



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**STUDI ESTERIFIKASI ANTARA ASAM LEMAK HASIL  
HIDROLISIS MINYAK KELAPA SAWIT DENGAN SUKROSA  
MENGUNAKAN LIPASE *Candida rugosa* EC 3.1.1.3  
TERIMOBILISASI PADA Matriks SILIKA GEL 60**

**SKRIPSI**

**DIAN NUR INSANI**

**0806326613**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**PROGRAM STUDI KIMIA**

**DEPOK**

**JULI 2012**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**STUDI ESTERIFIKASI ANTARA ASAM LEMAK HASIL  
HIDROLISIS MINYAK KELAPA SAWIT DENGAN SUKROSA  
MENGUNAKAN LIPASE *Candida rugosa* EC 3.1.1.3  
TERIMOBILISASI PADA MATRIKS SILIKA GEL 60**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains**

**DIAN NUR INSANI**

**0806326613**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**

**PROGRAM STUDI KIMIA**

**DEPOK**

**JULI 2012**

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Dian Nur Insani

NPM : 0806326613

Tanda Tangan :



Tanggal : 4 Juli 2012






## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Dian Nur Insani  
NPM : 0806326613  
Program Studi : Kimia S1 Reguler  
Judul Skripsi : Studi Esterifikasi Antara Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit dengan Sukrosa Menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 Terimobilisasi pada Matriks Silika Gel 60

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 (  )  
Pembimbing : Dra. Sri Handayani, M.Biomed (  )  
Penguji : Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc (  )  
Penguji : Dr.rer.nat. Budiawan (  )  
Penguji : Dra. Siswati Setiasih, M.Si (  )

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 4 Juli 2012

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT yang tidak pernah putus mencurahkan rahmat, hidayat, dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan tugas akhir ini yang berjudul “Studi Esterifikasi Antara Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit dengan Sukrosa Menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 Terimobilisasi pada Matriks Silika Gel 60” tepat pada waktunya dan sesuai dengan perencanaan. Tugas akhir ini ditujukan sebagai persyaratan terakhir untuk meraih gelar Sarjana Sains di Program S1 Universitas Indonesia.

Penulisan tugas akhir ini sangat dibantu oleh berbagai pihak, baik yang terkait langsung maupun tidak langsung. Oleh sebab itu penulis sangat berterimakasih kepada berbagai pihak yang terkait, yaitu :

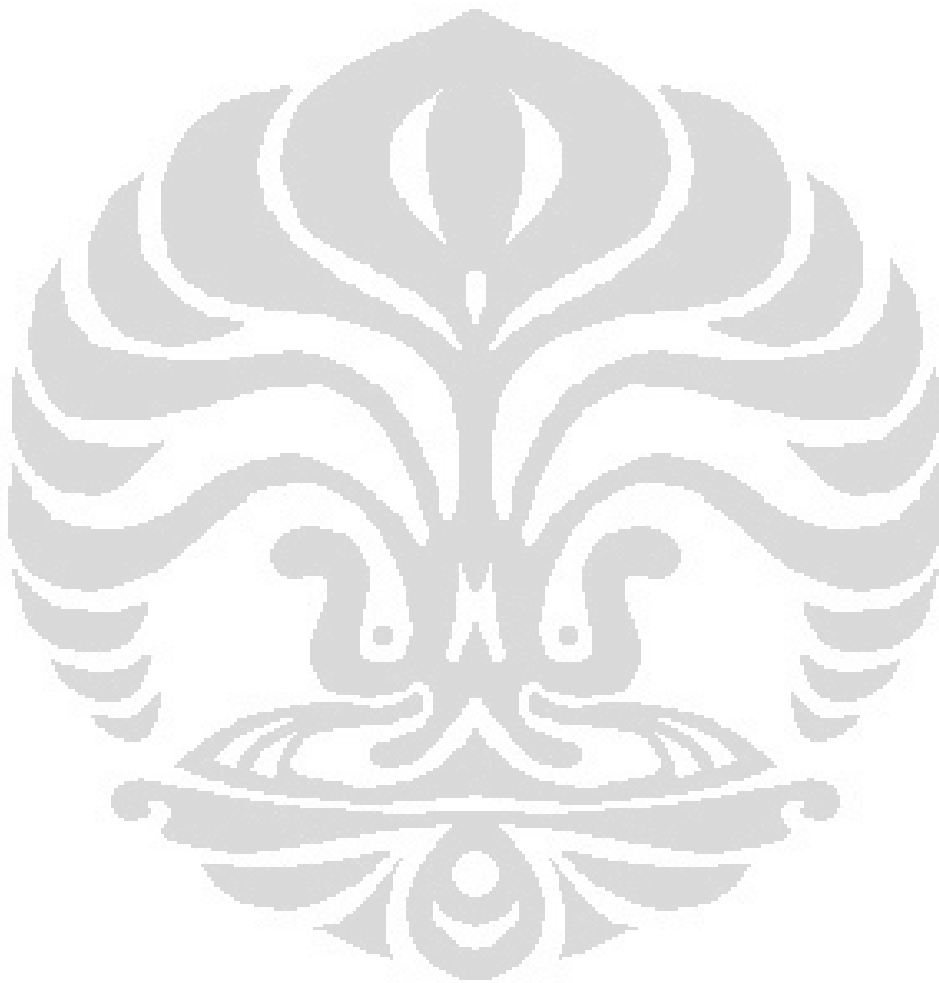
1. Kedua orang tuaku tersayang yang selalu mencurahkan kasih sayang dalam setiap hembusan nafasku, abangku Eko Benhak, dan adikku Faris Hanif yang selalu menjadi penyemangat baruku, tanpa kalian ‘nadi keduku’ aku tidak mungkin sanggup berdiri di tempat aku berdiri sekarang.
2. Bapak Prof. Dr. Sumi Hudyono PWS dan Ibu Dra. Sri Handayani, M.Biomed, selaku dosen pembimbing, yang tidak pernah lelah memberi bimbingan, arahan, dan semangat selama penulisan tugas akhir ini.
3. Bapak Dr. Ridla Bakrie selaku Ketua Departemen Kimia, Universitas Indonesia.
4. Ibu Dra Siswati Setiasih, M.Si yang selalu bersedia meluangkan waktu dan memberikan fikiran dalam setiap diskusi.
5. Ibu Helmi selaku pembimbing akademik yang selalu memberikan saran dalam menghadapi pelajaran di setiap semesternya.

6. Seluruh dosen Departemen Kimia yang telah bersedia memberikan ilmunya yang sangat berharga dan bermanfaat untuk penulis.
7. Mba Emma dan Mba Tri selaku laboran biokimia yang selalu membantu dalam penyediaan bahan sehingga penulis bisa menjalankan penelitian ini dengan tepat waktu.
8. Seluruh keluarga besar yang selalu mendoakan agar kebaikkannya selalu berpihak kepada penulis.
9. Riska Pajariah, sahabat terbaik yang sudah bersedia menghabiskan tujuh semester hidup satu ruangan dengan penulis. Teman tertawa, bertengkar, menagis, begadang, berbagi semangat, berbagi ilmu ekonomi, dan banyak lagi. Semoga silaturahmi kita tidak pernah putus.
10. Syarifah Hasna, teman seperjuangan yang selalu bersedia untuk diajak berdiskusi dan bercerita. Teman berbagi ilmu dan selalu membantu jika penulis kesulitan dalam pelajaran.
11. Dilah, Desti, Qnoy, Bali, selaku teman tertawa dan sedikit menagis selama penelitian. Alhamdulillah kita bisa menyelesaikan penelitian kita bersama-sama dan tepat pada waktunya.
12. Teman-teman seperjuangan di lantai 4, Decil, Prily, Esti, Adi, Putri, Daniel, Bocil, Lilit, Vina, Rasti, Linyo, Boy, Rahmat, Kak Widi, dan Kak Fany.
13. Teman-teman seperjuangan di lantai 3 yang selalu berbagi rasa.
14. Teman-teman Kimia UI angkatan 2008 yang memberikan warna indah selama empat tahun terakhir. Semoga kita tetap saling terhubung dan dengan semangat baru kita kejar mimpi yang menunggu di depan.
15. De Mona, De Atul, Ka Nisa, dan teman-teman kosan lainnya yang selalu menjadi penghibur saat lelah dan penat akan pelajaran.
16. Minho, Key, Jonghyun, dan Eunhyuk yang selalu dapat diandalkan untuk menghibur penulis saat penulis mengalami kejenuhan dalam pembuatan tugas akhir ini.
17. Seluruh karyawan Departemen Kimia yang telah membantu kelancaran penulis dalam melakukan penelitian.
18. Seluruh pihak yang sangat membantu penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini yang tidak dapat disebutkan satu-persatu.

Dalam penulisan tugas akhir ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu saran, kritik, dan arahan sangat diharapkan demi kesempurnaan penulisan yang akan datang. Semoga tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu dimasa yang akan datang.

Penulis

2012



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

---

Sebagai civitas akademis Universitas Indonesia, saya yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Dian Nur Insani  
NPM : 0806326613  
Program Studi : Kimia S1 Reguler  
Departemen : Kimia  
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Jenis Karya : Skripsi

demikian pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Non-eksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

Studi Esterifikasi Antara Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit dengan Sukrosa Menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 Terimobilisasi pada Matriks Silika Gel 60.

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non-eksklusif 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 yang sebenarnya

Dibuat di : Depok

Pada Tanggal : 4 Juli 2012

Yang menyatakan



(Dian Nur Insani)

vii



## ABSTRAK

Nama : Dian Nur Insani

Program Studi : Kimia

Judul Skripsi : Studi Esterifikasi Antara Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit dengan Sukrosa Menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 Terimobilisasi pada Matriks Silika Gel 60

Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis ester sukrosa dari asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa menggunakan lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3. Lipase yang digunakan diimobilisasi secara adsorpsi pada matriks silika gel 60. Proses imobilisasi menggunakan tris buffer HCl 0,1M pH 7, waktu adsorpsi 3 jam, dan variasi silika gel sebanyak 100, 250, 500, 750, dan 1000 mg. Nilai % *loading* ditentukan dengan metode Lowry. Hasil pengujian efisiensi lipase terimobilisasi melalui reaksi hidrolisis minyak sawit dengan nilai efisiensi imobilisasi mencapai 80,59% untuk jumlah silika gel sebanyak 500 mg. Reaksi esterifikasi optimum pada, suhu 37°C, perbandingan rasio sukrosa:asam lemak 1:80, dan waktu reaksi 8 jam. Nilai % konversi asam lemak pada keadaan optimum sebesar 2,90%. Penggunaan *molecular sieve* yang bertujuan meningkatkan % konversi memberikan dampak penurunan % konversi.

Kata Kunci : Ester Sukrosa, Lipase *Candida rugosa*, Imobilisasi Lipase, Adsorpsi, Silika Gel 60.

xvi +71 halaman : 31 gambar; 13 lampiran; 10 tabel

Daftar Pustaka : 42 (1951-2011)

## ABSTRACT

Name : Dian Nur Insani  
Study Program : Chemistry  
Title : Esterification Study between Sucrose and Fatty Acid Obtained from Hydrolyzed Palm Oil Using Immobilized *Candida rugosa* Lipase EC 3.1.1.3 in Silica Gel 60.

The aim of this study is to synthesize sucrose ester from fatty acid obtained from hydrolyzed palm oil and sucrose using *Candida rugosa* lipase EC 3.1.1.3. Lipase was immobilized in matrix silica gel 60. Immobilization was carried out in condition at pH 7 using Tris buffer HCl 0.1M, for 3 hours, and varying the amount of matrix 100, 250, 500, 750, and 1000 mg. % loading was determined by Lowry method. The results of determining the efficiency of immobilized lipase reached 80.59% with a total amount of silica gel 500 mg. The optimum conditions for esterification are at 37°C, ratio sucrose : fatty acid 1:80, and for 8 hours incubation. The highest % conversion in this condition reached 2,90%. The addition of molecular sieve, which aims to increase the % conversion, lead to lowered % conversion.

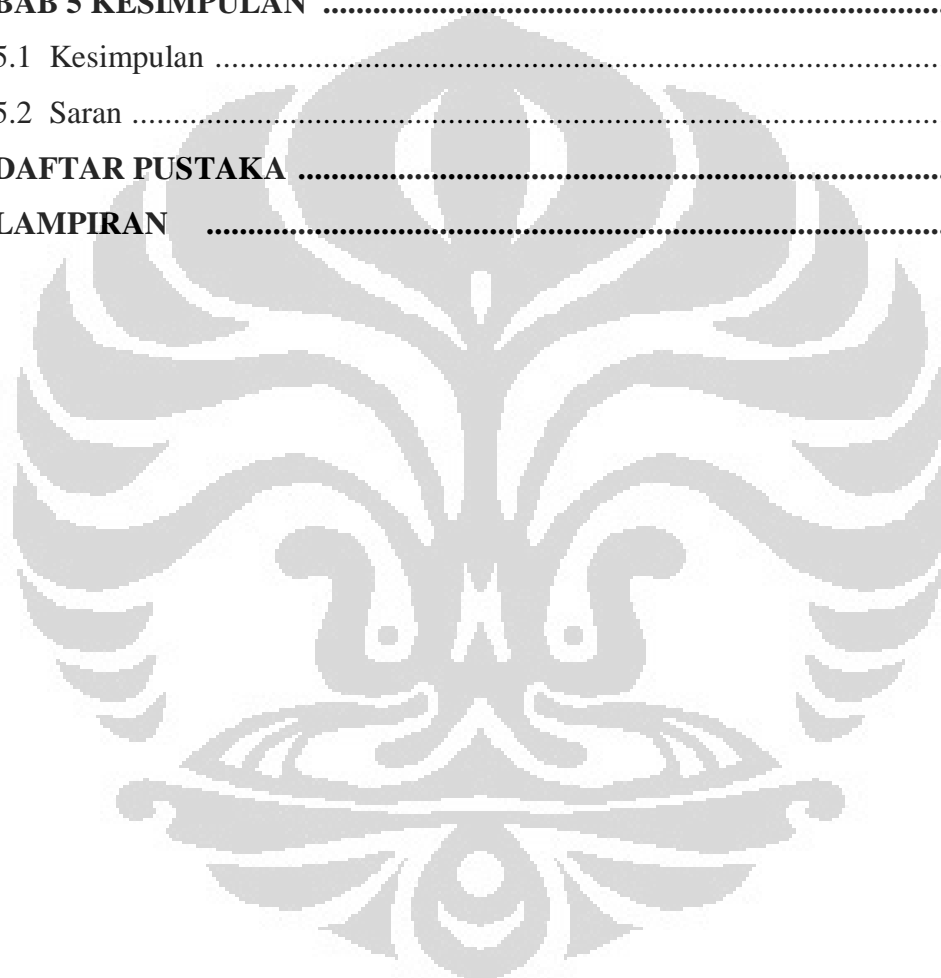
Key Words : Esterification, Lipase *Candida rugosa*, Immobilized Lipase, Adsorbtion, Silica Gel 60.  
xvi+71 pages : 31 Pictures; 13 appendixes; 10 tables  
References : 42 (1951-2011)

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
PERNYATAAN ORISINALITAS .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH .....	vii
ABSTRAK .....	viii
DAFTAR ISI .....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xiii
DAFTAR TABEL .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN .....	xvi
<b>BAB 1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Perumusan Masalah .....	2
1.3 Tujuan Penelitian .....	3
1.4 Hipotesis .....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Tanaman Kelapa Sawit .....	5
2.2 Minyak Kelapa Sawit .....	6
2.2.1 Standar Mutu Minyak Kelapa Sawit .....	6
2.3 Sukrosa .....	7
2.4 Enzim .....	8
2.4.1 Mekanisme Kerja Enzim .....	8
2.4.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Katalitik Enzim .....	9
2.4.2.1 Pengaruh Suhu .....	9
2.4.2.2 Pengaruh pH .....	10
2.4.2.3 Pengaruh Konsentrasi Substrat .....	11
2.4.2.4 Pengaruh Inhibitor .....	11
2.5 Lipase ....	12
2.5.1 Reaksi Hidrolisis .....	13
2.5.2 Reaksi Esterifikasi .....	13

2.6	Lipase <i>Candida rugosa</i> .....	14
2.6.1	Sisi Aktif Lipase <i>Candida rugosa</i> .....	14
2.7	Imobilisasi Enzim .....	15
2.7.1	Teknik Imobilisasi .....	16
2.7.2	<i>Carrier Binding</i> .....	17
2.7.2.1	Adsorpsi secara fisik .....	17
2.7.2.2	Ikatan ionik .....	18
2.7.2.3	Ikatan kovalen .....	18
2.7.3	<i>Cross Linking</i> .....	18
2.7.4	<i>Entrapment</i> .....	19
2.8	Silika Gel .....	20
2.9	Ester Asam Lemak Sukrosa .....	21
2.10	<i>Molecular Sieve</i> .....	22
<b>BAB 3 METODE PENELITIAN .....</b>		<b>23</b>
3.1	Alat dan Bahan .....	23
3.1.1	Alat .....	23
3.1.2	Bahan .....	23
3.2	Prosedur Kerja .....	24
3.2.1	Hidrolisis Trigliserida Minyak Kelapa Sawit.....	24
3.2.2	Identifikasi Asam Lemak dengan Instrumen FT-IR .....	25
3.2.3	Penentuan Aktivitas Spesifik <i>Free Lipase</i> Melalui Reaksi Hidrolisis .....	25
3.2.4	Imobilisasi Lipase pada Matriks Silika Gel 60.....	25
3.2.5	Menentukan % <i>Loading</i> Lipase Terimobilisasi.....	26
3.2.6	Optimasi Imobilisasi dengan Penentuan Aktivitas Spesifik Lipase Terimobilisasi Melalui Reaksi Hidrolisis .....	27
3.2.7	Esterifikasi Asam Lemak Sukrosa dengan Lipase Terimobilisasi .....	27
3.2.8	Analisis Produk Esterifikasi .....	28
<b>BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>34</b>
4.1	Hidrolisis Trigliserida .....	34
4.2	Imobilisasi Enzim Lipase pada Matriks Silika Gel 60 .....	37
4.2.1	Penentuan % <i>Loading</i> .....	39
4.2.2	Penentuan Efisiensi Lipase Terimobilisasi .....	42

