



UNIVERSITAS INDONESIA

**STUDI REAKSI SINTESIS ESTER SUKROSA SECARA
ENZIMATIS MENGGUNAKAN LIPASE *Candida rugosa*
EC 3.1.1.3 ANTARA SUKROSA DENGAN ASAM LEMAK
HASIL HIDROLISIS MINYAK SAWIT**

SKRIPSI

IKA NOVIANINGSIH

0706263201

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI S1 KIMIA

DEPOK

JULI 2011



UNIVERSITAS INDONESIA

**STUDI REAKSI SINTESIS ESTER SUKROSA SECARA
ENZIMATIS MENGGUNAKAN LIPASE *Candida rugosa*
EC 3.1.1.3 ANTARA SUKROSA DENGAN ASAM LEMAK
HASIL HIDROLISIS MINYAK SAWIT**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains

IKA NOVIANINGSIH

0706263201

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI S1 KIMIA

DEPOK

JULI 2011

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri,

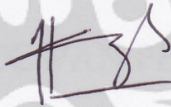
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk

telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Ika Novianingsih

NPM : 0706263201

Tanda Tangan :



Tanggal : 11 Juli 2011

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Ika Novianingsih

NPM : 0706263201

Program Studi : Kimia S1 Reguler

Judul Skripsi : Studi Reaksi Sintesis Ester Sukrosa secara Enzimatis Menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 antara Sukrosa dengan Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Sawit

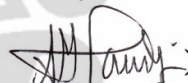
Telah berhasil dipertahankan dihadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains pada Program Studi S1 Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI


Pembimbing : Prof. Dr. Sumi Hudyono, PWS

()

Pembimbing : Dra. Sri Handayani M.Biomed

()

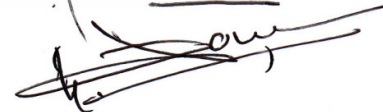
Penguji : Dr. Endang Saepudin

()

Penguji : Dra. Susilowati Hadi Susilo, M.Sc

()

Penguji : Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc

()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 11 Juli 2011

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji dan syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, berkah dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul Studi Reaksi Sintesis Ester Sukrosa secara Enzimatis Menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 antara Sukrosa dengan Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Sawit ini tepat pada waktunya. Tugas akhir ini disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan akademis dalam meraih gelar Sarjana Sains di Program Studi S1 Kimia, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

Dalam penyusunan tugas akhir ini, penulis banyak mendapatkan bantuan selama penelitian maupun dalam penyusunan tugas akhir serta bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Sumi Hudyono, PWS dan Ibu Dra. Sri Handayani M.Biomed, selaku dosen pembimbing, yang telah membimbing, memberi pengarahan, bantuan moril dan materiil dalam penyusunan tugas akhir ini. Terima kasih atas segala bantuan serta diskusinya.
2. Bapak Dr. Ridla Bakri, selaku Ketua Departemen Kimia, Universitas Indonesia.
3. Kedua orangtua serta sepupuku tercinta atas saran, motivasi, perhatian, kasih sayang, doa yang tak pernah putus, dan dukungan baik moril dan materiil yang takkan habis terbalas oleh penulis dan menjadi semangat bagi penulis sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
4. Kak Nanik Sugiharni dan Britsanti Dewi Hernawati yang telah bersedia memberikan petunjuk dan bantuan serta diskusinya, “maaf kak bila kami sering bertanya dan terima kasih selalu bersedia untuk meluangkan waktu”
5. Awaliatul Barkah sebagai teman satu perjuangan, rekan sekaligus sahabat yang hebat dalam menanggung beban pikiran yang sama, yang senantiasa

senang berbagi suka dan duka, serta memberikan petunjuk kepada penulis ”terima kasih atas bantuan dan kesabaranmu selama ini, tanpamu tidak terbayang harus melakukan penelitian ini sendiri”

6. Zuhry Ramadhoni yang selalu memberi motivasi, perhatian, semangat dan kasih sayang kepada penulis.
7. Zetryana Puteri yang selalu menjadi tempat diskusi selama ini “terima kasih telah menjadi rekan diskusi dan curahan hati ”
8. Kak Iman atas bantuan labu leher tiga yang selama ini kami pinjam.
9. Kak Desi, Kak Yudha, Prita, Yulinar, Retno, Nisa, Mega, Rifan, Kak Arif, Ibu Yeti yang selama penelitian telah menjadi rekan satu laboratorium “ tanpa kalian, sepi rasanya perjuangan di lantai 4”
10. Sherly, Riski, Ina, Dante, Evi, Rafi, Gisha, Ika.A, Hani, Fiam, Tyas, Jojo, Kak Tirta, Kak Wiwit, Kak Nadiroh, Kak Nadia, Kak Temmy, Kak Nanny, Kak Kak Asri, dan semua rekan penelitian semester ini yang saling memberikan doa dan semangat “kita pasti akan bertemu di balairung”
11. Teman-teman angkatan 2007 yang selama empat tahun terakhir ini telah menjadi bagian hidup penulis ”kalian membuat perjalanan di kimia menjadi sangat berarti dan berwarna”
12. Kepada karyawan Departemen Kimia, Pak Sutrisno “babe”, Pak Amin, Pak Kiri, Pak Wito, dan kakak-kakak laboratorium afiliasi yang telah membantu penulis selama penelitian.
13. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu dalam penelitian dan penyusunan tugas akhir ini.

Dalam penulisan tugas akhir ini, disadari masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, sangat diharapkan saran dan kritik yang membangun demi kesempurnaan penulisan di masa yang akan datang. Akhir kata penulis berharap semoga tugas akhir ini bermanfaat bagi pengembangan ilmu.

Penulis

2011

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

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

Nama : Ika Novianingsih
NPM : 0706263201
Program Studi : Kimia S1 Reguler
Departemen : Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
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 :

Studi Reaksi Sintesis Ester Sukrosa secara Enzimatis Menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 antara Sukrosa dengan Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Sawit

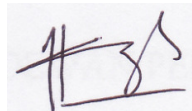
beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 11 Juli 2011

Yang menyatakan



(Ika Novianingsih)

vi

ABSTRAK

Nama : Ika Novianingsih

Program Studi : Kimia S1 Reguler

Judul : Studi Reaksi Sintesis Ester Sukrosa secara Enzimatis Menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 antara Sukrosa dengan Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Sawit

Ester sukrosa adalah emulsifier ramah lingkungan, yang dapat disintesis melalui reaksi esterifikasi antara sukrosa dengan asam lemak secara kimiawi maupun secara enzimatik. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa sintesis ester sukrosa secara enzimatik dapat dilakukan dengan menggunakan lipase dalam kondisi terdapat pelarut organik dan kandungan air yang sedikit. Pada penelitian ini, ester sukrosa disintesis melalui reaksi esterifikasi antara sukrosa dengan asam lemak hasil hidrolisis minyak sawit menggunakan lipase *Candida rugosa* dengan pelarut heksana. Optimasi reaksi esterifikasi dilakukan pada beberapa parameter seperti waktu inkubasi, suhu, dan rasio substrat untuk menghasilkan persentase konversi tertinggi. Kondisi optimum diperoleh pada waktu inkubasi 12 jam, suhu reaksi 30 °C, dan rasio mol asam lemak dengan sukrosa 64:1. Identifikasi produk menggunakan instrumen FT-IR memberikan serapan gugus ester pada bilangan gelombang 1739 cm⁻¹. Pada uji emulsi sederhana, produk yang dihasilkan dapat bertindak sebagai *emulsifier*. Pada hasil analisis menggunakan HPLC, diperoleh puncak monoester sukrosa pada waktu retensi 5,39; 5,71; 5,98; 6,11; 6,42 menit, puncak diester sukrosa pada waktu retensi 7,49 dan 7,85 menit, puncak triester sukrosa pada waktu retensi 12,93 menit, dan puncak tetraester sukrosa pada waktu retensi 18,12 menit. Analisis kuantitatif HPLC menunjukkan bahwa komposisi tertinggi yang terbentuk merupakan ester sukrosa dengan diester sukrosa, yaitu sebesar 77,22%.

Kata kunci : ester sukrosa, lipase *Candida rugosa*, sukrosa, asam lemak minyak sawit

xiii+84 halaman : 26 gambar; 17 lampiran; 18 tabel

Daftar Pustaka : 56 (1962-2011)

ABSTRACT

Name : Ika Novianingsih

Study Program : Chemistry

Title : Enzymatic Study of Sucrose Ester Synthetis Reaction Using Lipase from *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 between Sucrose and Hydrolyzed Palm Oil Fatty Acid

Sucrose esters are biodegradable emulsifiers, that may be synthesized by numerous methods which involve the use of either chemical or enzymatic esterification between fatty acids and sucrose. A previous study showed that enzymatic synthetis of sucrose ester could be carried out in organic media and minimum amount of water with lipase as biocatalyst. In this study, sucrose esters were synthesized by enzymatic esterification between hydrolyzed palm oil fatty acids and sucrose using lipase from *Candida rugosa* with hexane as solvent. Optimization of esterification reaction including incubation time, temperature reaction, and substrate molar ratio for a high conversion of sucrose ester. The optimum conditions were achieved at incubation time 12 h, temperature 30 °C, substrate fatty acid to sucrose molar ratio 64:1. Identification of products using FT-IR instrument gave an ester band at wave number 1739 cm⁻¹. In a simple emulsion test, the synthesized product could be act as emulsifier. Analysis using HPLC gave sucrose monoester peak at the retention time of 5.39; 5.71; 5.98; 6.11; 6.42 minutes, sucrose diester peak at retention time 7.49 and 7.85 min, peak sucrose triester at retention time 12.93 minutes, and peak tetraester sucrose at retention time 18.12 minutes. Quantitative analysis using HPLC, the highest composition formed was diester sucrose, that is equal to 77.22%.

Key words : sucrose esters, lipases, *Candida rugosa*, sucrose, palm oil fatty acid

xiv+84 pages : 26 Pictures; 17 appendixes; 18 tables

References : 56 (1962-2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERNYATAAN ORISINALITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Hipotesis	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Tanaman Kelapa Sawit	3
2.2 Minyak Kelapa Sawit	4
2.2.1 Standar Mutu Minyak Kelapa Sawit	6
2.2.2 Komposisi Kimia Minyak Kelapa Sawit	7
2.3 Sukrosa	9
2.4 Enzim	10
2.4.1 Klasifikasi Enzim	11
2.4.2 Mekanisme Kerja Enzim	11
2.5 Enzim Lipase	13
2.5.1 Keberadaan Lipase	15
2.5.2 Aplikasi Lipase	15
2.6 Enzim Lipase <i>Candida rugosa</i>	17
2.7 Reaksi Esterifikasi	18
2.8 Ester Asam Lemak Sukrosa	20
2.9 Analisis Ester Sukrosa	22
BAB III METODE PENELITIAN	24
3.1 Alat dan Bahan	25
3.1.1 Alat	25
3.1.2 Bahan	25
3.1.2.1 Enzim	25
3.1.2.2 Bahan Kimia	25
3.2 Prosedur Penelitian	26
3.2.1 Hidrolisis Trigliserida	26

3.2.2 Sintesis Ester Sukrosa (Reaksi Esterifikasi)	26
3.2.3 Terminasi Reaksi Esterifikasi	27
3.2.4 Pemurnian Ester Sukrosa	27
3.2.5 Identifikasi Produk (Uji Gugus Ester)	28
3.2.6 Uji Emulsi Ester Sukrosa Hasil Sintesis secara Kualitatif	28
3.2.7 Penentuan Jenis Emulsi	29
3.2.8 Analisis Ester Sukrosa dengan HPLC	29
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	30
4.1 Hidrolisis Trigliserida	30
4.2 Reaksi Esterifikasi Enzimatik antara Asam Lemak Minyak Sawit dengan Sukrosa	31
4.2.1 Optimasi Waktu Inkubasi	45
4.2.2 Optimasi Temperatur Reaksi	46
4.2.3 Optimasi Rasio Substrat	47
4.3 Uji Emulsi Ester Sukrosa Hasil Sintesis secara Kualitatif	49
4.4 Penentuan Jenis Emulsi	50
4.5 Identifikasi Ester Sukrosa dengan HPLC	51
BAB V PENUTUP	56
5.1 Kesimpulan	56
5.2 Saran	56
DAFTAR PUSTAKA	58

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Tanaman Kelapa Sawit	3
Gambar 2.2	Buah Kelapa Sawit	6
Gambar 2.3	Sukrosa	9
Gambar 2.4	Hipotesis Mekanisme Enzim	12
Gambar 2.5	Reaksi yang dapat dikatalisis oleh Enzim Lipase	14
Gambar 2.6	Struktur 3 Dimensi Lipase <i>Candida rugosa</i>	17
Gambar 2.7	Reaksi Esterifikasi dengan Katalis Asam	19
Gambar 2.8	Mekanisme Reaksi Esterifikasi dengan Katalis Asam	20
Gambar 2.9	Struktur Poliester Sukrosa atau Olestra	21
Gambar 2.10	Salah Satu Contoh Struktur Ester Sukrosa	21
Gambar 3	Bagan Kerja Secara Umum	24
Gambar 4.1	Reaksi Hidrolisis Trigliserida Minyak Kelapa Sawit dengan Katalis Basa	31
Gambar 4.2	Hasil Hidrolisis Minyak Sawit	32
Gambar 4.3	Reaksi Esterifikasi	33
Gambar 4.4	Campuran Setelah Inkubasi	38
Gambar 4.5	Campuran (a) sebelum sentrifugasi, (b) setelah sentrifugasi	38
Gambar 4.6	Spektrum FT-IR Asam Lemak Minyak Sawit	39
Gambar 4.7	Spektrum FT-IR Sukrosa	40
Gambar 4.8	Spektrum FT-IR <i>Ryoto Sugar Ester S-1170</i>	41
Gambar 4.9	Spektrum IR Produk Esterifikasi	43
Gambar 4.10	Grafik Persen Konversi terhadap Waktu	45
Gambar 4.11	Grafik Persen Konversi terhadap Temperatur Reaksi	46
Gambar 4.12	Grafik Persen Konversi terhadap Rasio Substrat	48
Gambar 4.13	Hasil Uji Emulsi secara Kualitatif (i) sebelum penambahan produk hasil sintesis (ii) setelah penambahan produk hasil sintesis	50
Gambar 4.14	Hasil Penentuan Jenis Emulsi	50
Gambar 4.15	Kromatogram Produk Esterifikasi. Puncak (a) sukrosa, (b) monoester, (c) diester, (d) trimester, (e) tetraester	52

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Taksonomi Tanaman Kelapa Sawit.....	3
Tabel 2.2 Perkembangan Ekspor-Impor Minyak Sawit Indonesia, 1996-2009.....	5
Tabel 2.3 Standart Mutu SPB dan Ordinary	7
Tabel 2.4 Komposisi Trigliserida dalam Minyak Kelapa Sawit	7
Tabel 2.5 Komposisi Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit	8
Tabel 2.6 Komposisi Senyawa yang Tidak Tersabunkan dalam Minyak Sawit	8
Tabel 2.7 Klasifikasi Enzim	11
Tabel 2.8 Pemanfaatan Lipase dalam Industri	16
Tabel 2.9 Spesifisitas Substrat berdasarkan Trigliserida	18
Tabel 4.1 Komposisi Asam Lemak Minyak Sawit	33
Tabel 4.2 Identifikasi Gugus Fungsi Spektrum IR Asam Lemak Minyak Sawit.....	39
Tabel 4.3 Identifikasi Gugus Fungsi Spektrum IR Sukrosa	41
Tabel 4.4 Identifikasi Gugus Fungsi Spektrum IR <i>Ryoto Sugar Ester S-1170</i>	42
Tabel 4.5 Identifikasi Gugus Fungsi Spektrum IR Produk Esterifikasi	43
Tabel 4.6 Data Persen Konversi Variasi Waktu Inkubasi	45
Tabel 4.7 Data Persen Konversi Variasi Temperatur Reaksi	46
Tabel 4.8 Data Persen Konversi Variasi Rasio Substrat	47
Tabel 4.9 Perhitungan Komposisi Ester Asam Lemak Sukrosa dari Minyak Sawit menggunakan Luas Area Puncak kromatogram HPLC	55

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan BM Hidrolisat Asam Lemak Minyak Sawit	64
Lampiran 2. Perhitungan Penentuan Rasio Bahan	65
Lampiran 3. Data Titrasi Asam Lemak Sisa Variasi Waktu Inkubasi	66
Lampiran 4. Data Titrasi Asam Lemak Sisa Variasi Temperatur Reaksi	68
Lampiran 5. Data Titrasi Asam Lemak Sisa Variasi Rasio Mol Substrat	70
Lampiran 6. Perhitungan % Konversi dan Perhitungan kasar perkiraan derajat esterifikasi (DS) ester asam lemak sukrosa dari minyak sawit	72
Lampiran 7 Perhitungan Komposisi Ester Asam Lemak Sukrosa dari Minyak Sawit menggunakan Luas Area Puncak kromatogram HPLC	73
Lampiran 8. Data Spesifikasi Lipase <i>Candida rugosa</i>	74
Lampiran 9. Data Analisis Kandungan Asam Lemak Minyak Sawit	75
Lampiran 10. Spektrum IR Ester Sukrosa Hasil Sintesis	77
Lampiran 11. Spektrum IR Asam Lemak Minyak Sawit	78
Lampiran 12. Spektrum IR Sukrosa	79
Lampiran 13. Kromatogram Sukrosa	80
Lampiran 14. Kromatogram <i>Ryoto Sugar Ester S-1170</i>	81
Lampiran 15. Kromatogram Metanol	82
Lampiran 16. Kromatogram Ester Sukrosa Hasil Sintesis	83
Lampiran 17. Spesifikasi <i>Ryoto Sugar Ester S-1170</i>	84

BAB 1

PENDAHULUAN

I.1. Latar Belakang

Dewasa ini kepedulian masyarakat akan ekosistem dan lingkungan semakin meningkat, sehingga ketertarikan dalam memodifikasi dan membuat produk baru menjadi cenderung berupa produk yang bersifat *biodegradable* atau ramah lingkungan dan berasal dari sumber daya alam terbarukan. Salah satu zat yang mengalami perkembangan untuk menjadi produk yang bersifat ramah lingkungan adalah ester sukrosa. Ester sukrosa merupakan salah satu jenis *emulsifier* yang bersifat ramah lingkungan dan berasal dari sumber daya alam terbarukan. Ester sukrosa merupakan biosurfaktan non-ionik dan mempunyai sifat emulsifying, *foaming*, detergent, dan solubilizing yang sangat baik serta tidak beracun.

Ester sukrosa dapat disintesis melalui reaksi esterifikasi antara sukrosa atau alkohol sukrosa dengan asam lemak. Sintesis ester sukrosa dapat dilakukan secara kimiawi maupun secara enzimatik. Sintesis ester sukrosa secara enzimatik dapat dilakukan dengan menggunakan enzim lipase.

Enzim lipase pada dasarnya merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis. Akan tetapi lipase juga mampu mengkatalisis berbagai reaksi di antaranya reaksi hidrolisis, inter-esterifikasi, alkoholisis, asidosis, esterifikasi, dan aminolisis (Joseph, et al. 2008). Dalam kondisi terdapat pelarut organik dan kandungan air yang sedikit, lipase cenderung bekerja dalam reaksi interesterifikasi dan transesterifikasi daripada reaksi hidrolisis.

Sebagai biokatalis, lipase memiliki faktor-faktor yang mempengaruhi kerja enzim. Faktor tersebut secara tidak langsung akan mempengaruhi konversi atau produk yang dihasilkan. Oleh karena itu, untuk diperoleh hasil dengan tingkat konversi yang tinggi, perlu dilakukan penentuan keadaan optimum dari reaksi esterifikasi secara enzimatik ini. Diharapkan hasil optimasi dapat digunakan lebih jauh dalam industri pembuatan ester sukrosa.

I.2. Perumusan Masalah

1. Berapa lama waktu inkubasi reaksi esterifikasi yang terbaik, sehingga dihasilkan persentase konversi ester sukrosa terbesar?
2. Berapa suhu reaksi esterifikasi yang terbaik, sehingga dihasilkan persentase konversi ester sukrosa terbesar?
3. Berapa rasio substrat yang terbaik, sehingga dihasilkan persentase konversi ester sukrosa terbesar?

I.3. Tujuan Penelitian

1. Mensintesis ester asam lemak sukrosa dari minyak kelapa sawit dan sukrosa dengan katalis enzim lipase *Candida rugosa*
2. Mengetahui kondisi optimum reaksi esterifikasi antara asam lemak dari minyak kelapa sawit dan sukrosa dengan katalis enzim lipase *Candida rugosa*

I.4. Hipotesis

1. Enzim lipase *Candida rugosa* dapat digunakan sebagai katalis reaksi esterifikasi antara sukrosa dengan asam lemak sawit
2. Ester sukrosa hasil sintesis pada kondisi optimum dapat bertindak sebagai *emulsifier*

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kelapa Sawit

Tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) merupakan tanaman yang berasal dari Afrika Barat, terutama di sekitar Angola sampai Senegal. Tanaman kelapa sawit dapat dikembangkan dengan baik pada daerah 15⁰LU – 15⁰LS (Maksi, 2007). Faktor-faktor yang terpenting dalam pertumbuhan kelapa sawit antara lain curah hujan, suhu, udara, kelembaban udara, dan radiasi cahaya matahari. Kelapa sawit tumbuh baik pada ketinggian 0-400 m dpl, iklim dengan curah hujan 2000-2500 mm/tahun, daerah sekitar ekuator yang bersifat tropis dan basah (humid, dengan RH ~ 85%), dengan suhu berkisar 24-32 °C sepanjang tahun, sinar matahari melimpah, curah hujan tinggi (~ 2,000 mm). Oleh karena itulah kelapa sawit sangat cocok untuk dikembangkan di Indonesia.

Tabel 2.1 Taksonomi Tanaman Kelapa Sawit



Gambar 2.1 Tanaman Kelapa Sawit

[Sumber: agisfarm.indonetwork.co.id]

Taksonomi	
Kingdom	Plantae
Divisi	Magnoliophyta
Kelas	Liliopsida
Ordo	Arecales
Famili	Arecaceae
Genus	Elaeis
Spesies	<i>Elaeis guineensis</i> Jacq.

[Sumber: Gambaran Sekilas Industri Minyak Kelapa Sawit, Depperin]

Ada beberapa tanaman kelapa sawit yang telah dikenal. Varietas tanaman kelapa sawit dapat dibedakan berdasarkan warna kulit buahnya,

ketebalan tempurung, penampung irisan buah, dan kandungan minyak dalam buah kelapa sawit. Berdasarkan ketebalan tempurung, penampung irisan buah, dan kandungan minyak dalam buah, tanaman kelapa sawit dapat dibedakan menjadi tiga varietas yaitu:

1. *Dura*, dengan tempurung yang tebal yaitu antara 2 – 8 mm, daging buah berlapis tipis dan kandungan minyaknya rendah.
2. *Pisifera*, dengan biji yang kecil dan mempunyai tempurung yang sangat tipis tetapi daging buahnya tebal sehingga kandungan minyaknya tinggi.
3. *Tennera*, varietas dengan sifat – sifat yang berasal dari kedua induknya yaitu *Dura* dan *Pisifera* dengan tempurung tipis dengan ketebalan 0,5 – 4 mm, persentase daging buah terhadap buah tinggi sehingga kandungan minyak yang dihasilkan lebih banyak.

Berdasarkan warna kulitnya, terdapat tiga varietas kelapa sawit yang dikenal yaitu:

1. *Nigrescens*, dengan buah berwarna ungu sampai hitam pada waktu muda dan berubah menjadi kehitam – hitaman sewaktu telah masak.
2. *Virescens*, dengan buah berwarna hijau pada waktu muda dan ketika masak menjadi jingga kemerahan tetapi ujungnya tetap kehijauan.
3. *Albescens*, yang pada waktu muda buahnya berwarna keputih – putihan sedangkan setelah masak menjadi kekuning – kuning dan ujungnya berwarna ungu kehitaman.

2.2 Minyak Kelapa Sawit

Minyak kelapa sawit diperoleh dari pengolahan buah kelapa sawit. Kelapa sawit adalah tumbuhan industri penting penghasil minyak masak, minyak industri, maupun bahan bakar (biodiesel). Minyak sawit berpotensi untuk digunakan dalam berbagai aplikasi yang sangat luas dan beragam; baik dalam bidang pangan, maupun untuk keperluan nonpangan. Dalam bidang pangan, minyak sawit banyak digunakan sebagai minyak goreng, *shortening*, margarin, vanaspati, *cocoa butter substitutes*, dan berbagai *ingredient* pangan lainnya. Aplikasi dalam bidang nonpangan juga terus berkembang, terutama sebagai

oleokimia, biodiesel, dan berbagai *ingridient* untuk berbagai industri non-pangan, misalnya untuk industri farmasi. Namun demikian, aplikasi utamanya masih dalam bidang pangan.

