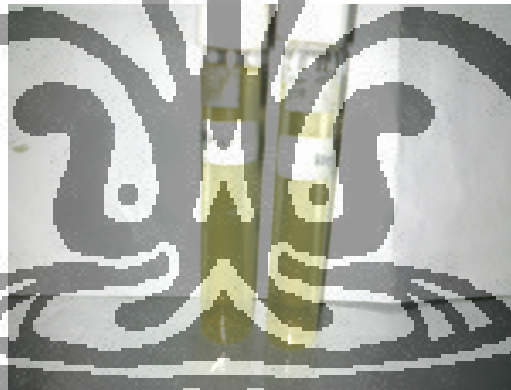


Gambar 4. 17. Temperatur lemari es yang dihasilkan



Gambar 4. 18. Perbandingan antara minyak DAG *fresh* (kiri), minyak DAG yang beku (tengah), dan minyak DAG yang telah dicentrifuge (kanan)

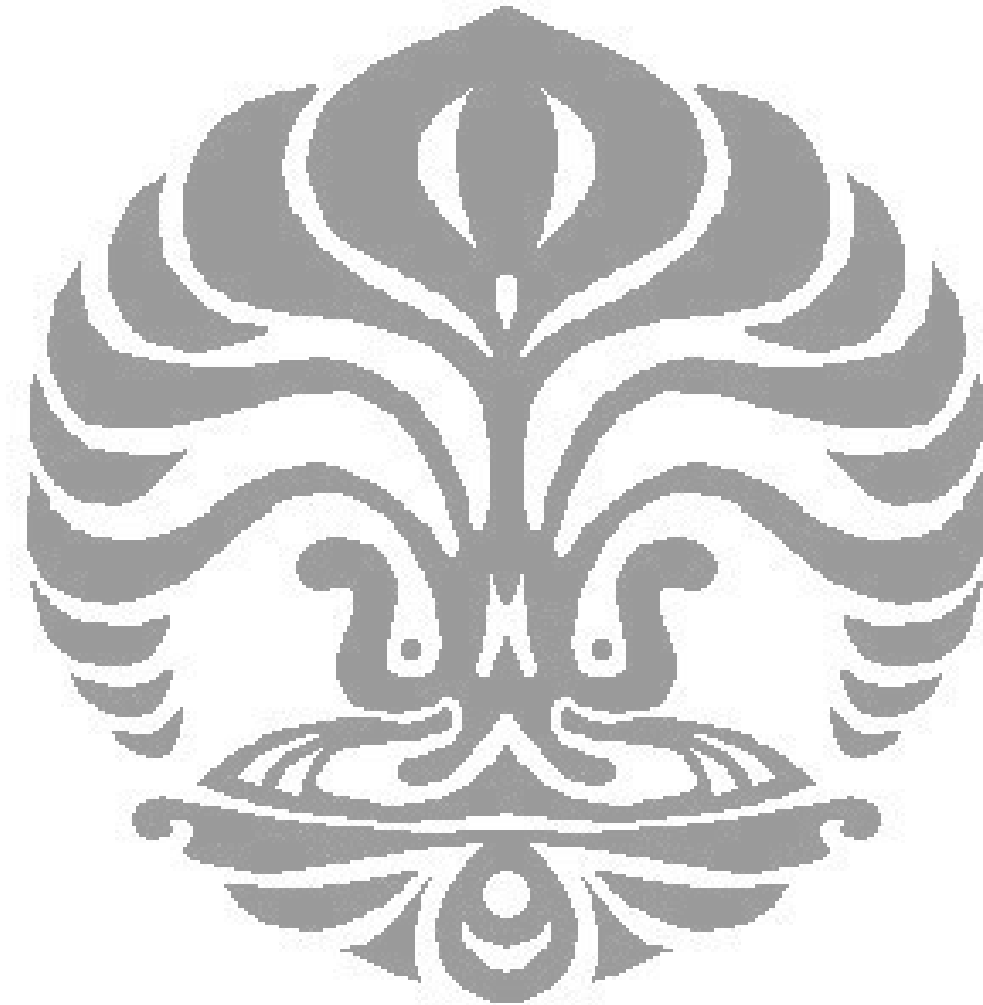
Pada gambar dapat terlihat bahwa minyak DAG *fresh* (hasil reaksi) masih belum terlihat endapan putih. Minyak DAG yang memiliki rantai asam lemak jenuh dapat terendapan dengan menggunakan centrifuge, dengan kecepatan sekitar 1300 rpm pada suhu normal (27 °C). Kecepatan putaran dan suhu sangat mempengaruhi pada proses pemisahan ini. Jika kecepatan semakin lambat maka proses pengendapan akan berjalan dengan lambat. Sebaliknya jika suhu naik (lebih dari 27 °C), maka minyak DAG yang memiliki ikatan rantai asam lemak jenuh akan mencair dan akan sulit melihat endapan putih.



Gambar 4. 19. Minyak hasil pembekuan dan centrifuge

Pada gambar diatas dapat dilihat bahwa minyak tersebut telah mengalami proses yang sama, yaitu didinginkan bahkan dibekukan dan telah mengalami centrifuge. Namun hasil yang didapatkan ternyata minyak tidak terbentuk endapan, serta hampir kembali ke bentuk awalnya (bening). Ketika minyak tersebut didiamkan selama beberapa hari, endapan putih tersebut akan muncul pada dasar tabung. Tidak terbentuknya endapan pada prosesn centrifuge, dapat disebabkan karena suhu pada centrifuge yang melebihi suhu titik lebur minyak

DAG yang memiliki ikatan rantai asam lemak jenuh, sehingga minyak yang sudah dijenuhkan kembali mengalami pencairan.



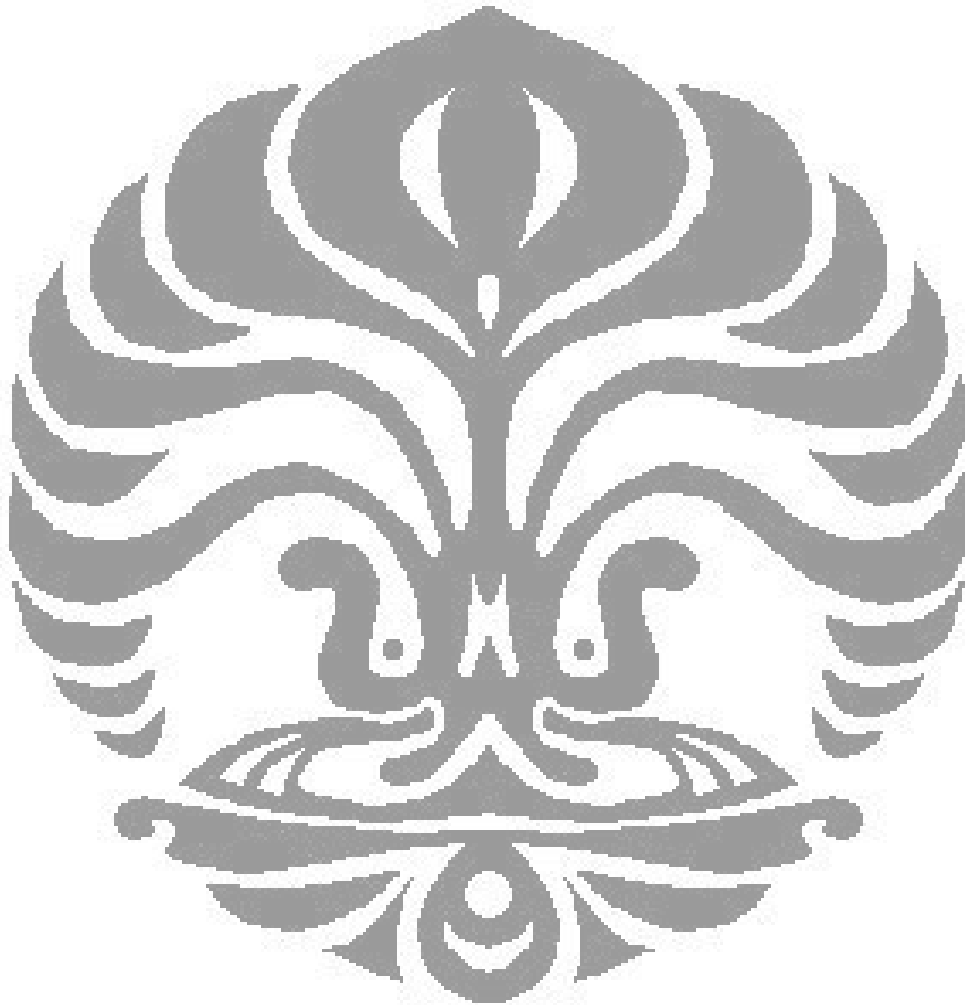
BAB 5

KESIMPULAN

Dari hasil percobaan dan analisis data hasil pengamatan bisa disimpulkan beberapa hal berikut ini :

1. Konfigurasi tempat dialirkannya larutan pada sintesis minyak DAG menunjukkan perubahan yang cukup signifikan dimana, minyak yang dialirkan di bagian lumen memiliki konversi minyak DAG yang jauh lebih besar dibandingkan jika minyak dialirkan ke bagian shell reaktor.
2. Komposisi rasio enzim yang dilakukan pada proses immobilisasi memiliki pengaruh yang signifikan dimana hasil analisa menunjukkan bahwa dengan rasio 3 (CRL) : 1 (PPL) memiliki konversi minyak DAG terbesar, yaitu sebesar 71,57 %.
3. Proses dengan menggunakan alat dan reaksi yang sama pada penelitian ini dapat dikatakan stabil. Artinya pada saat kapanpun menggunakan alat ini dengan kondisi operasi yang sama serta reaksi yang sama, maka akan menghasilkan data yang tidak jauh berbeda (sama).
4. Waktu tinggal pada proses reaksi memiliki pengaruh yang cukup signifikan dimana waktu tinggal yang lebih lama akan menurunkan konsentrasi dari DAG. Waktu tinggal yang optimal pada eksperimen ini adalah dengan laju alir 0,05 ml/s (0,34889 jam)
5. Minyak DAG hasil reaksi menggunakan proses ini, terbagi menjadi 2 jenis yaitu minyak yang memiliki ikatan rantai asam lemak jenuh dan minyak yang memiliki ikatan rantai asam lemak tak jenuh.
6. Minyak DAG yang memiliki ikatan rantai asam lemak jenuh, mengalami penjumlahan setelah 1 hari dengan berubah menjadi endapan putih.
7. Minyak DAG yang memiliki ikatan rantai asam lemak jenuh dapat dipercepat proses penjumlahannya dengan cara menurunkan suhu minyak. Sedangkan proses pengendapan minyak dapat dilakukan dengan menggunakan *centrifuge*.
8. Suhu dan kecepatan pada proses pengendapan menggunakan *centrifuge* sangat berpengaruh pada proses ini. Suhu yang terlalu tinggi (akibat adanya

putaran) dapat menyebabkan endapan putih yang sudah jenuh akan kembali mencair. Sedangkan kecepatan putaran akan mempengaruhi lamanya proses pengendapan yang dilakukan. Pada proses pengendapan, kecepatan *centrifuge* yang digunakan adalah sebesar 1300 rpm.