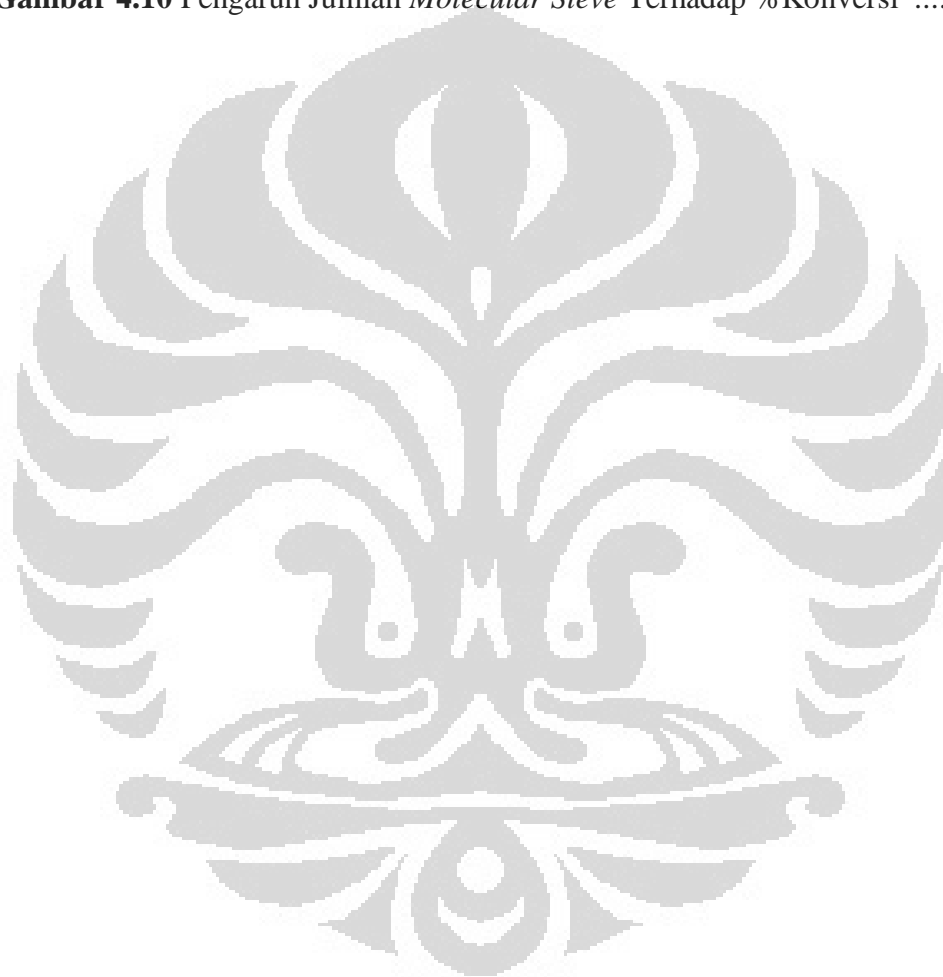
4.2.2.1 Reaksi Hidrolisis Menggunakan <i>Free Lipase</i> .....	43
4.2.2.2 Reaksi Hidrolisis Menggunakan Enzim Lipase terimobilisasi ....	43
4.3 Reaksi Esterifikasi .....	45
4.3.1 Optimasi Suhu pada Reaksi Esterifikasi .....	46
4.3.2 Optimasi Rasio Substrat pada Reaksi Esterifikasi .....	48
4.3.3 Optimasi Waktu Reaksi Esterifikasi .....	50
4.3.4 Optimasi <i>Molecular Sieve</i> .....	51
<b>BAB 5 KESIMPULAN .....</b>	<b>54</b>
5.1 Kesimpulan .....	54
5.2 Saran .....	54
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>55</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>59</b>



## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b>	Tanaman Kelapa Sawit .....	5
<b>Gambar 2.2</b>	Sukrosa dan Penyusunnya .....	7
<b>Gambar 2.3</b>	Ilustrasi Struktur Enzim Agar Menjadi Aktif .....	8
<b>Gambar 2.4</b>	Diagram Energi Reaksi Dengan dan Tanpa Bantuan Enzim .....	9
<b>Gambar 2.5</b>	Pengaruh Suhu Terhadap Sifat Katalitik Enzim .....	10
<b>Gambar 2.6</b>	Pengaruh pH Terhadap Sifat Katalitik Enzim .....	10
<b>Gambar 2.7</b>	Pengaruh Substrat Terhadap Sifat Katalitik Enzim .....	11
<b>Gambar 2.8</b>	Pengaruh Inhibitor Terhadap Reaksi Enzimatis .....	12
<b>Gambar 2.9</b>	Hidrolisis Trigliserida oleh Lipase <i>Candida rugosa</i> .....	14
<b>Gambar 2.10</b>	Struktur Tiga Dimensi <i>Candida rugosa</i> .....	15
<b>Gambar 2.11</b>	Bagan Teknik Imobilisasi yang Sering Digunakan .....	16
<b>Gambar 2.12</b>	Ilustrasi Enzim Terikat pada <i>Carrier</i> dengan Teknik <i>Carrier Binding</i> .....	17
<b>Gambar 2.13</b>	Iilustrasi Enzim Terikat pada Matriks dengan Teknik <i>Cross Linking</i> .....	19
<b>Gambar 2.14</b>	Iilustrasi Enzim Terperangkap pada Matriks dengan Teknik <i>Entrapment</i> .....	19
<b>Gambar 2.15</b>	Penataan $\text{SiO}_4$ Silika Gel .....	20
<b>Gambar 2.16</b>	Poli Ester Sukrosa .....	21
<b>Gambar 3.1</b>	Bagan Singkat Penelitian .....	29
<b>Gambar 3.2</b>	Bagan Hidrolisis Trigliserida Menggunakan Katalis Basa .....	30
<b>Gambar 3.3</b>	Bagan Imobilisasi Lipase pada Matriks Silika Gel 60 .....	31
<b>Gambar 3.4</b>	Bagan Hidrolisis Trigliserida Menggunakan <i>Free Lipase</i> .....	32
<b>Gambar 3.5</b>	Esterifikasi Antara Asam Lemak Dengan Sukrosa Menggunakan Lipase Terimobilisasi .....	33
<b>Gambar 4.1</b>	Reaksi Hidrolisis Trigliserida Menggunakan Katalis Basa .....	36
<b>Gambar 4.2</b>	Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit .....	36
<b>Gambar 4.3</b>	Wujud Asam Lemak Hasil Hidrolisis Pada Suhu Ruang .....	37
<b>Gambar 4.4</b>	Grafik Hubungan Konsentrasi BSA terhadap Absorbansi .....	40

<b>Gambar 4.5</b> Diagram Batang Hubungan Jumlah Silika Gel Terhadap % <i>Loading</i> .....	41
<b>Gambar 4.6</b> Diagram Batang Pengaruh Silika Gel Terhadap Efisiensi Imobilisasi .....	44
<b>Gambar 4.7</b> Grafik Pengaruh Suhu ( $^{\circ}\text{C}$ ) terhadap % Konversi .....	47
<b>Gambar 4.8</b> Grafik Pengaruh Rasio Asam Lemak Terhadap % Konversi .....	49
<b>Gambar 4.9</b> Grafik Pengaruh Waktu Terhadap % Konversi .....	50
<b>Gambar 4.10</b> Pengaruh Jumlah <i>Molecular Sieve</i> Terhadap % Konversi .....	52



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1</b>	Taksonomi Tanaman Kelapa Sawit .....	5
<b>Tabel 2.2</b>	Komposisi Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit .....	6
<b>Tabel 2.3</b>	Standar Mutu Minyak Kelapa Sawit .....	6
<b>Tabel 4.1</b>	Hubungan Konsentrasi BSA Terhadap Absorbansi .....	40
<b>Tabel 4.2</b>	Pengaruh Jumlah Silika Gel Terhadap % <i>Loading</i> .....	41
<b>Tabel 4.3</b>	Pengaruh Jumlah Silka Gel Terhadap Efisiensi Imobilisasi .....	44
<b>Tabel 4.4</b>	Data Pengaruh Suhu Terhadap % Konversi .....	47
<b>Tabel 4.5</b>	Data Pengaruh Rasio Asam Lemak Terhadap % Konversi .....	49
<b>Tabel 4.6</b>	Data Pengaruh Waktu Reaksi Terhadap % Konversi .....	50
<b>Tabel 4.7</b>	Data Pengaruh Jumlah <i>Molecular Sieve</i> Terhadap % Konversi .....	52





## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	: Perhitungan BM Hidrolisat Asam Lemak Minyak Sawit .....	59
Lampiran 2	: Komposisi Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit .....	60
Lampiran 3	: Perhitungan Penentuan Rasio Bahan .....	61
Lampiran 4	: Perhitungan Hasil Reaksi. ....	62
Lampiran 5	: Perhitungan Imobilisasi Lipase .....	63
Lampiran 6	: Absorbansi Sampel .....	64
Lampiran 7	: Data Titrasi Asam Lemak untuk Reaksi Hidrolisis Lipase Terimobilisasi .....	65
Lampiran 8	: Data Titrasi Asam Lemak Sisa untuk Variasi Suhu .....	66
Lampiran 9	: Data Titrasi Asam Lemak Sisa untuk Variasi Rasio Asam Lemak .....	67
Lampiran 10	: Data Titrasi Asam Lemak Sisa untuk Variasi Waktu .....	68
Lampiran 11	: Data Titrasi Asam Lemak sisa untuk Variasi <i>Molecular Sieve</i> .....	69
Lampiran 12	: Data Spesifikasi Lipase <i>Candida rugosa</i> .....	70
Lampiran 13	: Spektrum FT-IR Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit .....	71

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Ester asam lemak dengan karbohidrat sederhana memiliki struktur mirip dengan lemak alami, tetapi tidak tercerna dan terabsorbsikan tubuh. Hal ini memberi dampak positif karena tubuh tidak perlu mengalami timbunan lemak sehingga tubuh tidak mudah terserang penyakit. Penggunaan senyawa ini pada makanan bisa sebagai *fat replacer* jika derajat substitusinya tinggi dan sebagai *emulsifier* jika derajat substitusinya rendah (Sakidja, 1998).

Sebagian besar produksi ester asam lemak karbohidrat dilakukan secara kimiawi. Reaksi esterifikasi secara kimiawi umumnya memerlukan kondisi reaksi yang cukup ekstrim. Alternatif untuk produksi ester asam lemak karbohidrat ialah melalui reaksi enzimatis yaitu menggunakan lipase.

Lipase merupakan enzim kelas hidrolase yang juga dapat berperan sebagai biokatalis untuk reaksi esterifikasi. Lipase akan mengkatalis reaksi hidrolisis jika berada pada sistem yang mengandung banyak air dan mengkatalis reaksi kebalikan hidrolisis, yaitu esterifikasi, jika berada pada sistem rendah air seperti pelarut organik. Organisme yang paling sering digunakan sebagai sumber penghasil lipase adalah *Candida dan Rhizopus* (Pandey et al., 1999).

Lipase dalam bentuk terlarut relatif tidak stabil terhadap perubahan lingkungan sekitar seperti perubahan pH dan suhu serta tidak dapat digunakan secara berulang (*reuseable*), karena terlarut dalam media reaksi. Di sisi lain, harga lipase komersial biasanya sangat tinggi karena proses produksinya yang sulit dan memakan waktu. Hal ini menyebabkan biaya reaksi enzimatis menjadi meningkat.

Berbagai penelitian telah dilakukan mengenai pemakaian berulang enzim dengan cara mengikat enzim pada suatu *support/matriks*. Teknik ini disebut imobilisasi enzim. Dalam mengimobilisasi enzim perlu dilakukan pemilihan

*support*/matriks dan cara/teknik imobilisasi yang tepat agar enzim yang terimobilisasi masih memiliki aktivitas katalitik yang baik. Teknik imobilisasi secara adsorpsi adalah teknik yang paling banyak dikembangkan karena teknik ini terbilang mudah dan ekonomis, sehingga cocok digunakan untuk skala besar (Tischer & Wedekind, 1999). Imobilisasi lipase *Candida rugosa* secara adsorpsi menggunakan berbagai matriks, salah satunya silika gel, telah banyak dilakukan antara lain oleh Minovska et al. (2005) dan Wulan et al. (2007).

Penelitian ini merupakan pengembangan dari penelitian sebelumnya yang dilakukan Novianingsih (2011). Novianingsih melakukan penelitian mengenai reaksi esterifikasi secara enzimatik menggunakan lipase yang berasal dari *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa. Pada penelitian ini lipase yang digunakan diimobilisasi dalam matriks silika gel 60. Silika gel digunakan sebagai pendukung karena memiliki kemampuan adsorpsi permukaan dan intramolekul yang baik, memiliki ruang pengunci (*interlocking cavities*) yang memberikan media dengan luas permukaan yang besar (Wulan et al., 2007). Selain itu, dilakukan penambahan penggunaan *molecular sieve* sebagai penarik air. Hal ini disebabkan lipase digunakan sebagai katalis pada reaksi esterifikasi akan menghasilkan hasil samping berupa air, yang menyebabkan berkurangnya produk esterifikasi karena enzim lipase akan berubah fungsi menjadi katalis hidrolisis.

## 1.2 Perumusan Masalah

Penggunaan lipase bebas sebagai katalis pada reaksi esterifikasi sangat tidak ekonomis. Hal ini disebabkan, mahalnya harga lipase komersial dan pemakaiannya yang hanya bisa digunakan sekali. Selain itu, lipase bebas juga relatif tidak stabil pada perubahan kondisi di sekitarnya seperti perubahan pH dan suhu. Oleh sebab itu, dibutuhkan suatu cara agar lipase yang digunakan lebih tahan lama dan lebih stabil, sehingga nantinya dapat digunakan berulang (*reusable*).

Imobilisasi lipase atau *recovery* lipase pada matriks silika gel 60 adalah salah satu upaya untuk dapat mencegah lipase terlarut pada medianya, sehingga

**Universitas Indonesia**

pada akhir reaksi lipase terimobilisasi dapat dipisahkan dan digunakan kembali. Perlakuan ini dapat memberi dampak negatif, yaitu lipase mengalami penurunan atau kehilangan sifat katalitiknya. Oleh sebab itu, dibutuhkan teknik dan keadaan yang sesuai dalam proses imobilisasi.

Lipase terimobilisasi pada matriks silika gel selanjutnya digunakan untuk reaksi esterifikasi. Untuk menekan jumlah air yang ada pada sistem, digunakan pelarut organik. Akan tetapi, pada esterifikasi akan dihasilkan air sebagai hasil samping. Jika terdapat banyak air, maka lipase akan cenderung mengkatalis reaksi kebalikan esterifikasi yaitu hidrolisis. Oleh sebab itu, diperlukan perlakuan tambahan untuk menekan jumlah air yang terbentuk pada sistem.

*Molecular sieve* tipe 3Å bersifat spesifik menyerap air, karena kesesuaian porinya dengan besar molekul air. Namun, penggunaan *molecular sieve* dapat memberi dampak negatif, yaitu sistem menjadi *crowded*, sehingga kemungkinan kontak enzim dengan substrat menurun. Hal ini mengakibatkan penurunan jumlah produk. Oleh sebab itu, dibutuhkan optimasi penggunaan *molecular sieve* pada sistem reaksi.

### 1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah yang telah dijabarkan, penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk :

1. Melakukan imobilisasi lipase *Candida rugosa* pada matriks silika gel 60 dengan teknik adsorpsi.
2. Mendapatkan kondisi optimum imobilisasi lipase *Candida rugosa* pada matriks silika gel 60 melalui variasi jumlah matriks yang digunakan, yang kemudian diuji sifat katalitiknya melalui reaksi hidrolisis minyak kelapa sawit.
3. Menggunakan lipase *Candida rugosa* terimobilisasi pada matriks silika gel 60 untuk reaksi esterifikasi antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa.

4. Mendapatkan kondisi optimum dari reaksi esterifikasi antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa menggunakan enzim lipase *Candida rugosa* yang terimobilisasi pada matriks silika gel 60.
5. Meningkatkan produk esterifikasi dengan menggunakan *molecular sieve* untuk menarik air dari hasil samping esterifikasi, sehingga mencegah lipase menghidrolisis dan menggeser kesetimbangan ke arah produk.

#### 1.4 Hipotesis

1. Lipase *Candida rugosa* dapat diimobilisasi pada silika gel 60 dengan teknik adsorpsi dan tetap memiliki aktivitas katalitik.
2. Lipase *Candida rugosa* yang terimobilisasi pada silika gel 60 dapat digunakan sebagai katalis dalam reaksi esterifikasi antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa.
3. *Molecular sieve* dapat menarik air sehingga mencegah terjadinya reaksi hidrolisis yang akan mendorong kesetimbangan agar bergeser ke arah produk esterifikasi.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tanaman Kelapa Sawit

Tanaman kelapa sawit (*Elaeis guineensis* Jacq) (Gambar 2.1 & Tabel 2.1) tumbuh dengan baik di daerah tropis (Maksi, 2007). Bagian kelapa sawit yang paling utama untuk diolah adalah buahnya. Bagian daging buah menghasilkan minyak kelapa sawit mentah yang diolah menjadi bahan baku minyak goreng dan turunannya. Saat buah mulai masak, kandungan minyak dalam daging buah meningkat cepat karena adanya proses konversi karbohidrat menjadi lemak dalam buah. Pemanenan yang dilakukan sebelum proses pembentukan minyak selesai mengakibatkan hasil minyak kurang dari semestinya. Panen yang dilakukan terlambat menyebabkan kandungan minyak berubah menjadi asam lemak bebas (*free fatty acid*). Hal ini menyebabkan rendahnya mutu minyak. Selain itu buah yang terlalu masak juga lebih mudah terserang suatu hama atau penyakit buah (Pusat Data dan Informasi, Departemen Perindustrian, 2007).