Ekspor- impor kelapa sawit Indonesia dilakukan dalam wujud minyak sawit, minyak inti sawit, dan wujud lainnya. Perkembangan volume ekspor kelapa sawit pada periode 1996–2009 cenderung terus meningkat, yaitu dari 2,62 juta ton pada tahun 1996 menjadi 21,67 juta ton pada tahun 2009 atau mengalami pertumbuhan per tahun sebesar 21,30% per tahun, sementara rata-rata pertumbuhan volume impor kelapa sawit meningkat sebesar 14,85% per tahun. Besarnya volume ekspor dibandingkan dengan volume impor yang cukup besar membuat kelapa sawit menjadi komoditas penyumbang devisa negara.

Tabel 2.2 Perkembangan Ekspor – Impor Minyak Sawit Indonesia, 1996 – 2009

Tahun	Ekspor		Impor	
	Volume (Ton)	Nilai (000 US\$)	Volume (Ton)	Nilai (000 US\$)
1996	2,619,318	1,121,838	115,975	72,198
1997	4,138,780	1,784,322	86,087	59,780
1998	2,512,631	969,985	18,029	11,704
1999	4,729,849	1,497,160	11,879	1,858
2000	5,519,500	1,357,628	7,448	4,531
2001	6,297,107	1,250,995	5,223	2,626
2002	7,894,074	2,388,032	11,912	4,702
2003	7,821,443	2,764,474	5,613	3,778
2004	10,967,882	4,030,764	8,459	6,772
2005	13,131,029	4,430,921	13,945	11,947
2006	15,386,946	5,551,160	17,100	11,088
2007	15,200,733	9,078,283	4,662	7,038
2008	18,141,004	14,110,229	11,721	13,106
2009	21,669,489	11,728,840	24,273	16,522

[Sumber: BPS diolah Pusdatin]

Secara garis besar buah kelapa sawit terdiri dari serabut buah (*pericarp*) dan inti (*kernel*). Serabut buah kelapa sawit terdiri dari tiga lapis yaitu lapisan luar

Universitas Indonesia

atau kulit buah yang disebut *pericarp*, lapisan sebelah dalam yang disebut *mesocarp* atau *pulp*, dan lapisan paling dalam yang disebut *endocarp*. Inti kelapa sawit terdiri atas lapisan kulit biji (*testa*), endosperm, dan embrio. *Mesocarp* mengandung kadar minyak rata-rata sebanyak 56%, inti (*kernel*) mengandung minyak sebesar 44%, dan *endocarp* tidak mengandung minyak.

Berbeda dengan jenis tanaman penghasil minyak lainnya, kelapa sawit menghasilkan dua jenis minyak, yaitu minyak kelapa sawit dan minyak inti kelapa sawit, yang kedua-duanya bisa diproses dan diolah menjadi aneka jenis produk turunannya. Buah kelapa sawit merupakan buah yang terdiri dari kulit dan tandan (29%), biji atau inti sawit (11%), dan daging buah (60%). Proses pengepresan daging buah sawit akan menghasilkan minyak sawit kasar (*crude palm oil*, CPO) dan inti sawit akan menghasilkan minyak inti sawit kasar (*crude palm kernel oil*, CPKO); sebagaimana terlihat pada Gambar 2.2. Kedua jenis minyak ini; CPO dan CPKO mempunyai karakteristik kimia dan gizi unik yang berbeda. Pada prakteknya, dibandingkan CPKO, CPO lebih banyak diproses lanjut menjadi minyak goreng, yang sering disebut sebagai minyak sawit.



Gambar 2.2 Buah Kelapa Sawit

[Sumber: www.inovasi.lipi.go.id dan Hariyadi, Purwiyatno. "telah diolah kembali"]

2.2.1 Standar Mutu Minyak Kelapa Sawit

Analisis mutu minyak kelapa sawit mentah (CPO) diperlukan untuk menyamakan standar mutu minyak kelapa sawit yang diproduksi di Indonesia dengan menggunakan standar mutu CPO internasional.

Universitas Indonesia

Untuk menentukan apakah mutu minyak itu termasuk baik atau tidak diperlukan standar mutu. Ada beberapa faktor yang menentukan standard mutu yaitu: kandungan air dan kotoran dalam minyak, kandungan asam lemak bebas (ALB), warna, dan bilangan peroksida. Perbandingan standar mutu *Special Prime Bleach* (SPB) dengan mutu *ordinary* dapat dilihat dalam Tabel 2.3.

Tabel 2.3 Standard Mutu SPB dan Ordinary

Kandungan	SPB	Ordinary
Asam lemak bebas (%)	1 – 2	3 – 5
Kadar air (5)	< 0,1	< 0,1
Pengotoran (%)	< 0,02	< 0,01
Besi (ppm)	< 10	< 10
Tembaga (ppm)	0,5	0,2
Bilangan iodium	53 ± 1,5	45 - 56
Karotena (ppm)	± 500	500 - 700
Tokoperol (ppm)	± 800	400 - 600
Pemucatan : merah (R)	< 2,0	< 3,5
Kuning (y)	20	35

[Sumber: Ketaren, S. 1986]

2.2.2 Komposisi Kimia Minyak Kelapa Sawit

Minyak kelapa sawit, seperti umumnya minyak nabati lainnya, merupakan merupakan senyawa yang tidak larut dalam air. Komponen utama penyusun minyak kelapa sawit adalah trigliserida, yang merupakan ester dari gliserol dengan tiga molekul asam lemak, dan nontrigliserida. Minyak kelapa sawit adalah lemak semi padat yang mempunyai komposisi yang tetap.

Pada Tabel 2.4 dan 2.5 dapat dilihat komposisi trigliserida dan asam lemak dari minyak kelapa sawit.

Tabel 2.4 Komposisi Trigliserida dalam Minyak Kelapa Sawit

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

[Sumber: Ketaren, S. 1986]

Tabel 2.5 Komposisi Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit

Asam Lemak	Rumus	% Terhadap Asam Lemak total	
		Kisaran	Rata-rata
Asam Kaprilat	C8:0	-	-
Asam Kaprat	C10:0	-	-
Asam Laurat	C12:0	0.1 – 1.0	0.2
Asam Ministat	C14:0	0.90 – 1.5	1.1
Asam Palmitat	C16:0	41.8 – 45.8	44.0
Asam Palmitoleat	C16:1	0.1 – 0.3	0.1
Asam Stearat	C18:0	4.2 – 5.1	4.5
Asam Oleat	C18:1	37.3 – 40.8	39.2
Asam Linoleat	C18:2	9.1 – 11.0	10.1
Asam Linolenat	C18:3	0.0 – 0.6	0.4
Asam Arachidat	C20:0	0.2 – 0.7	0.4

[Sumber: Hariyadi, 2010]

Selain trigliserida, masih terdapat senyawa non trigliserida dalam jumlah kecil, antara lain: digliserida, fosfatida, karbohidrat, turunan karbohidrat, protein, bahan-bahan berlendir atau getah (gum), serta zat-zat berwarna yang memberikan warna, rasa, dan bau yang tidak diinginkan.

Tabel 2.6 Komposisi Senyawa yang Tidak Tersabunkan dalam Minyak Sawit

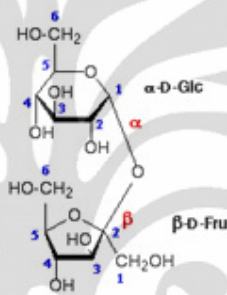
Senyawa	%	ppm
Karotenoida		
α - Karotenoida	36.2	500-700
β - Karotenoida	54.4	
γ - Karotenoida	3.3	
Likopene	3.8	
Xantophyl	2.2	
Tokoperol		
α - tokoperol	35	500-800
γ - tokoperol	35	
δ - tokoperol	10	
$\Sigma + \delta + \gamma$ + tokoperol	20	
Sterol	4	
Kolesterol	21	
Kompesterol	21	
Stigmasterol	63	
β - sitosterol		
Phospatida		
Alkohol Total		Mendekati 800
Triterpenik alkohol	80	
Alifatik alkohol	26	

[Sumber: Jakobserg, 1986]

Universitas Indonesia

2.3 Sukrosa

Sukrosa merupakan suatu disakarida yang terdiri atas unit glukosa dan fruktosa, dengan rumus molekul $C_{12}H_{22}O_{11}$. Senyawa ini dikenal sebagai sumber nutrisi yang dibentuk oleh tumbuhan, tetapi tidak oleh organisme lain seperti hewan. Sukrosa, yang sering disebut gula tebu, merupakan disakarida yang paling manis di antara ketiga jenis disakarida yang umum dijumpai. Selain itu sukrosa lebih manis dibandingkan dengan glukosa.



Gambar 2.3 Sukrosa

[Sumber: www.biochem.arizona.edu]

Unit glukosa dan fruktosa diikat oleh jembatan eter, yaitu berupa ikatan glikosida yang menghubungkan karbon ketal dan asetal yang bersifat β dari fruktosa dan α dari glukosa. Struktur ini dikenali melalui enam cincin glukosa dan lima cincin fruktosa. Selain itu sukrosa dapat dikenali melalui sifatnya yang tidak memiliki gugus hemiasetal, sebab sukrosa tidak mengandung atom karbon anomer bebas. Oleh karena itu, sukrosa bukan merupakan gula pereduksi dan di dalam air tidak berada dalam kesetimbangan dengan suatu bentuk aldehida atau keto serta tidak mengalami mutarotasi. Secara kimia, sukrosa memiliki 8 gugus hidroksil, 3 di antaranya adalah gugus hidroksi primer (C1', C6' and C6) dan 5 yang lainnya adalah gugus hidroksi sekunder.

2.4 Enzim

Enzim merupakan katalis biologis yang bekerja sebagai senyawa yang mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi dalam suatu reaksi kimia. Enzim merupakan unit fungsional metabolisme sel yang memiliki cara kerja dengan urutan yang teratur, mengkatalisis ratusan reaksi bertahap yang menguraikan molekul *nutrient*, reaksi yang menyimpan dan mengubah energi kimiawi, dan mampu membuat makromolekul sel dari prekursor sederhana. Pada reaksi yang dikatalisis oleh enzim, molekul awal reaksi disebut sebagai substrat, dan enzim mengubah substrat tersebut menjadi produk berupa molekul-molekul yang berbeda.

Sebagian besar enzim merupakan protein dan kadang dilengkapi oleh komponen lain yang dibutuhkan enzim untuk melakukan fungsinya, yang disebut kofaktor. Kofaktor enzim dapat berupa ion logam dan komponen yang disebut dengan koenzim. Koenzim merupakan komponen pendukung enzim yang berupa gugus organik, sedangkan ion logam yang mendukung enzim dapat berupa Cu^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , dan lain-lain. Selain koenzim dan ion logam, terdapat pula kofaktor yang terikat dalam enzim dan susah dipisahkan tanpa merusak aktivitas enzim yang disebut dengan gugus prostetik.

Berdasarkan ada tidaknya komponen pendukung struktur enzim, enzim dibedakan menjadi apoenzim (berupa protein) dan holoenzim. Apoenzim merupakan enzim yang belum memiliki kofaktor atau kehilangan kofaktor, sehingga bisa disebut dengan protein inaktif. Holoenzim merupakan enzim yang terdiri atas apoenzim dan kofaktornya.

Dalam mengkatalisis reaksi, enzim memiliki beberapa sifat, yaitu:

1. Bekerja secara spesifik.
2. Berfungsi sebagai katalis, yaitu mempercepat terjadinya reaksi kimia tanpa mengubah kesetimbangan reaksi
3. Hanya diperlukan dalam jumlah sedikit.
4. Dapat bekerja secara bolak-balik.
5. Kerja enzim dipengaruhi oleh lingkungan, seperti oleh suhu, pH, konsentrasi substrat, dan lain-lain.

2.4.1 Klasifikasi Enzim

Klasifikasi dan penamaan enzim berdasarkan dengan fungsi dari enzim tersebut, yaitu sesuai dengan jenis reaksi yang dikatalisis. Berdasarkan tipe reaksi yang dikatalisis, enzim dibagi menjadi 6 kelas enzim. Berikut enam kelas utama pembagian enzim.

Tabel 2.7 Klasifikasi Enzim

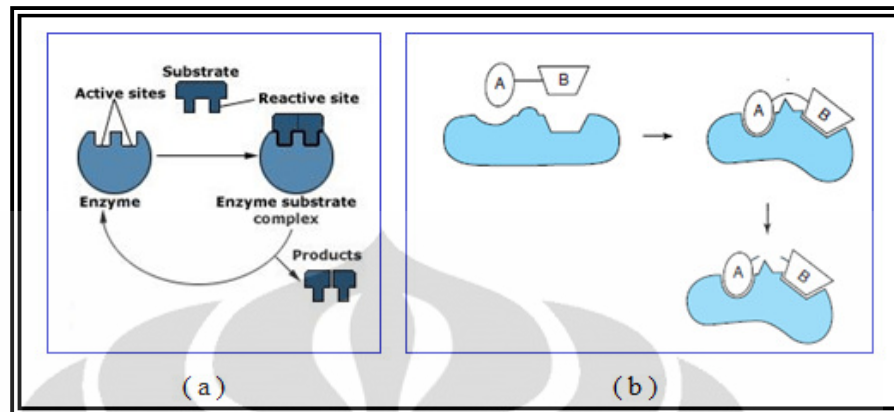
Kelas Enzim	Tipe Reaksi
Oksidoreduktase	Reaksi redoks (transfer elektron atau proton)
Transferase	Transfer atom atau gugus dari satu substrat ke lainnya (di luar reaksi kelas lainnya)
Hidrolase	Reaksi hidrolisis
Liase	Penambahan gugus fungsi pada ikatan rangkap (adisi) atau pemutusan ikatan rangka pelepasan gugus fungsi
Isomerase	Reaksi isomerisasi
Ligase	Pembentukan ikatan C-C, C-S, C-O, dan C-N yang disertai dengan pemutusan isofosfat ATP

[Sumber: Hudiyono, 2004]

2.4.2 Mekanisme Kerja Enzim

Hipotesis yang dapat menjelaskan tentang mekanisme enzim yang bekerja secara spesifik, yaitu teori *lock and key* dan *induced fit*. Teori *lock and key* dikemukakan oleh ilmuwan Jerman bernama Emil Fischer. Pada teori ini, terjadinya reaksi antara substrat dengan enzim akibat adanya kesesuaian bentuk ruang antara substrat dengan situs aktif (*active site*) dari enzim, sehingga sisi aktif enzim cenderung kaku. Substrat yang berperan sebagai kunci masuk ke dalam situs aktif, yang berperan sebagai gembok, sehingga terjadi kompleks enzim-substrat. Pada saat ikatan kompleks enzim-substrat terputus, produk hasil reaksi akan dilepas dan enzim akan kembali pada konfigurasi semula.

Universitas Indonesia



Gambar 2.4 Hipotesis Mekanisme Enzim (a) Model *lock and key* (b) Model *induced fit*

[Sumber: Harper's Illustrated Biochemistry]

Model *lock and key* tidak dapat menjelaskan stabilisasi pada keadaan transisi yang enzym dapatkan. Pada tahun 1958, Koshland menyempurnakan model yang dibuat oleh Fischer. Pada teori *induced fit*, sisi aktif enzym lebih fleksibel dalam menyesuaikan struktur substrat. Ikatan antara enzym dan substrat dapat berubah sedemikian rupa menyesuaikan dengan substrat sehingga keduanya merupakan struktur yang komplemen atau saling melengkapi.

Sifat yang sangat khas dari enzym merupakan selektivitasnya yang tinggi. Akan tetapi aktivitas enzym dalam mengkatalisis reaksi dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya adalah suhu, pH (tingkat keasaman), konsentrasi enzym dan substrat, serta aktivator dan inhibitor.

Setiap enzym mempunyai suhu dan pH optimal yang berbeda, sesuai dengan tempat kerjanya dan berhubungan dengan gugus fungsionalnya. Hal ini disebabkan enzym merupakan suatu protein yang dapat mengalami perubahan bentuk jika terjadi perubahan suhu dan pH pada sistem reaksi (Enzim, 2010). Enzim tidak dapat bekerja secara optimal atau strukturnya akan mengalami kerusakan apabila suhu dan pH lingkungan tidak sesuai. Kerusakan yang terjadi pada struktur enzym akan mengakibatkan enzym kehilangan aktivitas katalitiknya.

Semakin tinggi konsentrasi substrat akan mempercepat terjadinya reaksi. Konsentrasi substrat berbanding lurus dengan kecepatan reaksi. Jika sudah

mencapai titik jenuhnya, maka konsentrasi substrat berbanding terbalik dengan kecepatan reaksi.

Aktivator merupakan zat yang dapat mengaktifkan dan meningkatkan kerja enzim, sedangkan inhibitor adalah zat yang dapat menghambat kerja enzim. Inhibitor enzim berdasarkan sifatnya dapat dibagi menjadi dua, yaitu inhibitor irreversibel dan inhibitor reversibel. Inhibitor irreversibel merupakan inhibitor yang terikat secara kuat dan tidak bisa dipisahkan dari enzim tanpa merusak atau menurunkan aktivitas enzim. Sedangkan inhibitor reversibel merupakan inhibitor yang terikat secara reversibel dan dapat dilepas dengan cara dialisis atau dengan menambah komponen lain. Berdasarkan cara kerjanya, inhibitor reversibel dapat dibedakan menjadi tiga, yaitu inhibitor kompetitif, inhibitor unkompetitif, dan inhibitor nonkompetitif. Inhibitor kompetitif adalah inhibitor yang bersaing aktif dengan substrat untuk mendapatkan situs aktif enzim, contohnya malonat dalam reaksi yang dikatalisis oleh suksinat dehidrogenase. Sementara itu, inhibitor nonkompetitif adalah inhibitor yang melekat pada sisi lain selain situs aktif pada enzim, yang lama kelamaan dapat mengubah sisi aktif enzim. Inhibitor unkompetitif adalah yang terikat pada sisi aktif yang berbeda dan terikat pada kompleks ES membentuk kompleks terner ESI.

2.5 Enzim Lipase

Hampir 2000 jenis enzim telah diketahui dan diklasifikasikan berdasarkan jenis reaksi yang dikatalisis. Salah satu jenis enzim yang memiliki sifat sebagai katalis pada reaksi hidrolisis adalah lipase.

Lipase (EC 3.1.1.3; triasil gliserol hidrolase) merupakan enzim yang berperan penting dalam reaksi hidrolisis triasilgliserol menghasilkan asam lemak dan gliserol. Lipase cenderung bersifat polar, sedangkan substratnya, triasilgliserol, berupa senyawa nonpolar, sehingga lipase bekerja pada bagian antar muka (*interface*) fasa air dan fasa minyak (Yapasan, 2008).

Secara umum, struktur lipase merupakan lipatan rantai polipeptida yang melindungi *active site*, dengan terowongan hidrofobik yang dapat

mengakomodasi rantai asam lemak, sehingga memungkinkan pergerakan substrat untuk dapat berinteraksi dengan *active site*. *Active site* biasanya dicirikan sebagai senyawa *triad* yang terdiri dari serin, histidin, dan aspartat (glutamat) (Akoh dan Min, 1998).

Lipase mampu mengkatalisis berbagai reaksi di antaranya reaksi hidrolisis, esterifikasi, transesterifikasi (asidolisis, interesterifikasi, alkoholisis), dan aminolisis (ÖZTÜRK, 2001). Lipase akan bertindak sebagai enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis apabila berada dalam medium dengan kandungan air yang tinggi atau dengan kata lain medium yang digunakan adalah air (*aqueous medium*). Namun, dalam kondisi terdapat pelarut organik dan kandungan air yang sedikit lipase cenderung bekerja dalam reaksi esterifikasi, transesterifikasi (asidolisis, interesterifikasi, alkoholisis), daripada reaksi hidrolisis (Adamopoulos, 2006). Reaksi yang dapat dikatalisis oleh lipase dapat dilihat pada Gambar 2.5.

- Hydrolysis

$$R_1COOR_2 + H_2O \rightarrow R_1COOH + R_2OH$$
- Ester Synthesis

$$R_1COOH + R_2OH \rightarrow R_1COOR_2 + H_2O$$
- Acidolysis

$$R_1COOR_2 + R_3COOH \rightarrow R_3COOR_2 + R_1COOH$$
- Interesterification

$$R_1COOR_2 + R_3COOR_4 \rightarrow R_3COOR_2 + R_1COOR_4$$
- Alcoholysis

$$R_1COOR_2 + R_3OH \rightarrow R_1COOR_3 + R_2OH$$
- Aminolysis

$$R_1COOR_2 + R_3NH_2 \rightarrow R_1CONHR_3 + R_2OH$$

Gambar 2.5 Reaksi yang dapat dikatalisis oleh lipase
 [Sumber : ÖZTÜRK, 2001]

2.5.1 Keberadaan Lipase

Pada dasarnya enzim lipase dapat diperoleh dari mamalia, tumbuhan, dan mikroba. Pada mamalia, lipase terdapat pada sistem pencernaan, air susu, serta beberapa jaringan seperti hati, paru-paru, jantung, dan ginjal. Sedangkan lipase yang berasal dari tumbuhan, dapat diperoleh dari tanaman seperti jagung, minyak sawit, kentang, kol, dan gandum. Enzim lipase yang dihasilkan dari mikroba dibedakan berdasarkan sumbernya, yaitu enzim lipase yang berasal dari bakteri, kapang, dan khamir.

- a. Bakteri : *Bacillus Pseudomonas*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Chromobacterium viscosum*, *Mycobacterium rubrum*
- b. Kapang : *Penicillium camberti*, *Geotrichum candidum*, *Mucor meihei*
- c. Khamir : *Candida Antarctica*, *Candida albicans*, *Candida rugosa*

Produksi enzim dari hewan dan tumbuhan memiliki kelemahan, sehingga industri umumnya menggunakan pembiakan mikroorganisme untuk memperoleh lipase. (Kulkarni, 2002; Yusnizar, 2001)

2.5.2 Aplikasi Lipase

Kemampuan lipase yang dapat dimanfaatkan sebagai katalis dengan reaksi dan substrat yang bermacam-macam, stabilitas tinggi terhadap temperatur yang ekstrim, dapat mengkatalisis reaksi dengan regioselektifitas yang tinggi pada berbagai jenis pelarut organik, membuat penggunaan lipase akhir-akhir ini menjadi berkembang pesat. Penggunaan lipase di bidang industri dipandang cukup ekonomis, jika dibandingkan dengan proses tradisional, apabila ditinjau dari segi konsumsi energi dan hasil samping reaksi (Kulkarni, 2002).

Lipase telah banyak diaplikasikan ke dalam bidang industri dalam bidang bioteknologi, seperti biomedikal, pestisida, pengolahan limbah, industri makanan, biosensor, detergen, untuk industri kulit dan industri oleokimia (memproduksi asam lemak dan turunannya) (Macrae, 1983). Lipase juga digunakan untuk mempercepat degradasi limbah minyak/lemak, dan poliuretan (Jisheng, et al. 2005). Lipase juga telah banyak digunakan sebagai biokatalis pada reaksi esterifikasi dalam sintesis berbagai produk, seperti :

Universitas Indonesia

- a. Pembentukan mono- dan diasilgliserol dari destilat asam lemak minyak kelapa : Nancy Estherlita Kitu, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB
- b. Studi pemurnian dan karakterisasi *emulsifier* campuran mono- dan diasilgliserol yang diproduksi dari distilat asam lemak minyak sawit dengan teknik esterifikasi enzimatis menggunakan lipase *Rhizormucor miehei* : Anak Agung Ayu Mas Ratna Dewi Atmadja, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB
- c. *Enzymatic synthesis of sucrose ester from mango kernel fat* : Dandekar, PP et al, *Institute of Chemical Technology*, India
- d. *Properties of biosurfactant enzymatically prepared from fructose and palm fatty acid* : Rakmi Abdul Rahman And Tjahjono Herawan, *Chemical and Process Engineering Departement, Faculty of Engineering*. Universiti Kebangsaan Malaysia, dan *Indonesian Oil Palm Research Institute*, Indonesia

Tabel 2.8 Pemanfaatan Lipase dalam Industri

Bidang Industri	Kegunaan	Produk
A. Pangan		
1. Industri produk susu	Hidrolisis lemak susu	Berbagai tipe keju
	- <i>Flavor enhancement</i> dalam produksi keju - Mempercepat kematangan keju	
2. Industri Kue	Meningkatkan <i>flavor</i> , mencegah <i>stalling</i>	Produk kue
3. Industri minuman beralkohol	Meningkatkan aroma dan mempercepat fermentasi	Produk alkohol, seperti wine dan sake
4. Industri gelatin	Hidrolisis lemak dalam proses <i>defatting</i> tulang	Gelatin
B. Non Pangan		
1. Industri oleokimia	Hidrolisis minyak/lemak Gliserolisis Alkoholisis	Asam lemak bebas, diasilgliserol, monoasilgliserol, dan gliserol
2. Industri deterjen	Menghilangkan spot minyak/lemak	Deterjen
3. Industri kosmetik	Mengubah lemak	Kosmetik secara umum

Lanjutan

4. Industri kulit	Menghilangkan lemak dari kulit	Produk-produk kulit
5. Penggunaan terpadu	Dekomposisi dan perubahan substansi minyak	Pembersih untuk pipa, penanganan limbah yang penggunaannya dikombinasikan dengan enzim-enzim lain

[Sumber: Kotting and Eibl, 1994]

2.6 Enzim Lipase *Candida rugosa*

Lipase yang berasal dari *Candida rugosa* memiliki massa molekular sebesar 120.000 dan titik isoelektrik berada pada pH 4.5 serta aktivitas optimum berada diantara pH 6,5 dan 7,5 (Petersen et al., 2001). Lipase yang diisolasi dari *Candida rugosa* termasuk ke dalam kelompok lipase yang menghidrolisis TAG secara acak terhadap posisi asam lemak pada trigliserida menjadi asam lemak. Anggota lain dari kelompok ini antara lain: lipase yang dihasilkan oleh *C. viscosum* dan *Pseudomonas sp* (ÖZTÜRK, 2001).