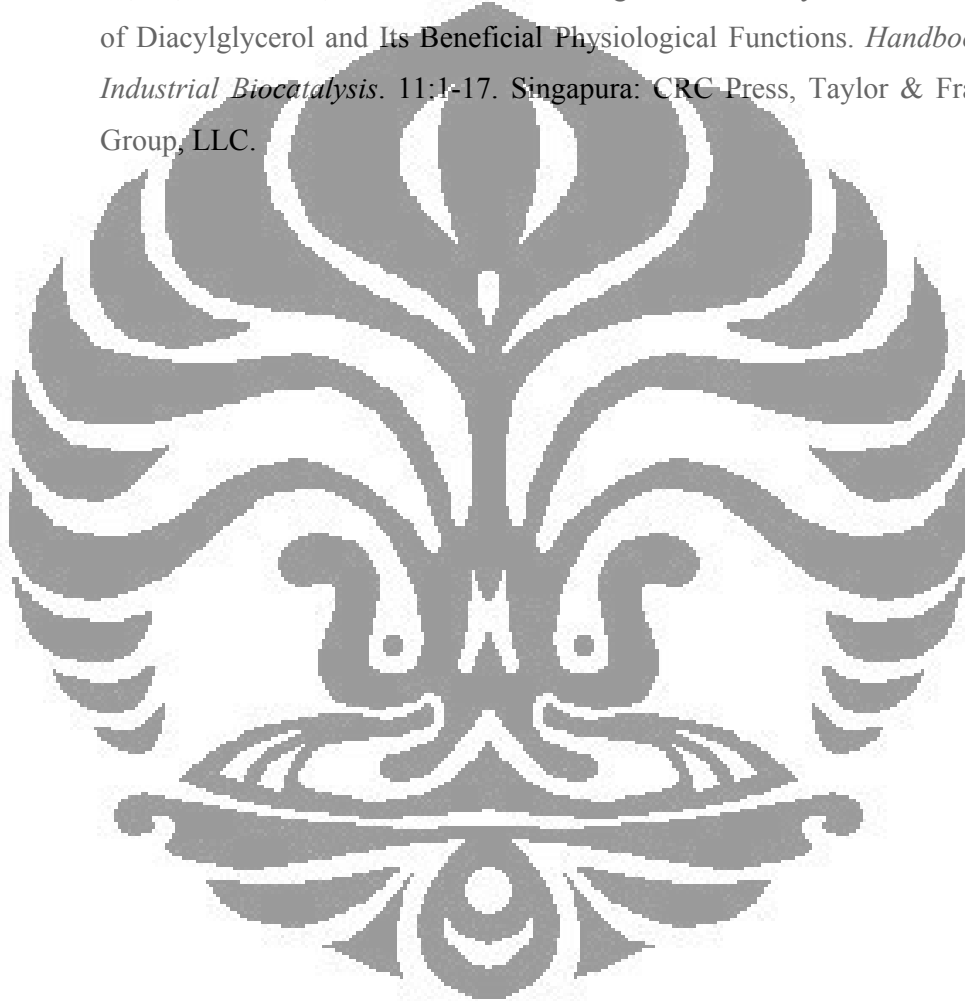


DAFTAR PUSTAKA

- Anonim “Esterifikasi”. <http://library.usu.ac.id/download/fmipa/kimia-ubaidillah.pdf>. (diakses tanggal 22 Juni 2009)
- Anonim “Esterifikasi”. <http://madja.files.wordpress.com/2007/12/ester-asam-lemak.pdf>. (diakses tanggal 22 Juni 2009)
- Anonim “HPLC”. www.chem.stevens.edu/.../research/group.shtml. (diakses tanggal 15 Mei 2009).
- Anonim, “Lemak dan Minyak”. www.scribd.com/doc/25851532/makalah-Lemak-Dan-Minyak. Diakses tanggal 27 Desember 2010.
- Anonim “Membran hollow fiber”. www.co2crc.com.au/.../demo-precombustion.html. (diakses tanggal 24 Juni 2009).
- Anonim. “Minyak Kelapa Sawit”. <http://library.usu.ac.id/download/fmipa/kimia-nurhaida> (diakses tanggal 30 Maret 2009).
- Anonim ”Short Path distillation”. www.chemtechservicesinc.com/short-path-distillation.html. (diakses tanggal 30 November 2010)
- Anonim “UV Spektrofotometri”. www.chem.kuleuven.be/.../equipment/cary5000.htm. Diakses tanggal 15 Mei 2009.
- Anonim. “Reaksi Hidrolisis”. www.smapgii1.sch.id/hidrolisis%20final/hidrolisis_parsial_asam (diakses tanggal 30 Maret 2009).
- Brogaard, K. J., Xuebing Xu , Huiling Mu. 2005. Diacylglycerol Synthesis by Enzymatic Glycerolysis: Screening of Commercially Available Lipases. *JAACS*, Vol. 82, no. 5.
- Compton, David L., Joseph A. Laszlo, Fred J. Eller, Scott L. Taylor. 2008. Purification of 1,2-diacylglycerol from vegetable oils :comparison of molecular distillation and liquid CO₂ extraction. Elsevier B. V.
- F. Fessenden. 1995. *Kimia Organik Jilid Kedua*. Jakarta: Erlangga.
- Kristenensen, J.B. Xuebing Xu , Huiling Mu. 2005. Diacylglycerol Synthesis by Enzymatic Glycerolysis: Screening of Commercially Available Lipases. *JAACS*, Vol. 82, no. 5.

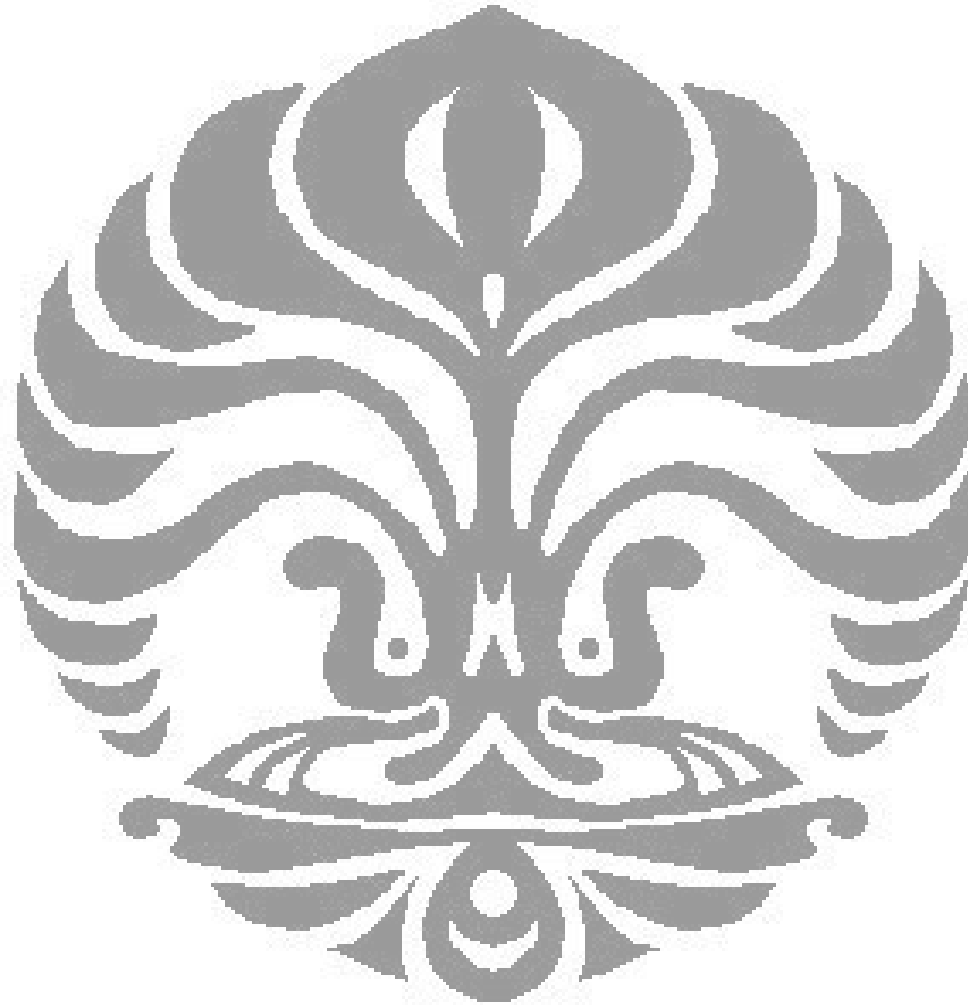
- Knezevic, Z., B. Obradovic. 2004. Lipase Immobilization in Hollow Fibre Membrane Reactor : Kinetic Characterization and Application for Palm Oil Hydrolysis. *Chemical Paper* 58 (6) 418-423 (2004).
- Ling-Zhi Cheong., Chin-Ping T, Kamariah L, Mohd. Suria A. Y, Norlelawati A, Seong-Koon L and Oi-Ming L. 2007. Production of a diacylglycerol-enriched palm olein using lipase-catalyzed partial hydrolysis: Optimization using response surface methodology. *Food Chemistry* Vol.105, Issue 4, pages 1614-1622.
- Lo, Seong-Koon, Chin-Ping T, Kamariah L, Mohd. Suria A. Y, and Oi-Ming L. 2007. Diacylglycerol Oil-Properties, Processes and Products : A Review. *Food Bioprocess Technol*-DOI 10.1007/s11947-007-0049-3.
- Maki, K.C., *et.al.* 2002. Consumption of diacylglycerol oil as part of a reduced-energy diet enhances loss of body weight and fat in comparison with consumption of a triacylglycerol control oil. *Am J Clin Nutr* 76:1230–6.
- Taguchi, H., T. Nagao, H. Watanabe, K. Onizawa, N. Matsuo, I. Tokimitsu, H. Itakura. 2001. Energy value and digestibility of dietary oil containing mainly 1,3-diacylglycerol are similar to those of triacylglycerol. *Lipids* 36:379–382.
- Tripathi, V., Ruby Trivedi, and R.P. Singh. 2006. Lipase-Catalyzed Synthesis of Diacylglycerol and Monoacylglycerol from Unsaturated Fatty Acid in Organic Solvent System. *J. Pleo Sci.*, vol. 55, No. 2, 65-69 (2006).
- Wang, Yong, M. Zhao, Siyi O.U., L. Xie, S. Tang, 2008. Preparation of a diacylglycerol-enriched soybean oil by phospholipase A1 catalyzed hydrolysis. Elsevier, Vol. 56, No. 165-172.
- Watanabe, T., M. Shimizu, M. Sugiura, M. Sato, J. Kohori, N. Yamada, K. Nakanishi. 2003. Optimization of reaction conditions for production of DAG using immobilized 1,3-regiospecific lipase Lipozyme RM IM. *J Am Oil Chem Soc*, 80:1201–1207.
- Watanabe, T., M. Shimizu, M. Sugiura, M. Sato, J. Kohori, N. Yamada, K. Nakanishi. 2004. Diacylglycerol production in a packed bed bioreactor. *Process Biochemistry* 40 (2005) 637–643.