Tabel 2.1 Taksonomi Tanaman Kelapa Sawit



Gambar 2.1 Tanaman Kelapa Sawit

Kingdom	Tumbuhan
Divisi	Magnoliophyta
Kelas	Liliopida
Ordo	Arecales
Famili	Arecaceae
Genus	<i>Elaeis</i>
Spesies	<i>E. guineensis</i> Jacq

[Sumber: Departemen Perindustrian]

## 2.2 Minyak Kelapa Sawit

Minyak kelapa sawit merupakan senyawa yang tidak larut air. Komponen utama penyusunnya adalah trigliserida yang merupakan ester gliserol dan tiga molekul asam lemak. Kandungan asam lemak minyak sawit mencapai 50% -80%, dengan komponen tertinggi berupa asam lemak berantai panjang yaitu oleat dan palmitat. Komposisi asam lemak minyak sawit terangkum pada Tabel 2.2.

**Tabel 2.2** Komposisi Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit

Asam Lemak	Rumus	% Terhadap Asam Lemak Total		
		Kisaran*	Rata-rata*	Persentase**
Asam Minisat	C14:0	0,9 0-1,5	1,1	1
Asam Palmitat	C16:0	41,8 – 45,8	44,0	44,3
Asam Stearat	C18:0	4,2 – 5,1	4,5	4,6
Asam Oleat	C18:1	37,3 – 40,8	39,2	38,7
Asam Linoleat	C18:2	9,1 – 11,0	10,1	10,5
Asam Laurat	C12:0	0,1-1,0	0,2	0,9
Asam Palmitoleat	C16:1	0,1 – 0,3	0,1	
Asam Linolenat	C18:3	0,0 – 0,6	0,4	
Asam Ara Chidat	C20:0	0,2 – 0,7	0,4	

[Sumber: Hariyadi, 2010\* & Departemen Perindustrian, 2007\*\*]

### 2.2.1 Standar Mutu Minyak Kelapa Sawit

Standar mutu Minyak Kelapa Sawit yang digunakan di Indonesia terlihat pada Tabel 2.3, dengan kode standar mutu SNI.01-2901-2006.

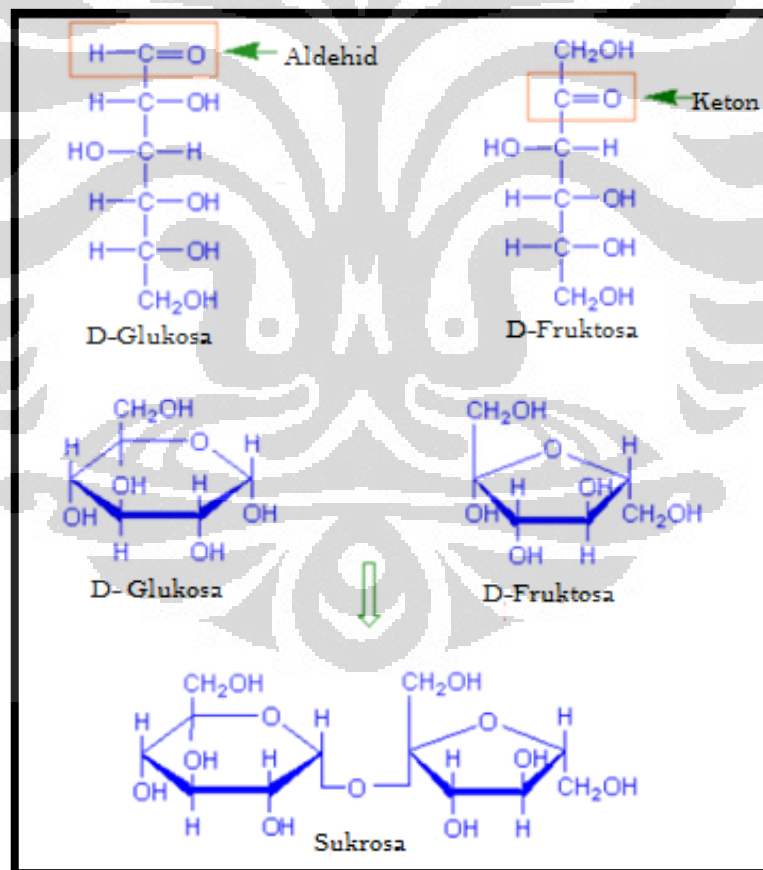
**Tabel 2.3** Standar mutu Minyak Kelapa Sawit

Kriteria	Satuan	Persyaratan
Warna	-	Jingga kemerahan
Kadar air dan kotoran	% fraksi massa	0,5 maksimal
Asam lemak bebas (sebagai asam palmitat)	% fraksi massa	0,5 maksimal
Bilangan yodium	g yodium / 100 g	50-55

[Sumber: <http://www.scribd.com/doc/31127027/SNI-Minyak-Kelapa-Sawit-Mentah-CPO.html>]

### 2.3 Sukrosa

Sukrosa merupakan suatu disakarida yang dibentuk dari monomernya, yang berupa unit glukosa dan fruktosa, dengan rumus molekul  $C_{12}H_{22}O_{11}$  (Gambar 2.2). Unit glukosa dan fruktosa diikat oleh jembatan eter berupa ikatan glikosida. Ikatan glikosida adalah ikatan kovalen yang terbentuk antara dua monosakarida melalui reaksi kondensasi. Ikatan glikosida mudah terhidrolisis oleh asam, namun tahan terhadap basa. Ikatan ini terbentuk antara gugus hidroksil dari atom C anomer satu yang juga disebut karbon anomerik dengan gugus hidroksil dan atom C pada molekul gula yang lain. Ikatan glikosida biasanya terjadi antara atom C1 dengan atom C4 dengan melepaskan satu mol air, sehingga apabila sukrosa terhidrolisis akan dihasilkan glukosa, fruktosa, dan satu mol air (Nelson & Cox, 2004).



[Sumber:<http://www.mn.uio.no/bio/tjenester/kunnskap/plantefys/leksikon/d/disakkarid.html>]

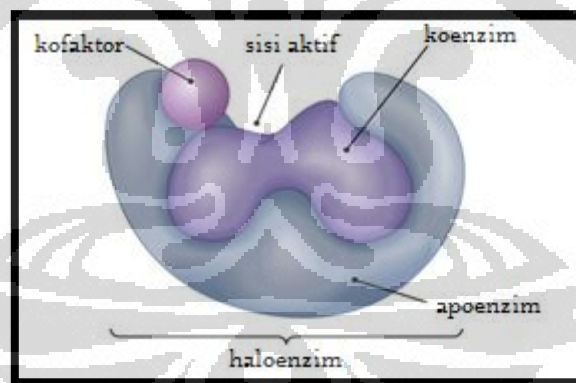
**Gambar 2.2** Sukrosa dan Penyusunnya



## 2.4 Enzim

Enzim merupakan protein (kecuali ribozym) yang berfungsi sebagai biokatalisator yaitu katalisator untuk reaksi-reaksi kimia di dalam sistem biologi. Semua reaksi biokimia memerlukan enzim untuk menjalankan reaksinya. Berbeda dengan katalisator nonprotein ( $H^+$ ,  $OH^-$ , atau ion-ion logam), setiap enzim mengkatalisis sejumlah kecil reaksi, seringkali hanya satu sehingga dikatakan enzim adalah katalisator yang spesifik (Nelson & Cox, 2004).

Sebagian besar enzim memerlukan komponen non-protein, yang biasa disebut kofaktor, agar dapat melakukan aktivitas katalitiknya. Kofaktor dapat berupa zat anorganik, contohnya ion logam, ataupun zat organik yang disebut koenzim. Kofaktor yang terikat kuat tidak dapat dipisahkan dari enzim tanpa merusak struktur enzim disebut gugus prostetik. Enzim yang memerlukan kofaktor namun tidak terdapat kofaktor yang terikat dengannya disebut sebagai *apoenzim* ataupun *apoprotein*. *Apoenzim* beserta dengan kofaktornya disebut *holoenzim* atau bentuk aktif (Gambar 2.3) (Nelson & Cox, 2004).



[Sumber: <http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%205/enzymes.html>]

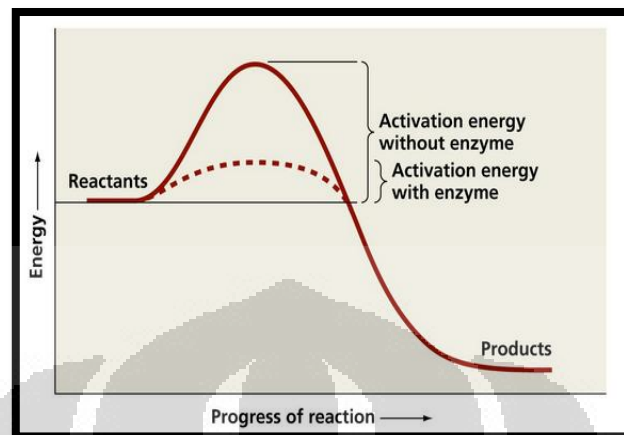
**Gambar 2.3** Ilustrasi Struktur Enzim Agar Menjadi Aktif

### 2.4.1 Mekanisme Kerja Enzim

Enzim mempercepat reaksi kimia dengan menurunkan energi aktivasi suatu reaksi. Substrat akan bergabung sementara dengan enzim pada sisi aktif enzim membentuk kompleks substrat-enzim dan mencapai keadaan transisi

**Universitas Indonesia**

dengan melepas energi aktivasi yang lebih rendah (Nelson & Cox, 2004). Ilustrasi energi aktivasi dengan dan tanpa enzim terlihat pada Gambar 2.4.



[Sumber: <http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%205/enzymes.html>]

**Gambar 2.4** Diagram Energi Reaksi Dengan dan Tanpa Bantuan Enzim

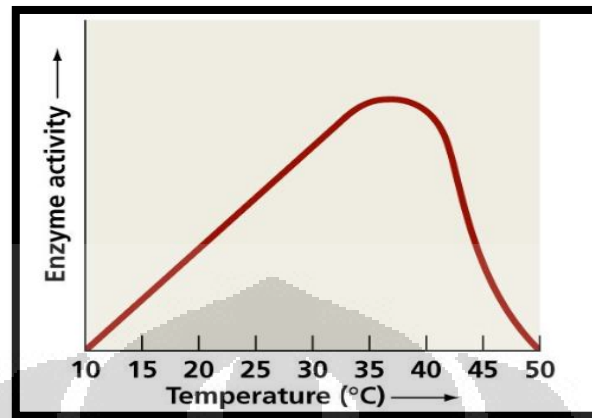
## 2.4.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Katalitik Enzim

Setiap enzim memiliki keadaan spesifik untuk mencapai kemampuan maksimum katalitiknya. Faktor-faktor yang mempengaruhi sifat katalitik enzim adalah suhu, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, inhibitor, dan pelarut (Nelson & Cox, 2004).

### 2.4.2.1 Pengaruh Suhu

Reaksi enzimatik akan meningkat sebanding dengan peningkatan suhu. Peningkatan suhu menyebabkan peningkatan energi kinetik molekul sehingga akan meningkatkan kemungkinan tumbukan antara substrat-enzim yang menyebabkan laju reaksi meningkat. Akan tetapi terdapat batasan suhu tertentu dan nilai optimal biasanya berkisar seperti suhu tubuh manusia. Apabila suhu sistem terus meningkat melebihi optimum, maka aktivitas enzim akan terhambat dan kehilangan sifat katalitiknya (Gambar 2.5). Hal ini disebabkan enzim

merupakan protein yang mempunyai sifat termolabil sehingga temperatur tinggi menyebabkan kerusakan ikatan intra dan intermolekul (Pelezar & Chan, 1981).

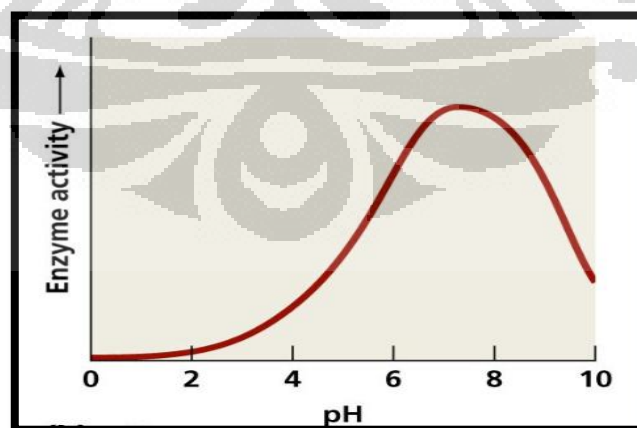


[Sumber: <http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%205/enzymes.html>]

**Gambar 2.5** Pengaruh Suhu Terhadap Sifat Katalitik Enzim

#### 2.4.2.2 Pengaruh pH

Setiap enzim memiliki *range* pH yang spesifik. pH yang terlalu rendah atau terlalu tinggi mengakibatkan rusaknya ikatan intra dan intermolekul, perubahan bentuk enzim, dan mengakibatkan aktivitas enzim akan terhambat atau enzim kehilangan sifat katalitiknya (Pelezar & Chan, 1981) (Gambar 2.6).

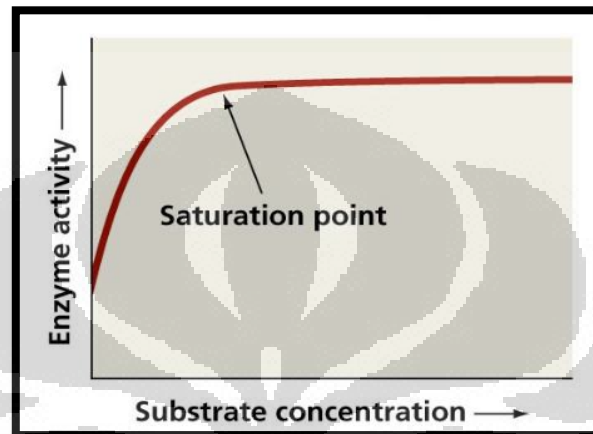


[Sumber: <http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%205/enzymes.html>]

**Gambar 2.6** Pengaruh pH Terhadap Sifat Katalitik Enzim

### 2.4.2.3 Pengaruh Konsentrasi Substrat

Aktivitas enzim akan meningkat sebanding dengan peningkatan substrat. Pada batas tertentu, aktivitas enzim terhadap substratnya mencapai maksimum sehingga penambahan substrat tidak lagi menambah aktivitas enzim (Gambar 2.7). Pada saat ini laju reaksi berjalan konstan (Nelson & Cox, 2004).



[Sumber: <http://academic.pgcc.edu/~kroberts/Lecture/Chapter%205/enzymes.html>]

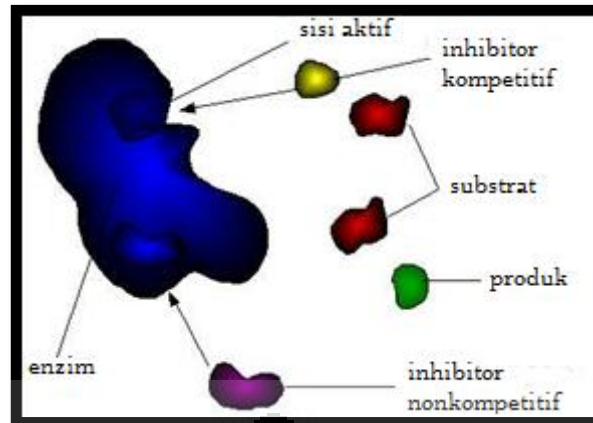
**Gambar 2.7** Pengaruh Substrat Terhadap Sifat Katalitik Enzim

### 2.4.2.4 Pengaruh Inhibitor

Kerja dari inhibitor adalah menghambat reaksi enzimatik antara enzim dengan substratnya. Inhibitor dibagi menjadi dua, yaitu *reversible* dan *irreversible*. Inhibitor *reversible* dapat dipisahkan dari enzim dengan cara dialisis tanpa mengubah sifat katalitik enzim, sedangkan inhibitor *irreversible* tidak dapat dipisahkan kembali sehingga enzim mengalami kerusakan permanen.

Berdasarkan cara kerjanya, inhibitor reversible terbagi menjadi tiga yaitu inhibitor kompetitif, nonkompetitif, dan inkompetitif (Gambar 2.8). Inhibitor kompetitif biasanya memiliki struktur yang mirip dengan substrat. Inhibitor ini akan bersaing dengan substrat untuk menempati sisi aktif enzim. Inhibitor nonkompetitif adalah inhibitor yang berikatan dengan sisi lain selain sisi aktif enzim. Inhibitor inkompetitif adalah inhibitor yang berikatan dengan kompleks enzim-substrat (Nelson & Cox, 2004).