Gambar 2.6 Struktur 3 Dimensi Lipase *Candida rugosa*

[Sumber: ÖZTÜRK, 2001]

Banyak lipase yang bersifat spesifik terhadap substrat asam lemak tertentu. Sebagian besar lipase dari sumber mikroba menunjukkan sedikit spesifisitas terhadap jenis asam lemak sebagai substrat, tetapi lipase dari *Geotrichum candidum* memiliki spesifisitas terhadap asam lemak rantai panjang yang mengandung ikatan rangkap cis-9. Lipase *Candida rugosa* spesifik untuk menghidrolisis asam lemak gliserida obligasi yang dibentuk oleh cis-9 asam lemak tak jenuh (oleat, linoleat, dan asam linolenat). Urutan spesifisitas asam lemak untuk lipase *Candida rugosa*, yaitu oleat > laurat > palmitat > miristat > stearat (ÖZTÜRK, 2001).

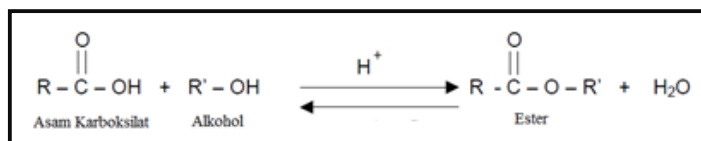
Tabel 2.9 Spesifisitas Substrat berdasarkan Trigliserida

Sumber	Trigliserida
<i>C. viscosum</i>	C4-FA
<i>Bacillus spp.</i>	C8-FA
<i>G. candidum</i>	Δ9-C18-FA C8-FA C16-FA
<i>H. lanuginosa</i>	C12-FA
<i>P. nitens</i>	C8-FA
<i>S. lipolytica</i>	Δ9-C18-FA
<i>C. cylindracea</i>	Δ9-C18-FA
<i>P. cyclopium</i>	Δ9-C18-FA C16-FA

[Sumber: Fadölođlu, 1996]

2.7 Reaksi Esterifikasi

Esterifikasi adalah suatu reaksi ionik, merupakan gabungan dari reaksi adisi dan reaksi penataan ulang eliminasi [Davidek, 1990]. Esterifikasi secara umum dikenal sebagai suatu reaksi pembentukan ester antara alkohol dengan asam karboksilat. Reaksi ini biasanya berjalan lambat namun dapat dipercepat dengan bantuan suatu katalis. Umumnya yang biasa dipergunakan adalah suatu asam anorganik seperti HCl dan H₂SO₄. Reaksi esterifikasi juga dapat dipercepat dengan menggunakan katalis enzim.

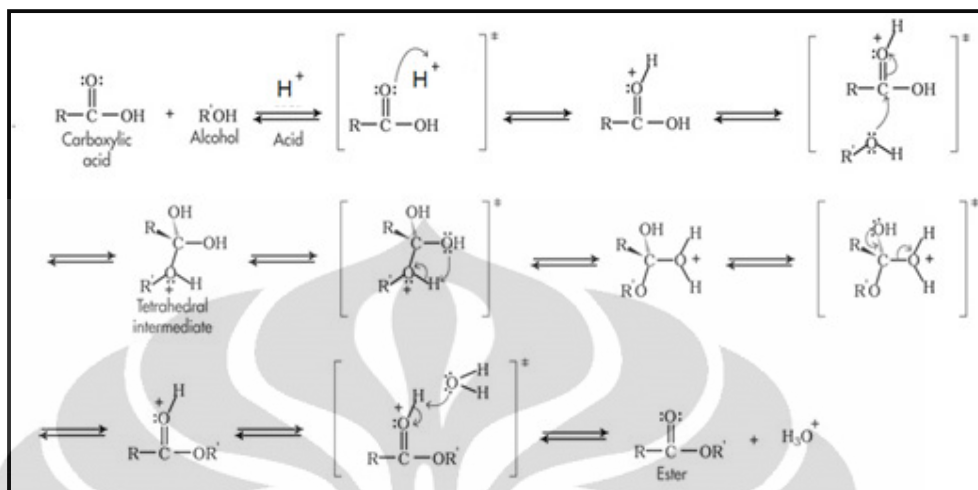


Gambar 2.7 Reaksi Esterifikasi dengan Katalis Asam
 [Sumber: www.wikipremed.com]

Reaksi esterifikasi merupakan reaksi yang bersifat bolak-balik. Reaksi ini dapat berlangsung dengan melakukan dehidrasi, yaitu dengan menarik air yang terbentuk sebagai hasil samping reaksi. Air dapat dipisahkan dengan cara menambahkan pelarut yang bersifat nonpolar seperti misalnya benzen dan kloroform, sehingga ester yang terbentuk akan segera tertarik pada pelarut yang digunakan. Selain melakukan dehidrasi, hasil dari ester dapat ditingkatkan dengan cara melebihi kuantitas pada salah satu *reagent*.

Reaksi esterifikasi terdiri dari beberapa tahap mekanisme, yaitu :

1. Tahap pertama, asam karboksilat akan mengalami konyugasi dengan menerima ion proton dari asam anorganik yang digunakan sebagai katalis hal ini akan membuat asam karboksilat bermuatan positif dan akan berperan sebagai substrat.
2. Tahap kedua, yang merupakan tahapan reaksi yang berjalan lambat, muatan positif pada atom karbon diserang oleh satu elektron oksigen dari molekul alkohol.
3. Tahap ketiga, pada fase ini terjadi perpindahan proton (ion hidrogen) dari oksigen terbawah ke atom oksigen lainnya.
4. Tahap keempat, terbentuk molekul air akibat terputusnya ikatan ion. Tahap terakhir, yaitu pemisahan hidrogen dari oksigen oleh reaksi dari ion hidrogen sulfat yang terbentuk pada langkah pertama.

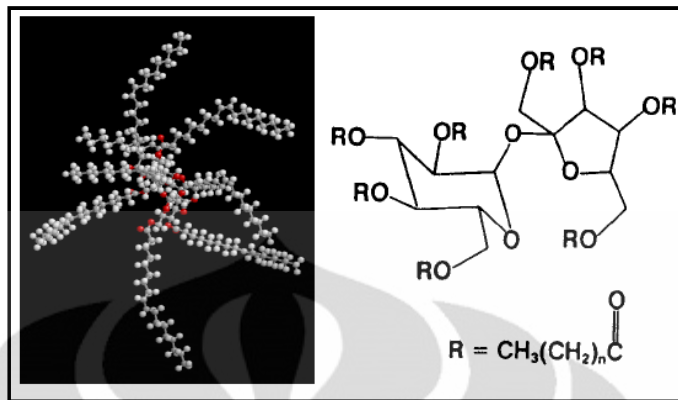


Gambar 2.8 Mekanisme Reaksi Esterifikasi dengan Katalis Asam
[Sumber: www.wikipremed.com]

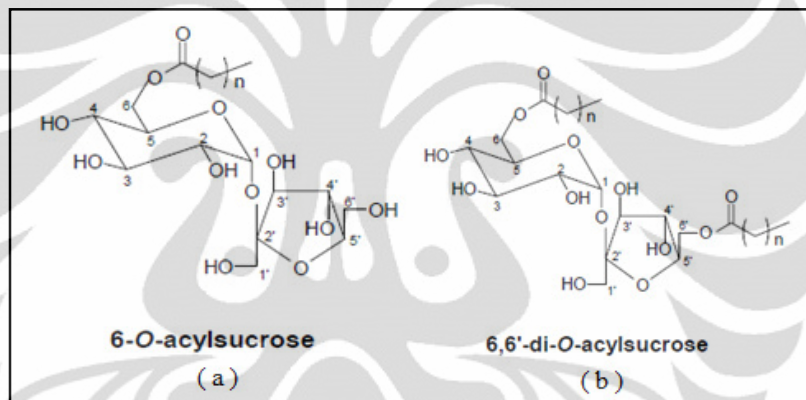
2.8 Ester Asam Lemak Sukrosa (Ester Sukrosa)

Ester asam lemak sukrosa merupakan salah satu jenis karbohidrat poliester dengan inti sukrosa sebagai karbohidrat. Ester asam lemak sukrosa dapat dibedakan menjadi dua, yaitu ester asam lemak sukrosa dan poliester sukrosa. Ester sukrosa asam lemak ini dapat disintesis dengan 3 cara, yakni : 1) reaksi esterifikasi antara asil klorida asam lemak ataupun anhidrida asam lemak dengan sukrosa, 2) interesterifikasi antara metil ester asam lemak dengan sukrosa pada pemanasan suhu tinggi, dan 3) reaksi enzimatik antara sukrosa dengan asam lemak menggunakan lipase.

Ester asam lemak sukrosa dengan Derajat Substitusi (DS) 1-3 merupakan ester non ionik yang memiliki gugus yang bersifat lipofilik dan hidrofilik. Ester asam lemak sukrosa dengan derajat substitusi yang rendah dapat digunakan sebagai *emulsifier* dan telah banyak digunakan secara luas pada bahan makanan karena mudah dicerna dan diabsorpsi dalam tubuh. Poliester asam lemak karbohidrat dengan derajat substitusi yang lebih besar antara 4-8 merupakan molekul yang bersifat lipofilik, serta tidak dapat dicerna dan diserap yang digunakan sebagai *fat replacer* (Adamopoulos, 2006).



Gambar 2.9 Struktur Poliester Sukrosa atau Olestra
[Sumber : Adamopoulos, 2006]



Gambar 2.10 Salah Satu Contoh Struktur Ester Sukrosa
(a) Struktur Monoester Sukrosa (b) Struktur Diester Sukrosa
[Sumber : Ferrer, et al., 2005]

Poliester sukrosa dapat digunakan sebagai bahan tambahan makanan (*food additive*) yang mampu menggantikan lemak dalam *shortening* dan minyak makan. Ester sukrosa memiliki sifat yang sama dengan trigliserida tetapi tidak dapat dicerna sehingga tidak akan meningkatkan kadar lemak, kolesterol, maupun kalori bagi tubuh. Ester sukrosa dapat digunakan sebagai lemak non kalori, sehingga penambahan ester sukrosa ini dalam makanan dapat menyebabkan makanan tersebut menjadi makanan rendah kalori (Adamopoulos, 2006).

Ester sukrosa asam lemak digunakan sebagai emulsifier dalam sistim minyak dalam air (o/w) dan air dalam minyak (w/o). Salah satu faktor yang mempengaruhi jenis emulsi minyak dalam air (o/w) dan air dalam minyak (w/o)

Universitas Indonesia

yang akan terbentuk dengan bantuan ester sukrosa adalah derajat substitusi dari ester sukrosa yang digunakan. Karakteristik dari surfaktan/*emulsifier* dapat diklasifikasi berdasarkan nilai *Hydrophilic-Lipophilic Balance* (HLB). HLB dapat memprediksi sifat dan informasi yang cukup berkaitan dengan aplikasi surfaktan. HLB yang rendah menunjukkan lipofilisitas yang tinggi dan HLB yang tinggi menunjukkan hidrofilitas yang tinggi. Pada ester asam lemak sukrosa, klasifikasi HLB didasarkan pada gugus asil (bercabang atau tidak), derajat esterifikasi (mono, di-, tri-, dst), serta pada derajat polimerisasi karbohidrat (monosakarida atau disakarida) (Biscaia F.C, Joana, 2008).

Berdasarkan klasifikasi HLB tersebut, maka derajat substitusi (DS) ester sukrosa berbanding terbalik dengan nilai HLB dari ester sukrosa. Ester sukrosa dengan DS tinggi akan memiliki HLB yang rendah dan jenis emulsi yang terbentuk berupa air dalam minyak (w/o), sedangkan ester sukrosa dengan DS rendah akan memiliki HLB yang tinggi dan jenis emulsi yang terbentuk berupa minyak dalam air (o/w)(Whitehurst,2004).

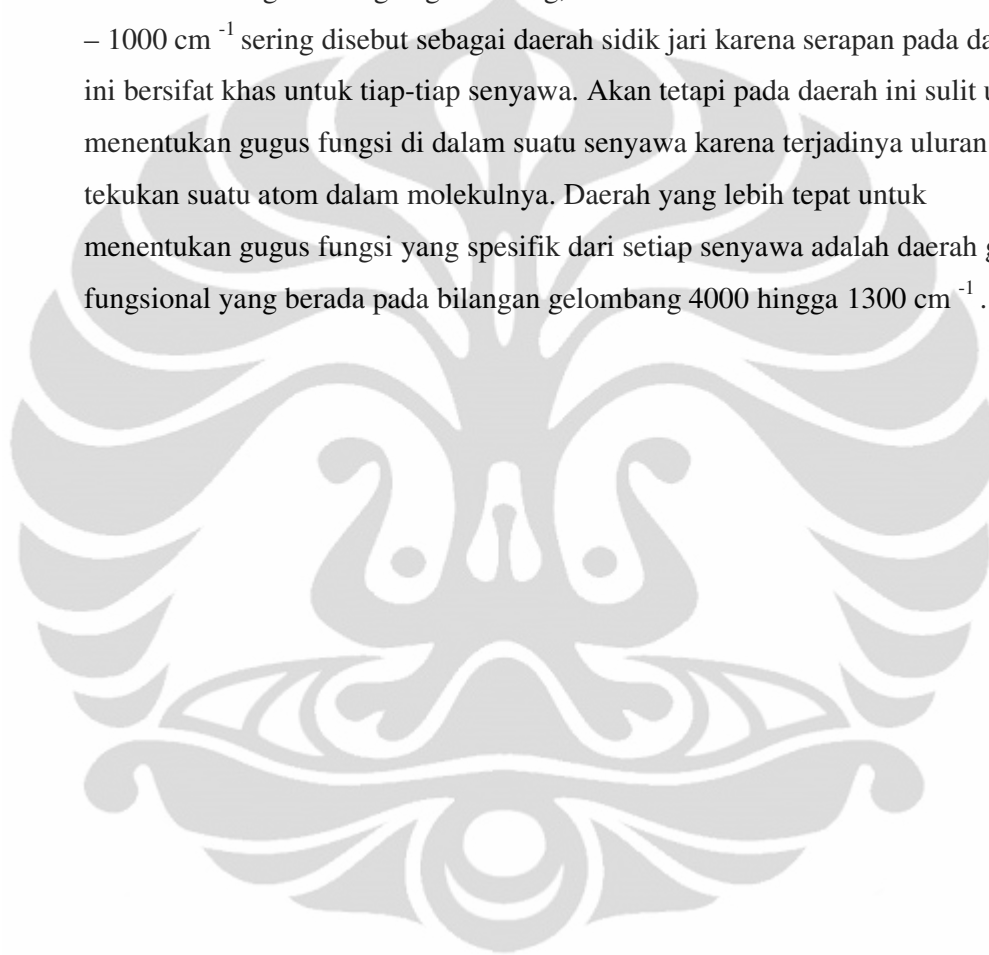
2.9 Analisis Ester Sukrosa

Analisis hasil reaksi esterifikasi, yaitu ester sukrosa dilakukan dengan menggunakan FT-IR untuk mengetahui gugus fungsi yang terbentuk. Spektroskopi infra merah merupakan teknik spektroskopi yang digunakan untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsional.

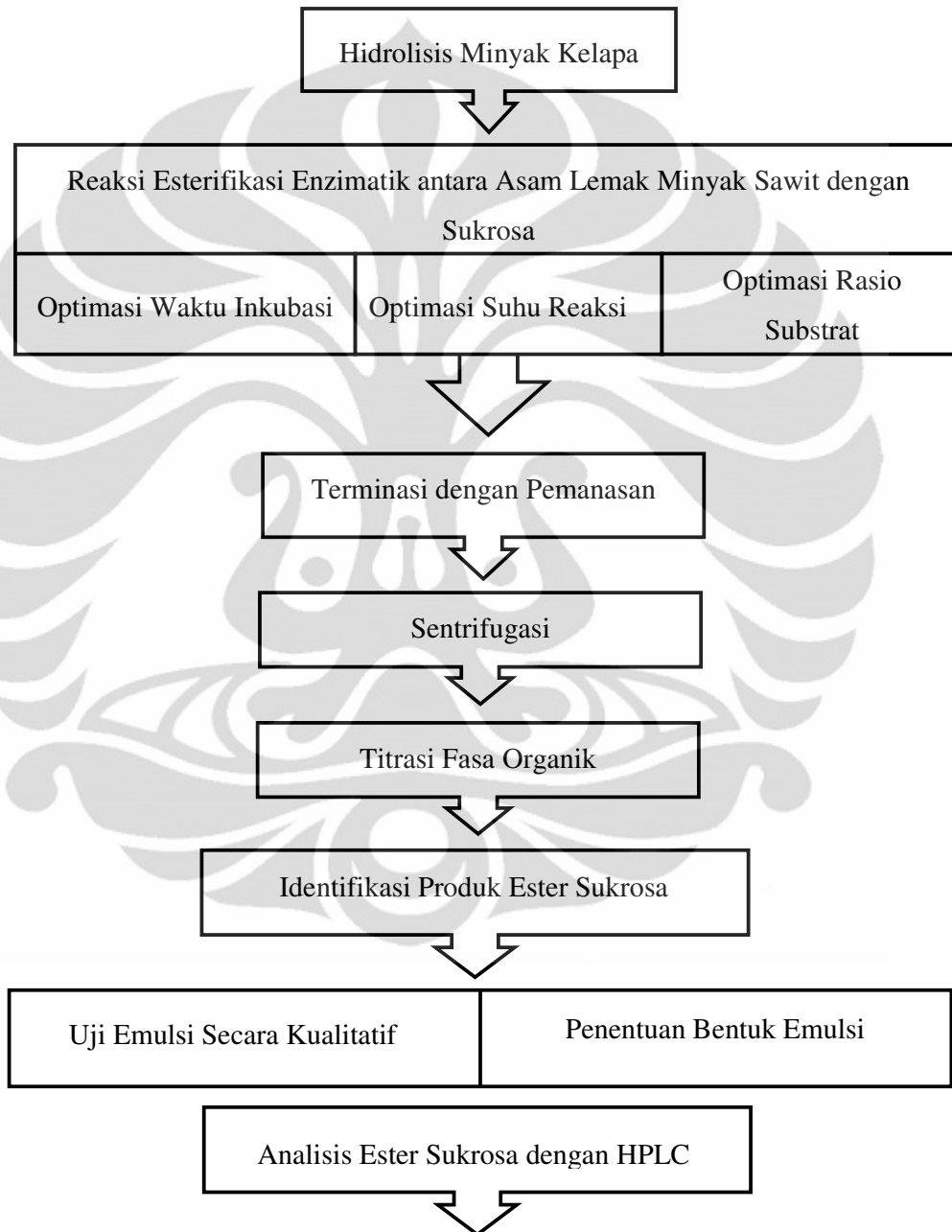
Pada dasarnya inti-inti atom yang terikat oleh ikatan kovalen dapat mengalami getaran (vibrasi) atau osilasi. Bila suatu molekul menyerap radiasi infra merah, energi yang diserap akan menyebabkan kenaikan dalam amplitudo getaran atom-atom di dalamnya. Atom dalam molekul bervibrasi secara konstan, baik berupa uluran (*stretching*) maupun tekukan (*bending*). Dengan demikian molekul berada dalam keadaan tereksitasi, sehingga energi yang terserap ini akan dilepas kembali ke keadaan dasar. Banyaknya energi yang diserap oleh suatu ikatan bergantung pada perubahan dalam momen ikatan seperti vibrasi atom-atom yang saling berikatan. Oleh sebab itu, tipe ikatan yang berbeda akan menyerap radiasi infra merah pada panjang gelombang yang berbeda pula, sehingga

spektroskopi infra merah dapat digunakan untuk tujuan kualitatif yaitu untuk mengidentifikasi berbagai gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa yang diujikan (Flaming, Williams, 1980).

Spektrum infra merah meliputi panjang gelombang antara 2,5 – 1,6 μm atau setara dengan bilangan gelombang, $\nu = 4000\text{-}625\text{ cm}^{-1}$. Daerah antara 1300 – 1000 cm^{-1} sering disebut sebagai daerah sidik jari karena serapan pada daerah ini bersifat khas untuk tiap-tiap senyawa. Akan tetapi pada daerah ini sulit untuk menentukan gugus fungsi di dalam suatu senyawa karena terjadinya uluran dan tekukan suatu atom dalam molekulnya. Daerah yang lebih tepat untuk menentukan gugus fungsi yang spesifik dari setiap senyawa adalah daerah gugus fungsional yang berada pada bilangan gelombang 4000 hingga 1300 cm^{-1} .



BAB 3
METODE PENELITIAN



Gambar 3.1. Bagan Kerja secara Umum

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Pada penelitian ini alat yang digunakan meliputi alat-alat gelas yang digunakan di Laboratorium Biokimia, seperti *beaker glass*, batang pengaduk, corong biasa, labu ukur, pipet tetes, pipet ukur, gelas ukur, erlenmeyer, neraca analitik, tabung reaksi, tabung *sentrifuge*, *sentrifuge*, *magnetic stirrer*, *horizontal incubator shaker*, labu leher tiga, termometer, corong pisah, *hot plate*, sistem refluks, buret, *rotatory evaporator*, dan pH meter. Peralatan yang digunakan untuk keperluan analisis adalah instrumen FT-IR.

3.1.2 Bahan

3.1.2.1 Enzim

Enzim yang digunakan pada penelitian ini adalah enzim lipase PA , *Candida rugosa* yang didapatkan dari Sigma-Aldrich Corporation. Enzim yang diperoleh memiliki aktivitas 2,45 U/mg dan suhu dan pH optimum : 40 °C, pH 8.

3.1.2.2 Bahan Kimia

Semua bahan kimia yang digunakan untuk reaksi esterifikasi, uji aktivitas emulsifier serta untuk keperluan analisis didapatkan dari Laboratorium Biokimia dan Organik Departemen Kimia FMIPA Universitas Indonesia, CV Harum Kimia dan CV Dwinika. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini, di antaranya : minyak kelapa sawit, NaOH, indikator fenolftalein (pp), aquades, aseton, minyak kelapa sawit, sukrosa, kloroform, HCl 0,1N dan 3N, KOH 1M dalam etanol 95%, n-heksana, Na₂SO₄ anhidrat, buffer fosfat pH 6-9, dan aquades.

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Hidrolisis Trigliserida

Hidrolisis trigliserida dilakukan untuk mendapatkan asam lemak yang terdapat pada minyak kelapa sawit. Hidrolisis trigliserida berkatalis basa dilakukan dengan cara sebagai berikut (Hasnisa, *et al.*, 2008) : Sebanyak 20 g minyak kelapa sawit dimasukkan ke dalam labu bulat leher tiga, kemudian ditambahkan 100 mL KOH 1M dalam alkohol 95%. Campuran ini kemudian dipanaskan dengan sistem refluks selama 1 jam pada suhu 62 ± 2 °C sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Setelah dipanaskan, ke dalam campuran tersebut ditambahkan 50 mL aquades. Setelah itu, campuran diasamkan dengan 35 mL HCl 3N, kemudian diekstraksi dengan 50 mL n-heksana. Lapisan atas dipisahkan dari lapisan bawah. Pada lapisan atas ditambahkan 1 g Na_2SO_4 anhidrat. Setelah itu, larutan tersebut didekantasi untuk memisahkan padatan Na_2SO_4 . N-heksana yang terlarut dalam asam lemak diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 70 °C hingga filtrat pekat.

3.2.2 Sintesis Ester Sukrosa (Reaksi Esterifikasi)

Sintesis ester sukrosa dilakukan dengan mencampurkan sukrosa dan asam lemak yang terlarut dalam n-heksana, kemudian campuran di inkubasi ke dalam *horizontal incubator shaker* selama beberapa menit untuk pengkondisian sesuai keadaan saat reaksi. Campuran memiliki komposisi bahan:

Asam lemak : sukrosa = 3:1 (v/v) setara dengan perbandingan mol asam lemak dengan sukrosa 90:1.