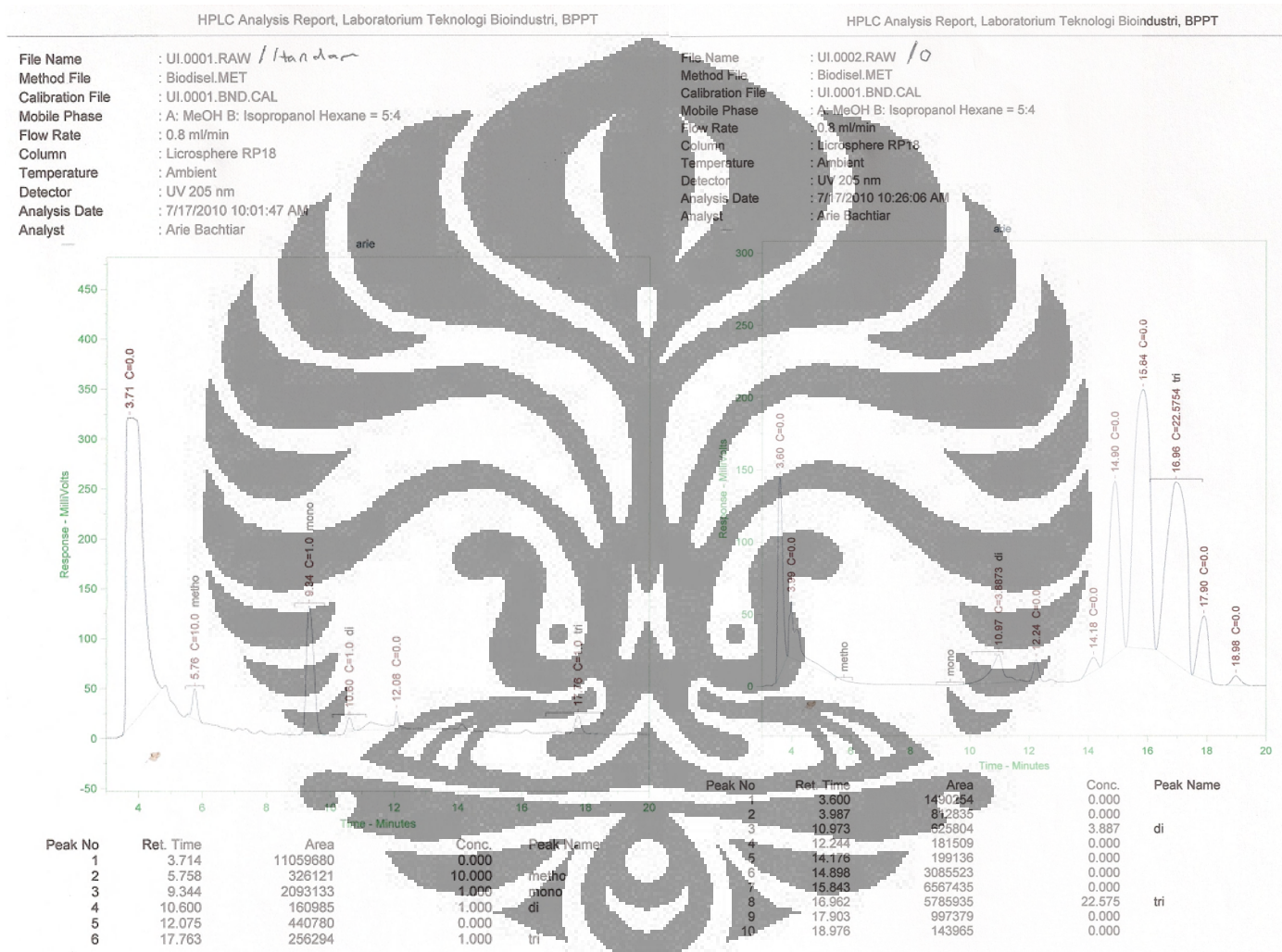
- Yamane, T., S T Kang, K Kawahara, Y Koizumi. 1994. High-yield DAG formation by solid-phase enzymatic glycerolysis of hydrogenated beef tallow. *J Am Oil Chem Soc* 71:339–342.
- X. Xu ., A R H Skands, C E Høy, J A Nissen. 1999. Parameters affecting DAG formation during the production of specific-structured lipids by lipase catalyzed interesterification. *J Am Oil Chem Soc* 76:175–181.
- Yamada, N., N. Matsuo, T. Watanabe, T. Yanagita. 2005. Enzymatic Production of Diacylglycerol and Its Beneficial Physiological Functions. *Handbook of Industrial Biocatalysis*. 11:1-17. Singapura: CRC Press, Taylor & Francis Group, LLC.