Universitas Indonesia



[Sumber: [http://filebox.vt.edu/users/chagedor/biol\\_4684/Methods/EnzymaticAssays.html](http://filebox.vt.edu/users/chagedor/biol_4684/Methods/EnzymaticAssays.html)]

**Gambar 2.8** Pengaruh Inhibitor Terhadap Reaksi Enzimatis

## 2.5 Lipase

Lipase (EC 3.1.1.3; triasil gliserol hidrolase) merupakan enzim kelas hidrolase yang berperan dalam reaksi hidrolisis ikatan ester dalam substrat lipid yang tidak larut air, yaitu triasilgliserol, menghasilkan asam lemak dan gliserol pada medium atau pelarut air. Lipase merupakan protein yang bersifat polar, sedangkan substratnya triasilgliserol, berupa senyawa nonpolar sehingga lipase bekerja pada bagian antar muka (*interface*) fasa air dan fasa minyak (ÖZTÜRK, 2001) (Mala & Takeuchi, 2008).

Lipase digunakan sebagai biokatalis untuk berbagai reaksi. Tidak seperti enzim hidrofilik lainnya, lipase stabil dalam pelarut organik dan dapat bekerja pada *range* substrat yang luas yang berbeda variasi dan komformasi stereo kimianya. Kestabilan protein *backbones* yang diasumsikan sebagai variasi konformasi, memberikan banyak keuntungan untuk dapat menggunakan lipase pada berbagai reaksi seperti hidrolisis, esterifikasi, aminolisis, dan transesterifikasi (acidolisis, interesterifikasi, alkoholisis). Keseimbangan reaksi hidrolisis dan kebalikan (sintesis) dikontrol dengan aktivitas air yang ada pada sistem (ÖZTÜRK, 2001) (Mala & Takeuchi, 2008).

### 2.5.1 Reaksi Hidrolisis

Lipase mengkatalis reaksi hidrolisis dengan memutuskan ikatan ester dari triasilgliserol yang direaksikan dengan air. Reaksi hidrolisis menggunakan lipase merupakan metode yang cepat dan efisien, karena asam lemak yang dihasilkan berupa asam lemak bebas, bukan sebagai garam asam lemak. Persen *yield* tertinggi yang pernah dihasilkan sebesar 97% (Akoh & Min, 2002).

Selain menggunakan lipase, hidrolisis triasilgliserol dapat dilakukan menggunakan katalis asam maupun basa. Hasil reaksi yang didapat berupa garam asam lemak. Jika dibandingkan dengan lipase, maka produk asam lemak yang didapat menggunakan lipase lebih murni dengan hasil samping yang lebih sedikit.

### 2.5.2. Reaksi Esterifikasi

Secara sederhana, reaksi esterifikasi merupakan suatu reaksi kimia, berupa pergantian atau pertukaran gugus hidroksil suatu senyawa karboksilat dengan gugus alkil yang bersifat nukleofil dari reaktan. Senyawa nukleofil tersebut umumnya merupakan suatu senyawa yang memiliki gugus hidroksil, seperti alkohol.

Sebagian besar lipase mampu mengkatalisis reaksi esterifikasi. Reaksi ini dapat terjadi pada kondisi jumlah pelarut organik dominan dalam sistem reaksi (Adamopoulos, 2006). Reaksi esterifikasi juga bisa dilakukan menggunakan katalis asam maupun basa, namun reaksi esterifikasi menggunakan lipase memberikan keuntungan tersendiri, yaitu kondisi reaksi yang tidak ekstrem, sedikitnya hasil samping reaksi, dan spesifik (Villeneuve et al., 2000).

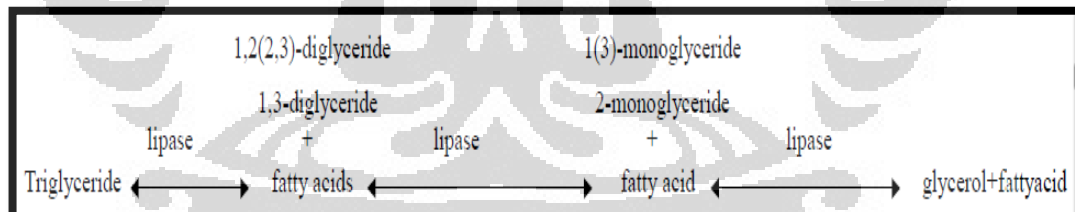
Aktivitas lipase sangat dipengaruhi oleh hidrofobisitas pelarut. Untuk Penentuan hidrofobisitas pelarut digunakan nilai log P. Nilai P menyatakan perbandingan antara koefisien komponen yang larut dalam n-oktanol terhadap konsentrasi komponen yang larut dalam air (Reslow et al., 1987). Secara umum aktivitas katalis suatu biokatalis tinggi pada pelarut dengan nilai log P > 4, sedang

pada pelarut dengan nilai log P 2-4, dan rendah pada pelarut nilai log P < 2. Rendahnya aktivitas biokatalis pada pelarut log P < 2 disebabkan pelarut akan menarik air esensial, sehingga menurunkan sifat katalitik enzim (Laane et al., 1987).

## 2.6 Lipase *Candida rugosa*

Lipase *Candida rugosa* memiliki massa molekul sekitar 60.000 Da dengan 534 residu asam amino (Cygler & Schrag, 1999). Enzim ini bekerja optimum pada kisaran pH 6,5-7,5 dengan pH isoelektriknya sebesar 4,5 (Villeneuve et al., 2000).. Sifat katalitiknya optimum pada rentang suhu 30-35 °C (Fadiloğlu & Soylemez, 1997).

Lipase *Candida rugosa* termasuk dalam kelompok lipase yang menghidrolisis TAG secara acak terhadap posisi asam lemak trigliserida menjadi asam lemak (Gambar 2.9). Urutan kespesifikan lipase *Candida rugosa* untuk asam lemak dari yang paling spesifik adalah oleat-laurat-palmitat-miristat-stearat (ÖZTÜRK, 2001).



[Sumber: ÖZTÜRK, 2001]

**Gambar 2.9** Hidrolisis Trigliserida oleh Lipase *Candida rugosa*

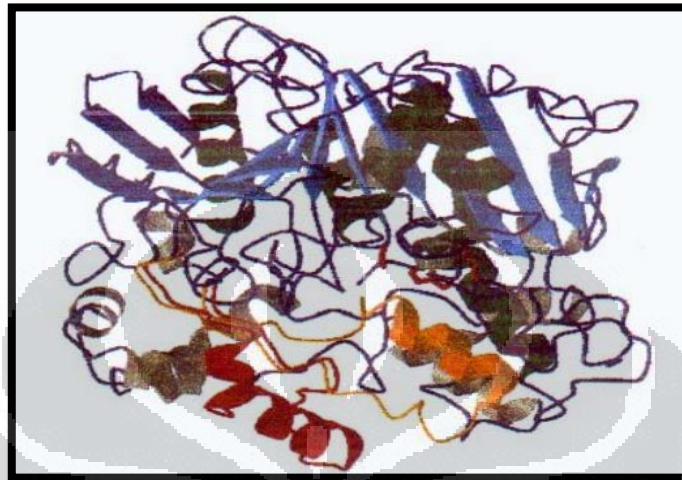
### 2.6.1 Sisi Aktif Lipase *Candida rugosa*

Lipase *Candida rugosa* memiliki sisi katalitik *triad* (Serin 209, Glutamat 341, Histidin449) dan penutup yang menghalangi sisi katalitik. Sisi katalitik dari enzim lipase *Candida rugosa* dihalangi oleh struktur heliks yang terdiri atas

Universitas Indonesia



berbagai residu asam amino. Struktur penghalang tersebut bersifat *rigid* karena adanya ikatan disulfida dan interaksi ionik antara residu (Mala & Takeuchi, 2008) (Cygler & Schrag, 1999). Struktur 3D lipase *Candida rugosa* terlihat pada Gambar 2.10.



Heliks Kuning Saat Konformasi Terbuka, Heliks merah Saat Konformasi Tertutup. Residu yang Dibentuk dari Tiga Rantainya Katalik Ditampilkan pada Warna Merah  
[Sumber: ÖZTÜRK, 2001]

**Gambar 2.10** Struktur Tiga Dimensi Lipase *Candida rugosa*

## 2.7 Imobilisasi Enzim

Enzim yang terimobilisasi didefinisikan sebagai enzim yang secara fisik terikat atau terlokasi pada sebuah lingkup mikro (*microenvironment*) yang menyimpan katalis dan dapat digunakan berulang-ulang. Imobilisasi bertujuan agar penggunaan enzim yang lebih ekonomis karena enzim yang terimobilisasi dapat digunakan kembali serta dapat digunakan untuk memfasilitasi proses kontinyu dan dapat selalu dikontrol. Keuntungan lain dari imobilisasi enzim:

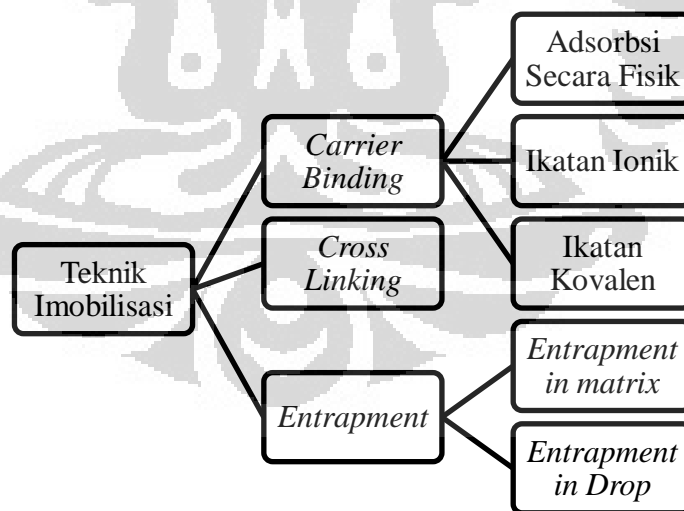
- Produk lebih mudah untuk dipisahkan
- Meningkatkan kestabilan enzim
- Meningkatkan kemurnian produk dan meningkatkan yield
- Enzim lebih tahan terhadap perubahan pH dan suhu



Faktor yang sangat diperhatikan dalam persiapan enzim yang terimobilisasi adalah pemilihan *carrier* dan teknik imobilisasinya, karena sangat mempengaruhi performa enzim yang terimobilisasi tersebut. Persyaratan untuk menjadi *carrier* dalam imobilisasi enzim adalah memiliki area permukaan yang besar, permiabel, tidak larut, stabil dan tahan terhadap suhu, *rigid*, memiliki bentuk dan ukuran partikel yang sesuai, tahan terhadap mikroba, dan dapat di regenerasi (ÖZTÜRK, 2001).

### 2.7.1 Teknik Imobilisasi

Teknik imobilisasi ditentukan berdasarkan proses spesifikasi katalisnya yang meliputi parameter aktifitas enzim secara keseluruhan, keefektifan penggunaan enzim, penonaktifan dan regenerasi, harga penggunaan imobilisasi, toksisitas dari bahan imobilisasi, dan properti dari enzim yang terimobilisasi. Kesalahan dalam pemilihan teknik imobilisasi dapat menyebabkan rendahnya aktivitas dan tidak stabilnya enzim terimobilisasi. Beberapa teknik imobilisasi yang sering digunakan terangkum pada Gambar 2.11

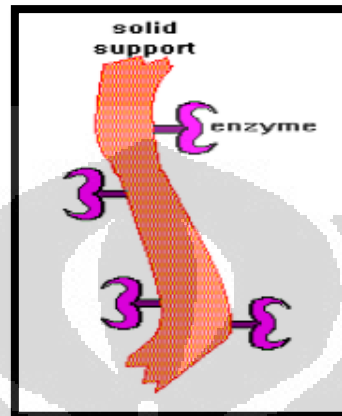


[Sumber: ÖZTÜRK, 2001]

**Gambar 2.11** Bagan Teknik Imobilisasi yang Sering Digunakan

### 2.7.2 Carrier Binding

Pada metode ini, sejumlah enzim terikat pada *carrier* dan aktifitasnya setelah imobilisasi tergantung dari sifat *carrier*-nya. Gambar 2.12 memperlihatkan enzim yang terikat pada matriks dan menempel pada bagian luar matriksnya.



[Sumber : <http://www.eng.rpi.edu/dept/chem-eng/Biotech-Environ/IMMOB/immob.htm>]

**Gambar 2.12** Ilustrasi Enzim terikat pada *carrier* dengan Teknik *Carrier Binding*

#### 2.7.2.1 Adsorpsi secara fisik

Model ikatan ini berdasarkan adsorpsi protein enzim pada permukaan *carrier* yang tidak larut air, sehingga tidak atau hanya sedikit mengubah konformasi enzim sehingga tidak merusak sisi aktif enzim. Enzim yang terimobilisasi dengan teknik ini juga meminimalkan ketahanannya terhadap reaksi campuran, memungkinkan ketahanan enzim yang lebih baik sehingga dimungkinkan penggunaan ulang (Oliveira et al., 2000).

Teknik ini merupakan teknik yang paling banyak digunakan karena mudah dan ekonomis sehingga cocok untuk penggunaan skala besar. Kekurangan metode ini adalah ikatan enzim dengan *carrier* berupa ikatan lemah. Hal ini memungkinkan terjadinya kebocoran saat reaksi, karena enzim terimobilisasi bersifat *leaching*. Efisiensi metode ini bergantung pada beberapa parameter

seperti ukuran protein yang diserap, sifat asli permukaan *carrier* (ukuran, kemampuan menyerap), dan konsentrasi enzim.

### 2.7.2.2 Ikatan ionik

Model ikatan ini bergantung pada ikatan ionik antara protein enzim dengan *carrier* tidak larut dalam air yang mengandung residu penukar ion. Polisakarida dan polimer sintetik yang memiliki *center* penukar ion biasanya digunakan untuk *carrier* pada reaksi ini. Metode ini sedikit mengubah konformasi dan sisi aktif enzim.

Perbedaan utama model ikatan ini dengan absorpsi fisik adalah ikatan antara enzim dengan *carrier* jauh lebih kuat untuk ikatan ionik, walaupun lebih lemah jika dibandingkan dengan ikatan kovalen.

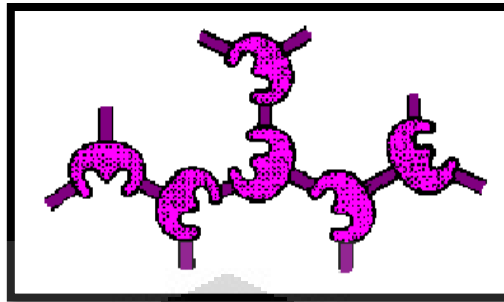
### 2.7.2.3 Ikatan kovalen

Pada metode ini protein enzim dengan *carrier* terikat secara kovalen. Gugus fungsi yang berikatan dengan matriks bisa berupa amino, karboksil, sulfidril, hidroksil, imidazol, atau gugus fenol. Ikatan kovalennya bergantung pada ukuran dan bentuk matriks, komposisi matriks, dan kondisi saat terjadinya ikatan. Enzim terikat kuat dengan matriks sehingga enzim yang terimobilisasi sangat stabil dan tahan terhadap kondisi yang ekstrim. Keuntungan lainnya hasil imobilisasinya berupa padatan (ÖZTÜRK, 2001).

### 2.7.3 *Cross Linking*

Imobilisasi ini terjadi karena adanya ikatan intermolekul antara molekul enzim oleh bi atau multifungsional reagen. Reagen yang biasa digunakan glutaraldehid. *Cross linking* terjadi pada kondisi yang ekstrem sehingga memungkinkan terjadinya perubahan konformasi dan sisi aktif enzim sehingga

enzim kehilangan sifat katalitiknya (ÖZTÜRK, 2001). Ilustrasi enzim terikat pada matriks menggunakan teknik ini terlihat pada Gambar 2.13.

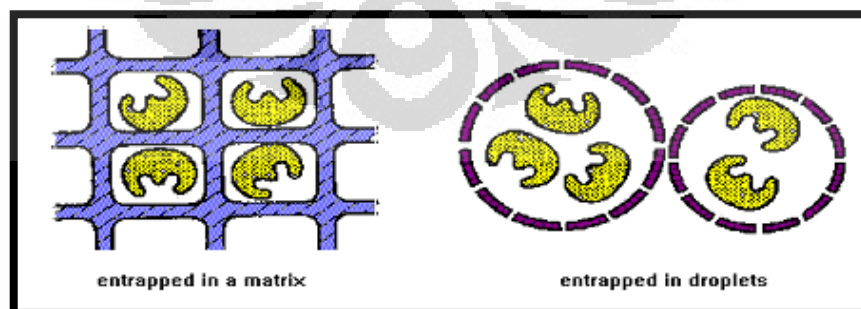


[Sumber : <http://www.eng.rpi.edu/dept/chem-eng/Biotech-Environ/IMMOB/immob.html>]

**Gambar 2.13** Ilustrasi Enzim Terikat pada Matriks dengan Teknik *Cross Linking*

#### 2.7.4 *Entrapment*

Pada teknik ini enzim dimasukkan dalam kisi pada membran semipermeabel gel atau polimer. *Entrapment* ini berdasarkan lokasi dari enzim yang terperangkap dalam kisi pada matriks polimer atau membran saat menahan protein melewati substrat (Gambar 2.14). Perbedaan teknik ini dari teknik lainnya adalah enzim tersebut tidak terikat dengan matriksnya. Teknik ini juga menggunakan reaksi polimerisasi sehingga memerlukan kondisi yang relatif ekstrim. Hal ini memungkinkan enzim kehilangan sifat katalitiknya. Oleh karena itu selektifitas pemilihan kondisi saat imobilisasi sangat penting (ÖZTÜRK, 2001).