Enzim = 5% (w/w substrat)

Pelarut = 1:1 (v/v substrat)

Ke dalam campuran tersebut ditambahkan dengan enzim lipase PA dari *Candida rugosa* yang telah dilarutkan dalam larutan buffer fosfat pH = 8.

Campuran diinkubasi pada suhu 40 °C dalam *horizontal incubator shaker*.

Reaksi dilakukan secara triplo dengan melakukan variasi pada waktu inkubasi, temperatur, dan perbandingan molar rasio antara sukrosa dengan asam lemak. Variasi waktu inkubasi yang digunakan adalah 6, 12, 18, 24, dan 30 jam. Variasi temperatur reaksi yang digunakan adalah suhu 30 °C, 35 °C, 40 °C, dan 45 °C. Variasi perbandingan molar rasio antara sukrosa dan asam lemak yang digunakan adalah rasio 1:16, 1:40, 1:64, 1:90.

3.2.3 Terminasi Reaksi Esterifikasi

Sebelum produk reaksi dikarakterisasi, reaksi esterifikasi diakhiri dengan merendam labu erlenmeyer ke dalam penangas dengan suhu $\pm 80^{\circ}\text{C}$. Pemanasan bertujuan untuk mendenaturasi enzim.

3.2.4 Pemisahan Ester Sukrosa

Sebelum produk ester sukrosa diidentifikasi, produk ini harus dipisahkan terlebih dahulu dengan memindahkan produk ester sukrosa ke dalam tabung *centrifuge*, kemudian disentrifugasi selama 15 menit. Setelah itu, campuran tersebut dipisahkan. Lapisan yang merupakan fasa n-heksana diencerkan ke dalam labu ukur 10 mL untuk kemudian digunakan sebagai penentuan persentase *yield*. Penentuan persentase *yield* dilakukan dengan melakukan titrasi fasa n-heksana dengan NaOH 0,5 M. Lapisan yang berada di antara fasa n-heksana dan fasa air dipisahkan, kemudian dilakukan identifikasi.

3.2.5 Identifikasi Produk (Uji Gugus Ester)

Untuk mengetahui apakah produk ester sukrosa sudah terbentuk atau belum, dilakukan uji adanya gugus ester. Untuk mengetahui adanya gugus ester pada penelitian ini dilakukan karakterisasi produk dengan menggunakan FT-IR. Pengukuran dengan menggunakan FT-IR dilakukan pada sukrosa, asam lemak minyak sawit, dan produk esterifikasi.

Pada pengukuran instrumentasi FT-IR dilakukan penanganan khusus berdasarkan bentuk sampel. Sampel yang berbentuk padat harus dibuat pellet dengan mencampurkan sampel dalam KBr. Pengukuran sampel cair dapat dilakukan secara langsung dengan cara membuat lapisan tipis yang diletakkan di antara celah yang dibuat dari dua lempengan NaCl yang diletakkan berhimpit.

Pengukuran sukrosa, asam lemak minyak sawit dan produk esterifikasi dilakukan dengan mencampurkan sampel dalam KBr. Hal ini disebabkan pada suhu ruang, baik sukrosa, asam lemak minyak sawit maupun produk esterifikasi berwujud padat.

3.2.6 Uji Emulsi Ester Sukrosa Hasil Sintesis secara Kualitatif

Untuk mengetahui apakah produk yang dihasilkan sudah terbentuk dan memiliki aktivitas sebagai emulsifier, dilakukan uji pembentukan emulsi secara sederhana. Uji emulsi secara kualitatif dilakukan dengan memasukkan kedalam 2 tabung reaksi ± 3 mL aquades, kemudian ditambahkan 5 tetes minyak pada kedua tabung. Pada tabung reaksi 1 ditambahkan produk hasil sintesis. Kedua tabung kemudian dikocok dan diamati perubahan yang terjadi serta dibandingkan hasil yang diperoleh pada tabung 1 dan 2.

3.2.7 Penentuan Jenis Emulsi

Jenis emulsi yang terjadi dapat diketahui dengan mengamati tetesan emulsi pada mikroskop. Penentuan jenis emulsi dilakukan dengan menggunakan emulsi yang telah diperoleh pada langkah 3.2.6. Emulsi yang diperoleh ditetaskan pada preparat dan ditambahkan 1 tetes zat warna eosin, kemudian hasil yang diperoleh dilihat pada mikroskop.

3.2.8 Analisis Ester Sukrosa dengan HPLC

Analisis ester sukrosa dilakukan dengan HPLC fasa terbalik menggunakan metanol dan air 7:1 (v/v) sebagai fasa gerak dengan laju alir 1,1 mL/menit. Kolom yang digunakan adalah C_{18} dengan suhu kolom $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, dan RID (*refractive index detector*) sebagai detektor. Produk esterifikasi yang digunakan untuk identifikasi dengan HPLC merupakan fasa yang berada di antara fasa heksana dan fasa air, yang terlebih dahulu dilarutkan ke dalam metanol.

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hidrolisis Trigliserida

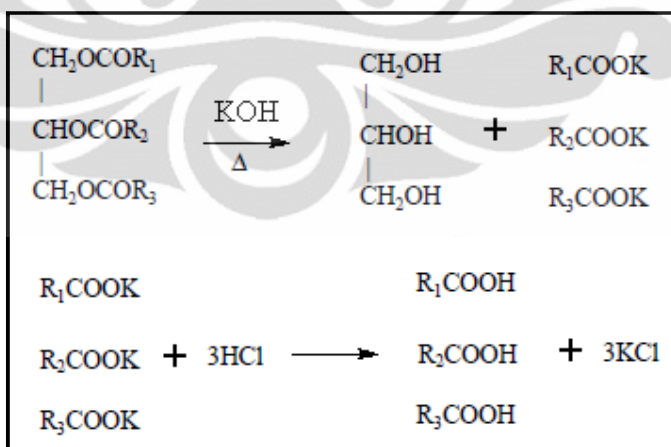
Reaksi hidrolisis trigliserida dilakukan untuk memperoleh asam lemak bebas yang akan digunakan pada proses esterifikasi. Reaksi hidrolisis dapat dilakukan dengan menggunakan katalis asam maupun basa. Namun reaksi hidrolisis dengan katalis basa lebih menguntungkan dibandingkan dengan katalis asam. Hal ini disebabkan reaksi hidrolisis dengan katalis asam akan menghasilkan reaksi yang bersifat bolak-balik atau *reversible*, sedangkan reaksi dengan katalis basa bersifat *irreversible*, sehingga produk yang dihasilkan lebih menguntungkan.

Hidrolisis dalam keadaan basa dapat dilakukan dengan menggunakan KOH maupun NaOH. Katalis basa yang digunakan pada hidrolisis minyak kelapa sawit kali ini adalah KOH. Penggunaan KOH sebagai katalis dalam reaksi hidrolisis minyak lebih baik daripada NaOH. Sifat kalium lebih reaktif dan mudah membentuk garam asam lemak jika dibandingkan dengan natrium. Garam yang terbentuk pada reaksi hidrolisis dengan menggunakan KOH bersifat lebih larut dalam air bila dibandingkan dengan natrium. Selain itu, KOH juga merupakan alkali yang biasa digunakan dalam proses pembuatan sabun. Hal ini disebabkan KOH memiliki kestabilan yang baik dan membentuk sabun yang lebih lembut daripada NaOH (Hasnisa, 2008).

Natrium dan kalium merupakan unsur-unsur yang berada dalam satu golongan pada tabel berkala, yaitu termasuk dalam golongan alkali. Dalam satu golongan, kereaktifan unsur-unsur golongan alkali bertambah dari atas ke bawah dan sifat elektropositif bertambah dari atas ke bawah. Dengan demikian, kalium cenderung membentuk ion positif, K^+ . Hal ini disebabkan semakin besar jari-jari atom semakin jauh elektron valensi dari inti, sehingga elektron semakin mudah dilepaskan.

Hal ini juga dapat ditunjukkan dengan energi ionisasi pertama unsur-unsur golongan alkali, yaitu energi ionisasi Na sebesar 496 kJ/mol dan K sebesar 419 kJ/mol. Dari segi kekuatan kebasaaan hidroksida, sifat kebasaaan hidroksida unsur-unsur golongan alkali dari atas ke bawah semakin bertambah.

Pada proses hidrolisis, KOH yang digunakan terlarut dalam etanol. Etanol berfungsi sebagai medium perantara dan membantu mempercepat proses hidrolisis trigliserida. Penggunaan etanol membuat KOH dan minyak dapat melakukan kontak sehingga reaksi dapat berjalan. Hal ini disebabkan etanol merupakan pelarut yang bersifat kurang polar dibandingkan dengan air, namun kepolaran etanol berada di antara KOH dan minyak sehingga etanol dapat menurunkan perbedaan kepolaran antara KOH yang bersifat polar dan minyak sawit yang bersifat nonpolar. Dengan kepolaran etanol yang berada di antara KOH dan minyak sawit, baik minyak dan KOH dapat larut dalam etanol, sehingga kemungkinan terjadinya interaksi lebih besar dibandingkan dengan air sebagai pelarut KOH. Apabila KOH terlarut dalam air, KOH hanya akan membentuk ion K^+/Na^+ dan OH^- serta berada pada fasa yang berbeda dengan minyak sawit. Reaksi hidrolisis trigliserida minyak kelapa sawit dengan katalis basa dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Reaksi Hidrolisis Trigliserida Minyak Kelapa Sawit dengan Katalis Basa

Pada tahap selanjutnya, campuran diberikan akuademin dan HCl yang bertujuan untuk memisahkan senyawa-senyawa lipid yang tidak tersabunkan. Lipid tersabunkan akan terdapat pada fasa air, sedangkan fasa tidak tersabunkan terdapat pada fasa nonpolar. Pada fasa air terdapat senyawa lipid tersabunkan berupa garam kalium asam lemak, yang kemudian akan diasamkan dengan penambahan HCl membentuk senyawa asam lemaknya. Untuk memisahkan asam lemak yang terbentuk, dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut n-heksana. Pada tahap ekstraksi akan diperoleh dua lapisan, yaitu lapisan atas berupa senyawa asam lemak yang berada pada fasa n-heksana, dan lapisan bawah berupa senyawa yang larut dalam fasa air yang terdiri dari garam KCl dan etanol.

Pada reaksi hidrolisis trigliserida minyak kelapa sawit diperoleh asam lemak yang berwarna kuning terang (kuning emas) dan akan berwujud padat berwarna kuning pucat pada suhu ruang. Hal ini disebabkan sebagian besar asam lemak yang terkandung dalam minyak sawit merupakan asam lemak rantai panjang. Berdasarkan hasil analisis sebelumnya yang dilakukan oleh Balai Besar Industri Agro, kandungan asam lemak tertinggi dalam minyak sawit yang digunakan adalah asam lemak dengan rantai karbon yang panjang, yaitu palmitat dan oleat yang memiliki rantai karbon ≥ 16 , sehingga asam lemak berwujud padat pada suhu ruang.



Gambar 4.2 Hasil Hidrolisis Minyak Sawit

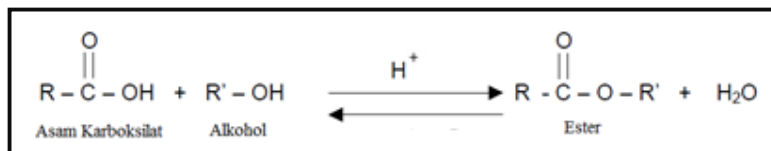
Tabel 4.1 Komposisi Asam Lemak Minyak Sawit

Asam Lemak	Hasil Analisis BBIA (%)	% Asam Lemak Berdasarkan Literatur
Kaprilat (C8)	0,09	-
Kaprat (C10)	0,13	-
Laurat (C12)	0,51	0,1-1,0
Miristat (C14)	1,24	0,9-1,5
Palmitat (C16-0)	35,5	41,8-45,8
Stearat (C18-0)	2,82	4,2-5,1
Oleat (C18-1)	41,1	37,3-40,8
Linoleat (C18-2)	17,8	9,1-11,0
Linolenat (C18-3)	0,78	0,0-0,6

4.2. Reaksi Esterifikasi Enzimatis antara Asam Lemak Minyak Sawit dengan Sukrosa

Pada reaksi esterifikasi, terlebih dahulu perlu diperhatikan beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas enzim lipase dalam reaksi esterifikasi. Faktor-faktor tersebut mencakup perbandingan substrat yaitu asam lemak minyak sawit dan sukrosa; pelarut yang digunakan beserta perbandingannya; konsentrasi enzim; suhu reaksi; dan pH buffer yang digunakan.

Seperti telah diketahui bahwa reaksi esterifikasi merupakan reaksi yang bersifat *reversible* atau dapat balik. Reaksi esterifikasi menghasilkan produk samping berupa air yang akan mengubah kesetimbangan reaksi sehingga reaksi menjadi ke arah sebaliknya, yaitu reaksi hidrolisis.



Gambar 4.3 Reaksi esterifikasi
[Sumber: www.wikipremed.com]

Agar reaksi esterifikasi berlangsung optimal sesuai dengan konsep kesetimbangan Le Chatelier, kesetimbangan reaksi diupayakan bergeser ke arah

sisi pembentukan ester dengan menggunakan reaktan berlebih atau membuang salah satu produk (Yoo, et al. 2006). Reaktan berlebih yang dipilih dalam reaksi esterifikasi ini adalah asam lemak minyak sawit, dengan perbandingan volume asam lemak minyak sawit dan sukrosa 3:1. Hal ini disebabkan dalam kondisi terdapat pelarut organik dan kandungan air yang sedikit, lipase cenderung bekerja dalam reaksi esterifikasi dan transesterifikasi daripada reaksi hidrolisis (Joseph, et al. 2008). Dengan konsentrasi asam lemak yang berlebih, maka kandungan air dalam campuran dapat diminimalisasi dibandingkan dengan menggunakan sukrosa yang berlebih. Pada kondisi inilah diharapkan reaksi esterifikasi dapat berjalan dengan maksimal.

Faktor lain yang mempengaruhi aktivitas katalitik enzim lipase dalam reaksi esterifikasi adalah pelarut yang digunakan. Salah satu korelasi terbaik antara aktivitas enzim lipase dalam reaksi esterifikasi adalah hidrofobisitas pelarut (Laane et al., 1987). Parameter hidrofobisitas pelarut dapat ditentukan dengan menggunakan nilai log P. Fungsi log P adalah untuk mengetahui kecenderungan proporsional antara aktivitas katalitik yang tinggi dengan hidrofobisitas yang tinggi pula. Nilai P merupakan koefisien partisi dari 1-oktanol dan air yang menyatakan perbandingan antara konsentrasi komponen yang larut dalam n-oktanol terhadap konsentrasi komponen yang larut dalam air (Reslow, et al. 1987 dan Singh 2007).

$$P = \frac{[Pelarut]_{oktanol}}{[Pelarut]_{air}}$$

Pada umumnya, Laane et al. (1987) menunjukkan bahwa aktivitas katalisis suatu biokatalisis adalah :

- (i) tinggi pada pelarut dengan nilai log P >4 (misalnya dekanol, heksadekana, heptana, oktana)
- (ii) sedang pada pelarut dengan nilai log P antara 2 dan 4 (misalnya heptanol, toluen, oktanol, heksana)
- (iii) rendah pada pelarut dengan nilai log P dibawah 2 (misalnya alkohol-alkohol rantai pendek serta pelarut organik larut air)

Beberapa penelitian selanjutnya juga banyak yang mendukung kesimpulan yang dikemukakan oleh Laane et al. (1987 a,b) tersebut (Reslow et al., 1987; van Erp et al., 1991). Penjelasan umum yang sering diberikan atas fenomena ini adalah bahwa pelarut-pelarut yang mempunyai nilai $\log P < 2$ cenderung untuk mengganggu struktur enzim sehingga menyimpang dari konformasi aktifnya, atau menarik sebagian air esensial dari molekul enzim sehingga menyebabkan menurunnya aktivitas enzimatisnya (Laane et al., 1987a,b; Zaks dan Klivanov, 1988; Chen dan Sih, 1989).

Berdasarkan peninjauan mengenai hidrofobisitas pelarut, maka diketahui bahwa pelarut yang dapat mendukung aktivitas katalitik enzim lipase dalam reaksi esterifikasi adalah menggunakan pelarut dengan nilai $\log P > 4$. Walaupun demikian, penggunaan kriteria $\log P$ suatu pelarut untuk pemilihan pelarut organik tidak selalu tepat. Beberapa peneliti menyarankan bahwa dalam memilih suatu pelarut perlu dipertimbangkan karakteristik keseluruhan sistem reaksi, khususnya pertimbangan tentang polaritas substrat dan produk reaksi, dan kemungkinan interaksinya dengan pelarut yang digunakan (Hailing, 1990; Yang et al., 1994).

Pada penelitian ini, hal yang perlu diperhatikan dalam memilih pelarut adalah tingkat perbedaan kepolaran dengan sukrosa. Sukrosa merupakan senyawa yang bersifat polar, sehingga semakin besar nilai $\log P$ dari pelarut, maka perbedaan kepolaran antara sukrosa dengan pelarut akan semakin tinggi, sehingga kemungkinan terjadinya kontak antara sukrosa dengan asam lemak minyak sawit akan semakin kecil. Oleh karena itulah pemilihan pelarut organik yang digunakan adalah pelarut yang memiliki nilai $2 < \log P < 4$. Pelarut organik yang memiliki nilai $2 < \log P < 4$, di antaranya: n-heksana, toluena, benzena, heptanol dan oktanol. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya oleh Syamsul, et al. (2010), Roila, et al. (2007) dan Lozano, et al. (2003) mengenai reaksi esterifikasi enzimatis menggunakan enzim lipase, diketahui bahwa pelarut organik yang memberikan persentase konversi tertinggi adalah n-heksana. N-heksana merupakan pelarut organik yang memiliki nilai $\log P = 3,5$. Oleh karena itulah pada reaksi esterifikasi kali ini digunakan pelarut heksana. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Prof. Dr. Rolf D. Schmid, et al. bahwa

Universitas Indonesia

perbandingan penggunaan pelarut organik dalam produksi ester asam lemak gula adalah 1-3 kali substrat. Volume heksana yang digunakan adalah dengan perbandingan 1:1 (v/v substrat). Penggunaan pelarut heksana sebagai pelarut pada reaksi esterifikasi menggunakan lipase juga perlu diperhatikan. Hal ini disebabkan konsentrasi heksana yang tinggi pada sistem dapat mendehidrasi lipase sehingga konsentrasi minimum air yang diperlukan oleh enzim untuk dapat mempertahankan konformasinya menjadi hilang.

Walaupun media esterifikasi enzimatik adalah pelarut organik, namun air tetap diperlukan pada proses katalisis enzim (Hariyadi, Purwiyatno. 1996). Pada reaksi katalitik enzim diperlukan sejumlah air yang dikenal sebagai air esensial (Klibanov, 1986, dan Sesilia, 1999). Air yang dibutuhkan hanya sejumlah kecil saja, yang tetap diperlukan bagi enzim untuk melakukan perannya sebagai katalis. Selain itu, air esensial tersebut merupakan jumlah air minimum untuk dapat melapisi molekul enzim, sehingga enzim tersebut tetap dapat mempertahankan konformasi dan sifat katalitiknya. Asalkan air esensial tetap dapat dipertahankan pada molekul enzim, penggantian sisa-sisa air yang lain dengan pelarut organik tidak akan mengganggu aktivitas enzim, bahkan sebaliknya bisa memunculkan sifat-sifat yang menguntungkan enzim tersebut yang tidak akan muncul jika masih digunakan air sebagai pelarutnya (Klibanov, 1986).

Pada reaksi esterifikasi, enzim yang digunakan sebesar 5% dari berat substrat dan terlebih dahulu dilarutkan dengan buffer fosfat pH 8. Hal ini dilakukan agar enzim berada pada kondisi optimumnya saat dicampurkan dengan substrat. Setelah dilakukan penambahan enzim, sampel diinkubasi pada suhu 40 °C. Kondisi suhu dan pH reaksi digunakan sesuai dengan keterangan spesifikasi enzim, yaitu pH 8 dan suhu 40 °C.

Setelah dilakukan inkubasi, untuk menghentikan reaksi esterifikasi, sampel direndam pada penangas air dengan temperatur ± 80 °C, yang bertujuan untuk mendenaturasi enzim. Setelah inkubasi, terdapat perbedaan antara erlenmeyer yang berisi sampel dengan erlenmeyer blanko. Pada dasar erlenmeyer blanko, terdapat suatu zat berwarna putih keruh seperti gel, sedangkan pada blanko tidak terjadi perubahan dibandingkan dengan sebelum inkubasi. Hal ini

Universitas Indonesia

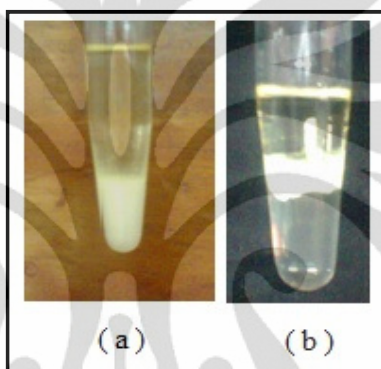
merupakan suatu petunjuk awal bahwa produk telah terbentuk. Namun, untuk mengetahuinya diperlukan identifikasi lebih lanjut.

Berdasarkan Schmid, Rolf D. et al. (2001), ester sukrosa yang disintesis secara enzimatik sulit untuk menghasilkan produk dengan derajat substitusi tinggi ($DS > 4$), dikarenakan halangan sterik dan sejauh ini ester sukrosa dengan derajat substitusi tinggi belum berhasil dilakukan secara enzimatik. Oleh karena itu, diasumsikan produk yang dihasilkan pada reaksi esterifikasi ini merupakan ester sukrosa dengan derajat substitusi rendah yang memiliki sifat sebagai emulsifier dan diperkirakan membentuk suatu sistem emulsi berupa zat berwarna putih yang berada pada erlenmeyer sampel. Untuk memastikan apakah zat putih merupakan suatu sistem emulsi, maka dilakukan uji adanya emulsi dengan menggunakan proses demulsifikasi sederhana, yaitu dengan proses sentrifugasi. Apabila memang benar terbentuk sistem emulsi, maka setelah dilakukan sentrifugasi akan terjadi pemisahan antara fasa polar, nonpolar, dan zat pengemulsi.

Setelah dilakukan sentrifugasi terbentuk 3 lapisan yaitu, fasa nonpolar (n-heksana) berada di atas dan fasa yang berada di bawah merupakan fasa polar. Hal ini disebabkan terlihat dari fisik larutan yang berwarna kuning terang pada fasa atas yang mengindikasikan bahwa larutan mengandung sisa asam lemak minyak sawit, dan berdasarkan massa jenis diketahui bahwa massa jenis air lebih besar dari massa jenis n-heksana ($\rho_{\text{air}} = 1 \text{ gr ml}^{-1}$, $\rho_{\text{n-heksana}} = 0,678 \text{ gr ml}^{-1}$). Pada tabung *centrifuge*, terdapat fasa yang berada di antara fasa nonpolar dan fasa polar yang berbentuk seperti padatan berwarna putih, seperti yang terlihat pada Gambar 4.4 dan 4.5.



Gambar 4.4 Campuran Setelah inkubasi



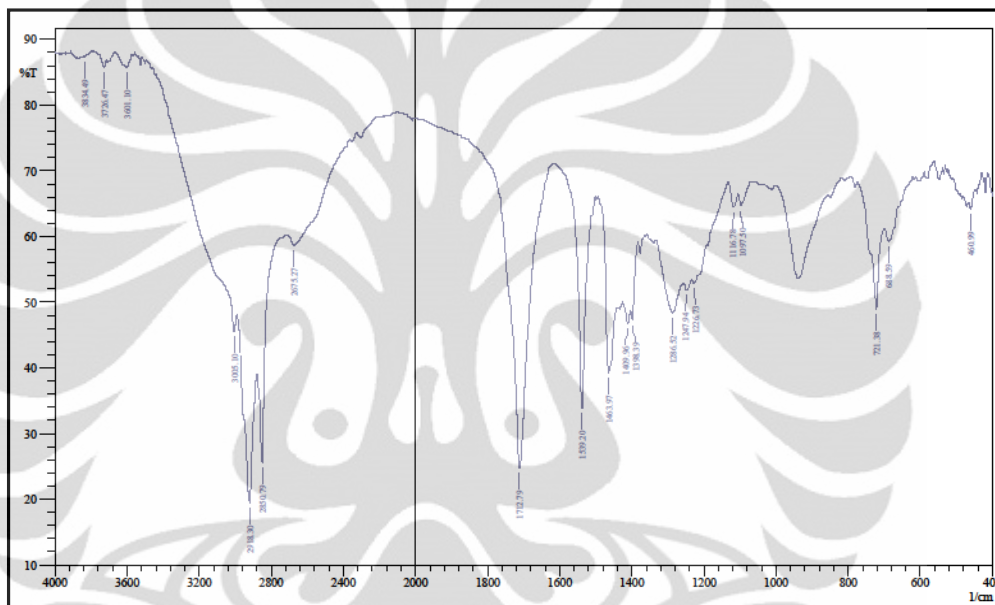
Gambar 4.5 Campuran (a) sebelum sentrifugasi, (b) setelah sentrifugasi

Pada fasa yang berada di antara fasa polar dan nonpolar, dilakukan uji adanya gugus ester dengan menggunakan instrumen FT-IR. Pada saat identifikasi dengan FT-IR, hal yang dilakukan adalah memurnikan produk dari kandungan air terlebih dahulu. Oleh karena dilakukan penghilangan kandungan air pada produk dengan pemanasan.