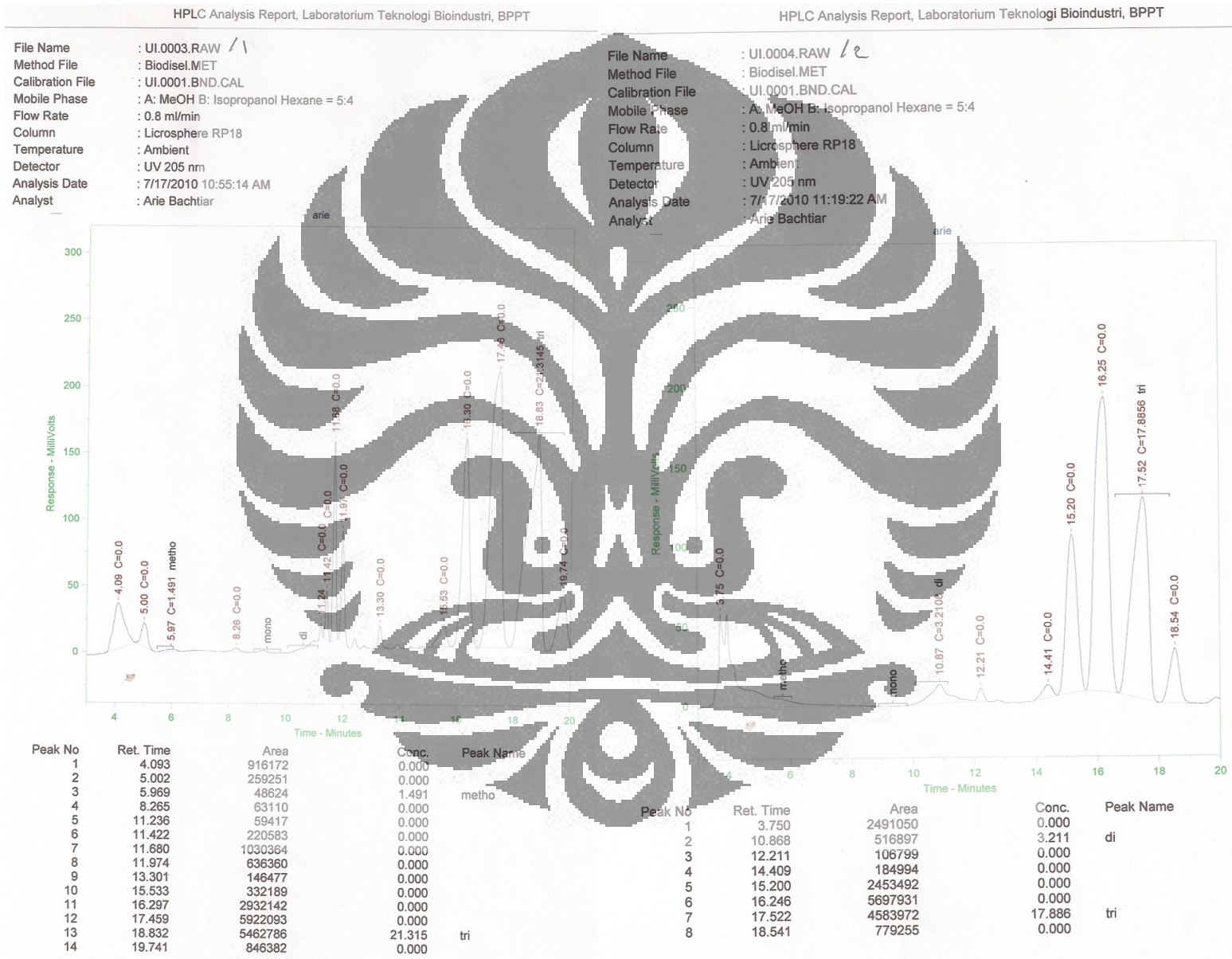


LAMPIRAN

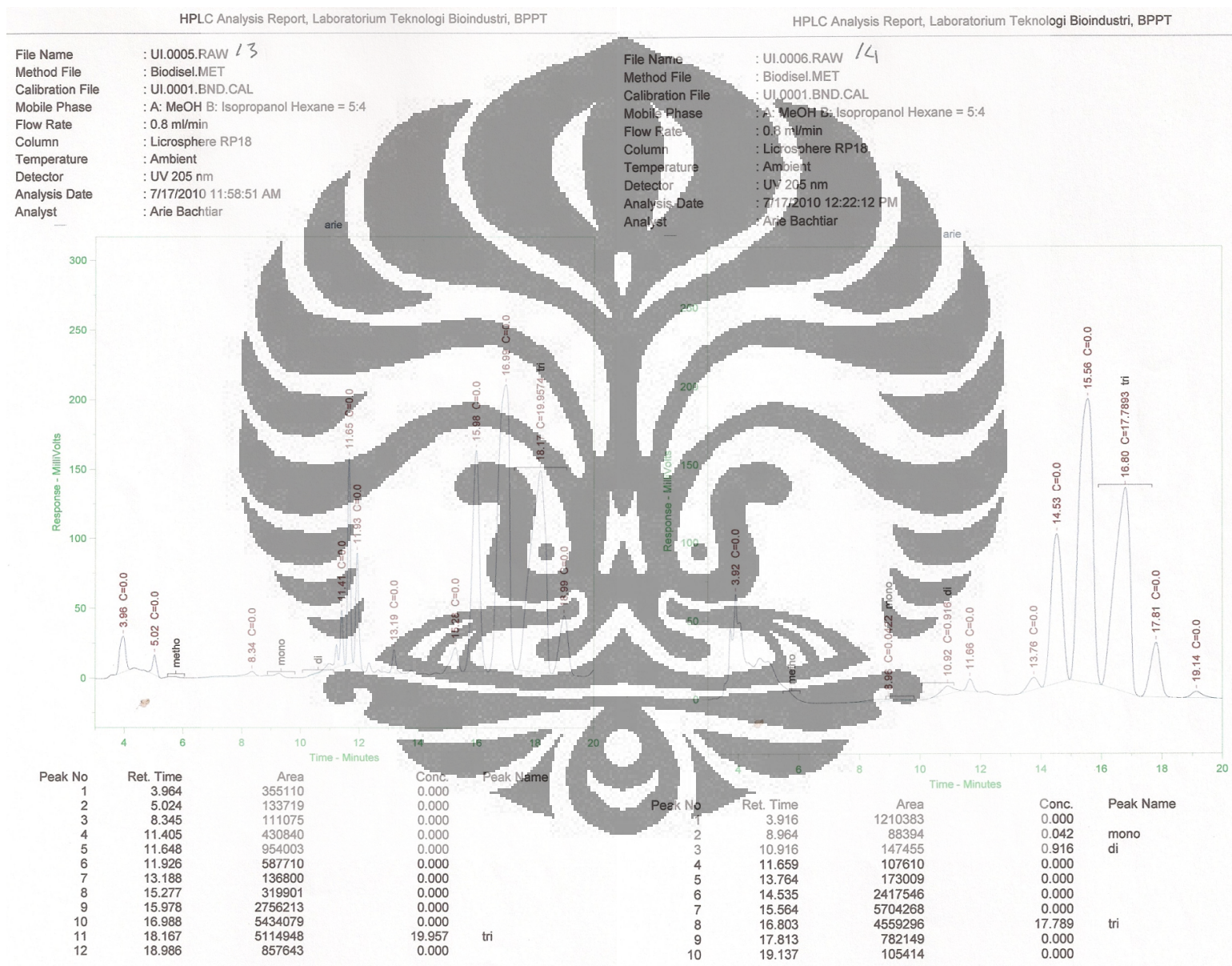
- Eksperimen 1

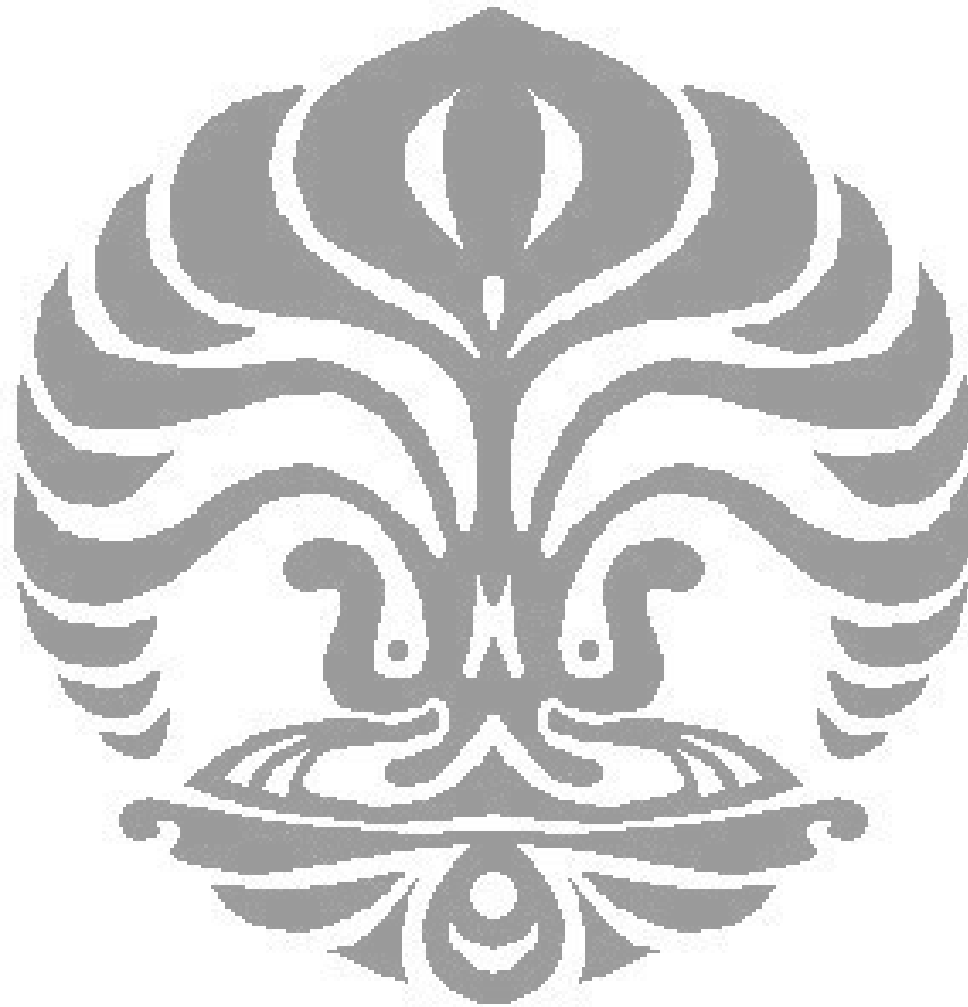


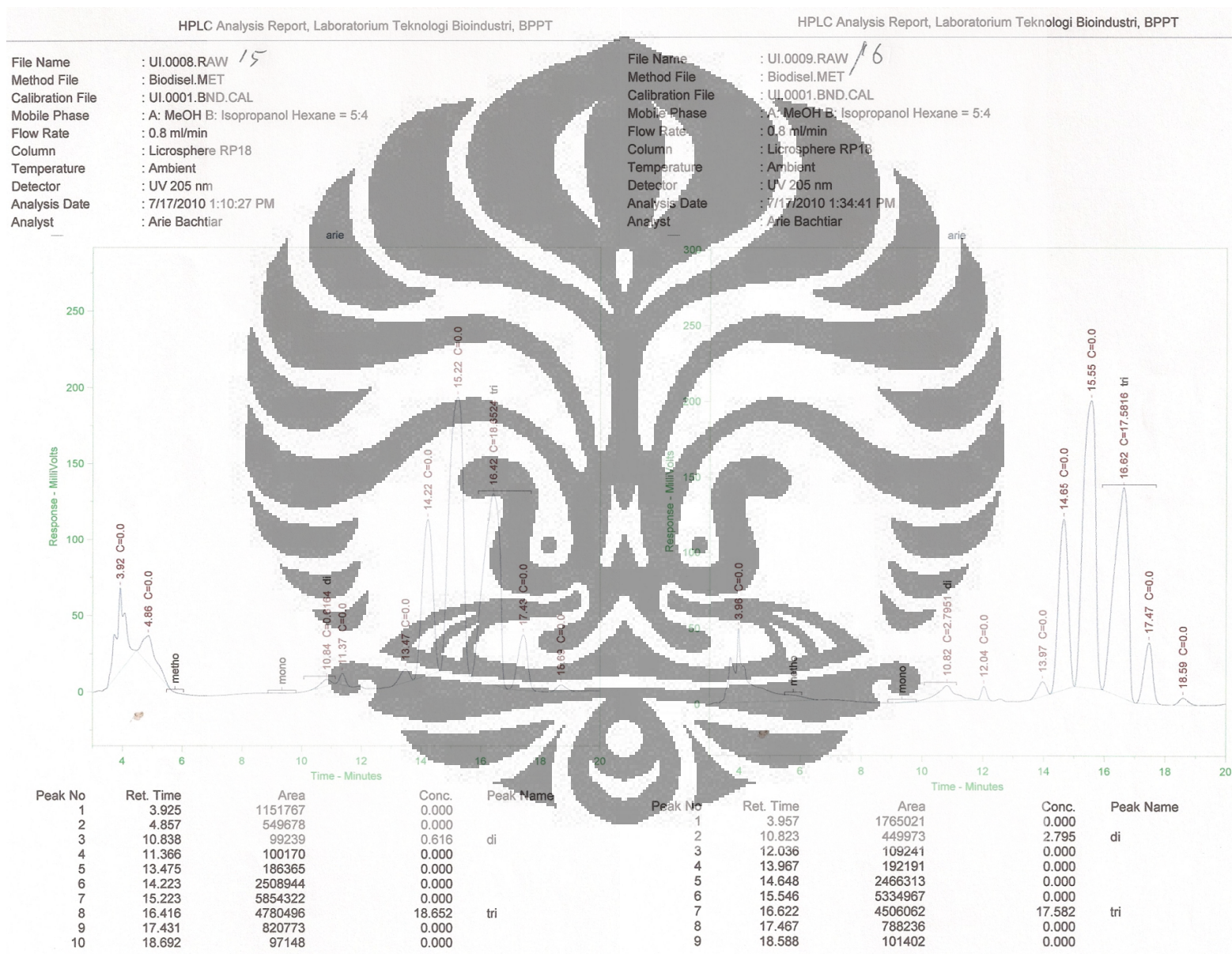


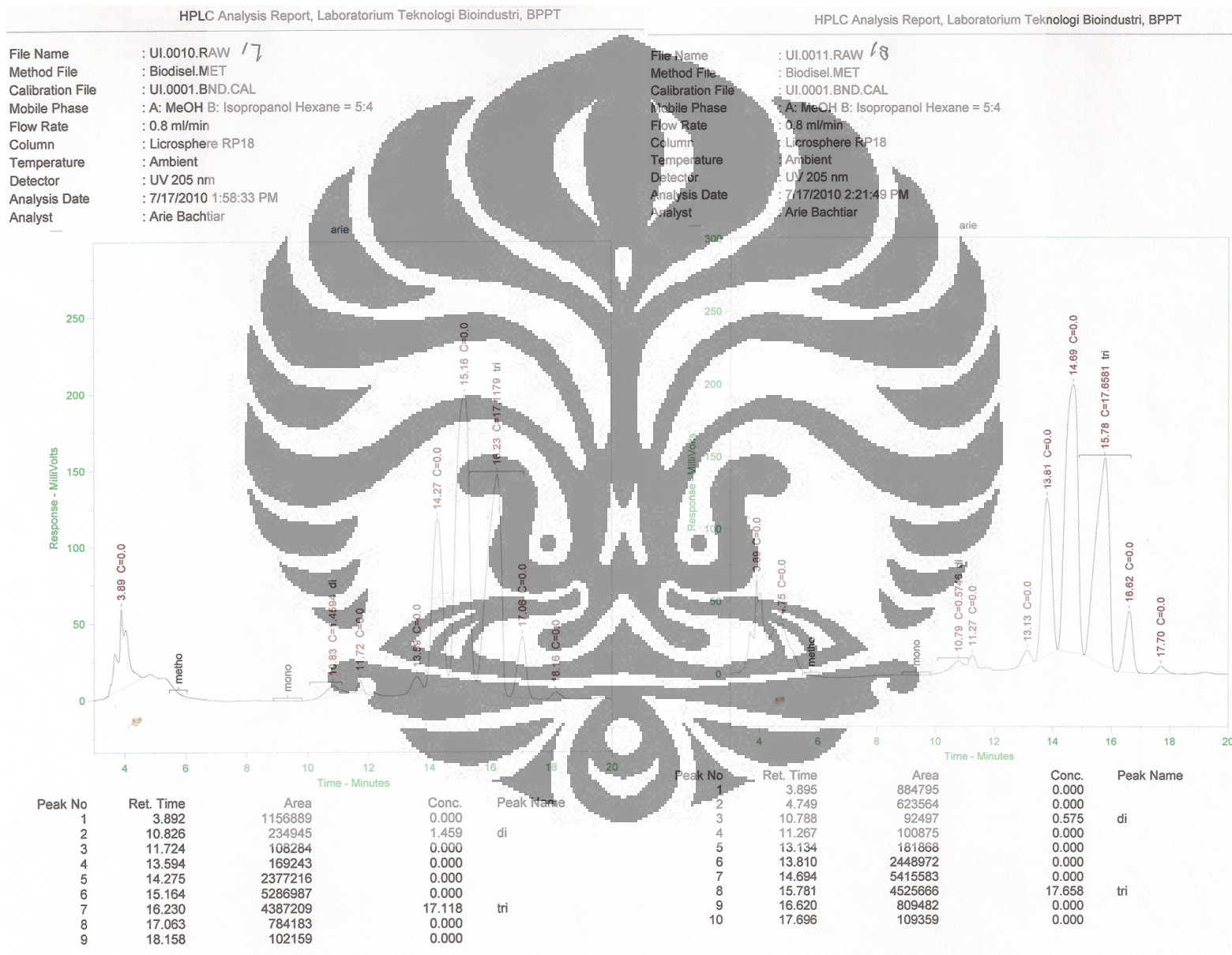


nesia



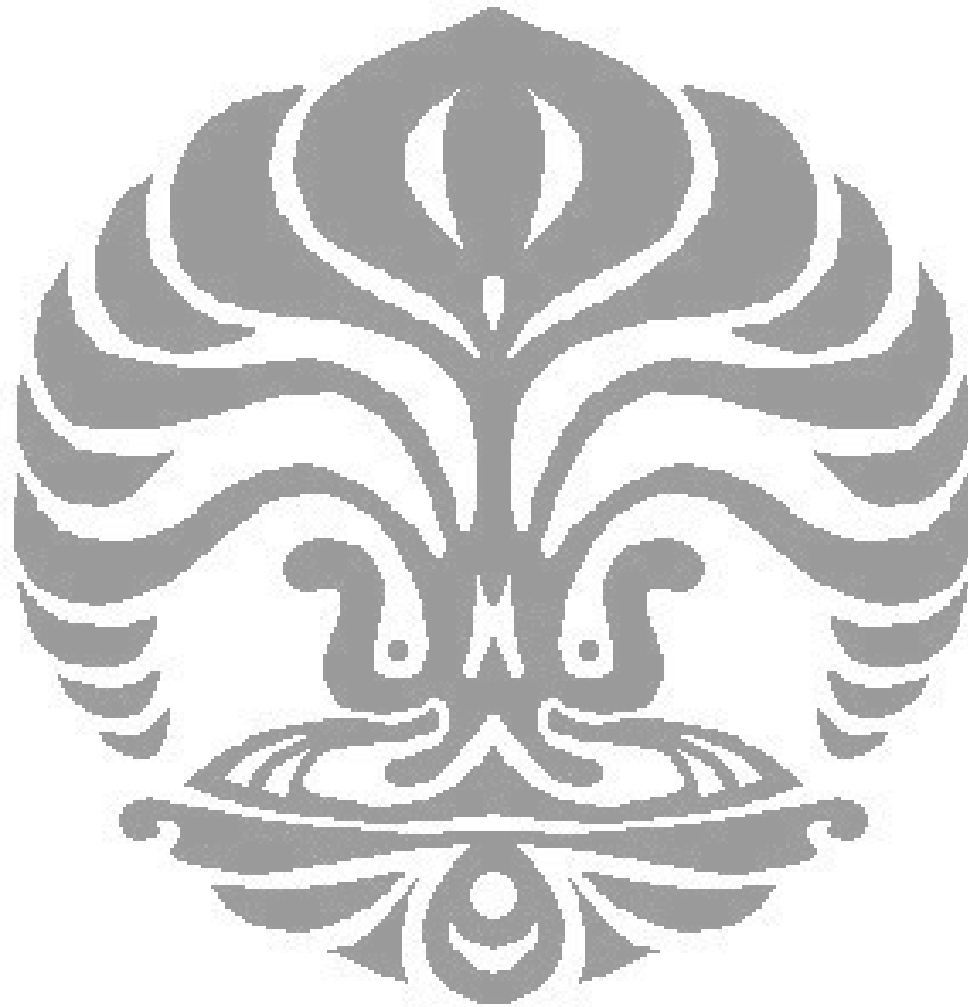


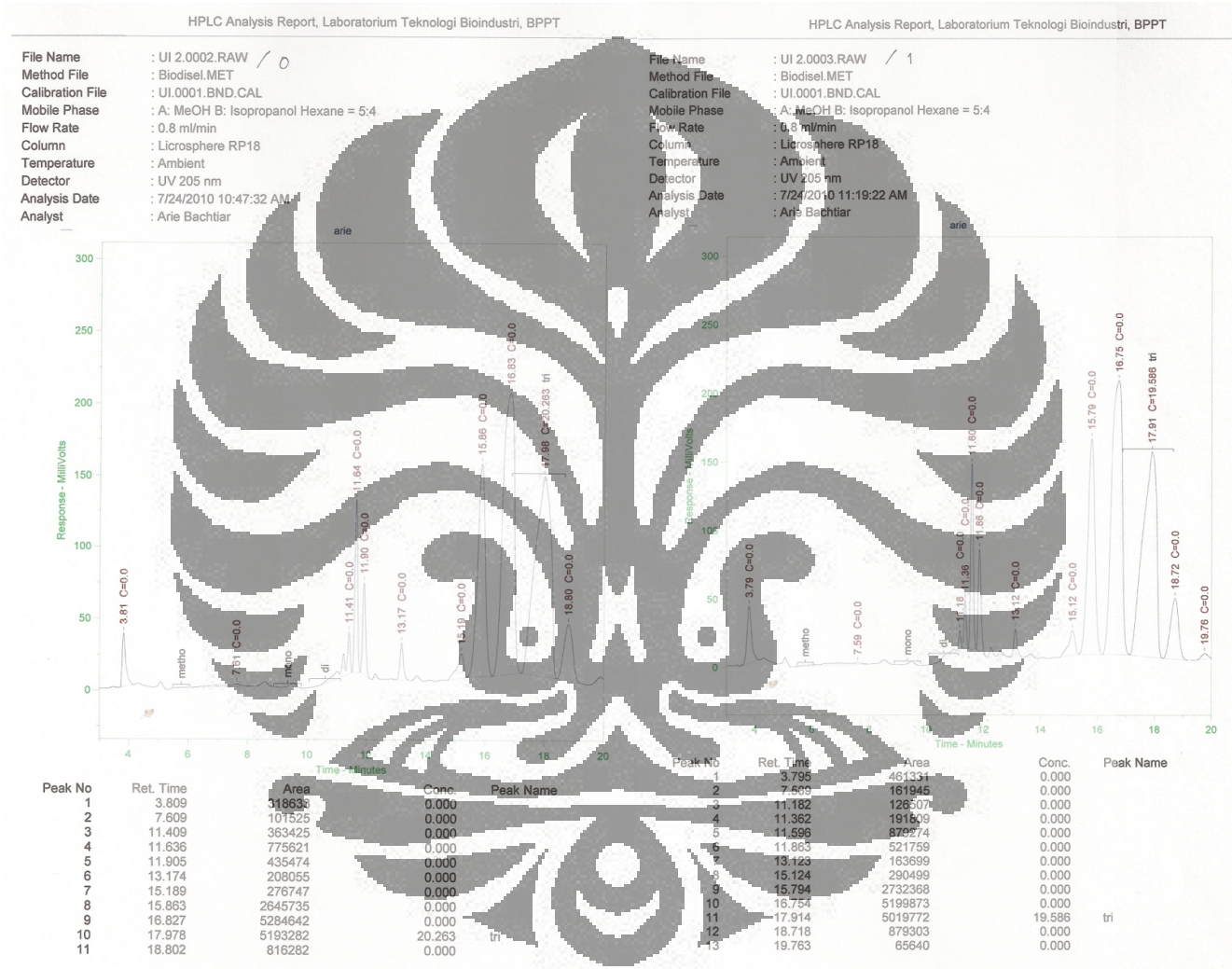


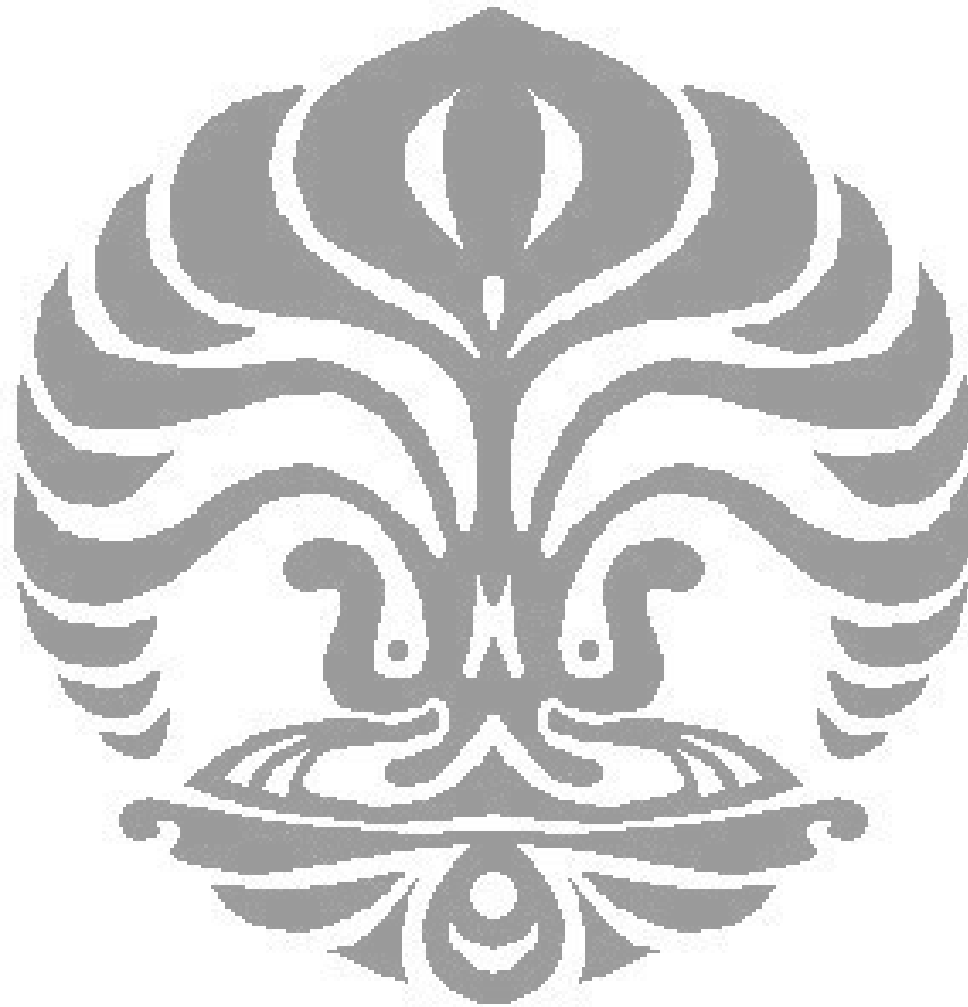


iesia

- Eksperimen 2









ndonesia

HPLC Analysis Report, Laboratorium Teknologi Bioindustri, BPPT

HPLC Analysis Report, Laboratorium Teknologi Bioindustri, BPPT

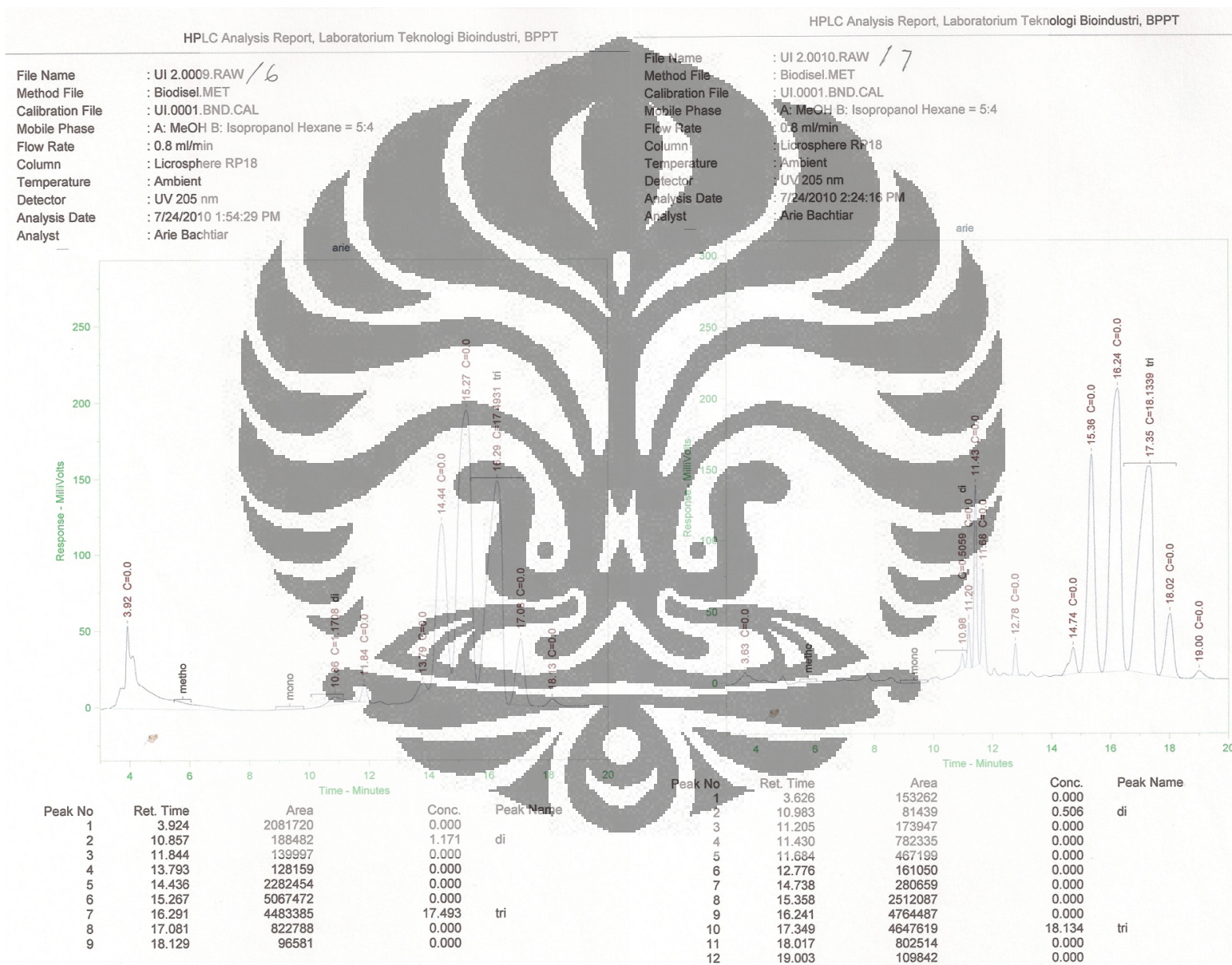
File Name : UI 2.0006.RAW / 4
 Method File : Biodisel.MET
 Calibration File : UI.0001.BND.CAL
 Mobile Phase : A: MeOH B: Isopropanol Hexane = 5:4
 Flow Rate : 0.8 ml/min
 Column : Licrosphere RP18
 Temperature : Ambient
 Detector : UV 205 nm
 Analysis Date : 7/24/2010 12:40:01 PM