[Sumber : <http://www.eng.rpi.edu/dept/chem-eng/Biotech-Environ/IMMOB/immob.html>]

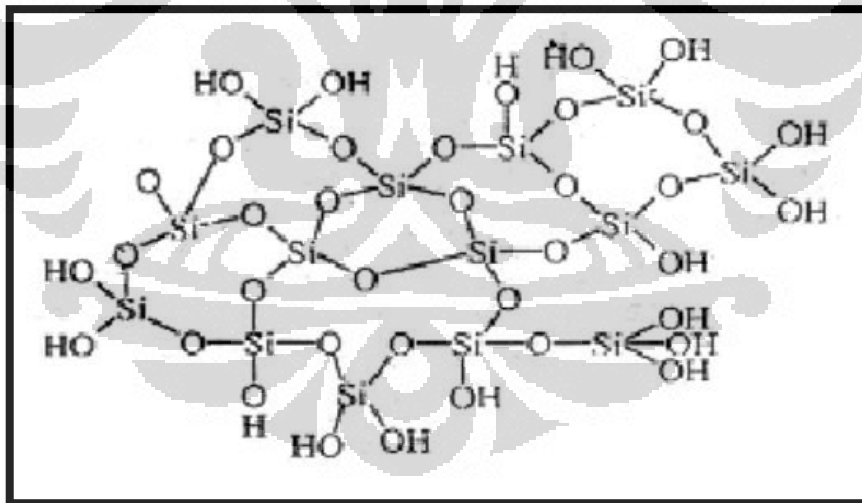
**Gambar 2.14** Ilustrasi Enzim Terperangkap pada Matriks dengan Teknik *Entrapment*

Universitas Indonesia

## 2.8 Silika Gel

Silika gel adalah bentuk fasa *amorphous* dari silikon dioksida, yang diproduksi dari kristal granul/*beads* (berada dalam bentuk kristal). Sebuah struktur mikroporous dengan ruang pengunci (*interlocking cavities*) memberikan zat ini sebagai media dengan luas permukaan yang besar (Wulan et al., 2007). Kelebihan sifat silika gel, yaitu memiliki kestabilan tinggi terhadap pengaruh mekanik, temperatur, dan kondisi keasaman. Kelebihan ini menyebabkan silika gel banyak digunakan sebagai adsorben, material pendukung katalis, dan lain-lain (Sriyanti et al, 2005).

Silika gel terdiri dari globula-globula  $\text{SiO}_4$  tetrahedral yang tersusun secara tidak teratur dan beragregasi membentuk kerangka tiga dimensi yang lebih besar (sekitar 1-25 $\mu\text{m}$ ). Rumus kimia silika gel secara umum adalah  $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ . Struktur satuan mineral silika pada dasarnya mengandung kation  $\text{Si}^{4+}$  yang terkoordinasi secara tetrahedral dengan anion  $\text{O}^{2-}$ , namun susunan  $\text{SiO}_4$  pada silika gel tidak beraturan (Oscik, 1982) (Gambar 2.15).



[Sumber: Kaim & Schwederski, 1994]

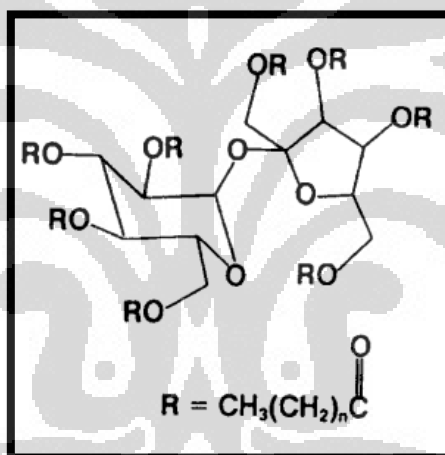
**Gambar 2.15** Penataan  $\text{SiO}_4$  Silika Gel

Silika gel tersusun dari kumpulan jaringan pori mikroskopik yang saling berhubungan. Silika gel memiliki pori yang besar dengan *range* diameter 5-300 Å. Zat ini berguna dalam penyerapan fisik. Adsorpsi terjadi karena interaksi van-

der waals dan kondensasi kapiler pada kelembaban tinggi. Jenis silika tertentu dapat mengadsorpsi air 1-2 kali dari beratnya (Wulan et al., 2007).

## 2.9 Ester Asam Lemak Sukrosa

Ester asam lemak sukrosa dengan Derajat Substitusi (DS) 1-3 merupakan ester nonionik yang memiliki gugus yang bersifat lipofilik dan hidrofilik. Ester asam lemak sukrosa dengan derajat substitusi yang rendah dapat digunakan sebagai *emulsifier* pada makanan dan komestik, sedangkan poliester asam lemak karbohidrat dengan derajat substitusi yang lebih besar/poliester (Gambar 2.16) merupakan molekul yang bersifat lipofilik, serta tidak dapat dicerna dan diserap yang digunakan sebagai *fat replacer* (Adamopoulos, 2006) (Akoh,1998).



[Sumber: Adamopoulos, 2006]

**Gambar 2.16** Poli Ester Sukrosa

Ester asam lemak sukrosa, yang berasal dari reaksi esterifikasi antara asam lemak hasil hidrolisis trigliserida dengan sukrosa, memiliki sifat seperti trigliserida hanya tidak dapat dicerna dan diserap oleh tubuh sehingga tidak akan menyebabkan penumpukkan lemak dalam tubuh. Ester sukrosa dengan derajat substitusi yang tinggi dapat digunakan sebagai pengganti lemak pada makanan sehingga makanan tersebut menjadi nonkalori (Adamopoulos, 2006).

Ester asam lemak sukrosa dapat diintesis dengan tiga cara, yaitu :

- Reaksi esterifikasi antara asil klorida asam lemak ataupun anhidrida asam lemak dengan sukrosa.
- Interesterifikasi antara metil ester asam lemak dengan sukrosa pada pemanasan suhu tinggi.
- Reaksi enzimatis antara sukrosa dengan asam lemak menggunakan lipase.

### 2.10 *Molecular Sieve*

*Molecular sieve* merupakan material yang mempunyai pori-pori yang sangat kecil dengan ukuran yang seragam, biasanya digunakan sebagai adsorben untuk gas dan cairan. Molekul yang kecil dapat masuk ke dalam pori dan terkurung di dalamnya, sedangkan molekul yang besar tidak. Misalnya molekul air yang berukuran kecil mampu melewati pori dan terperangkap di dalam porinya. Zat ini dapat menyerap air sampai 22% dari beratnya. Oleh sebab itu *molecular sieve* biasa digunakan untuk desikator. *Molecular sieve* biasanya terbuat dari mineral aluminium silika, lempung, karbon dengan mikropori, zeolit, karbon aktif, atau komponen sintetik yang memiliki struktur terbuka sehingga memungkinkan molekul kecil berdifusi.

Metode generasi *molecular sieve* meliputi perubahan tekanan (konsentrasi oksigen), pemanasan, dan pembersihan dengan *carrier gas*, atau pemanasan di bawah tekanan vakum. Suhu yang biasa digunakan untuk meregenerasi *molecular sieve* yang mengadsorpsi air adalah 130° - 400°C.

## BAB 3

### METODE PENELITIAN

#### 3.1 Alat dan Bahan

##### 3.1.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas yang digunakan di laboratorium biokimia seperti *beaker glass*, labu ukur, batang pengaduk, botol timbang, corong biasa, corong pisah, gelas ukur, pipet tetes, pipet ukur, pipet gondok, erlenmeyer, buret, labu bulat leher dua, termometer, piknometer, tabung reaksi, dan tabung *centrifuge*. Selain itu juga digunakan spatula, *bulb*, neraca analitis, pH meter, *hot plate stirrer*, oven, serta *horizontal incubator shaker*. Instrumentasi yang digunakan untuk analisis adalah FT-IR.

##### 3.1.2 Bahan

Bahan – bahan yang digunakan untuk penelitian ini adalah :

- Minyak kelapa sawit  
Minyak kelapa sawit yang digunakan pada penelitian ini adalah salah satu minyak goreng bermerek yang beredar luas di pasaran. Minyak ini dihasilkan dari tanaman kelapa sawit yang tumbuh di Indonesia.
- Enzim  
Enzim yang digunakan pada penelitian ini adalah enzim lipase *Candida rugosa* yang berasal dari sigma *chemical* dengan spesifikasi: bentuk fisik berupa serbuk berwarna kuning pucat dan aktivitas spesifik sebesar 2,45 U/mg (1 U sesuai dengan banyaknya enzim yang menyebabkan penglepasan 1 Umol asam oleat dari triolein sebagai substrat per menit pada suhu 40°C dan pH 8).



- Silika Gel 60  
Silika gel 60 yang digunakan berasal dari merk dengan spesifikasi: bentuk fisik berupa butiran kecil padat dengan ukuran partikel 0,04-0,063 mm, diameter pori sebesar 60Å, dan 230-400 mesh.
- Bahan kimia  
Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Laboratorium Biokimia Departemen Kimia FMIPA UI. Bahan kimia yang digunakan adalah sukrosa, KOH, KHP, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat, tris buffer HCl (0.1 M, pH 7), NaOH 0,1 N, HCl 3N, etanol 95%, aquades, aquabides, n-heksana, *molecular sieve* tipe 3Å, gum arabic, serta indikator fenolftalein.

## 3.2 Prosedur Kerja

### 3.2.1 Hidrolisis Trigliserida Minyak Kelapa Sawit

Hidrolisis trigliserida dilakukan untuk mendapatkan asam lemak dari minyak kelapa sawit. Sebanyak 20 g minyak kelapa sawit dimasukkan ke dalam labu bulat leher dua, kemudian ke dalam minyak ditambahkan 100 mL KOH 1 M dalam etanol 95%. Campuran ini kemudian dipanaskan dengan sistem refluks selama 1 jam pada suhu  $62 \pm 2^\circ\text{C}$  disertai pengadukan dengan *magnetic stirrer*. Setelah dipanaskan, ke dalam campuran tersebut ditambahkan 50 mL aquades. Setelah itu, ke dalam campuran ditambahkan 35 mL HCl 3 N. Selanjutnya fasa organik dipisahkan dari fasa air dengan cara ekstraksi dengan 50 mL n-heksana sebanyak dua kali. Selanjutnya ke dalam fasa organik ditambahkan 1 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat. Setelah itu, larutan tersebut didekantasi untuk memisahkan padatan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Selanjutnya pelarut n-heksana diuapkan dengan menggunakan *rotatory evaporator* (Hashim & Salimon, 2008).

### 3.2.2 Identifikasi Asam Lemak dengan Instrumen FT-IR

Asam lemak yang dihasilkan dari hidrolisis minyak kelapa sawit berwujud padat pada suhu ruang. Oleh sebab itu, identifikasi spektrum FT-IR dilakukan dengan cara pembuatan pellet.

Untuk melihat spektrum asam lemak, dibutuhkan sangat sedikit asam lemak yang dicampurkan dengan KBr. Dilakukan penggerusan sampai homogen, kemudian dibentuk pellet, dan dilihat spektrumnya. Untuk *background*, pellet hanya berisi KBr yang telah digerus.

### 3.2.3 Penentuan Aktivitas Spesifik *Free Lipase* Melalui Reaksi Hidrolisis

Nilai dari aktivitas spesifik *free lipase* dari hasil hidrolisis ini dibandingkan dengan nilai aktivitas spesifik lipase terimobilisasi untuk mendapatkan optimasi imobilisasi.

Sebanyak 0,5 gram (5%) gum arabic, 0,425 mL (5%) minyak kelapa sawit, dan 7,65 mL buffert tris HCl (0,1 M pH 7) dimasukkan ke dalam erlenmeyer 200 mL. 1,5 mg lipase dilarutkan dalam 1,5 mL tris buffer HCl (10 mg/mL enzim), kemudian larutan lipase di masukkan ke dalam erlenmeyer tadi, selanjutnya suspensi diinkubasi selama 1 jam dalam *incubator shaker*, 100 rpm, T 30°C, dan terminasi reaksi dengan pemanasan campuran pada suhu  $\pm 80$  °C.

Perhitungan aktivitas enzim dilakukan dengan cara suspensi dititrasi dengan larutan NaOH 0,05M dengan bantuan indikator fenolftalein. Blanko yang digunakan memiliki komposisi yang sama seperti sampel, tetapi tanpa penambahan 1,5 mg lipase.

### 3.2.4 Imobilisasi Lipase pada Matriks Silika Gel 60

Sebanyak 40 mg lipase dilarutkan dalam 5 mL tris buffer HCl (0,1M pH 7). Selanjutnya 1 gram silika gel dicuci dengan tris bufer HCl (0,1 M pH 7) sebanyak 3 kali dan silika gel tersebut dimasukkan kedalam larutan enzim, lalu

inkubasi suspensi selama 3 jam pada suhu ruang sambil diaduk dengan *magnetic stirrer*. Setelah itu, suspensi disaring dan lipase terimobilisasi dalam silika gel siap digunakan (Minovska et al., 2005) (Wulan et al., 2007) (Verma et al., 2011).

Variasi imobilisasi dilakukan dengan cara memvariasikan jumlah matriks silika gel 60 dalam tiap prosedur terhadap jumlah enzim yang terlarut tetap. Banyak silika gel 60 yang di variasikan adalah 100, 250, 500, 750, dan 1000 mg.

### 3.2.5 Menentukan % *Loading* Enzim Terimobilisasi

Nilai % *loading* enzim ditentukan untuk mengetahui perbandingan jumlah enzim yang terimobilisasi dari jumlah enzim semula. Penentuan % *loading* dilakukan dengan metode Lowry standar dengan penyiapan bahan sebagai berikut:

- Larutan A : 2 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  dalam 100 mL NaOH 0,1 N
- Larutan B1 : 0,1 g  $\text{CuSO}_4$  dalam 10 mL aquades
- Larutan B2 : 0,27 g natrium potassium tartrat dalam 10 mL aquades

Pereaksi Lowry merupakan campuran dari larutan A, B, dan C dengan perbandingan volum 98:1:1.

Pembuatan larutan standar, digunakan larutan BSA 400 ppm. Untuk mendapatkan garis linier yang baik, maka digunakan 5 larutan standar, dengan komposisi 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; dan 0,5 mL BSA. Selanjutnya penambahan tris buffer HCl 0,1M pH 7 secara berurutan 0,4; 0,3; 0,2; 0,1, dan 0,0 mL. Setelah itu, ditambahkan pereaksi Lowry sebanyak 5 mL ke dalam setiap larutan standar, dikocok lalu diinkubasi 10 menit. Selanjutnya ditambahkan larutan Follin Ciocalteu 1 N 0,5 mL ke dalam setiap campuran, dikocok lalu diinkubasi 30 menit. Absorbansi larutan diukur pada panjang gelombang 700 nm menggunakan spektrofotometer visible. Untuk blanko, tidak digunakan larutan BSA, hanya digunakan 0,5 mL larutan tris buffer HCl 0,1 M pH 7 dengan prosedur yang sama.

Untuk menghitung konsentrasi protein pada sampel, larutan BSA dan tris HCl diganti dengan 0,5 mL sampel. Selanjutnya dilakukan prosedur yang sama seperti penghitungan konsentrasi pada larutan standar (Lowry, 1951).

### **3.2.6 Optimasi Imobilisasi dengan Penentuan Aktivitas Spesifik Lipase Terimobilisasi Melalui Reaksi Hidrolisis**

Penentuan aktivitas lipase terimobilisasi melalui reaksi hidrolisis menggunakan prosedur yang sama seperti penentuan aktivitas pada *free lipase*. Hanya 1,5 mg *free lipase* digantikan dengan 50 mg enzim terimobilisasi. Hal ini dilakukan untuk semua variasi imobilisasi untuk mencari optimasi imobilisasi dengan melihat aktivitas spesifik. Aktivitas spesifik lipase terimobilisasi dibandingkan dengan aktivitas *free lipase* yang dihitung dalam persentase untuk mendapatkan nilai efisiensi imobilisasi.

### **3.2.7 Esterifikasi Asam Lemak Sukrosa dengan Lipase Terimobilisasi**

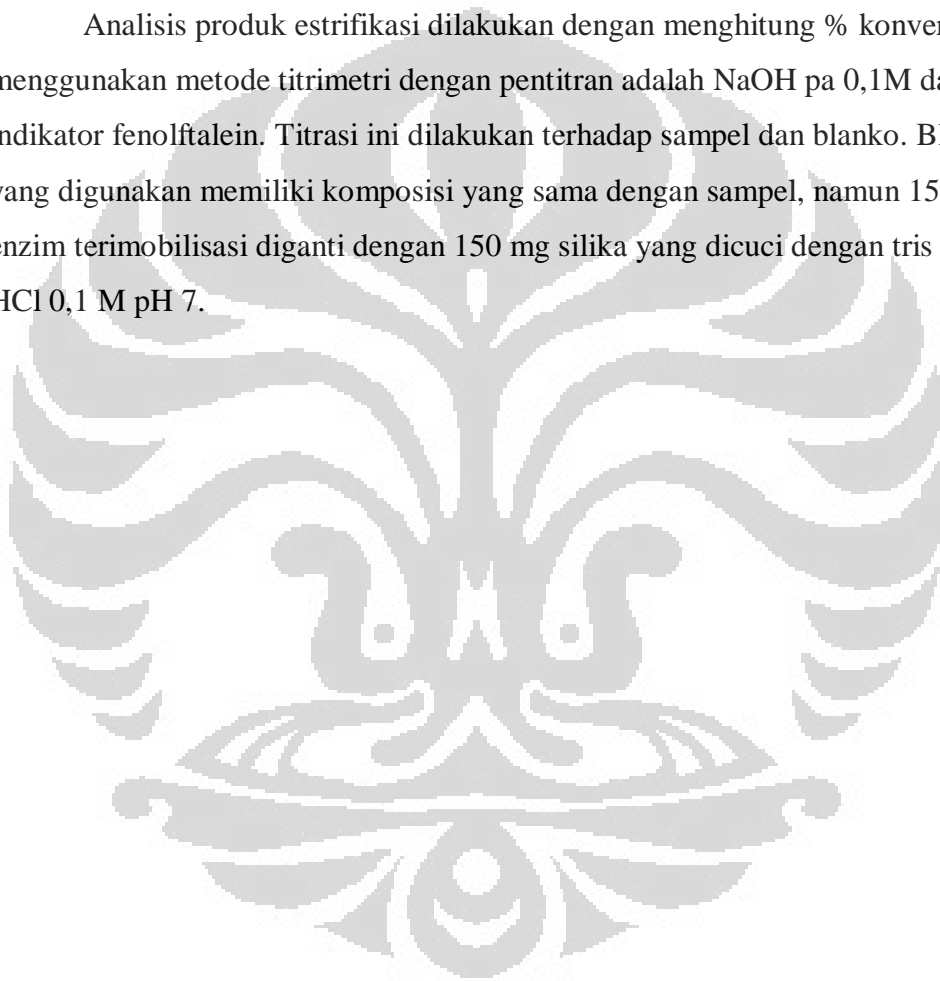
Sintesis ester sukrosa dilakukan dengan mencampurkan sukrosa dan asam lemak yang terlarut dalam n-heksana, kemudian campuran diinkubasi ke dalam *horizontal incubator shaker* selama 8 jam. Campuran memiliki komposisi bahan: asam lemak : sukrosa = 1:64 (mmol), pelarut n-heksan = 1:1 (v/v substrat) 150 mg enzim terimobilisasi, dan 100 mg *molecular sieve*. Terminasi reaksi dilakukan dengan memanaskan campuran pada suhu  $\pm 80$  °C.