Setelah sentrifugasi, fasa yang berada di antara fasa n-heksana (atas) dan fasa air (bawah) kemudian diambil dan dikeringkan dalam oven pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$. Perlakuan pemanasan dilakukan sesuai dengan sifat fisika dan kimia dari ester sukrosa. Ester sukrosa merupakan senyawa yang memiliki titik leleh antara suhu 40°C dan 60°C , bergantung pada derajat substitusinya. Pemanasan hingga suhu 185°C tidak mengganggu ikatan ester. Namun pada suhu $\pm 140^{\circ}\text{C}$, akan terjadi perubahan warna menjadi coklat akibat karamelisasi pada sukrosa

(Whitehurst, 2004). Oleh sebab itu dilakukan pemanasan pada suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$ untuk menghilangkan kandungan air dan tetap menjaga ester sukrosa.

Pengukuran dengan menggunakan FT-IR dilakukan pada sukrosa, asam lemak minyak sawit, produk esterifikasi, dan *ryoto sugar ester S-1170* sebagai standar. Hasil pengukuran FT-IR untuk asam lemak minyak sawit dapat dilihat pada Gambar 4.6, sedangkan identifikasi gugus fungsi dari pita-pita serapan yang terdapat pada spektrum untuk produk esterifikasi dapat dilihat pada Tabel 4.2.

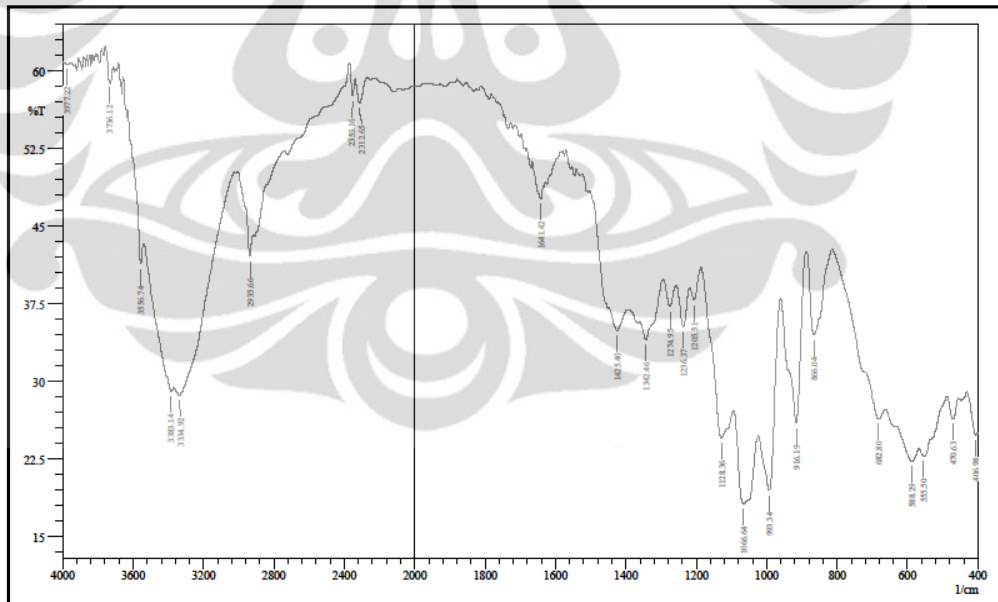


Gambar 4.6 Spektrum FT-IR Asam Lemak Minyak Sawit

Tabel 4.2 Identifikasi Gugus Fungsi Spektrum IR Asam Lemak Minyak Sawit

No.	Bilangan gelombang (cm^{-1})	Identifikasi Gugus Fungsi
1	2918	-CH ₃ -CH ₂ -CH
	2850	
2	1712	C=O Asam karboksilat
3	3005	C=C
	1539	

Berdasarkan data spektrum yang diperoleh, terdapat pita serapan yang tajam pada bilangan gelombang 2918 dan 2850 cm^{-1} yang menunjukkan serapan untuk golongan rantai karbon dari asam lemak. Berdasarkan hasil analisis, kandungan asam lemak tertinggi dalam minyak sawit yang digunakan adalah asam lemak dengan rantai karbon yang panjang, yaitu palmitat dan oleat yang memiliki rantai karbon ≥ 16 . Oleh karena itu serapan untuk ikatan C-H dalam $-\text{CH}_2$ dan $-\text{CH}$ memiliki serapan yang tinggi. Selain itu, dari data spektrum dapat dilihat serapan untuk C=C pada bilangan gelombang 3005 dan 1539 cm^{-1} . Hal ini sesuai dengan hasil analisis asam lemak bahwa kandungan oleat pada minyak sawit yang digunakan cukup tinggi, dan seperti yang telah diketahui bahwa oleat merupakan asam lemak tidak jenuh yang memiliki 1 ikatan rangkap. Pita serapan pada bilangan gelombang 1700-1725 cm^{-1} menunjukkan serapan untuk C=O karbonil untuk asam karboksilat. Pada spektrum IR asam lemak minyak sawit, serapan C=O muncul pada bilangan gelombang 1712 cm^{-1} .

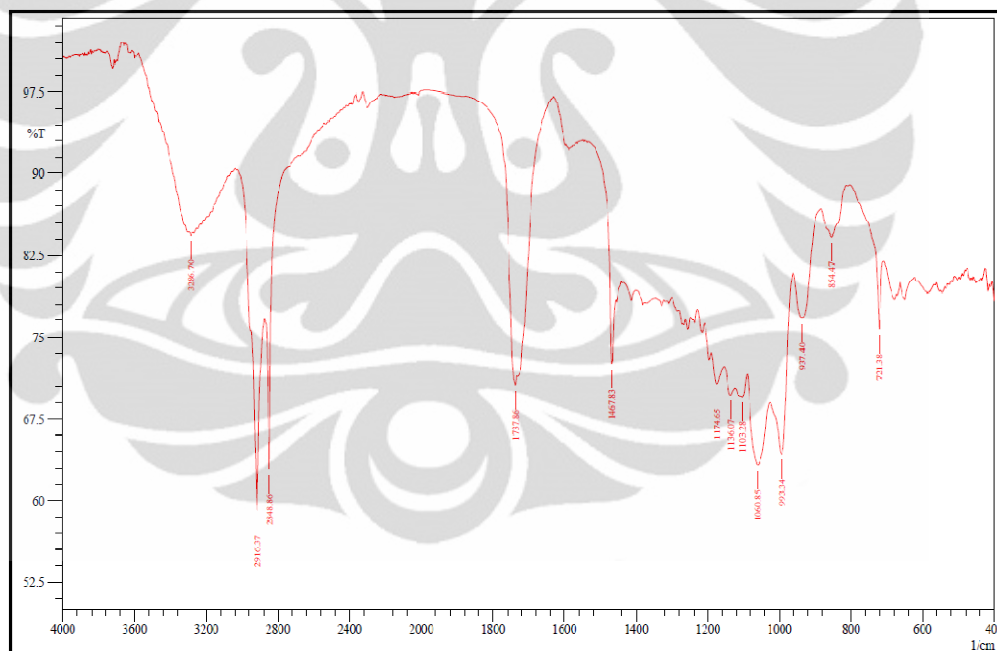


Gambar 4.7 Spektrum FT-IR Sukrosa

Tabel 4.3 Identifikasi Gugus Fungsi Spektrum IR Sukrosa

No.	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Identifikasi Gugus Fungsi
1	3383	O-H Alkohol
	3334	
2	2935	-CH ₂ , -CH

Identifikasi gugus fungsi dengan FT-IR selanjutnya adalah untuk sukrosa. Serapan lebar pada bilangan gelombang 3383 dan 3334 cm⁻¹ menunjukkan serapan O-H alkohol yang terdapat pada sukrosa. Sukrosa merupakan disakarida yang terdiri dari unit glukosa dan fruktosa serta memiliki 8 gugus hidroksil. Pita serapan pada bilangan gelombang 2935 cm⁻¹ menunjukkan serapan untuk ikatan C-H dalam -CH₂ dan -CH.

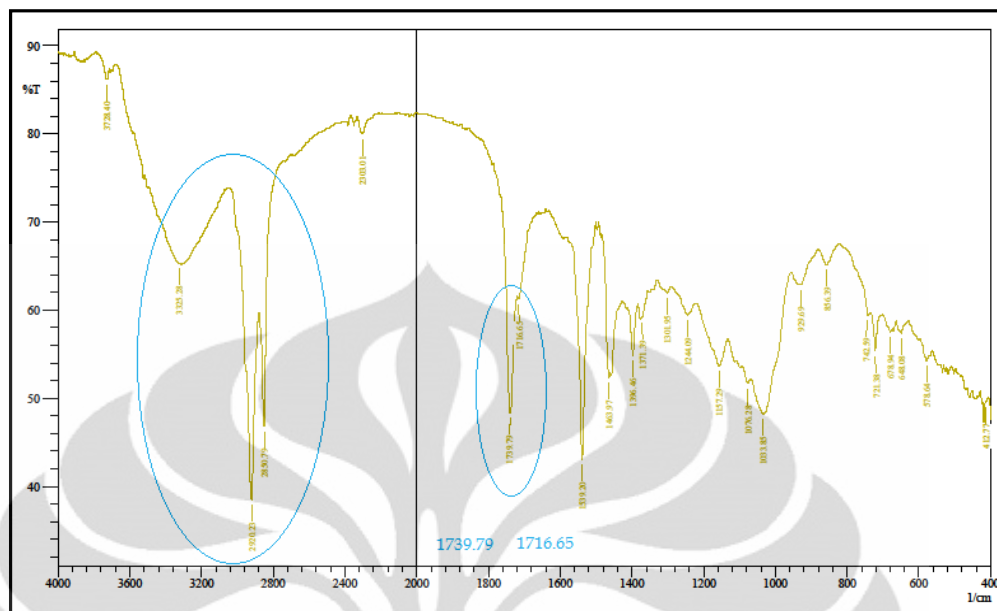
**Gambar 4.8** Spektrum IR *Ryoto Sugar Ester S-1170*

Tabel 4.4 Identifikasi Gugus Fungsi Spektrum IR *Ryoto Sugar Ester S-1170*

No.	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Identifikasi Gugus Fungsi
1	3286	O-H Alkohol yang masih ada
2	2916	-CH ₂
	2848	-CH
3	1737	C=O ester

Standar ester sukrosa yang digunakan adalah *ryoto sugar ester S-1170*, dengan asam stearat sebagai asam lemak yang teresterifikasi pada gugus sukrosa. *Ryoto sugar ester S-1170* merupakan standar ester sukrosa yang berupa campuran antara mono, di, dan triester sukrosa. Spesifikasi *ryoto sugar ester S-1170* dapat dilihat pada Lampiran 9. Pada spektrum FT-IR *ryoto sugar ester S-1170*, terdapat puncak serapan yang khas untuk C=O ester, yang terdapat pada bilangan gelombang 1737 cm⁻¹.

Puncak serapan lain pada spektrum FT-IR *ryoto sugar ester S-1170* yaitu, serapan lebar pada bilangan gelombang 3286 cm⁻¹ yang menunjukkan bahwa masih terdapat gugus O-H pada sukrosa yang belum terkonversi menjadi ester. Hal ini sesuai dengan data spesifikasi *ryoto sugar ester S-1170*, bahwa standar merupakan campuran mono, di, dan triester sukrosa.



Gambar 4.9 Spektrum IR Produk Esterifikasi

Identifikasi gugus fungsi dari pita-pita serapan yang terdapat pada spektrum untuk produk esterifikasi dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.5 Identifikasi Gugus Fungsi Spektrum IR Produk Esterifikasi

No.	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	Identifikasi Gugus Fungsi
1	3325	O-H Alkohol yang masih ada
2	2920	-CH ₂
	2850	-CH
3	1739	C=O ester
4	1716	C=O Asam karboksilat
5	1539	C=C

Pada spektrum FT-IR fasa yang berada di antara fasa heksana dan fasa air, yang diperkirakan sebagai produk esterifikasi, terdapat puncak serapan baru pada bilangan gelombang 1739 cm⁻¹ yang tidak terdapat pada spektrum sukrosa maupun asam lemak minyak sawit. Puncak serapan pada bilangan gelombang tersebut merupakan puncak serapan yang khas untuk C=O ester, yang terdapat pada bilangan gelombang 1720-1750 cm⁻¹ (Nakanishi. K, 1962). Selain itu,

Universitas Indonesia

puncak ini serupa dengan *ryoto sugar ester S-1170* sebagai standar yang juga memiliki puncak serapan yang khas untuk C=O ester, yaitu pada bilangan gelombang 1737 cm^{-1} .

Puncak serapan lain pada spektrum FT-IR produk esterifikasi yaitu, serapan lebar pada bilangan gelombang 3325 cm^{-1} yang menunjukkan bahwa masih terdapat gugus O-H pada sukrosa yang belum terkonversi menjadi ester. Apabila puncak serapan lebar yang menunjukkan gugus O-H pada produk esterifikasi dibandingkan dengan sukrosa, puncak serapan pada produk esterifikasi bersifat lebih lemah. Selain itu, apabila dibandingkan dengan standar *ryoto sugar ester S-1170*, serapan lebar gugus O-H pada produk esterifikasi serupa dengan serapan O-H pada *ryoto sugar ester S-1170*. Hal ini menunjukkan bahwa ester sukrosa yang disintesis secara enzimatik menghasilkan produk dengan derajat substitusi rendah, sehingga pada produk masih terdapat gugus O-H alkohol pada struktur sukrosa.

Spektrum FT-IR produk esterifikasi juga menunjukkan puncak serapan pada bilangan gelombang 2920, 2850, 1716, 1539 yang secara berturut-turut menunjukkan serapan untuk ikatan C-H dalam $-\text{CH}_2$ dan $-\text{CH}$; C=O karbonil untuk asam karboksilat dan ikatan karbon rangkap dua. Puncak serapan ini memiliki kesamaan dengan asam lemak minyak sawit.

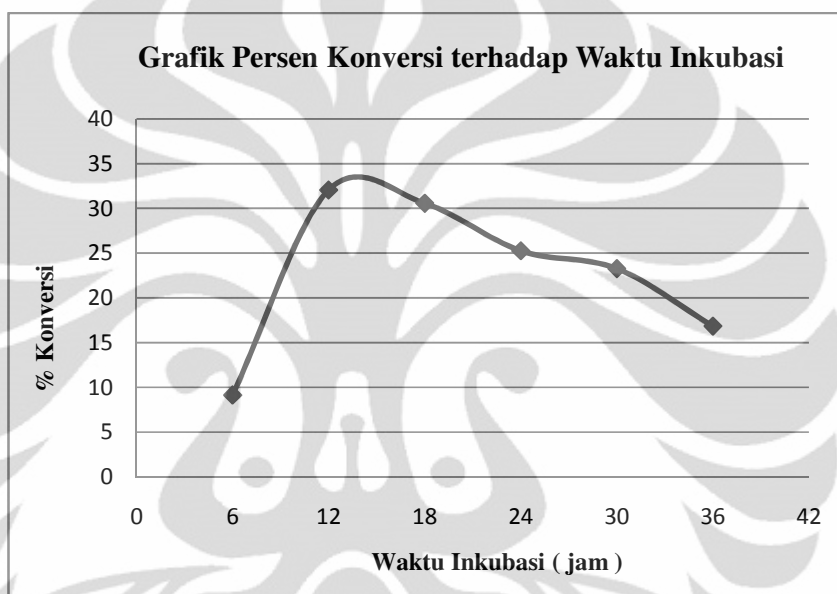
Berdasarkan pengukuran asam lemak sawit, sukrosa, dan produk esterifikasi dengan menggunakan FT-IR, dapat disimpulkan bahwa dari reaksi esterifikasi antara asam lemak minyak sawit dengan sukrosa menggunakan enzim lipase telah didapatkan produk ester yang dihasilkan yang berwarna putih dan berada pada fasa antara fasa n-heksana dan fasa air.

4.2.1 Optimasi Waktu Inkubasi

Waktu inkubasi merupakan waktu yang ditentukan untuk enzim dan substrat bereaksi. Variasi waktu inkubasi yang dilakukan selama 6, 12, 18, 24, 30, dan 36 jam. Pengaruh waktu reaksi pada reaksi esterifikasi ditunjukkan pada Tabel 4.5 dan Gambar 4.9.

Tabel 4.6 Data Persen Konversi Variasi Waktu Inkubasi

Waktu Inkubasi	% Konversi
6	9,14
12	32,04
18	30,56
24	25,25
30	23,26
36	16,84

**Gambar 4.10** Grafik Persen Konversi terhadap Waktu Inkubasi

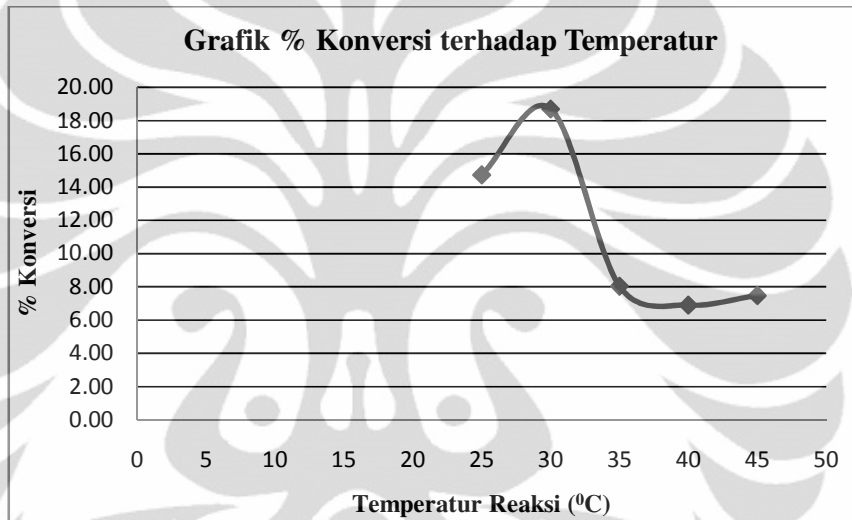
Persentase konversi meningkat 6-12 jam tapi setelah itu terjadi penurunan konversi. Hal ini disebabkan dengan memperpanjang waktu reaksi akan terjadi peningkatan volume air yang dihasilkan dari produk samping reaksi esterifikasi. Dalam kondisi ini, hidrolisis ester akan terjadi (Villeneuve et al, 2003).

4.2.2 Optimasi Temperatur Reaksi

Variasi temperatur reaksi esterifikasi dilakukan pada 25, 30, 35, 40, dan 45 °C. Gambar 4.10 dan Tabel 4.6 menunjukkan pengaruh temperatur reaksi pada sintesis ester sukrosa.

Tabel 4.7 Data Persen Konversi Variasi Temperatur Reaksi

Suhu Reaksi ($^{\circ}\text{C}$)	% Konversi
26	14,72
30	18,70
35	8,04
40	6,89
45	7,47

**Gambar 4.11** Grafik Persen Konversi terhadap Temperatur

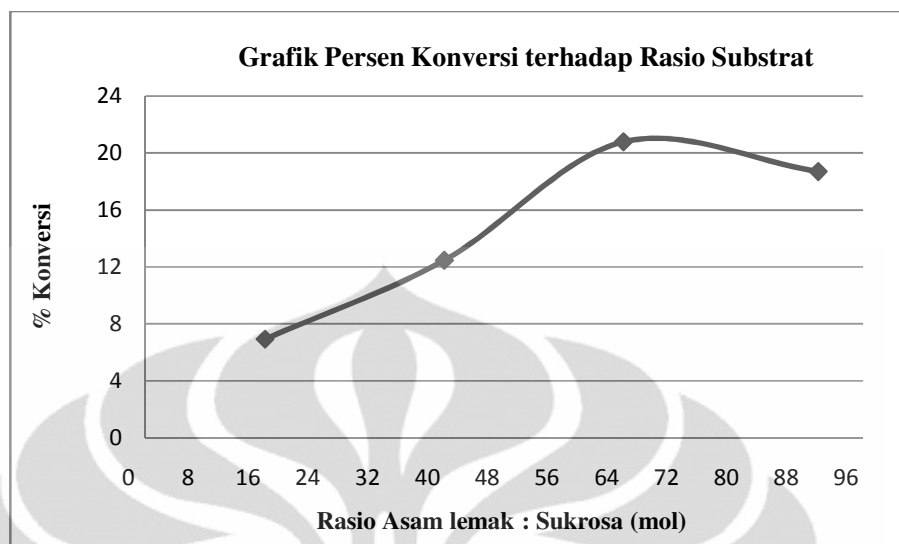
Pada variasi temperatur, diperoleh bahwa kondisi optimum reaksi esterifikasi dengan lipase *Candida rugosa* pada temperatur 30°C . Hasil ini serupa dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan enzim lipase *Candida rugosa*, yaitu Korbekandi, et al (2008), Dandekar, P.P. dan Patravale V.B. (2009) bahwa temperatur optimum yang diperoleh adalah pada suhu 30°C . Selain itu berdasarkan Fadölođlu (1996), *Candida rugosa* memiliki temperatur optimal pada suhu antara $30\text{-}35^{\circ}\text{C}$. Suhu yang lebih tinggi dari 35°C cenderung menyebabkan inaktivasi enzim akibat proses denaturasi dan menyebabkan penurunan dalam konversi ester (Dandekar, PP et al., 2009; Syamsul, et al., 2010).

4.2.3 Optimasi Rasio Substrat

Salah satu faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah konsentrasi substrat. Variasi konsentrasi substrat digunakan dengan rasio asam lemak: sukrosa adalah 16:1, 40:1, 64:1, 90:1. Pemilihan variasi ini berdasarkan penelitian Dandekar, PP et al. (2009) yang melakukan esterifikasi dengan lipase menggunakan fruktosa menunjukkan keadaan optimum pada rasio 1:10. Byun, H.G (2007) yang melakukan esterifikasi lipase menggunakan gliserol menunjukkan keadaan optimum pada rasio 1:6. Hal ini menunjukkan bahwa rasio substrat berhubungan dengan jumlah gugus hidroksil pada alkohol dan keadaan optimum dua kali jumlah gugus hidroksil. Oleh karena itulah rasio pada penelitian ini dilakukan dengan menghubungkan pada jumlah gugus hidroksil sukrosa, yaitu 8 dan diawali pada rasio 16. Gambar 4.12 dan Tabel 4.8 menunjukkan pengaruh rasio substrat pada sintesis ester sukrosa.

Tabel 4.8 Data Persen Konversi Variasi Rasio Mol Substrat

Rasio Asam lemak : Sukrosa (mol)	% Konversi
16 : 1	6,94
40 : 1	12,47
64 : 1	20,78
90 : 1	18,70



Gambar 4.12 Grafik Persen Konversi terhadap Rasio Mol Asam Lemak:Sukrosa

Pada variasi rasio mol asam lemak:sukrosa, diperoleh bahwa kondisi optimum reaksi esterifikasi dengan lipase *Candida rugosa* pada rasio 64:1. Pada grafik terlihat bahwa pada rasio 16:1 – 64:1 terjadi kenaikan persentase konversi, dan kemudian terjadi penurunan pada rasio 90:1. Hasil ini sesuai dengan teori enzim pada Lehninger, Albert L. (1990), bahwa penambahan konsentrasi substrat akan meningkatkan aktivitas enzim hingga tercapai konsentrasi optimum. Selain itu, pada reaksi esterifikasi sesuai dengan konsep kesetimbangan Le Chatelier dan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Yoo, et al. (2006) bahwa dengan reaktan berlebih atau membuang salah satu produk akan menggeser kesetimbangan ke arah sisi pembentukan ester, sehingga reaksi berjalan optimal dan persentase konversi menjadi meningkat. Asam lemak yang berlebih akan membuat efek pelemahan dari air yang terbentuk selama reaksi dapat diminimalisasi (Dandekar, PP et al. 2009)

Penurunan persentase konversi setelah titik optimum tercapai, sesuai dengan teori enzim bahwa penambahan substrat setelah titik optimum justru akan menurunkan aktivitas enzim. Hal ini disebabkan substrat akan bertindak sebagai menjadi inhibitor dalam reaksi enzim (Reed, Michael C., 2010).