 Analyst : Arie Bachtiar

File Name : UI 2.0008.RAW / 5
 Method File : Biodisel.MET
 Calibration File : UI.0001.BND.CAL
 Mobile Phase : A: MeOH B: Isopropanol Hexane = 5:4
 Flow Rate : 0.8 ml/min
 Column : Licrosphere RP18
 Temperature : Ambient
 Detector : UV 205 nm
 Analysis Date : 7/24/2010 1:30:12 PM
 Analyst : Arie Bachtiar



Peak No	Ret. Time	Area	Conc.	Peak Name	Peak No	Ret. Time	Area	Conc.	Peak Name
1	3.917	2245301	0.000		1	3.624	203605	0.000	
2	10.862	262239	1.629	di	2	4.618	194513	0.000	
3	11.978	142248	0.000		3	11.372	1079005	0.000	
4	13.988	123371	0.000		4	11.634	466591	0.000	
5	14.663	2431507	0.000		5	12.807	155759	0.000	
6	15.551	5431763	0.000		6	14.795	283553	0.000	
7	16.613	4748886	18.529	tri	7	15.416	2619686	0.000	
8	17.471	870267	0.000		8	16.284	5076511	0.000	
9	18.564	105765	0.000		9	17.294	4901404	19.124	tri
					10	18.105	828695	0.000	
					11	19.105	106465	0.000	

nesia



HPLC Analysis Report, Laboratorium Teknologi Bioindustri, BPPT

HPLC Analysis Report, Laboratorium Teknologi Bioindustri, BPPT

File Name : UI.2.0011.RAW / 8
 Method File : Biodisel.MET
 Calibration File : UI.0001.BND.CAL
 Mobile Phase : A: MeOH B: Isopropanol Hexane = 5:4
 Flow Rate : 0.8 ml/min
 Column : Licrosphere RP18
 Temperature : Ambient
 Detector : UV 205 nm
 Analysis Date : 7/24/2010 2:48:02 PM
 Analyst : Arie Bachtiar

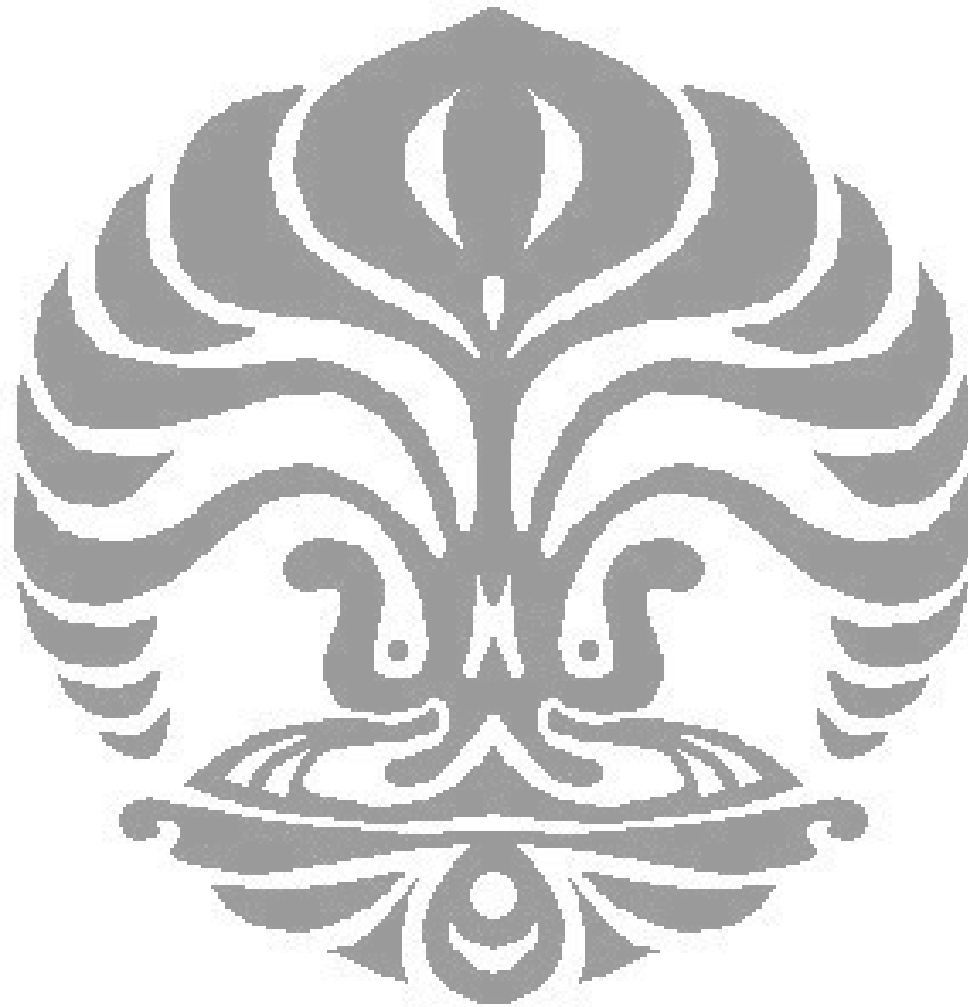
File Name : UI.2.0012.RAW / 9
 Method File : Biodisel.MET
 Calibration File : UI.0001.BND.CAL
 Mobile Phase : A: MeOH B: Isopropanol Hexane = 5:4
 Flow Rate : 0.8 ml/min
 Column : Licrosphere RP18
 Temperature : Ambient
 Detector : UV 205 nm
 Analysis Date : 7/24/2010 3:12:04 PM
 Analyst : Arie Bachtiar