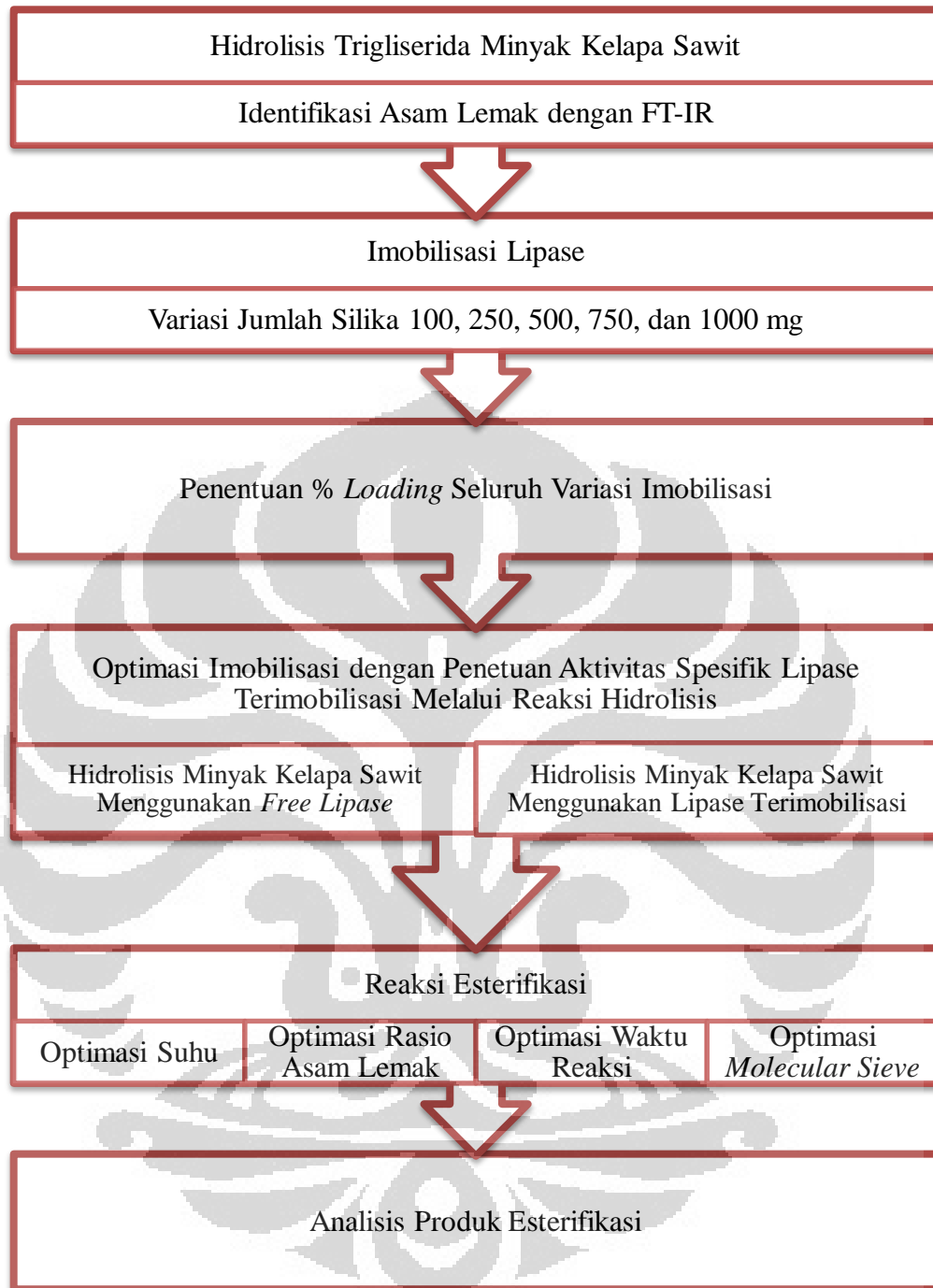
Reaksi dilakukan triplo dengan melakukan variasi pada suhu, mmol asam lemak, waktu, dan *molecular sieve*. Variasi suhu reaksi yang digunakan adalah 30, 35, 37, 40, dan 45 °C. Variasi perbandingan mmol rasio antara sukrosa dan asam lemak yang digunakan adalah rasio 1:16, 1:32, 1:64, 1:80, dan 1:90 mmol. Variasi waktu inkubasi yang digunakan adalah 4, 8, 16, 32, dan 64 jam. Variasi berat *molecular sieve* yang digunakan adalah 100, 300, 500, dan 700 mg.

Urutan optimasi reaksi yaitu optimasi suhu, perbandingan mmol rasio substrat, waktu inkubasi, dan terakhir *molecular sieve*. Khusus untuk optimasi *molecular sieve*, enzim yang digunakan adalah 150 mg optimum enzim terimobilisasi.

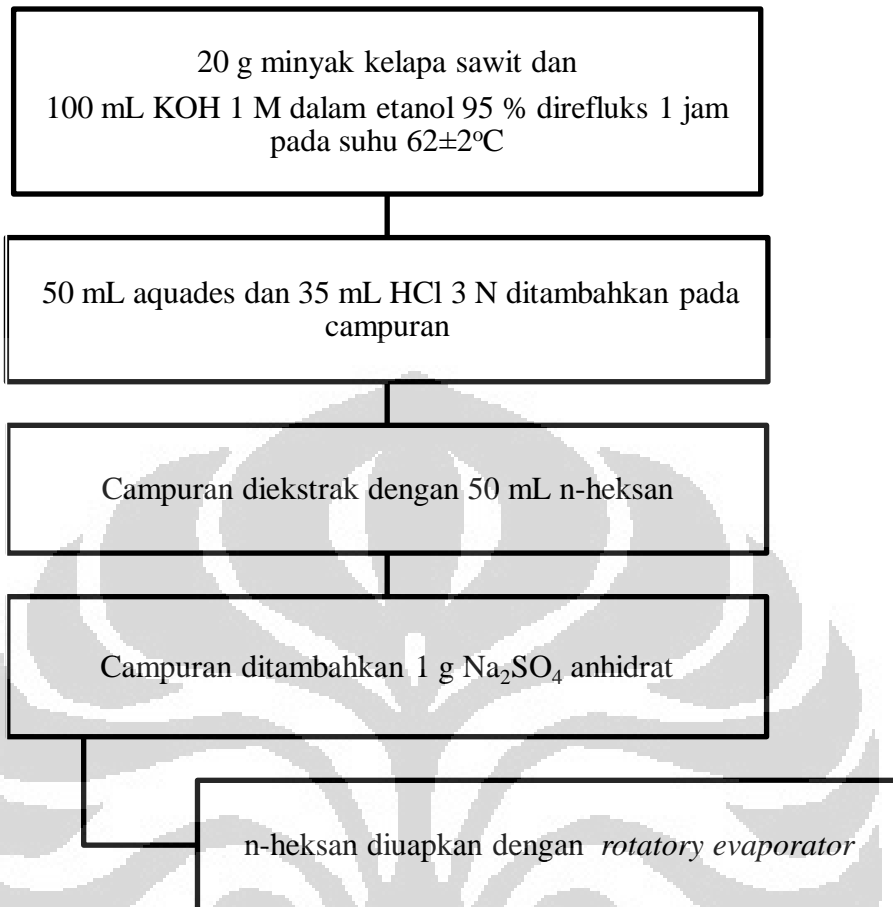
### 3.2.8 Analisis Produk Esterifikasi

Analisis produk estrifikasi dilakukan dengan menghitung % konversi menggunakan metode titrimetri dengan pentitrasi adalah NaOH pa 0,1M dan indikator fenolftalein. Titrasi ini dilakukan terhadap sampel dan blanko. Blanko yang digunakan memiliki komposisi yang sama dengan sampel, namun 150 mg enzim terimobilisasi diganti dengan 150 mg silika yang dicuci dengan tris buffer HCl 0,1 M pH 7.