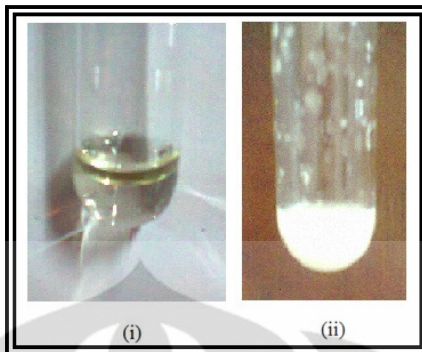
Selain itu, pada penelitian yang dilakukan S. Hari Krishna dan N.G. Karanth menjelaskan bahwa konsentrasi asam lemak yang lebih tinggi akan membuat laju esterifikasi meningkat. Namun konsentrasi asam lemak yang jauh lebih besar dari 2 mol/L akan menurunkan laju karena terjadinya efek inhibisi pada enzim oleh substrat pada rasio molar yang berbeda (Garcia, et al., 1999; Manjon et al., 1991; Miller et al., 1991; Rizzi et al., 1992; Zaidi, et al., 2001).

4.3. Uji Emulsi Ester Sukrosa Hasil Sintesis secara Kualitatif

Berdasarkan perhitungan kasar derajat esterifikasi ester sukrosa hasil sintesis, seperti yang terdapat pada Lampiran 5, dapat diketahui bahwa ester sukrosa hasil sintesis memiliki derajat esterifikasi (DS) = 2. Ester sukrosa dengan DS rendah 1-3, memiliki sifat *emulsifying* yang baik, sehingga dapat digunakan sebagai *emulsifier* (Adamopoulos, 2006). Oleh karena itu, disimpulkan bahwa ester sukrosa hasil sintesis memiliki kemampuan sebagai *emulsifier* dan perlu dilakukan uji emulsi sederhana pada ester sukrosa hasil sintesis.

Uji emulsi sederhana dilakukan dengan menambahkan produk hasil sintesis ke dalam campuran minyak dan air. Perbedaan kepolaran antara minyak dan air akan membuat fasa antara minyak dan air terpisah. Setelah dilakukan penambahan *emulsifier* pada campuran, antara fasa minyak dan fasa air akan menyatu. Hal ini sesuai dengan uji emulsi secara kualitatif pada produk hasil sintesis. Sebelum penambahan produk, fasa minyak dan fasa air terpisah. Akan tetapi, setelah dilakukan penambahan produk, campuran menjadi menyatu dan tidak terlihat adanya perbedaan fasa. Dari hasil uji emulsi secara kualitatif, dapat disimpulkan bahwa produk hasil esterifikasi antara sukrosa dengan asam lemak menggunakan lipase *Candida rugosa* dapat bertindak sebagai *emulsifier*.

Hasil uji emulsi secara kualitatif pada produk produk hasil sintesis terlihat pada Gambar 4.13.



Gambar 4.13 Hasil Uji Emulsi secara Kualitatif (i) sebelum penambahan produk hasil sintesis (ii) setelah penambahan produk hasil sintesis

4.4. Penentuan Jenis Emulsi

Penentuan jenis emulsi yang diperoleh pada uji emulsi secara kualitatif produk hasil sintesis dapat dilakukan dengan mengamati emulsi pada mikroskop. Emulsi yang diperoleh ditambahkan dengan eosin, yaitu suatu zat warna merah yang larut dalam air sehingga fasa air akan menjadi berwarna merah dan mudah untuk diamati serta dibedakan dari fasa minyak. Hasil penentuan uji emulsi pada mikroskop dapat dilihat pada Gambar 4.14.



Gambar 4.14 Hasil Penentuan Jenis Emulsi

Pada Gambar 4.14 terlihat bahwa terdapat *droplet-droplet* yang berwarna bening dengan keadaan sekitar yang berwarna merah muda. Pengamatan

pada hasil menunjukkan bahwa *droplet* merupakan fasa minyak dan lingkungan sekitar *droplet* yang berwarna merah merupakan fasa air. Hal ini disebabkan eosin merupakan zat warna yang bersifat polar sehingga akan larut dalam air dan mengakibatkan air menjadi berwarna merah. *Droplet* minyak yang dikelilingi warna merah menunjukkan bahwa jenis emulsi yang terbentuk berupa minyak dalam air (o/w). Hal ini sesuai dengan hasil perhitungan kasar derajat esterifikasi ester sukrosa hasil sintesis, bahwa ester sukrosa hasil sintesis memiliki derajat esterifikasi (DS) = 2. Ester sukrosa dengan DS rendah akan memiliki HLB yang tinggi dan jenis emulsi yang terbentuk berupa minyak dalam air (o/w) (Whitehurst, 2004).

4.5. Identifikasi Ester Sukrosa dengan HPLC

Produk esterifikasi diperkirakan merupakan campuran antara mono-, di-, dan triester sukrosa. Komposisi mono-, di-, dan triester sukrosa yang terdapat pada produk esterifikasi dapat diidentifikasi menggunakan HPLC. Untuk mengetahui kandungan produk hasil esterifikasi, dilakukan pengukuran pada sukrosa, *ryoto sugar ester* S-1170, metanol murni, dan produk hasil esterifikasi.

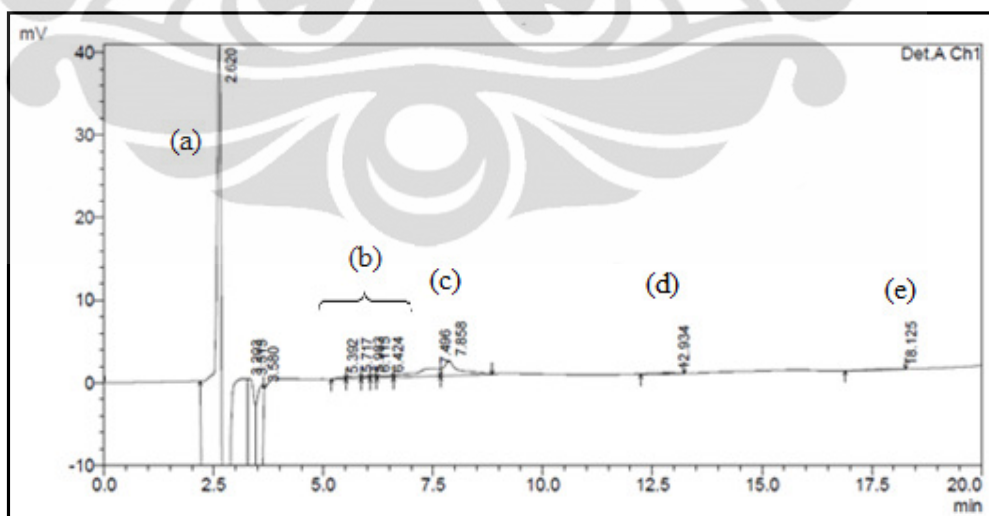
Identifikasi produk esterifikasi menggunakan HPLC dilakukan berdasarkan metode yang digunakan oleh Cruces, M. A., et al. (2001). Pengukuran HPLC pada sukrosa, *ryoto sugar ester* S-1170, dan metanol murni dilakukan sebagai faktor koreksi dan pembanding pada kromatogram yang dihasilkan pada pengukuran produk esterifikasi. Sebelum dilakukan pengukuran, produk esterifikasi yang berada di antara fasa heksana dan fasa air terlebih dahulu dipisahkan dan dilarutkan dalam metanol. Berdasarkan Adamopoulos, Lambrini. (2006), ester sukrosa dapat larut dalam metanol. Oleh karena itu, diharapkan dengan melarutkan produk esterifikasi ke dalam metanol, produk dapat diidentifikasi pada saat pengukuran dengan HPLC. Metode HPLC yang digunakan adalah sistem *reverse phase* atau fasa terbalik, karena fasa gerak yang digunakan bersifat polar, sedangkan C_{18} sebagai fasa diamnya bersifat nonpolar. Kromatogram dan tabel puncak dari hasil pengukuran sukrosa, *ryoto sugar ester*

S-1170, metanol murni, dan produk hasil esterifikasi dengan menggunakan HPLC dapat dilihat pada Lampiran 13-16.

Pada kromatogram hasil pengukuran sukrosa terlihat bahwa sukrosa memiliki waktu retensi 2,9 menit dengan puncak yang tinggi dan lebar. Hal ini sesuai dengan metode kromatografi yang digunakan, yaitu kromatografi fasa terbalik dengan fasa diam nonpolar dan fasa gerak polar, sehingga sampel dengan kepolaran yang lebih tinggi akan terelusi terlebih dahulu, dan memiliki waktu retensi yang pendek. Oleh karena itu, sukrosa tidak tertahan lama dalam kolom dan terelusi dengan cepat.

Pada kromatogram *ryoto sugar ester S-1170*, terlihat bahwa terdapat 6 puncak dengan waktu retensi 2,85; 6,36; 8,06; 12,27; 16,28; 19,9 menit. Puncak dengan waktu retensi 2,85 menit merupakan puncak untuk sukrosa, karena waktu retensi ini sesuai dengan puncak pada kromatogram sukrosa. Puncak pada waktu retensi 6,36 dan 8,06 menit merupakan puncak untuk monoester sukrosa, sedangkan untuk waktu retensi 12,27; 16,28; dan 19,9 menit masing-masing merupakan puncak untuk di, tri, dan tetraester sukrosa.

Kromatogram hasil analisis HPLC untuk produk esterifikasi dapat dilihat pada Gambar 15.



Gambar 4.15 Kromatogram Produk Esterifikasi. Puncak (a) sukrosa, (b) monoester, (c) diester, (d) triester, (e) tetraester

Hasil kromatogram untuk produk esterifikasi menunjukkan bahwa terdapat satu puncak yang tinggi dengan waktu retensi 2,62 menit. Puncak ini serupa dengan puncak pada kromatogram sukrosa dan *ryoto sugar ester S-1170* yang berada sekitar 2 menit, sehingga dapat disimpulkan bahwa puncak ini merupakan puncak untuk sukrosa yang belum teresterifikasi. Pada kromatogram terlihat bahwa terdapat beberapa puncak setelah waktu retensi 2 menit. Puncak dengan waktu retensi setelah 2 menit hingga 6 menit merupakan puncak untuk monoester sukrosa. Puncak dengan waktu retensi 7,49 dan 7,85 menit merupakan puncak untuk diester sukrosa, puncak dengan waktu retensi 12,93 menit untuk triester sukrosa, dan puncak dengan waktu retensi 18,12 menit untuk tetraester sukrosa.

Penentuan komposisi mono-, di-, tri-, dan tetraester sukrosa menggunakan data waktu retensi kromatogram untuk sukrosa ester *ryoto sugar ester S-1170* dan ester hasil sintesis, dilakukan berdasarkan metode kromatografi yang digunakan, yaitu kromatografi fasa terbalik, dengan fasa diam nonpolar dan fasa gerak polar, sampel dengan kepolaran yang lebih tinggi akan terelusi terlebih dahulu, dan memiliki waktu retensi yang pendek. Sifat kepolaran dari ester sukrosa dipengaruhi oleh asam lemak yang teresterifikasi dan besar derajat substitusi dari ester sukrosa. Semakin tinggi derajat substitusi ester sukrosa, sifat kepolarannya akan menurun dan akan tertahan lebih lama pada kolom sehingga waktu retensinya akan semakin lama (Whitehurst, 2004). Berdasarkan hasil yang diperoleh Cruces, M. A., et al. (2001), diketahui bahwa puncak pertama dengan waktu retensi setelah 2 menit (waktu retensi sukrosa) merupakan puncak untuk monoester sukrosa, dan puncak selanjutnya merupakan puncak untuk di-, tri-, dan tetraester sukrosa. Apabila dilakukan perbandingan waktu retensi untuk mono-, di-, tri-, dan tetraester sukrosa antara *ryoto sugar ester S-1170* dan ester hasil sintesis, terlihat bahwa waktu retensi untuk ester hasil sintesis memiliki waktu retensi yang lebih singkat. Hal ini disebabkan, kandungan asam lemak tertinggi dalam minyak sawit yang digunakan adalah asam oleat, yang diperkirakan teresterifikasi pada sukrosa. Asam oleat bila dibandingkan dengan asam stearat yang terdapat pada *ryoto sugar ester S-1170*, keduanya merupakan asam lemak dengan 16 rantai karbon, namun asam oleat memiliki satu ikatan rangkap,

Universitas Indonesia

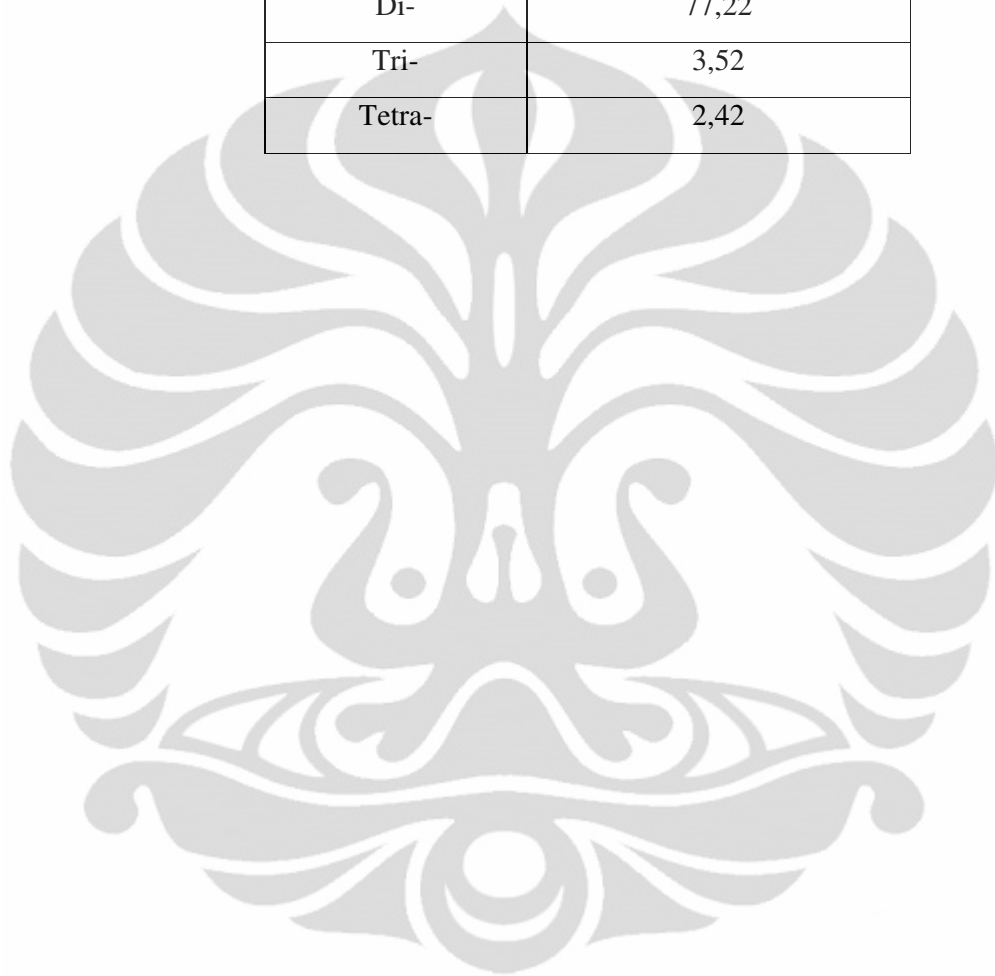
sehingga asam oleat bersifat lebih polar dibandingkan dengan asam stearat. Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa ester sukrosa pada produk hasil sintesis memiliki kepolaran yang lebih tinggi dibandingkan *ryoto sugar ester S-1170*, sehingga memiliki waktu retensi yang lebih singkat.

Untuk puncak negatif setelah waktu retensi 2 menit pada produk hasil sintesis, puncak tersebut merupakan puncak untuk pelarut ester sukrosa, yaitu metanol. Hal ini disebabkan puncak negatif yang diperoleh sesuai dengan hasil pengukuran HPLC terhadap metanol yang juga diperoleh dua puncak negatif dengan waktu retensi yang sama.

Analisis secara kuantitatif dengan HPLC pada ester sukrosa dapat digunakan untuk membandingkan komposisi antara mono-, di-, tri-, dan tetraester sukrosa pada produk hasil esterifikasi. Perbandingan komposisi ester sukrosa dilakukan dengan menggunakan luas area puncak. Perhitungan hasil persentase perbandingan mono-, di-, tri-, dan tetraester sukrosa dapat dilihat pada Lampiran 7. Berdasarkan hasil perhitungan, terlihat bahwa komposisi ester sukrosa tertinggi yang terbentuk dari reaksi esterifikasi secara enzimatik adalah ester sukrosa dengan derajat substitusi 2 atau diester sukrosa, yaitu sebesar 77,22%. Hasil ini sesuai dengan perhitungan kasar menggunakan persentase *yield* bahwa ester sukrosa memiliki DS 2 dan memiliki kemampuan sebagai *emulsifier*. Hasil perhitungan dapat dilihat pada Tabel 4.9.

Tabel 4.9 Perhitungan Komposisi Ester Asam Lemak Sukrosa dari Minyak Sawit menggunakan Luas Area Puncak kromatogram HPLC

Derajat Substitusi	Asam Lemak Sukrosa dari Minyak Sawit (%)
Mono-	16,84
Di-	77,22
Tri-	3,52
Tetra-	2,42



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

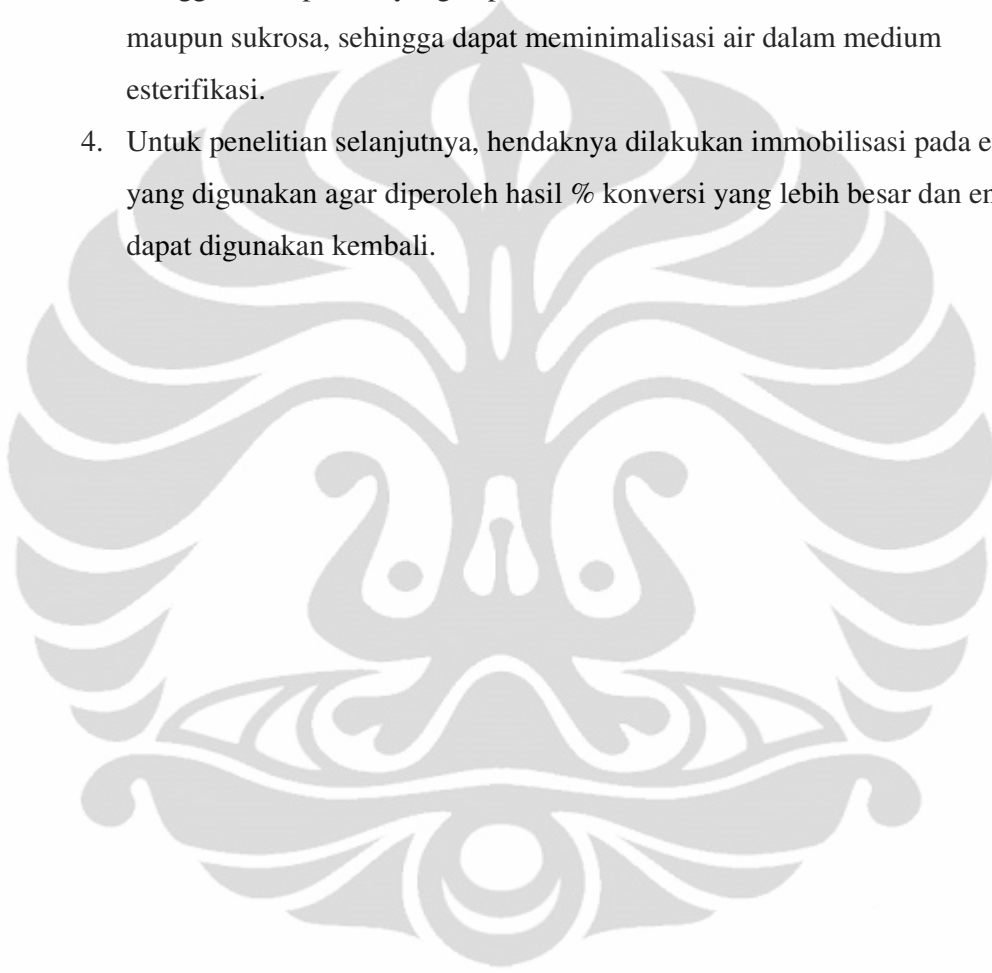
Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa:

1. Reaksi esterifikasi antara asam lemak minyak sawit dengan sukrosa dapat dikatalisis dengan menggunakan enzim lipase dalam pelarut heksana.
2. Telah terjadi reaksi esterifikasi antara sukrosa dengan asam lemak minyak sawit yang ditunjukkan dengan adanya puncak serapan yang khas untuk C=O ester, yaitu pada bilangan gelombang 1739 cm^{-1} .
3. Kondisi optimum reaksi esterifikasi antara asam lemak minyak sawit dengan sukrosa menggunakan enzim lipase yaitu pada waktu inkubasi 12 jam, temperatur 30°C , dan rasio konsentrasi sukrosa dengan asam lemak 1:64.
4. Berdasarkan perhitungan derajat esterifikasi kasar, ester sukrosa hasil sintesis memiliki DS = 2 dan memiliki aktivitas sebagai emulsifier pada uji emulsi secara kualitatif.
5. Pada hasil analisis menggunakan HPLC, diperoleh puncak monoester sukrosa pada waktu retensi 5,39; 5,71; 5,98; 6,11; 6,42 menit, puncak diester sukrosa pada waktu retensi 7,49 dan 7,85 menit, puncak triester sukrosa pada waktu retensi 12,93 menit, dan puncak tetraester sukrosa pada waktu retensi 18,12 menit.
6. Analisis kuantitatif menggunakan HPLC menunjukkan bahwa komposisi tertinggi yang terbentuk dari reaksi esterifikasi secara enzimatik merupakan ester sukrosa dalam bentuk diester sukrosa, yaitu sebesar 77,22% dan sesuai dengan perhitungan kasar menggunakan persentase *yield*.

5.2. Saran

1. Mencari metode pemurnian yang lebih baik untuk senyawa ester hasil sintesis dan cara yang tepat untuk uji adanya gugus ester yang dapat dilakukan secara sederhana.

2. Untuk penelitian selanjutnya, hendaknya digunakan suatu zat penarik air seperti *molecular sieves*, sehingga kandungan air menjadi minimum dan meningkatkan % konversi.
3. Untuk penelitian selanjutnya, hendaknya dilakukan sintesis dengan menggunakan pelarut yang dapat melarutkan kedua substrat, baik asam lemak maupun sukrosa, sehingga dapat meminimalisasi air dalam medium esterifikasi.
4. Untuk penelitian selanjutnya, hendaknya dilakukan immobilisasi pada enzim yang digunakan agar diperoleh hasil % konversi yang lebih besar dan enzim dapat digunakan kembali.



DAFTAR PUSTAKA

- Adamopoulos, Lambrini. (2006). *Understanding the formation of sugar fatty acid esters*. Faculty of North Carolina State University.
- Adnania, Atena, et al. (2010). *Optimization of lipase-catalyzed synthesis of xylitol ester by Taguchi robust design method*. Faculty of Science, Universiti Putra Malaysia, Malaysia.
- Akoh, C.C., Min, D.B. (1998). *Microbial lipases and enzymatic interesterification in food lipids-Chemistry, Nutrition and Biotechnology*. Marcel Deccer, Inc, New York, p. 641-698.
- Apt, sardjoko. (1992). *Spektroskopi inframerah*. Jogja: Liberty Yogyakarta
- Awang, R., et al. (2007). *Immobilization of Lipase from Candida Rugosa on Palm-Based Polyurethane Foam as a Support Material*. Department of Chemistry, Faculty of Science, Universiti Putra Malaysia, Malaysia.
- Ayu, Anak Agung. (2000). *Studi pemurnian dan karakterisasi emulsifier campuran mono- dan diasil gliserol yang diproduksi dari distilat asam lemak minyak sawit dengan teknik esterifikasi enzimatis menggunakan lipase Rhizomucor miehei*. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Biscaia F.C, Joana. (2008). *Enzymatic synthesis of carbohydrate fatty acid esters in a highly concentrated aqueous system and in an organic solvent*. Biological Engineering, Instituto Superior Técnico Portugal.
- Byun, et al. (2007). *Lipase catalyzed production of monoacylglycerols by the esterification of fish oil fatty acids and with glycerol*. Faculty of Science and Biotechnology, Kangnung National University, Korea.
- Cruces, et al. (2001). *Improved synthesis of sucrose fatty acid monoesters*. Departamento de Biocatálisis, Instituto de Catálisis, C.S.I.C., Cantoblanco, dan Instituto de Química Orgánica, Spain.
- Dandekar, PP et al. (2009). *Enzymatic synthesis of sucrose ester from mango kernel fat*. India : Institute of Chemical Technology.