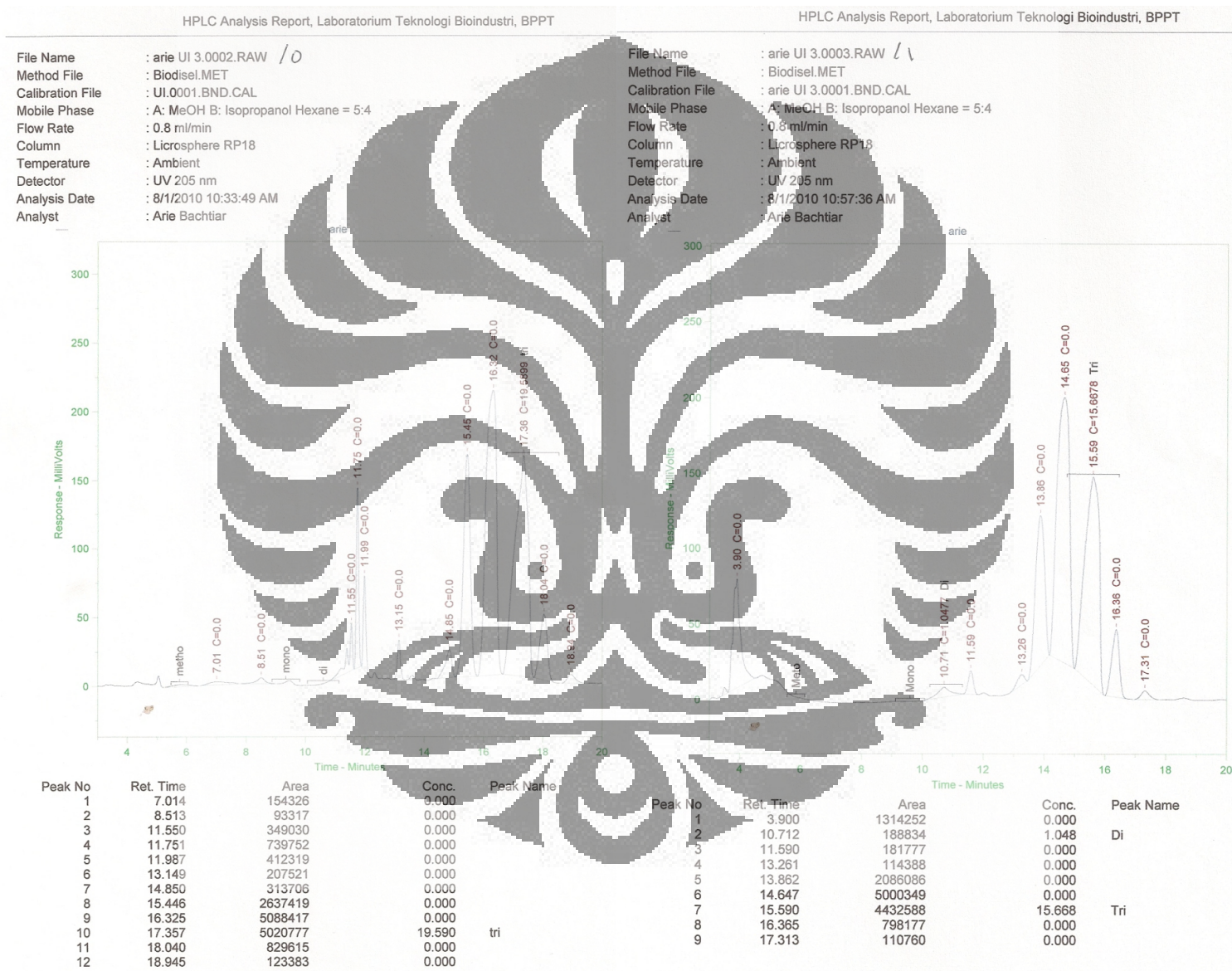


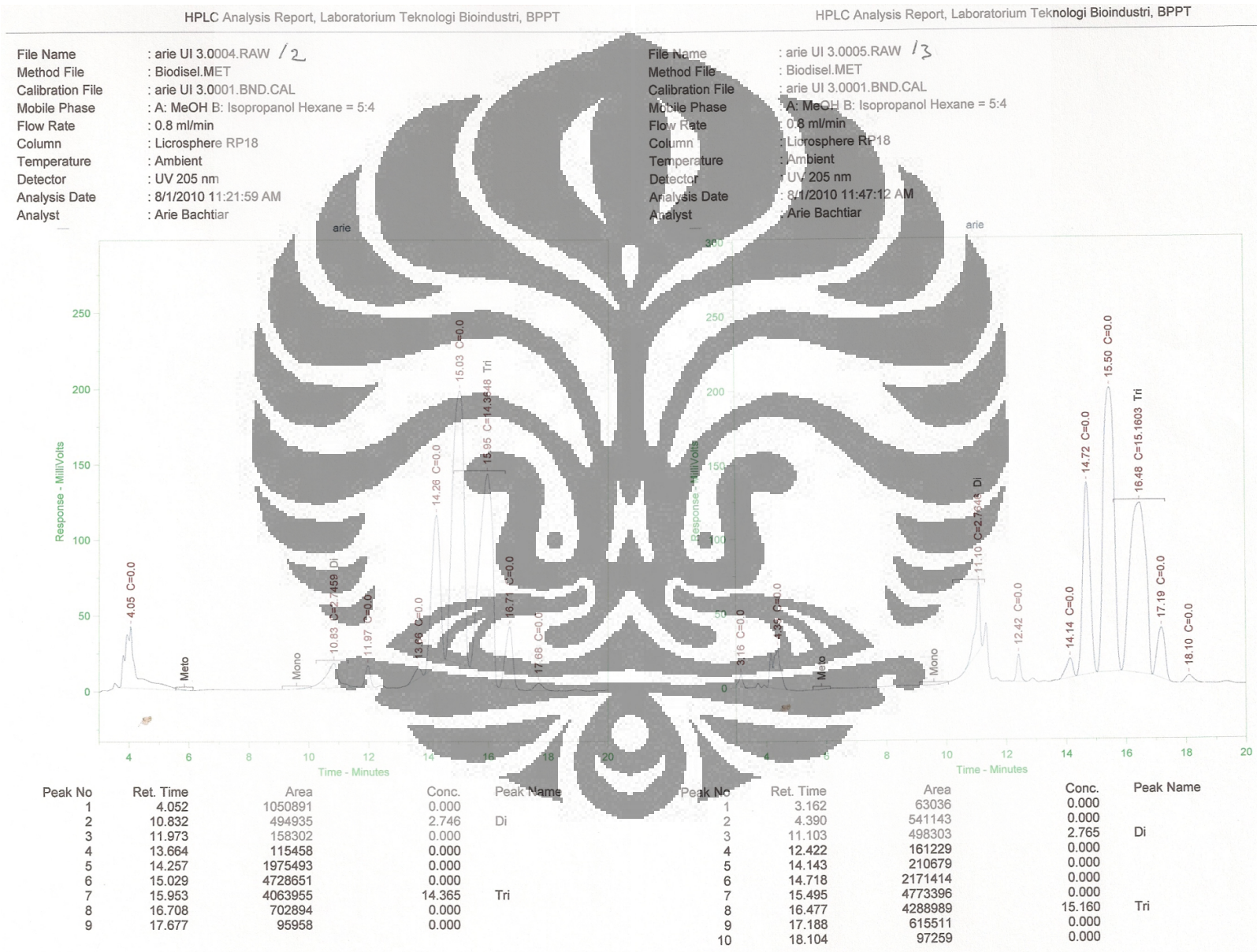
Peak No	Ret. Time	Area	Conc.	Peak Name	Peak No	Ret. Time	Area	Conc.	Peak Name
1	3.868	926307	0.000		1	3.889	1190727	0.000	
2	11.292	336415	0.000		2	10.768	127269	0.791	di
3	13.231	130839	0.000		3	11.551	163117	0.000	
4	13.866	2177000	0.000		4	13.496	128018	0.000	
5	14.702	5029154	0.000		5	14.136	2266835	0.000	
6	15.711	4311832	16.824	tri	6	14.976	5100929	0.000	
7	16.509	791752	0.000		7	15.998	4623834	18.041	tri
8	17.544	100089	0.000		8	16.806	832453	0.000	
					9	17.845	110442	0.000	