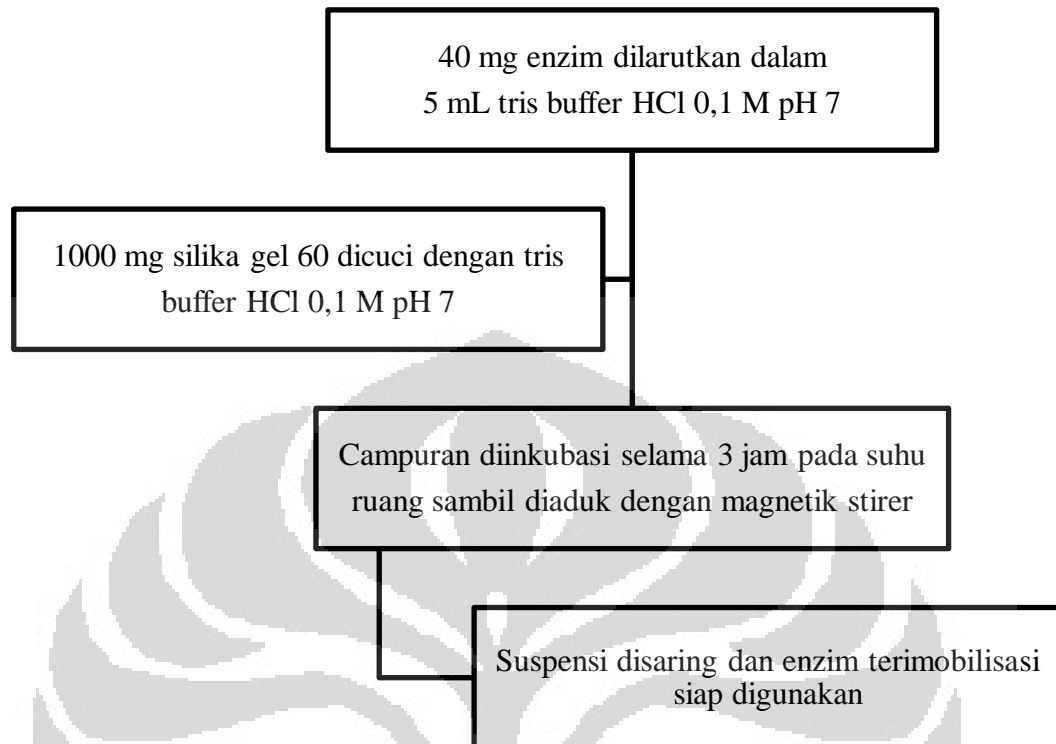




**Gambar 3.1** Bagan Singkat Penelitian

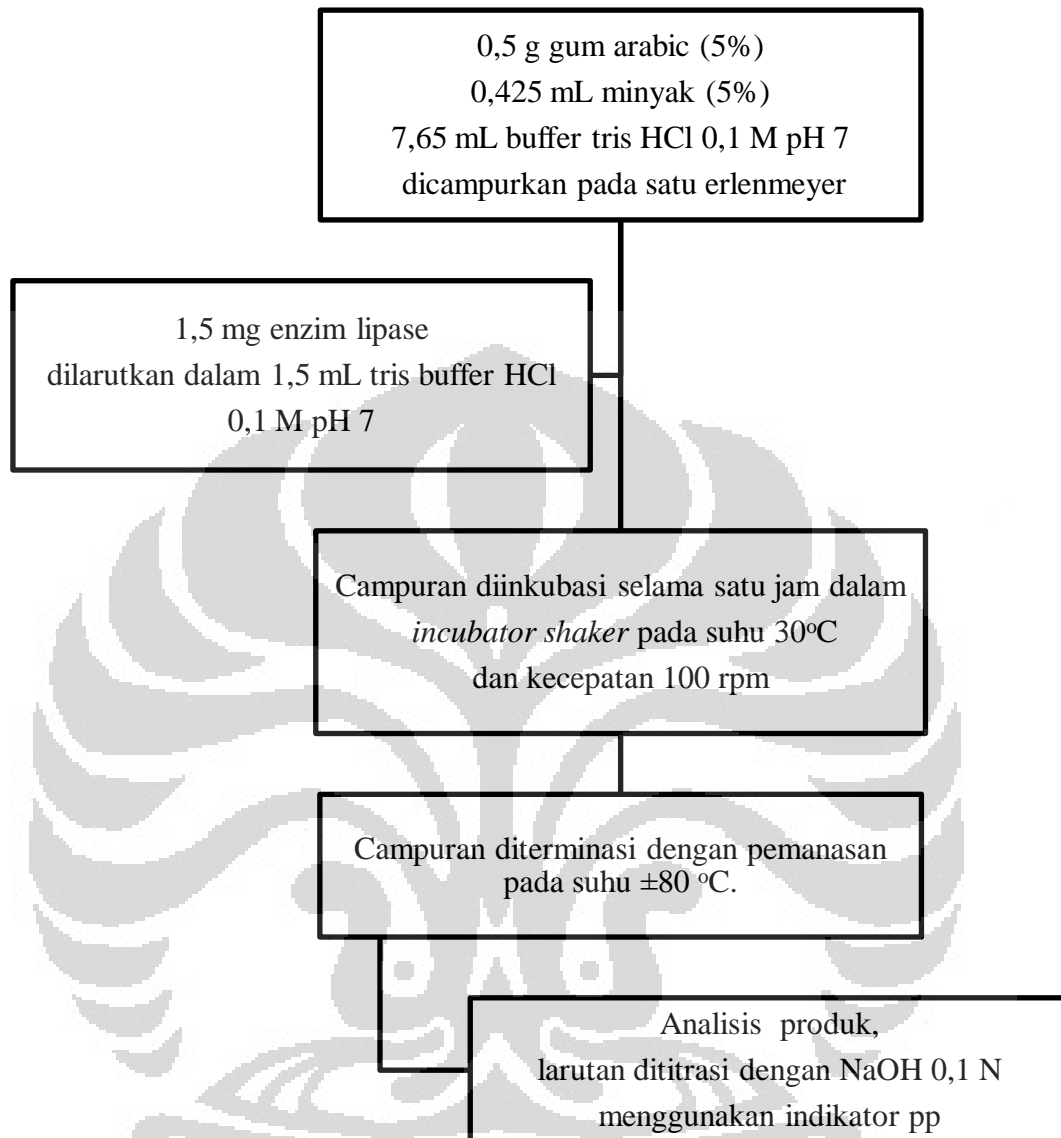


**Gambar 3.2** Bagan Hidrolisis Trigliserida Menggunakan Katalis Basa

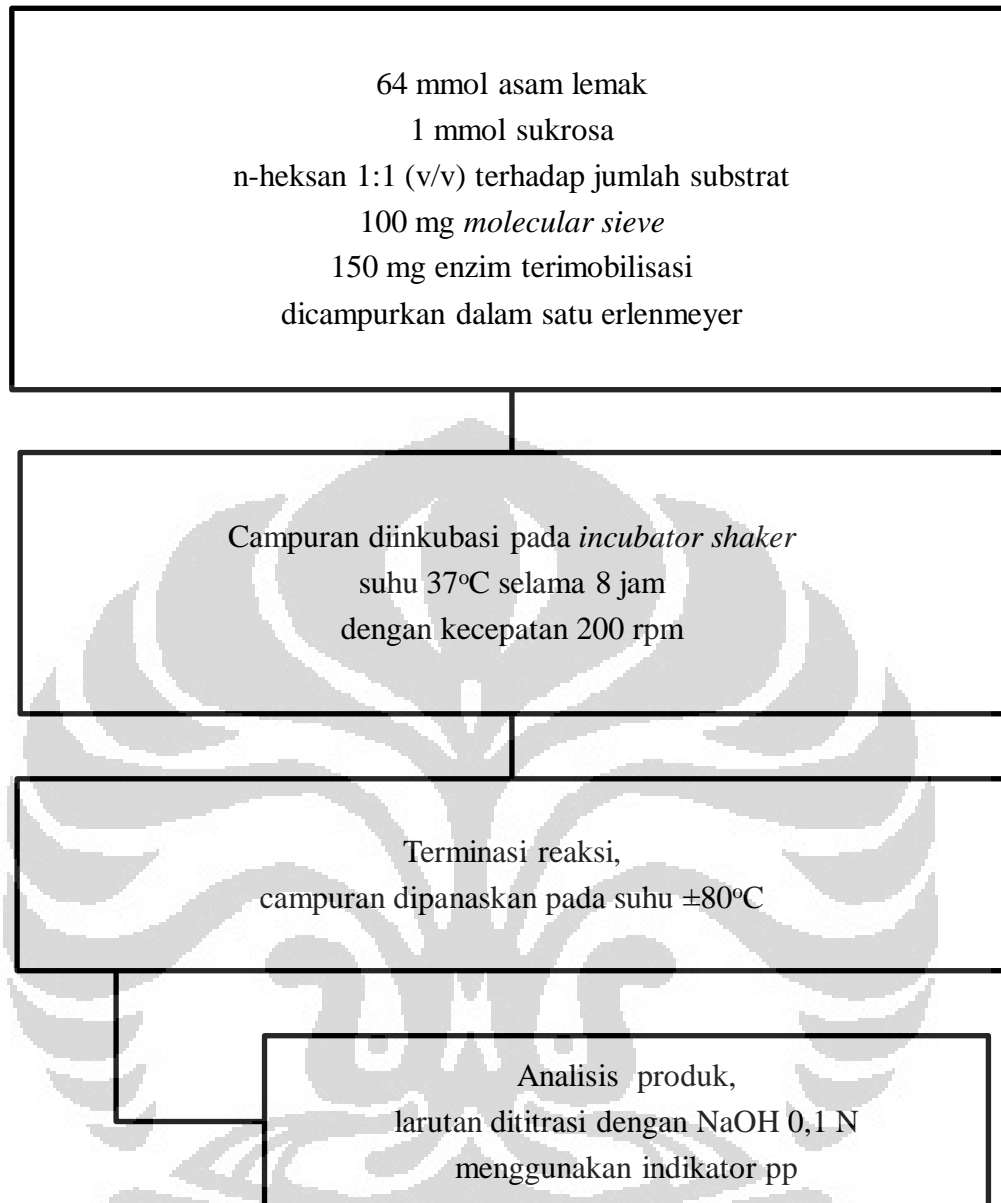


**Gambar 3.3** Bagan Imobilisasi Lipase pada Matriks Silika Gel 60





**Gambar 3.4** Bagan Hidrolisis Triglicerida Menggunakan *Free Lipase*



**Gambar 3.5** Esterifikasi Antara Asam Lemak Dengan Sukrosa Menggunakan Lipase Terimobilisasi

## BAB 4

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hidrolisis Triglicerida

Minyak kelapa sawit yang digunakan sebagai bahan substrat utama berupa minyak goreng bermerek yang beredar luas di pasaran. Minyak sawit ini berasal dari tanaman kelapa sawit yang tumbuh di Indonesia. Bentuk fisik minyak berupa cairan kental berwarna kuning emas dengan masa jenis sebesar 0,9004 g/mL. Komponen utamanya adalah trigliserida / triasilgliserol yang merupakan ester gliserol dengan tiga molekul asam lemak (Depatemen Perindustrian, 2007). Hidrolisis trigliserida dilakukan untuk mendapatkan asam lemak bebas dari minyak kelapa sawit yang selanjutnya digunakan sebagai substrat untuk reaksi esterifikasi.

Reaksi hidrolisis dapat berjalan dengan menggunakan katalis asam maupun basa. Reaksi hidrolisis menggunakan katalis asam bersifat *reversible*, sedangkan menggunakan katalis basa bersifat *irreversibel*, sehingga produk yang didapat lebih banyak. Oleh sebab itu, pada reaksi hidrolisis ini digunakan katalis basa yaitu KOH. Selain KOH, NaOH juga dapat digunakan sebagai katalis basa untuk reaksi hidrolisis, namun produk yang dihasilkan tidak sebaik penggunaan KOH. Hal ini disebabkan kalium lebih reaktif dibandingkan natrium, sehingga lebih mudah membentuk garam asam lemak. Garam yang dihasilkan juga lebih mudah larut air dibandingkan dengan garam asam lemak natrium (Hashim & Salimon, 2008). Proses penggaraman ini disebut juga reaksi penyabunan atau saponifikasi karena menghasilkan sabun atau ester asam lemak.

Berdasarkan tabel periodik, kalium dan natrium berada pada golongan yang sama yaitu alkali. Sifat kereaktifan unsur dalam satu golongan bertambah dari atas ke bawah karena jari-jari atom yang semakin besar. Hal ini menyebabkan elektron valensi semakin jauh dari inti atom sehingga elektron semakin mudah

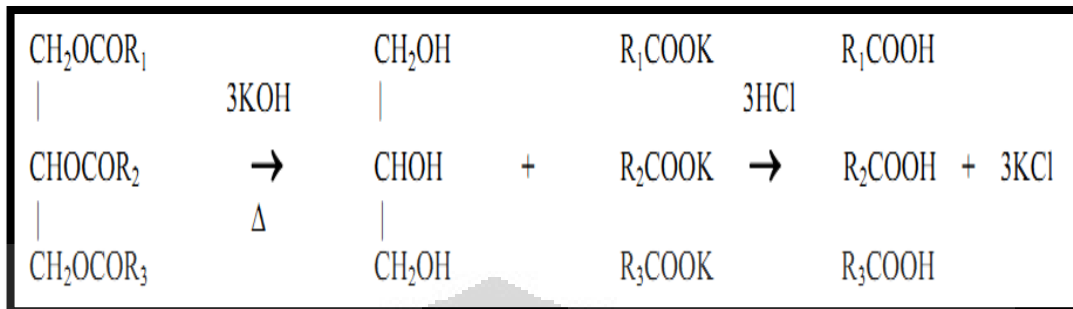
lepas. Kalium berada pada periode empat, sedangkan natrium berada pada periode tiga sehingga kalium lebih mudah membentuk ion positif dibandingkan natrium. Hal ini juga terbukti dari besarnya energi ionisasi pertama masing-masing unsur yaitu 419 kJ/mol untuk kalium dan 496 kJ/mol untuk natrium. Jika dilihat dari sifat kebasaaan, sifat kebasaaan golongan alkali bertambah dari atas ke bawah sehingga KOH lebih bersifat basa dibandingkan NaOH, hal ini menyebabkan kestabilan sabun yang terbentuk juga lebih baik (Hashim & Salimon, 2008).

KOH yang digunakan pada reaksi ini dilarutkan dalam etanol 95%. Hal ini disebabkan adanya perbedaan sifat kepolaran antara KOH dengan trigliserida. KOH bersifat polar dan trigliserida non polar. Oleh sebab itu dibutuhkan suatu medium perantara untuk menurunkan perbedaan kepolaran di antara keduanya. KOH memiliki kelarutan yang baik dalam etanol, selain itu etanol juga memiliki kepolaran di antara KOH dan trigliserida, sehingga penggunaan etanol diharapkan dapat memperbesar interaksi antara KOH dengan trigliserida. Jika KOH yang digunakan terlarut dalam air, maka KOH hanya akan membentuk ion  $K^+$  dan  $OH^-$  dan karena tingginya perbedaan kepolaran menyebabkan kontak dengan asam lemak sangat sedikit sehingga produk yang didapat juga sedikit (Hashim & Salimon, 2008).

Proses selanjutnya menambahkan aquades untuk memisahkan lipid yang tersabunkan dan tidak tersabunkan. Lipid yang tersabunkan yaitu berupa garam kalium asam lemak akan berada pada fasa air, sedangkan lipid yang tidak tersabunkan berada pada fasa non polar. Kuantitas lipid yang tidak tersabunkan sangat kecil sehingga sampai tahap ini masih terlihat campuran satu fasa.

Garam kalium asam lemak yang telah terbentuk diasamkan dengan menambahkan HCl berlebih sehingga membentuk asam lemaknya. Untuk memisahkan asam lemak dari komponen lain dilakukan ekstraksi dengan pelarut n-heksan. Lapisan atas berupa asam lemak yang terlarut dalam n-heksan dan lapisan bawah berupa larutan polar yang terdiri dari etanol, HCl, dan KCl yang terlarut dalam air. Pemurnian asam lemak dilakukan dengan menguapkan

pelarutnya dengan menggunakan *rotatory evaporator*. Reaksi singkat hidrolisis trilisierida terlihat pada Gambar 4.1.



[Sumber : (Hashim & Salimon, 2008)]

**Gambar 4.1** Reaksi Hidrolisis Triglisierida Menggunakan Katalis Basa

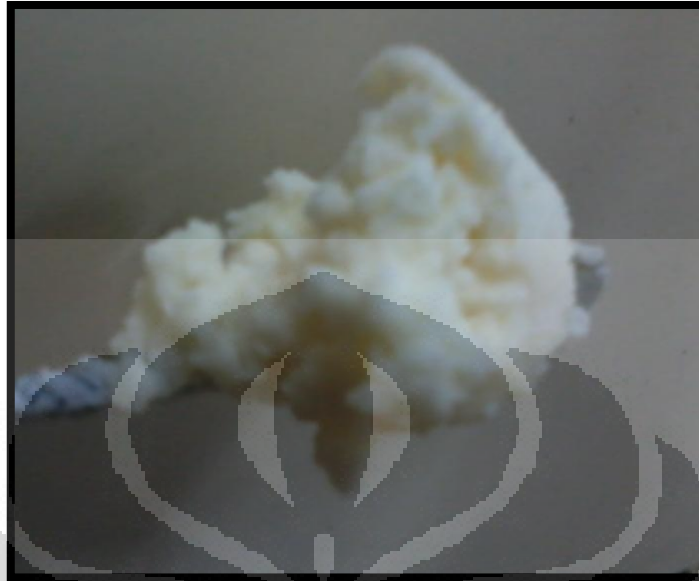
Asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit berwarna kuning emas (Gambar 4.2). Warna asam lemak berasal dari zat warna alamiah minyak kelapa sawit yang berasal dari zat-zat tertentu yang susah dipisahkan sehingga ikut terekstrak. Warna kuning disebabkan karena adanya  $\alpha$  &  $\beta$ -karotene (Ketaren, 1986).



**Gambar 4.2** Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit

Pada suhu ruang, asam lemak berwujud semi padat berwarna kuning pucat (Gambar 4.3). Warna kuning pucat yang dihasilkan merupakan warna alami dari asam oleat (Ketaren, 1986). Wujud semi padat pada suhu ruang kemungkinan disebabkan sebagian besar asam lemak yang dihasilkan merupakan asam lemak

berantai panjang yaitu asam oleat dan asam palmitat. Komposisi asam lemak minyak sawit berdasarkan literatur dapat dilihat pada Lampiran 2.



**Gambar 4.3** Wujud Asam Lemak Hasil Hidrolisis pada Suhu Ruang

Dari reaksi hidrolisis yang dilakukan didapat % *yield* asam lemak sebesar 90,60% (w/w) dan masa jenis asam lemak sebesar 0,8405 g/mL.

#### 4.2 Imobilisasi Lipase pada Matriks Silika Gel 60

Metode imobilisasi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode adsorpsi. Protein enzim akan teradsorpsi di permukaan molekul matriks dengan kekuatan ikatan–ikatan lemah seperti ikatan van der waals (ÖZTÜRK, 2001). Hal ini menyebabkan tingginya kemungkinan enzim *leaching* saat melakukan fungsi katalitiknya. Akan tetapi, penggunaan metode ini memiliki beberapa keuntungan yaitu mudah dan ekonomis dibandingkan metode lainnya. Oleh sebab itu metode ini sangat cocok digunakan untuk pemakaian skala besar (Oliveira et al., 2000). Selain itu metode ini menjadi dasar apakah suatu matriks dapat mengikat enzim dengan baik sebelum dilakukan modifikasi peningkatan kekuatan ikatan (misalnya menjadi metode ikatan ionik atau kovalen) (Wulan et al., 2007).

Pemilihan silika gel sebagai matriks karena silika gel memiliki kestabilan tinggi terhadap pengaruh mekanik, temperatur, dan kondisi keasaman. Selain itu silika gel juga bersifat *inert* yaitu tidak dapat bereaksi dengan materi lain kecuali unsur alkali kuat dan asam hidrofluorik. Kelebihan silika gel ini menyebabkan silika gel banyak digunakan sebagai adsorben dan material pendukung katalis, dll (Sriyanti et al., 2005). Silika gel 60 yang digunakan berasal dari Merck. Angka 60 melambangkan ukuran besar pori rata-rata silika gel yaitu 60Å.

Dalam metode imobilisasi, selain mempertimbangkan matriks dan teknik imobilisasi yang digunakan (ÖZTÜRK, 2001), perlu juga diperhatikan keadaan saat mengimobilisasi seperti pelarut enzim yang digunakan, pH, temperatur, dan waktu imobilisasi. Keadaan ini tidak hanya ditunjukkan pada enzim yang akan diimobilisasi, tapi ditunjukkan juga untuk matriks yang akan digunakan.

Pelarut yang digunakan untuk melarutkan lipase adalah tris buffer HCl karena sifat katalitik enzim sangat dipengaruhi oleh perubahan pH. Oleh sebab itu, dibutuhkan suatu penyangga pH agar lipase tidak mudah rusak akibat adanya gangguan asam maupun basa dari luar sistem. Pemilihan tris HCl sebagai buffer karena lipase maupun silika gel stabil terhadap HCl. Selain tris buffer HCl, pelarut lain yang bisa digunakan adalah buffer asetat, buffer fosfat (Minovska et al., 2005).

Pemilihan pH pelarut ini didasarkan pada kemampuan katalitik lipase *Candida rugosa* bebas optimum pada kisaran pH 6,5-7,5 dengan nilai % *yield* untuk reaksi hidrolisis minyak zaitun sebesar 95-97% (Petersen et al., 2001). Untuk enzim terimobilisasi terkadang pH optimumnya berbeda dari enzim bebasnya. Untuk lipase *Candida rugosa* yang terimobilisasi pada silika gel, enzim tetap dapat bekerja pada *range* pH 6-8, dan enzim dapat bekerja optimum pada pH 6-7 (Minovska et al., 2005). Berdasarkan penelitian sebelumnya, maka pH pelarut lipase yang digunakan pada penelitian ini adalah tujuh.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh (Wulan et al., 2007), waktu optimal imobilisasi silika gel untuk mengadsorbsi lipase mulai dari tiga jam keatas. Waktu imobilisasi optimal adalah waktu saat % *loading* lipase sudah

berlangsung secara stabil, yaitu saat penambahan konsentrasi enzim dalam *support* tidak memiliki kenaikan yang signifikan lagi. Mengacu pada penelitian sebelumnya, maka pada penelitian ini waktu imobilisasi yang digunakan adalah tiga jam.

#### 4.2.1 Penentuan % *Loading*

Nilai % *loading* merupakan penghitungan persentase jumlah enzim yang dapat teradsorpsi oleh matriks yang dibandingkan dengan jumlah enzim awal. Penghitungan % *loading* dilakukan menggunakan metode Lowry. Hal ini disebabkan lipase merupakan protein, sehingga penghitungan jumlah protein dalam larutan dapat disetarakan dengan jumlah lipase pada larutan. Penghitungan jumlah lipase yang terimobilisasi pada matriks dapat dilihat dari selisih mol protein sebelum imobilisasi (lipase bebas yang terlarut) terhadap mol protein dalam larutan sisa imobilisasi.

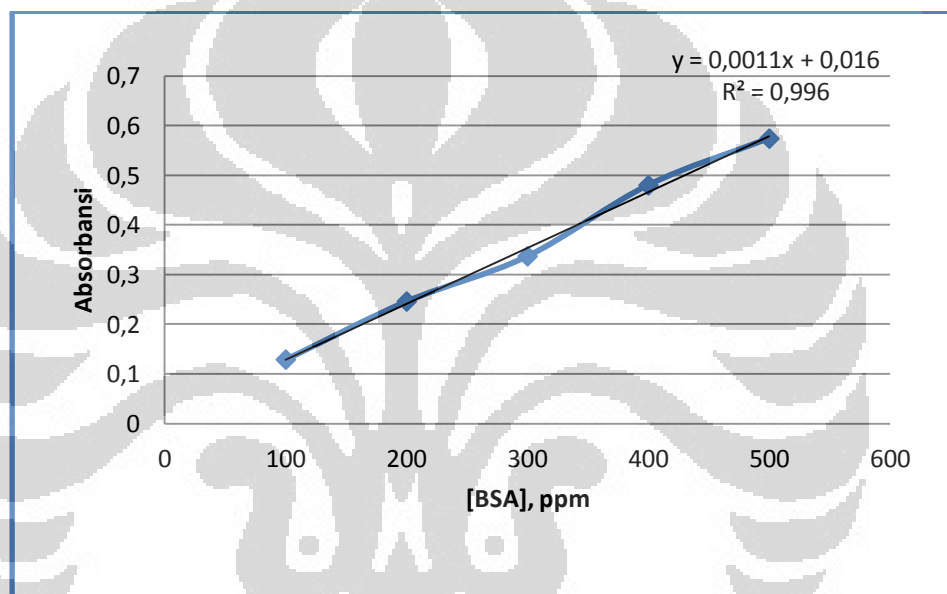
Nilai dari % *loading* merupakan salah satu acuan utama dalam menentukan suatu zat dapat atau tidak dapat digunakan sebagai matriks untuk imobilisasi. Matriks yang baik adalah matriks yang memiliki nilai % *loading* yang besar karena menandakan enzim dapat teradsorpsi dengan baik pada matriks.

Kurva kalibrasi standar dibuat dengan menggunakan larutan standar BSA (*Bovine Serum Albumin*) yang diakui sebagai larutan standar dengan kemurnian protein yang tinggi. Dari hasil pengukuran absorbansi, terlihat hubungan konsentrasi BSA terhadap absorbansi yang ditampilkan pada Tabel 4.1 dan Gambar 4.4.