- Elisabeth H.N, T. (2002). *Mempelajari stabilitas enzim lipase ekstraselular dari kapang Rhizopus oryzae TR 32 dalam pelarut heksana, toluena, dan benzena*. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Fadölođlu, S. (1996). *Kinetics of olive oil hydrolysis by free and immobilised Candida rugosa lipase*, University of Gaziantep.
- Ferrer, et al. (2005). *Synthesis of sugar esters in solvent mixtures by lipases from Thermomyces lanuginosus and Candida antarctica B, and their antimicrobial properties*. Departamento de Biocatálisis, Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, Spain.
- Garcia, T., A. Coteron, M. Martinez and J. Aracil. (1999). *Kinetic model for the esterification of oleic acid and cetyl alcohol using an immobilized lipase as catalyst*. J. Chem. Eng. Sci., 55: 1411-1423.
- Hariyadi, Purwiyatno. (1996). *Katalisis enzimatis dalam pelarut organik*. Fakultas Teknologi Pangan, Institut Pertanian Bogor.
- Hariyadi, Purwiyatno. (2010). *Sepuluh karakter unggul minyak sawit*. Info Sawit.
- Hasnisa, et al. (2008). *Kajian pengoptimuman tindak balas hidrolisis minyak kacang soya*. Program Oleokimia, Pusat Pengajian Sains Kimia dan Teknologi Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, Malaysia.
- <http://agisfarm.indonetwork.co.id> Senin, 2 Mei 2011.
- http://www.biochem.arizona.edu/classes/bioc462/462a/NOTES/CARBO/carb_structure.html Senin, 2 Mei 2011.
- <http://www.nt.ntnu.no/users/thorleif/biocat/biocatalysis.html>. Selasa, 7 Juni 2001.
- <http://www.wikipemred.com> Senin, 2 Mei 2011.
- <http://www.xtal.iqfr.csic.es/projects/bio-cryst/bio-crystallography.html> Senin, 2 Mei 2011.

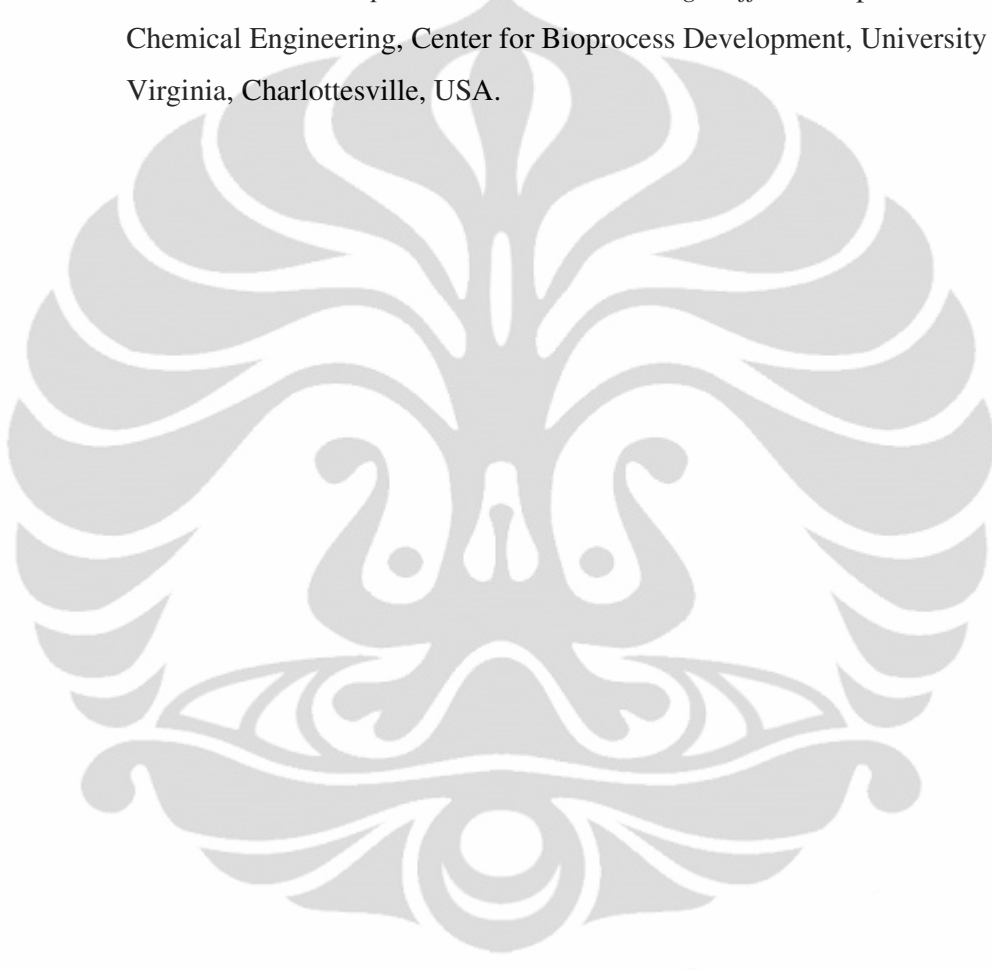
- Hailing, P. J. (1990). *Solvent selection for biocatalysis in mainly organic systems Predictions of effects on equilibrium position*. Biotech. Bioeng. 35: 691-701.
- Hudiyono, Sumi. 2004. *Handout biokimia*. Depok : Departemen Kimia.
- Ketaren, S. (1986). *Pengantar teknologi minyak dan lemak pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Klibanov, A. M. (1986). *Enzymes that work in organic solvents*. Chemtech. 16: 354-144.
- Kotting, J. and H. Eibl. (1994). *Lipases and phospolipases in organic synthesis*. Di dalam *Lipases: Their Structure, Biochemistry and Application*, Ed. P. Wolley and S.B. Petersen. Cambridge University Press. P. 289-313.
- Krishna, S. Hari and N.G. Karanth. (2001). *Lipase-catalyzed synthesis of isoamyl butyrate. A kinetic study*. Fermentation Technology and Bioengineering Department, Central Food Technological Research Institute, India.
- Kulkarni, N. (2002). *Studies on lipase enzyme from Pseudomonas fluorescens NS2W. Chemical engineering division national chemical laboratory pune. India*.
- Laane, C, Tramper, J, dan Lilly, M. D. (Eds). (1987). *Biocatalysis in organic media*. Elsevier, Amsterdam.
- Lehninger, Albert L. (1990). *Dasar-dasar biokimia*. Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Macrae, A.R. (1983). *Extracellular microbial lipases*. Di dalam W.M. Fogatty. *Microbial enzyme and biotechnology*. Appl. Scie. Publ. London.
- Manjon, A., Iborra, J.L., Arocas, A., (1991). *Short-chain flavor esters synthesis by immobilized lipase in organic media*. Biotechnol. Lett. 13, 339–344.
- Miller, D.A., Prausnitz, J.M., Blanch, H.W. (1991). *Kinetics of lipase-catalysed interesterification of triglycerides in cyclohexane*. Enzyme Microbiol. Technol. 13, 98–103.

- Murray, k. Robert, et al. (2003). *Harper's illustrated biochemistry, twenty-sixth edition*. United States of America : The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Nakanishi, Koji. (1962). *Infrared absorption spectroscopy*. Tokyo : Nnkodo company limited
- ÖZTÜRK, Banu. (2001). *Immobilization of lipase from Candida rugosa on hydrophobic and hydrophilic supports*. Department of Biotechnology and Bioengineering, Major of Biotechnology İzmir Institute of Technology İzmir, Turkey.
- Perindustrian, Departemen. (2007). *Gambaran sekilas industri minyak kelapa sawit*. Jakarta Selatan.
- Pertanian, Kementerian. (2010). *Outlook komoditas pertanian perkebunan*. Jakarta: Pusat Data dan Informasi Pertanian.
- Rahman ,R.A. dan Tjahjono, H. (2000). *Properties of biosurfactant enzymatically prepared from fructose and palm fatty acid*. Chemical and Process Engineering Departement, Faculty of Engineering. Universiti Kebangsaan Malaysia, dan Indonesian Oil Palm Research Institute, Indonesia.
- Reed, Michael C., Anna L., H. Frederik N. (2010). *The biological significance of substrate inhibition: A mechanism with diverse functions*. Department of Mathematics and Department of Biology, Duke University, Durham, USA.
- Reslow, M, Adlercreutz, P., dan Mattiasson, B. (1987). *Organic solvents for bioorganic synthesis. I. Optimization of parameters for chymotrypsin catalyzed process*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 26: 1-8.
- Rizzi, M., Stylos, P., Reuss, M. (1992). *A kinetic study of immobilized lipase catalyzing the synthesis of isoamyl acetate by transesterification in n-hexane*. Enzyme Microbiol. Technol. 14, 709–714.
- Schmid, Rolf D. et al. (2001). *Enzymatic production of sugar fatty acid esters*. Institut für Technische Biochemie der Universität Stuttgart.

- Singh, M. (2007). *Transesterification of primary and secondary alcohols using Pseudomonas aeruginosa lipase*. India. National Institute of Pharmaceutical Education and Research.
- Sugiharni, Nanik. (2010). *Isolasi lipase ekstrak kasar dari pseudomonas fluorescens sebagai biokatalisator dalam studi pendahuluan reaksi esterifikasi antara asam lemak minyak kelapa dengan sukrosa*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.
- Syamsul M.W, K. (2010). *Green synthesis of lauryl palmitate via lipase-catalyzed reaction*. Faculty of Science and Technology, Universiti Sains Islam Malaysia (USIM), Malaysia.
- Tarigan, Juliati Br. Ssi, Msi . (2009). *Ester Asam Lemak*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara.
- Villeneuve P., Muderhwa J.M., Graille J., Haas M.J. (2000). “*Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches*”. *Journal of molecular catalysis B: enzymatic*, 9, issues 4-6, 113-148.
- Whitehurst, Robert J. (2004). *Emulsifiers in Food Technology*. Inggris : Blackwell Publishing.
- www.inovasi.lipi.go.id Senin, 2 Mei 2011.
- Yang, B.K., Kuo, S.J., Hariyadi, P. dan Parkin, K.L. (1994). *Solvent suitability for lipase-mediated acyl-transfer and esterification reactions in microaqueous milieu is related to substrate and product polarities*. *Enzyme Microb. Technol.* 16: 577-583.
- Yoo, I, et al. (2007). *Enzymatic Synthesis of Sugar Fatty Acid Esters* . Department of Chemical Engineering, Kyungwon University, Kyunggi 461-701, Korea.
- Yu, Jiugao, et al. (2007). *Study of Glucose Ester Synthesis by Immobilized Lipase from Candida sp.* School of Science, Tianjin University, China.

Yusnizar. (2001). *Pengaruh Penambahan berbagai Minyak sebagai Induser terhadap Produksi Enzim Lipase Ekstraselular dari Kapang Rhizopus oryzae TR 32*. Fakultas Teknologi Pangan Institut Pertanian Bogor.

Zaidi, A., et al. (2001). *Esterification of fatty acids using nylon-immobilized lipase in n-hexane: kinetic parameters and chain-length effects*. Department of Chemical Engineering, Center for Bioprocess Development, University of Virginia, Charlottesville, USA.



Lampiran 1
Perhitungan BM Hidrolisat Asam Lemak Minyak Sawit

Parameter	Hasil (%)	BM	% BM
Asam Lemak Jenuh			
Kaprilat (C8)	0,09	144	0,13
Kaprat (C10)	0,13	172	0,224
Laurat (C12)	0,51	200	1,02
Miristat (C14)	1,24	228	2,83
Palmitat (C16-0)	35,50	256	90,88
Stearat (C18-0)	2,82	284	8,01
Asam Lemak Tidak Jenuh			
Oleat (C18-1)	41,1	282	115,90
Linoleat (C18-2)	17,8	280	49,84
Linolenat (C18-3)	0,78	278	2,17
BM rata-rata			271

Lampiran 2
Perhitungan Penentuan Rasio Bahan

1. Menentukan ρ Asam Lemak

untuk menentukan ρ asam lemak digunakan pikno berukuran 10 ml

$$\text{massa asam lemak} = 8,1581 \text{ gr}$$

$$\text{maka } \rho \text{ asam lemak} = \frac{8,1581 \text{ gr}}{10 \text{ ml}} = 0,81581 \text{ gr/ml}$$

2. Menentukan Massa dan Mol Asam Lemak

$$\rho = \frac{m}{v} \rightarrow m = \rho \times v = 0,8158 \text{ gr/ml} \times 3 \text{ ml} = 2,4474 \text{ gr}$$

$$\text{mol} = \frac{\text{massa}}{Mr} = \frac{2,4474 \text{ gr}}{271 \text{ gr/mol}} = 9,0309 \times 10^{-3}$$

3. Menentukan Massa Sukrosa

1 ml sukrosa 0,1M = 0,1 mmol

$$\begin{aligned} \text{Massa} &= \text{mol} \times Mr = 0,1 \times 10^{-3} \times 342 \text{ gr/mol} \\ &= 0,0342 \text{ gr} \end{aligned}$$

4. Menentukan Massa Enzim

5 % massa substrat

$$\frac{5}{100} \times 2,48163 \text{ gr} = 0,1241 \text{ gr}$$

5. Menentukan Volume Pelarut (n – heksana)

Volume sukrosa + volume asam lemak

$$= 1 \text{ ml} + 3 \text{ ml}$$

$$= 4 \text{ ml}$$

Lampiran 3

Data Titrasi Asam Lemak Sisa Variasi Waktu Inkubasi

Tabel L.3.1 Waktu Inkubasi 6 jam

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH	Molaritas NaOH	Vol. Heksan	Vol. Total
				(sisa) mL	
1.	S 1	2,3	0.5 M	3,4	5,4
		2,3			
2.	S 2	2,4		3	5
		2,3			
3.	S 3	3,2		-	4
		3,3			
4.	Blanko	2,7		3.2	5,2
		2,7			

Tabel L.3.2 Waktu Inkubasi 12 jam

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH	Molaritas NaOH	Vol. Heksan	Vol. Total
				(sisa) mL	
1.	S 1	2,3	0,5 M	-	4,2
		2,4			
2.	S 2	2,8		-	4,1
		2,8			
3.	S 3	2,5		2,7	4,7
		2,5			
4.	Blanko	2,9		3,8	5,8
		2,9			

Tabel L.3.3 Waktu Inkubasi 18 jam

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH	Molaritas NaOH	Vol. Heksan	Vol. Total
				(sisa) mL	
1.	S 1	2,65	0,5 M	1	3
		2,65			
2.	S 2	2,1		2,1	4,1
		2,1			
3.	S 3	2,3		2	4
		2,2			
4.	Blanko	3,1		2.1	4,1
		3,3			

Lanjutan

Tabel L.3.4 Waktu Inkubasi 24 jam

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH	Molaritas NaOH	Vol. Heksan	Vol. Total
				(sisa) mL	
1.	S 1	1,7	0,68032 M	2,5	4,5
		1,9			
2.	S 2	2		2	4
		2,2			
3.	S 3	1,6		2,7	4,7
		1,5			
4.	Blanko	2,4		2,2	4,2
		2,3			

Tabel L.3.5 Waktu Inkubasi 30 jam

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH	Molaritas NaOH	Vol. Heksan	Vol. Total
				(sisa) mL	
1.	S 1	2,1	0,68032 M	1,6	3,6
		2,2			
2.	S 2	2,2		2,3	4,3
		2,1			
3.	S 3	2,3		2,1	4,1
		2,2			
4.	Blanko	2,7		2,3	4,3
		2,8			

Tabel L.3.6 Waktu Inkubasi 36 jam

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH	Molaritas NaOH	Vol. Heksan	Vol. Total
				(sisa) mL	
1.	S 1	2,5	0,68032 M	1,9	3,9
		2,4			
2.	S 2	2,6		2,1	4,1
		2,7			
3.	S 3	2,7		2,2	4,2
		2,6			
4.	Blanko	3,1		2,1	4,1
		3,3			

Lampiran 4

Data Titrasi Asam Lemak Sisa Variasi Temperatur Reaksi

Tabel L.4.1 Temperatur Reaksi 25⁰C

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH yang dibutuhkan	Molaritas NaOH	Vol. Heksan (mL)
1.	S 1	1	0,6649 M	10
		1		
2.	S 2	1		
		1		
3.	S 3	1		
		1		
4.	Blanko	1,2		
		1,2		

Tabel L.4.2 Temperatur Reaksi 30⁰C

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH yang dibutuhkan	Molaritas NaOH	Vol. Heksan (mL)
1.	S 1	0,8	0,6754 M	10
		0,8		
2.	S 2	0,8		
		0,9		
3.	S 3	0,9		
		0,9		
4.	Blanko	1,1		
		1,1		

Tabel L.4.3 Temperatur Reaksi 35⁰C

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH yang dibutuhkan	Molaritas NaOH	Vol. Heksan (mL)
1.	S 1	1,2	0,6226 M	10
		1,3		
2.	S 2	1,3		
		1,3		
3.	S 3	1,3		
		1,3		
4.	Blanko	1,4		
		1,4		

Lanjutan

Tabel L.4.4 Temperatur Reaksi 40⁰C

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH yang dibutuhkan	Molaritas NaOH	Vol. Heksan (mL)
1.	S 1	1,3	0,6226 M	10
		1,2		
2.	S 2	1,2		
		1,3		
3.	S 3	1,2		
		1,3		
4.	Blanko	1,3		
		1,4		

Tabel L.4.5 Temperatur Reaksi 45⁰C

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH yang dibutuhkan	Molaritas NaOH	Vol. Heksan (mL)
1.	S 1	1,25	0,6226 M	10
		1,3		
2.	S 2	1,3		
		1,3		
3.	S 3	1,3		
		1,3		
4.	Blanko	1,4		
		1,4		

Lampiran 5
Data Titration NaOH Variasi Rasio Mol Substrat

Tabel L.5.1 Rasio 16:1

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH yang dibutuhkan	Molaritas NaOH	Vol. Heksan (mL)
1.	S 1	0,2	0,6649 M	10
		0,2		
2.	S 2	0,2		
		0,2		
3.	S 3	0,2		
		0,2		
4.	Blanko	0,25		
		0,25		
		0,3		

Tabel L.5.2 Rasio 40:1

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH yang dibutuhkan	Molaritas NaOH	Vol. NaOH (mL)
1.	S 1	0,4	0,6649 M	10
		0,4		
2.	S 2	0,4		
		0,4		
3.	S 3	0,4		
		0,4		
4.	Blanko	0,45		
		0,5		
		0,4		

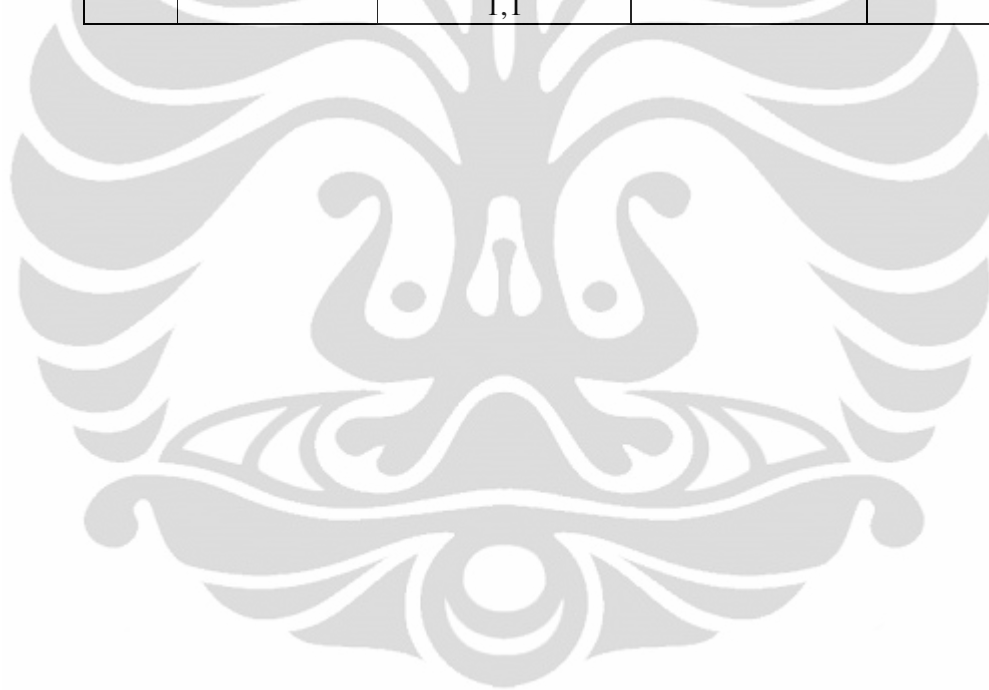
Tabel L.5.3 Rasio 64:1

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH yang dibutuhkan	Molaritas NaOH	Vol. NaOH (mL)
1.	S 1	0,7	0,6649 M	10
		0,7		
2.	S 2	0,7		
		0,7		
3.	S 3	0,7		
		0,7		
4.	Blanko	0,9		
		0,9		

Lanjutan

Tabel L.5.4 Rasio 90:1

No.	Erlenmeyer	Vol. NaOH yang dibutuhkan	Molaritas NaOH	Vol. Heksan (mL)
1.	S 1	0,8	0,6754 M	10
		0,8		
2.	S 2	0,8		
		0,9		
3.	S 3	0,9		
		0,9		
4.	Blanko	1,1		
		1,1		



Lampiran 6

Perhitungan Konversi dan Perkiraan Derajat Esterifikasi (DS) Ester Asam Lemak Sukrosa dari Minyak Sawit

1. Perhitungan % Konversi

Contoh : optimasi suhu 30 °C

No.	Keterangan	Volume NaOH yang dibutuhkan
1.	Sampel 1	0,85 ml
2.	Sampel 2	0,80 ml
3.	Sampel 3	0,90 ml
4.	Blanko	1,10 ml

$$\bar{v} = \frac{0,85 + 0,8 + 0,9 \text{ ml}}{3} = 0,85 \text{ ml}$$

$$v_{\text{asam lemak bereaksi}} = \bar{v}_{\text{sampel}} - v_{\text{blanko}}$$

$$= 1,10 \text{ ml} - 0,85 \text{ ml} = 0,25 \text{ ml}$$

$$\text{Mmol asam lemak yang bereaksi} = \frac{v_{\text{asam lemak bereaksi}} \times [\text{NaOH}] \times 10 \text{ ml}}{1 \text{ ml}}$$

$$= \frac{0,25 \text{ ml} \times 0,6754 \text{ M} \times 10 \text{ ml}}{1 \text{ ml}}$$

$$= 1,6885 \text{ mmol}$$

$$\% \text{ konversi} = \frac{\text{Mmol asam lemak yang bereaksi}}{\text{mmol awal}} \times 100\%$$

$$= \frac{1,6885 \text{ mmol}}{9,0309 \text{ mmol}} \times 100 \% = 18,6969 \%$$

2. Perhitungan kasar perkiraan derajat esterifikasi (DS) ester asam lemak sukrosa dari minyak sawit

Pada kondisi yang paling optimum, diperoleh persen yield sebesar 20,07 % 20,07 % = 0,2007 → asam lemak yang bereaksi sebanding dengan 0,2007 mmol ≈ 0,2 mmol

$$\text{Derajat substitusi} = \frac{\text{mmol asam lemak yang bereaksi}}{\text{mmol sukrosa}}$$

$$= \frac{0,2}{0,1} = 2$$

Lampiran 7
Perhitungan Komposisi Ester Asam Lemak Sukrosa dari Minyak Sawit
menggunakan Luas Area Puncak kromatogram HPLC

Derajat Substitusi	Waktu Retensi	Luas Area
Mono-	5,392	2734
	5,717	4939
	5,983	3176
	6,115	2181
	6,424	4963
Di-	7,496	37681
	7,858	44829
Tri-	12,934	3761
Tetra-	18,125	2581

Maka, total luas area = 106845

Persentase komposisi asam lemak sukrosa dari minyak sawit :

$$\frac{\text{total area monoester}}{\text{total seluruh luas area ester}} \times 100\%$$

$$1^0 = \frac{17993}{106845} \times 100\% = 16,84\%$$

$$2^0 = \frac{82510}{106845} \times 100\% = 77,22\%$$

$$3^0 = \frac{3761}{106845} \times 100\% = 3,52\%$$

$$4^0 = \frac{2581}{106845} \times 100\% = 2,42\%$$

Lampiran 8
Data Spesifikasi Lipase *Candida rugosa*

Sigma-Aldrich Certificate of Analysis http://buchpsrv05.europe.sial.com/anpr/cofa3.php?az_charge=1298612...

SIGMA-ALDRICH **Fluka**
Analytical
Industriestrasse 25, CH-9471 Buchs (SG), Switzerland
Tel: +41 81 755 2511 Fax: +41 81 756 5449

Certificate of Analysis

Product Name: LIPASE CANDIDA RUGOSA
Product Number: 90860
Product Brand: Fluka
Molecular Formula:
Molecular Mass:
CAS Number: 9001-62-1

TEST	SPECIFICATION	LOT 1298612 RESULTS
APPEARANCE (COLOR)	WHITE TO SLIGHTLY BEIGE	SLIGHTLY BEIGE
APPEARANCE (FORM)	POWDER TO POWDER WITH LUMPS	POWDER
SOLUBILITY (COLOR)	COLORLESS TO FAINTLY BROWN	SLIGHTLY YELLOW (Y4)
SOLUBILITY (TURBIDITY)	CLEAR (VISUAL)	CLEAR
SOLUBILITY (METHOD)	-	5 MG/ML H ₂ O
ENZYMATIC ACTIVITY	> 2.0 U/MG	2.45 U/MG 1 U CORRESPONDS TO THE AMOUNT OF ENZYME WHICH LIBERATES 1 UMOL OLEIC ACID PER MINUTE AT PH 8.0 AND 40 DEG C (TRIOLEIN, FLUKA NO. 62314, AS SUBSTRATE)

QC RELEASE DATE 13/JUL/06
RECOMMENDED RETEST DATE JUN/12


 Edeltraud Schwärzler, Manager
 Quality Control
 Buchs, Switzerland

Sigma-Aldrich guarantees the 'Sales-Specification' values only, additional lot specific tests may be included for further information. The current 'Sales-Specifications' sheet is available on request. For further inquiries, please contact our Technical Service. Sigma-Aldrich warrants, that its products conform to the information contained in this and other Sigma-Aldrich publications. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice for additional terms and conditions of sale. The values given on the 'Certificate of Analysis' are the results determined at the time of analysis.