isia

- Eksperimen 3







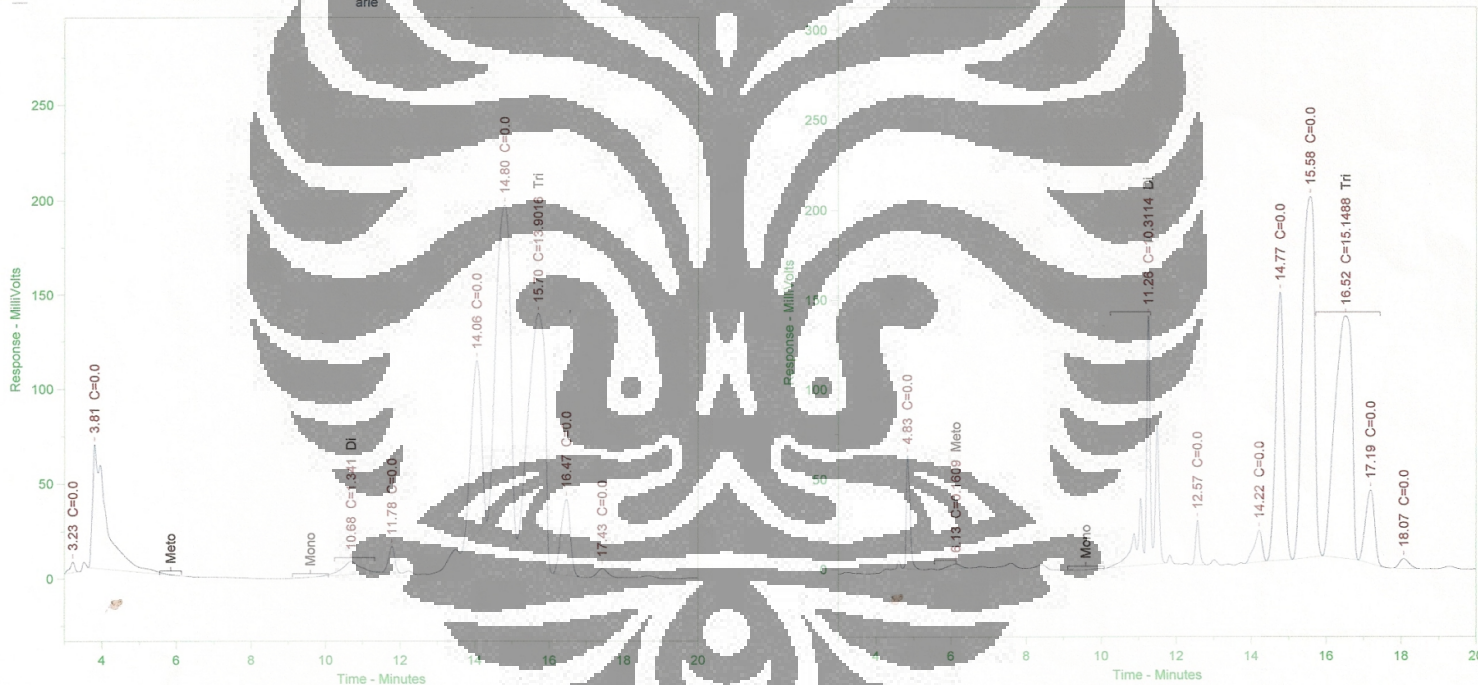
sia

HPLC Analysis Report, Laboratorium Teknologi Bioindustri, BPPT

HPLC Analysis Report, Laboratorium Teknologi Bioindustri, BPPT

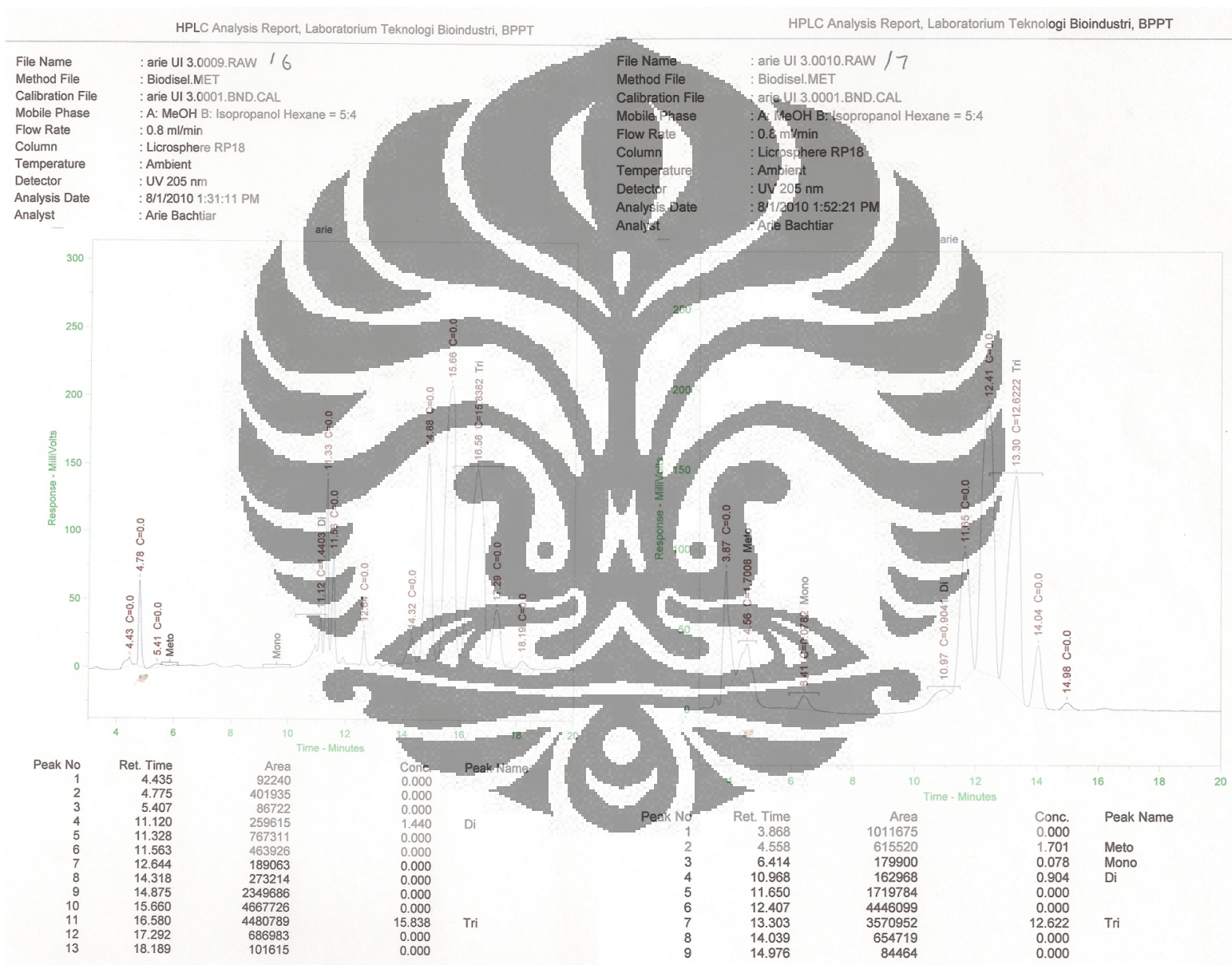
File Name : arie UI 3.0006.RAW / 4
 Method File : Biodisel.MET
 Calibration File : arie UI 3.0001.BND.CAL
 Mobile Phase : A: MeOH B: Isopropanol Hexane = 5:4
 Flow Rate : 0.8 ml/min
 Column : Licrosphere RP18
 Temperature : Ambient
 Detector : UV 205 nm
 Analysis Date : 8/1/2010 12:11:29 PM
 Analyst : Arie Bachtiar

File Name : arie UI 3.0008.RAW / 5
 Method File : Biodisel.MET
 Calibration File : arie UI 3.0001.BND.CAL
 Mobile Phase : A: MeOH B: Isopropanol Hexane = 5:4
 Flow Rate : 0.8 ml/min
 Column : Licrosphere RP18
 Temperature : Ambient
 Detector : UV 205 nm
 Analysis Date : 8/1/2010 1:04:23 PM
 Analyst : Arie Bachtiar

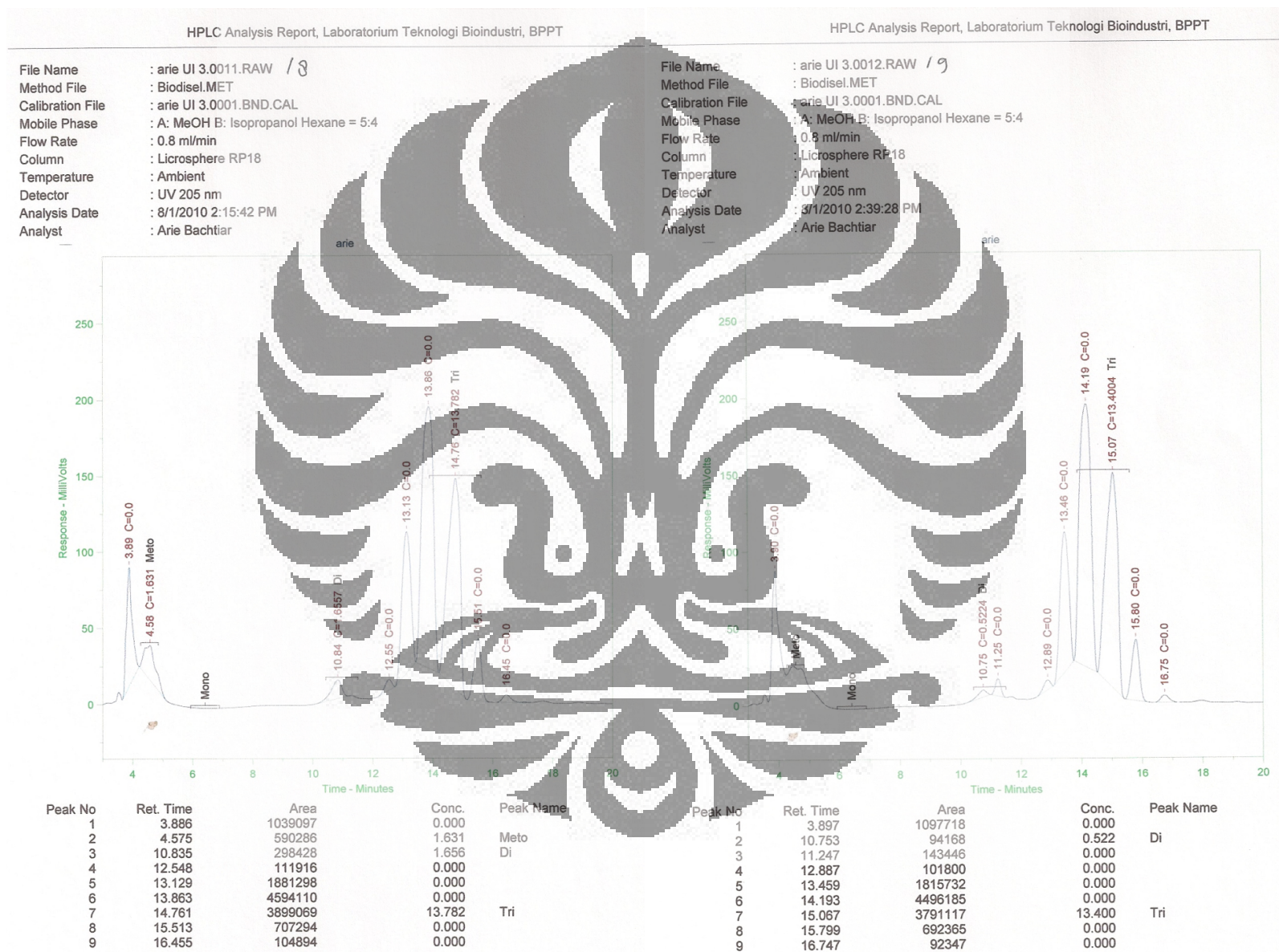


Peak No	Ret. Time	Area	Conc.	Peak Name	Peak No	Ret. Time	Area	Conc.	Peak Name
1	3.227	52075	0.000		1	4.835	425906	0.000	
2	3.806	1723660	0.000		2	6.132	58241	0.161	MeTo
3	10.684	241707	1.341	Di	3	11.260	1858586	10.311	Di
4	11.785	159578	0.000		4	12.568	176984	0.000	
5	14.059	1766085	0.000		5	14.216	257719	0.000	
6	14.803	4507646	0.000		6	14.772	2257836	0.000	
7	15.705	3932906	13.902	Tri	7	15.579	4495085	0.000	
8	16.467	702390	0.000		8	16.524	4285756	15.149	Tri
9	17.429	94146	0.000		9	17.187	681215	0.000	
					10	18.074	97644	0.000	

iesia



nesia



esia