1 of 1 10/11/2010 17:28

Lampiran 9

Data Analisis Kandungan Asam Lemak Minyak Sawit

KEMENTERIAN PERINDUSTRIAN RI
BADAN PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN INDUSTRI
BALAI BESAR INDUSTRI AGRO
LABORATORIUM ANALISIS DAN KALIBRASI BALAI BESAR INDUSTRI AGRO
ANALYTICAL AND CALIBRATION LABORATORIES
CENTER FOR AGRO-BASED INDUSTRY

Jalan Ir. H. Juanda 11, Bogor 16122 Telp. : (0251) 8324068, 8323333 Fax. : (0251) 8323339

KAN
Komite Akreditasi Nasional
Laboratorium Pengujian
IP-057-IDN

Kepada :
To DEPARTEMEN KIMIA UI
KAMPUS UI
DEPOK

LAPORAN HASIL UJI
TEST REPORT

Balasan surat/
Permintaan tanggal : -
Reply to your letter/
request dated

Nomor / Number : 11028/LHU/BA/ABICAL 1 / XI / 2010
Nomor Analisis
Analysis Number : 12663 dan 12664
Nomor Seri
Serial Number : 11528
Halaman : 1 dari / of 2
Tanggal penerbitan
date of issue : 19 Nopember 2010

Yang bertanda tangan di bawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian
The undersigned avails that the testing of

Contoh : Minyak Goreng Kode : A 3 B
Sample (s)

Untuk analisis : Kimia
for analysis

Keterangan contoh : Dikemas dalam botol
Description of sample

Diambil dari : -
Taken from

Cleh : -
by

Tanggal penerimaan contoh : 25 Oktober 2010
Date of sample

Tanggal pelaksanaan analisis : 26 Oktober 2010
Date of analysis

Pengambilan contoh : -
Sampling

adaah sebagai berikut :
The result is as follows

HASIL PENGLUJIAN INI TIDAK UNTUK DIGANDAKAN
DAN HANYA BERLAKU UNTUK CONTOH-CONTOH
TERSEBUT DIATAS.
PENGAMBILAN CONTOH BERTANGGUNG JAWAB
ATAS KEBENARAN TANDING BARANG.

FAD.04a

Lanjutan

H A S I L
TEST RESULT

Nomor Seri : 11528 Nomor / Number : 11528/LHU/Bd/ABICAL. 1/ XI / 2010
Serial Number

Nomor Analisis : 12663 dan 12664
Analysis Number

Halaman / Page : 2 Dari / of 2

No. Analisis	12663		12664		Metoda Uji/Teknik
Kode contoh	A		B		
Parameter	Satuan	Hasil			
Komposisi asam lemak :					
Asam lemak jenuh :					GC
Kaprilat (C8)	%	0,09	7,20		
Kaprat (C10)	%	0,13	8,02		
Laurat (C12)	%	0,51	54,1		
Miristat (C14)	%	1,24	17,4		
Palmitat (C16-0)	%	35,5	6,64		
Stearat (C18-0)	%	2,82	1,86		
Asam lemak tidak jenuh :					
Oleat (C18-1)	%	41,1	3,99		GC
Linoleat (C18-2)	%	17,8	0,81		
Linolenat (C18-3)	%	0,78	0,02		

ASLI
ORIGINAL

Laboratorium Analisis dan Kalibrasi
Batali Besar Industri Agro
Analytical and Calibration Laboratories
Center for Agro-Based Industry
Manajer Teknis Pengujian

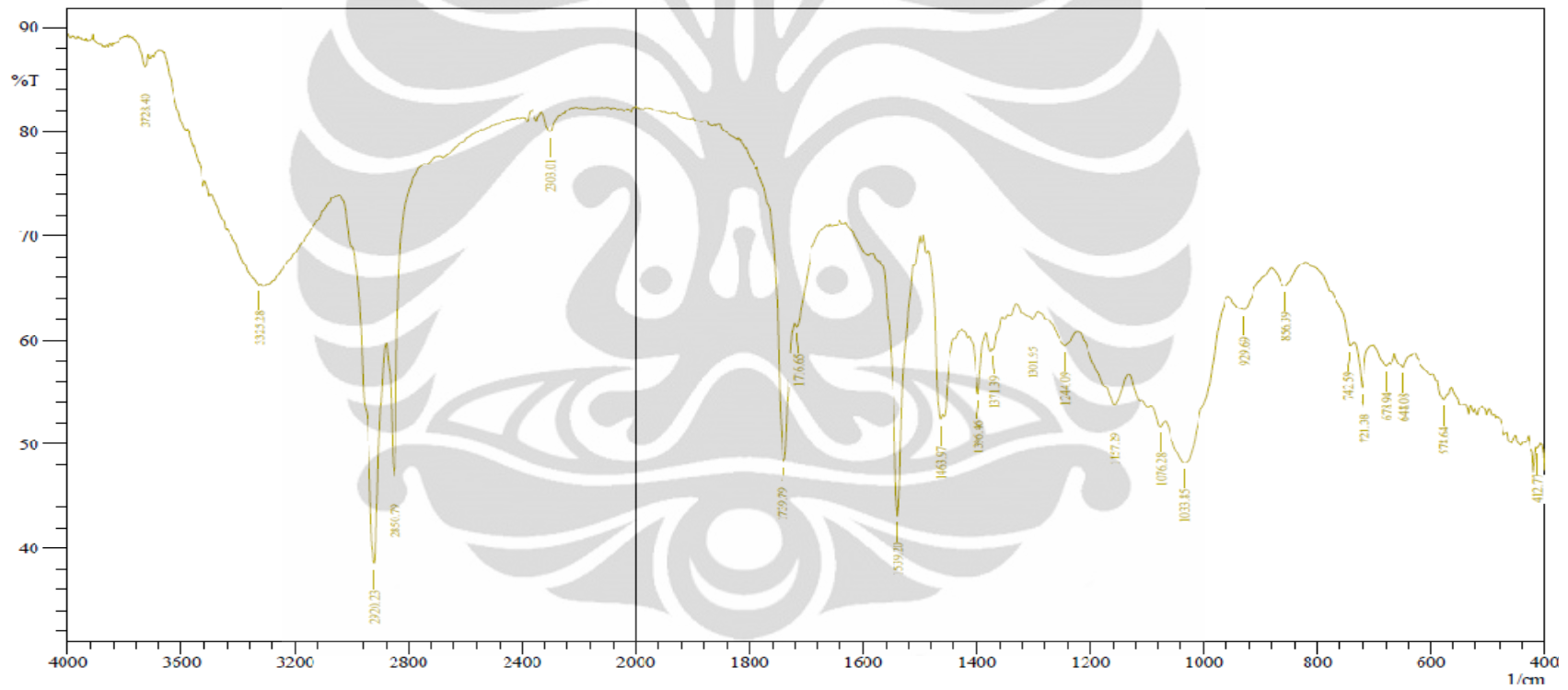
Mulhaquddin S. M Si
(Mulhaquddin S. M Si)

HASIL PENGUJIAN INI TIDAK UNTUK DIGANDAKAN
DAN HANYA BERLAKU UNTUK CONTOH-CONTOH
TERSEBUT DIAJAS.
PENGAMBILAN CONTOH BERTANGGUNG JAWAB
ATAS KEBENARAN TANDING BARANG.

FAD.04a

Lampiran 10
Spektrum IR Ester Sukrosa Hasil Sintesis

SHIMADZU



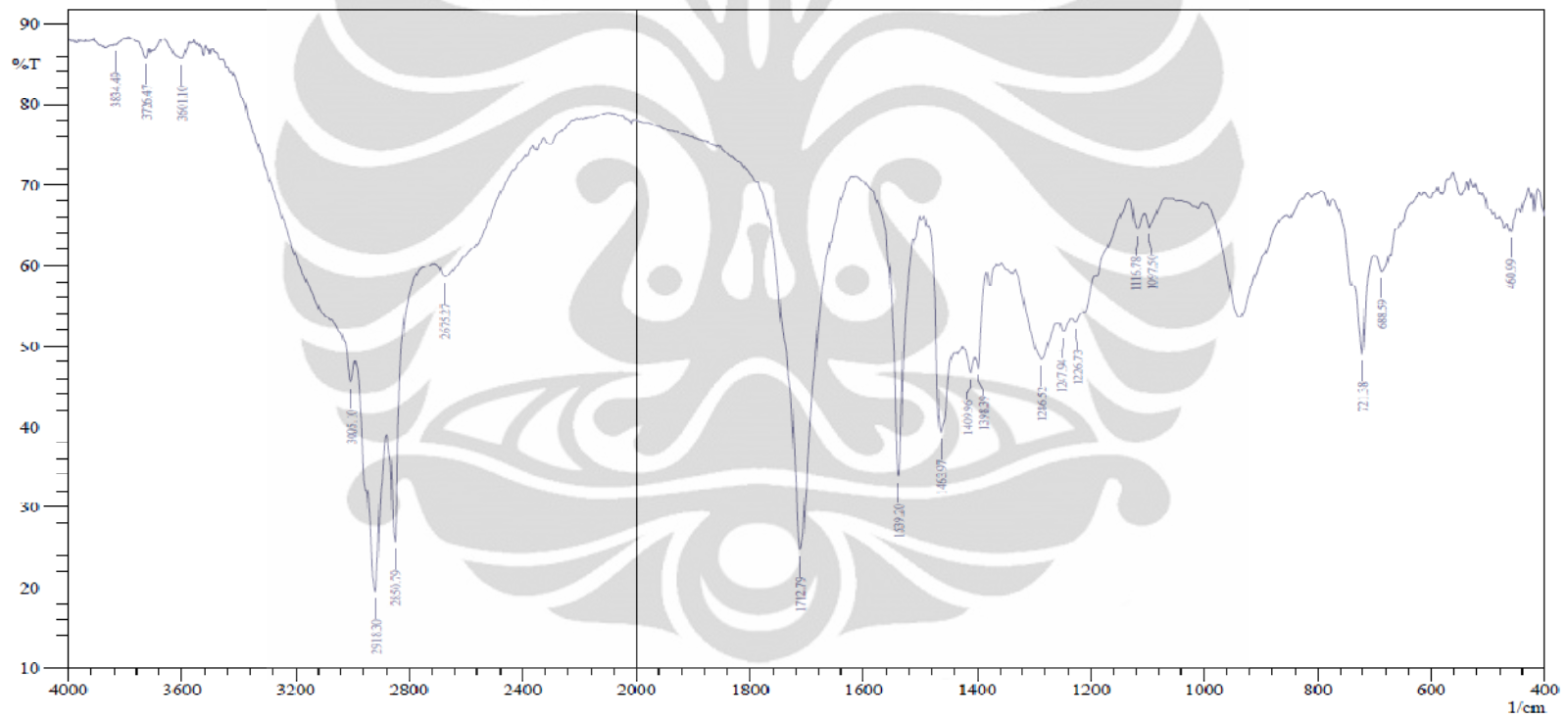
se sawit

No. of Scans; 45
Resolution; 4 [1/cm]

LABORATORIUM AFILIASI DEPT KIMIA UI

Lampiran 11
Spektrum IR Asam Lemak Minyak Sawit

SHIMADZU



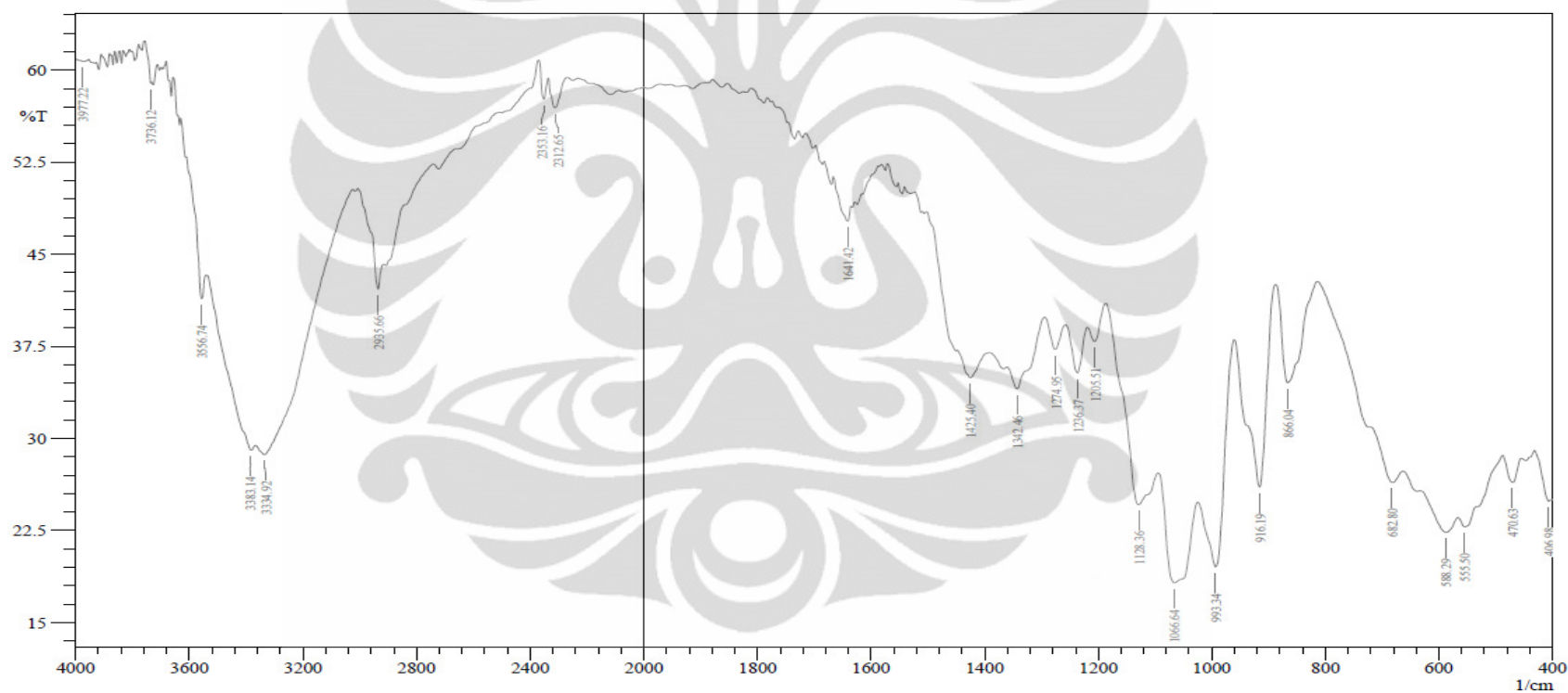
asam lemak sawit

No. of Scans: 45
Resolution: 4 [1/cm]

LABORATORIUM AFILIASI DEPT. KIMIA UI

Lampiran 12
Spektrum IR Sukrosa

SHIMADZU

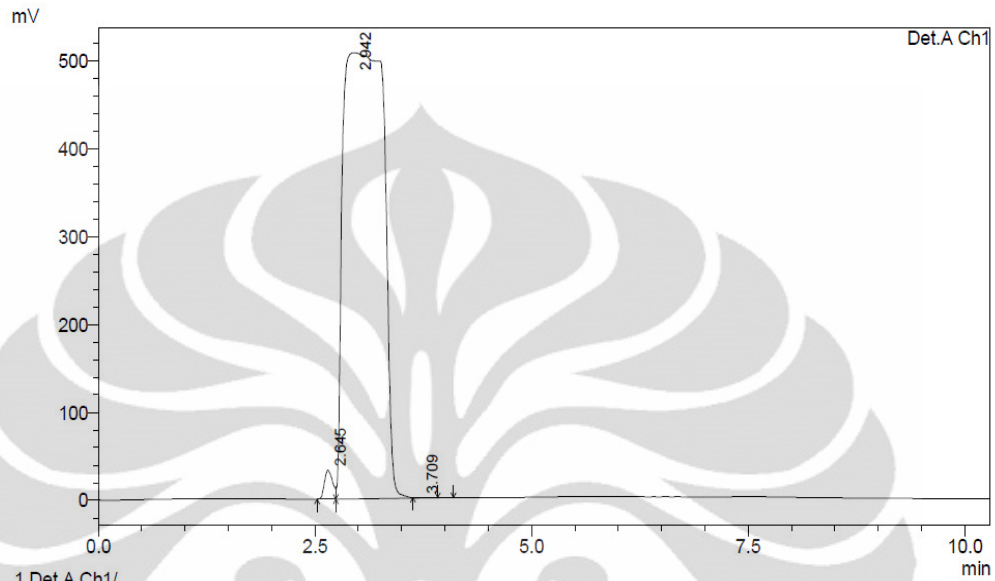


sukrosa2

No. of Scans; 45
Resolution; 4 [1/cm]

LABORATORIUM AFILIASI DEPT.KIMIA UI

Lampiran 13
Kromatogram Sukrosa



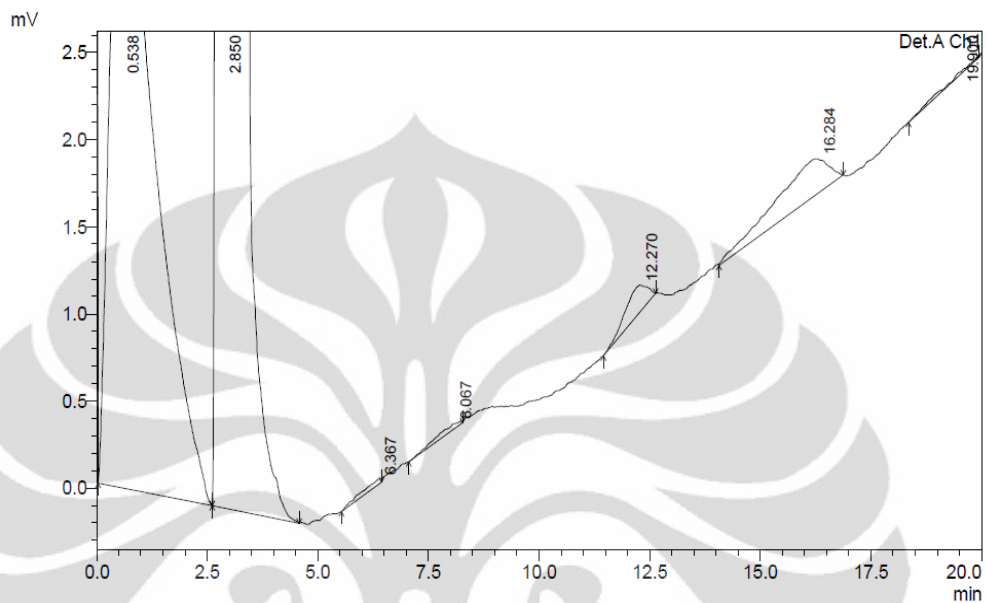
1 Det.A Ch1/
<Results>

PeakTable

Detector A Ch1

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.645	215508	32872	1.301	6.081
2	2.942	16348927	507498	98.688	93.874
3	3.709	1836	245	0.011	0.045
Total		16566270	540615	100.000	100.000

Lampiran 14
Kromatogram Ryoto Sugar Ester S-1170



1 Det.A Ch1/

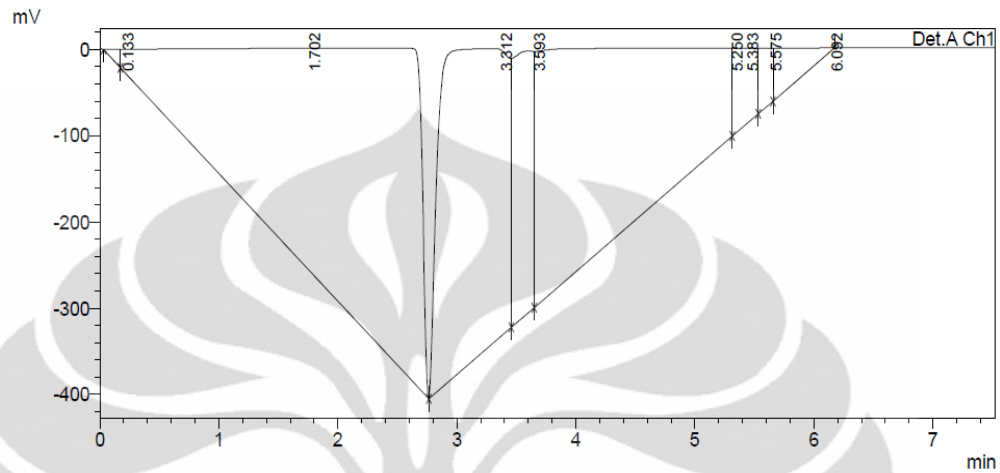
<Results>

PeakTable

Detector A Ch1

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	0.538	271669	4065	1.530	0.810
2	2.850	17459265	497530	98.309	99.104
3	6.367	1295	30	0.007	0.006
4	8.067	1457	31	0.008	0.006
5	12.270	5862	157	0.033	0.031
6	16.284	18945	203	0.107	0.040
7	19.900	1073	12	0.006	0.002
Total		17759565	502028	100.000	100.000

Lampiran 15
Kromatogram Metanol



1 Det.A Ch1/

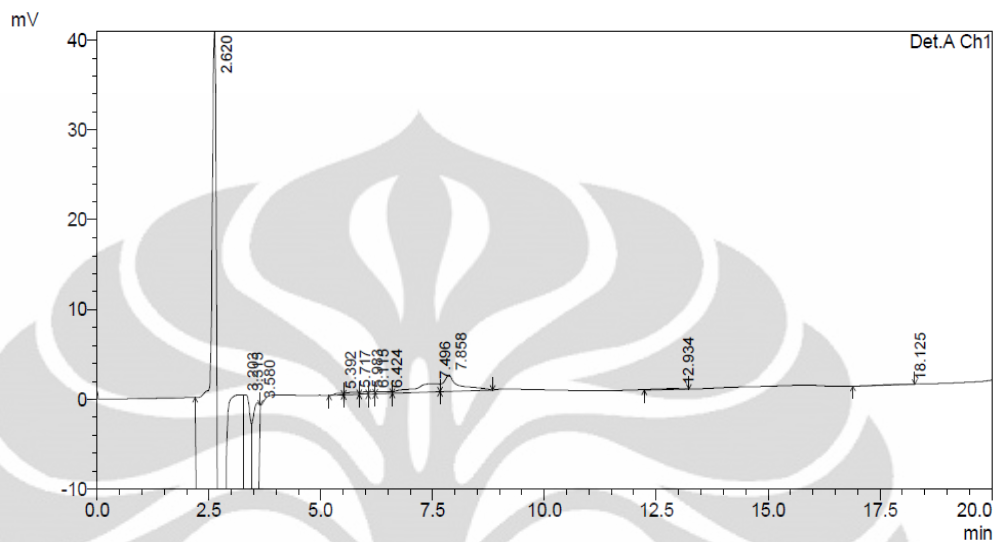
<Results>

PeakTable

Detector A Ch1

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	0.133	91008	15100	0.126	1.265
2	1.702	31929380	248465	44.318	20.810
3	3.312	13769843	340425	19.112	28.512
4	3.593	3524891	304297	4.893	25.486
5	5.250	20101145	110118	27.900	9.223
6	5.383	1160543	94239	1.611	7.893
7	5.575	516933	71409	0.717	5.981
8	6.092	952957	9930	1.323	0.832
Total		72046700	1193984	100.000	100.000

Lampiran 16
Kromatogram Ester Sukrosa Hasil Sintesis



1 Det.A Ch1/

<Results>

PeakTable

Detector A Ch1

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.620	3882762	236744	38.522	48.542
2	3.203	4883531	129262	48.450	26.504
3	3.315	894542	97258	8.875	19.942
4	3.580	311757	20311	3.093	4.165
5	5.392	2734	212	0.027	0.043
6	5.717	4939	266	0.049	0.055
7	5.983	3176	259	0.032	0.053
8	6.115	2181	255	0.022	0.052
9	6.424	4963	236	0.049	0.048
10	7.496	37681	945	0.374	0.194
11	7.858	44829	1832	0.445	0.376
12	12.934	3761	78	0.037	0.016
13	18.125	2581	48	0.026	0.010
Total		10079437	487706	100.000	100.000