**Tabel 4.1** Hubungan Konsentrasi BSA Terhadap Absorbansi

[BSA] ppm	Absorbansi
100	0,129
200	0,246
300	0,337
400	0,48
500	0,574

**Gambar 4.4** Grafik Hubungan Konsentrasi BSA Terhadap Absorbansi

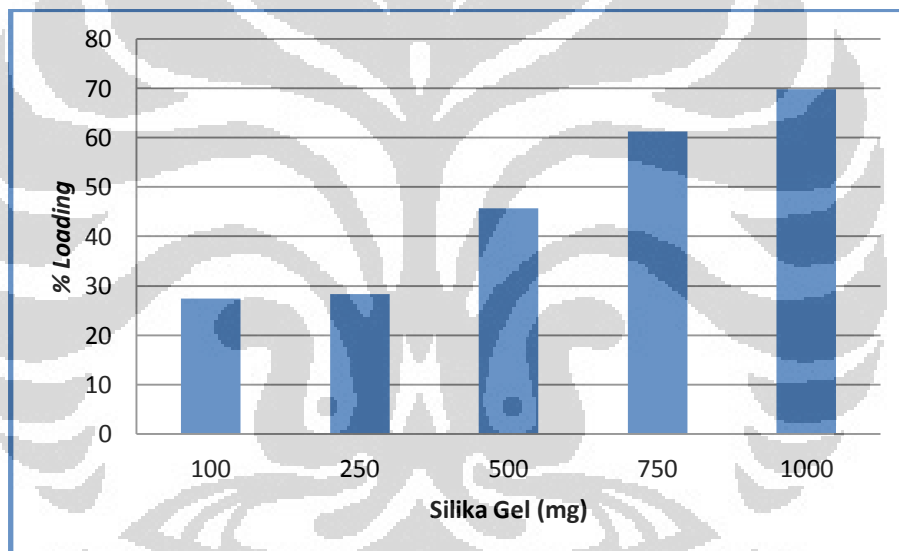
Dari pembuatan kurva standar didapat sebuah persamaan linier yaitu  $y = 0,0011x + 0,016$  dengan  $y$  merupakan absorbansi larutan dan  $x$  merupakan konsentrasi protein yang terlarut dalam larutan. Dari persamaan ini ditentukan % *loading* untuk setiap variasi imobilisasi. Penghitungan % *loading* berdasarkan perbandingan mol enzim yang teradsorpsi dengan mol enzim mula-mula. Dari hasil ini diketahui jumlah enzim dalam satuan mol yang terdapat pada larutan.

Penghitungan % *loading* dilakukan untuk semua variasi imobilisasi. Variasi imobilisasi yang dilakukan adalah banyaknya silika gel yang digunakan dengan penggunaan jumlah enzim yang tetap yaitu 100, 250, 500, 750, dan 1000

mg silika gel. Hubungan % *loading* terhadap banyak matriks yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan dalam bentuk diagram batang pada Gambar 4.5.

**Tabel 4.2** Pengaruh Jumlah Silika Gel Terhadap % *Loading*

Silika Gel (mg)	% <i>Loading</i>
100	27,41
250	28,34
500	45,63
750	61,29
1000	69,85



**Gambar 4.5** Diagram Batang Hubungan Jumlah Silika Gel Terhadap % *Loading*

Berdasarkan Gambar 4.5, diketahui bahwa semakin banyak matriks, semakin banyak enzim yang teradsorpsi. Hal ini terjadi karena semakin banyak matriks berarti semakin banyak tempat yang tersedia untuk enzim terimobilisasi.

Dilihat dari nilai % *loading*, silika gel 60 dapat digunakan sebagai matriks untuk imobilisasi enzim dengan teknik adsorpsi. Silika gel merupakan adsorben alamiah, zat ini akan menyerap air dengan batas tertentu. Air yang terserap

diharapkan membawa enzim terlarut dan tertahan di dalamnya. Silika gel memiliki ruang pengunci, struktur inilah yang memberikan kemampuan silika gel sebagai media pengadsorpsi (Redjoso, 2007).

Kemampuan adsorpsi permukaan dan intra molekul silika gel sangat baik, tapi kemampuan penyerapan intermolekul silika gel kurang kuat. Hal ini disebabkan silika gel berbentuk padat, sehingga kekuatan tarik antara partikel menjadi rendah dan menyebabkan enzim yang teradsorpsi tidak kuat tertahan di porinya dan besar kemungkinan terjadinya kebocoran saat reaksi (Redjoso, 2007).

#### **4.2.2 Penentuan Efisiensi Lipase Terimobilisasi**

Keberhasilan imobilisasi suatu enzim tidak hanya ditentukan dari jumlah enzim teradsorpsi, tapi perlu dilakukan pengujian apakah enzim yang teradsorpsi masih aktif atau tidak. Oleh sebab itu, setelah menentukan % *loading* dilakukan penentuan efisiensi enzim terimobilisasi untuk semua variasi imobilisasi.

Penentuan efisiensi imobilisasi dilakukan dengan cara penghitungan jumlah lipase yang teradsorpsi pada silika gel dengan cara melihat % *loading*. Dari nilai % *loading*, maka diketahui jumlah lipase keseluruhan yang teradsorpsi. Jumlah lipase per mg lipase terimobilisasi ditentukan dengan cara membagi jumlah lipase teradsorpsi secara keseluruhan dengan berat total hasil imobilisasi. Efisiensi enzim terimobilisasi/efisiensi imobilisasi adalah persentase perbandingan aktivitas spesifik antara enzim terimobilisasi dengan aktivitas spesifik enzim bebas.

Penentuan aktifitas spesifik dilakukan dengan mencoba enzim sebagai katalis pada reaksi hidrolisis minyak kelapa sawit. Alasan digunakan reaksi hidrolisis adalah karena reaksi hidrolisis lebih mudah dan lebih cepat terjadi dibandingkan reaksi esterifikasi dan kondisi optimum reaksi sudah diketahui dari penelitian terdahulu.

#### 4.2.2.1 Reaksi Hidrolisis Menggunakan *Free Lipase*

Reaksi hidrolisis dengan *free lipase* dilakukan untuk melihat aktivitas enzimatis pada kondisi bebas. Lipase terlebih dahulu dilarutkan dalam tris buffer HCl 0,1M pH 7 sebelum direaksikan dengan substrat. Hasil dari reaksi enzim bebas ini dibandingkan dengan hasil reaksi enzim terimobilisasi. Penggunaan enzim bebas ini dijadikan acuan.

Hasil dari hidrolisis ini adalah asam lemak bebas dan gliserol yang berasal dari trigliserida yang terhidrolisis. Mol asam lemak bebas yang dihasilkan dihitung menggunakan metode titrasi menggunakan NaOH dan dengan bantuan indikator fenolftalein. Semakin banyak penggunaan NaOH, berarti semakin banyak asam lemak yang terbentuk yang berarti aktivitas enzim semakin tinggi. Konversi yang ditunjukkan dengan persen hidrolisis ini tidak menunjukkan aktivitas lipase secara detail, hanya melihat seberapa banyak pembentukan asam lemak perwaktu dalam satuan menit. Dari hasil perhitungan didapat nilai aktifitas *free lipase* sebesar 22,231 U dan aktifitas spesifiknya sebesar 1,482 U/mg. (1 U sesuai dengan banyaknya enzim yang menyebabkan pelepasan 1  $\mu\text{mol}$  asam lemak dari minyak kelapa sawit sebagai substrat per menit pada suhu 30°C dan pH 7).

#### 4.2.2.2 Reaksi Hidrolisis Menggunakan Lipase Terimobilisasi

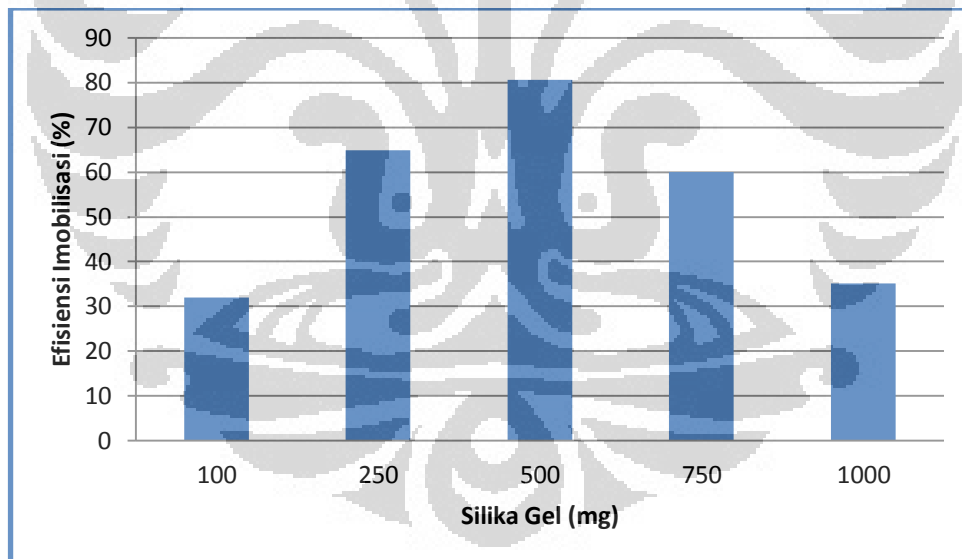
Teknik imobilisasi adsorpsi secara teoritis tidak mengubah atau hanya sedikit mengubah konformasi enzim sehingga penggunaannya tidak menurunkan atau hanya sedikit menurunkan sifat katalitik enzim (ÖZTÜRK, 2001). Untuk membuktikan hal ini dilakukan perbandingan reaksi hidrolisis enzim terimobilisasi dengan *free lipase*.

Reaksi hidrolisis enzim terimobilisasi dilakukan pada kondisi sama seperti reaksi hidrolisis dengan *free lipase*. Penggunaan 15 mg *free lipase* digantikan dengan 50 mg enzim terimobilisasi. Penghitungan mol asam lemak bebas yang dihasilkan dilakukan dengan cara yang sama yaitu melalui metode titrimetri

menggunakan NaOH. Untuk menghitung aktifitas spesifik lipase terimobilisasi, dilakukan penghitungan jumlah lipase dalam 50 mg lipase terimobilisasi (1 U sesuai dengan banyaknya enzim yang menyebabkan penglepasan 1 Umol asam lemak dari minyak kelapa sawit sebagai substrat per menit pada suhu 30°C dan pH 7 ). Dari hasil perhitungan didapat pengaruh jumlah silika gel terhadap efisiensi imobilisasi (Tabel 4.3 dan Gambar 4.6).

**Tabel 4.3** Pengaruh Jumlah Silka Gel Terhadap Efisiensi Imobilisasi

Silika (mg)	Efisiensi Imobilisasi (%)
100	31,94
250	64,89
500	80,59
750	60,01
1000	35,10



**Gambar 4.6** Diagram Batang Pengaruh Silika Gel Terhadap Efisiensi Imobilisasi

Dari Gambar 4.6 diketahui adanya peningkatan aktifitas enzim terimobilisasi, mulai dari penggunaan jumlah silika gel 100 mg sampai 500 mg. Dilihat dari efektifitas silika gel mengadsorbsi, penggunaan silika gel lebih sedikit memiliki efisiensi adsorbsi lebih baik (Tabel 4.2). Akan tetapi, lipase yang telah

teradsorpsi memiliki kemungkinan penurunan maupun kehilangan sifat katalitiknya. Hal ini disebabkan pada saat terimobilisasi lipase belum tentu tersusun secara teratur, sehingga besar kemungkinan lipase bertumpuk dan saling menutupi sisi katalitiknya. Oleh sebab itu, jumlah enzim yang besar pada suatu matriks, tidak selalu menggambarkan besarnya aktifitas enzim.

Berdasarkan Gambar 4.6, dapat dilihat juga bahwa penggunaan silika gel sebanyak 500 mg merupakan keadaan optimum untuk efisiensi imobilisasi yaitu sebesar 80,59% yang juga merupakan hasil optimasi imobilisasi dari variasi jumlah matriks. Penggunaan jumlah matriks di atas 500 mg menurunkan efektifitas matriks dalam mengadsorpsi, sehingga penggunaan lipase terimobilisasi pada reaksi hidrolisis menjadi tidak efektif yang menyebabkan penurunan aktifitas spesifik lipase.

### 4.3 Reaksi Esterifikasi

Setelah diketahui lipase yang telah diimobilisasi tetap memiliki aktivitas yang cukup baik, selanjutnya lipase tersebut digunakan untuk reaksi esterifikasi. Reaksi esterifikasi merupakan reaksi kesetimbangan dan kebalikan dari reaksi hidrolisis. Lipase *Candida rugosa* sendiri tergolong dalam kelas hidrolase. Lipase berperan sebagai katalis dalam menghidrolisis ikatan ester dalam substrat lipid yang tidak larut air, seperti trigliserida berantai panjang. Lipase akan bertindak sebagai enzim yang mengkatalis reaksi hidrolisis apabila berada pada medium air atau berada pada medium dengan konsentrasi air yang tinggi. Apabila lipase berada pada pelarut organik dan dengan kandungan air yang sedikit, enzim ini akan cenderung mengkatalis reaksi kebalikan dari hidrolisis yaitu esterifikasi (Adamopoulos, Understanding the Formation of Sugar Fatty Acid Esters, 2006).

Aktivitas katalitik suatu enzim sangat dipengaruhi faktor lingkungan sekitarnya misal pelarut, pH, suhu, konsentrasi enzim, perbandingan konsentrasi substrat, dan waktu inkubasi (Nelson & Cox, 2004). Untuk mendapatkan produk dengan jumlah maksimal, perlu dilakukan penyesuaian lingkungan saat reaksi

enzimatis berlangsung. Atas dasar inilah dilakukan optimasi reaksi untuk mencapai keadaan reaksi yang optimum.

Pada reaksi esterifikasi ini digunakan n-heksan sebagai pelarut. N-heksan merupakan pelarut organik dengan nilai log P sebesar 3,5. Pemilihan n-heksan sebagai pelarut dilakukan dengan mempertimbangkan kepolaran substrat yang digunakan. Sukrosa merupakan disakarida yang sangat larut dalam air sehingga semakin bertambahnya nilai log P pelarut, perbedaan kepolaran antara sukrosa dengan pelarut akan semakin tinggi, yang mengakibatkan rendahnya kontak sukrosa dengan asam lemak. Oleh sebab itu, diupayakan pemilihan pelarut organik yang memiliki nilai log P sebesar 2-4. Beberapa pelarut organik yang memiliki nilai log P sebesar 2-4 adalah n-heksan, toluena, benzena, heptanol, dan oktanol. Alasan penggunaan n-heksan pada reaksi esterifikasi karena n-heksan memiliki % konversi tertinggi pada reaksi esterifikasi menggunakan katalis lipase (Syamsul, et al., 2010).

Pada penelitian ini jumlah n-heksan yang dimasukkan ke dalam sistem memiliki perbandingan volume 1:1 dengan jumlah total volume substrat pada sistem. Hal ini disebabkan penggunaan pelarut organik yang digunakan dalam produksi ester asam lemak sakarida yang terbaik adalah 1- 3 kali perbandingan volume pelarut dengan substratnya (Youchun, 2001).

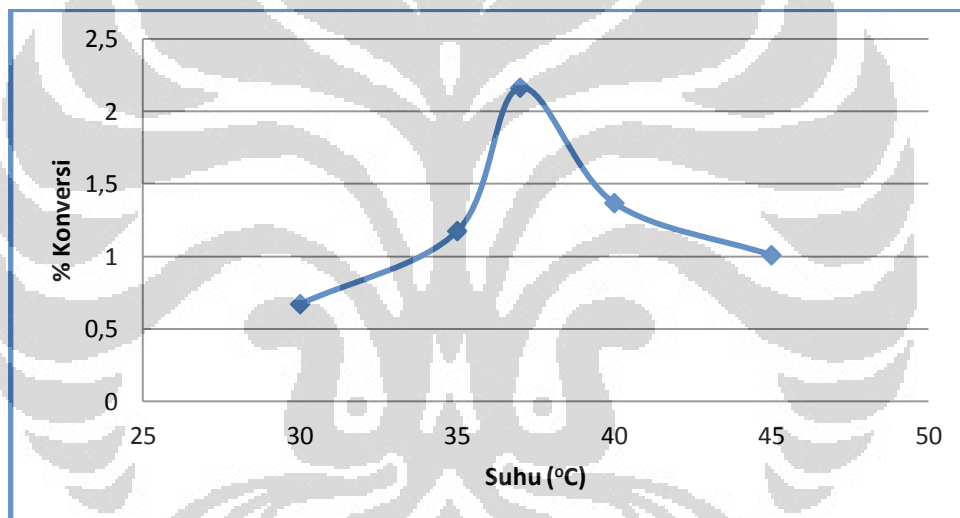
#### **4.3.1 Optimasi Suhu pada Reaksi Esterifikasi**

Salah satu faktor yang mempengaruhi reaksi enzimatik adalah suhu saat terjadinya reaksi. Suhu memengaruhi energi kinetik molekul, sehingga setiap enzim memiliki *range* suhu yang spesifik untuk dapat bekerja dan mencapai keadaan katalitik optimumnya. Variasi suhu yang dilakukan adalah 30,35, 37, 40, dan 45 °C. Pemilihan suhu tersebut berdasarkan suhu optimum lipase *Candida rugosa* bebas berkisar pada 30-35 °C (Fadiloğlu & Soylemez, 1997). Secara teoritis, enzim terimobilisasi terstabilkan dengan adanya matriks, sehingga peningkatan suhu diatas suhu optimum tidak langsung menurunkan sifat

katalitiknya secara drastis (ÖZTÜRK, 2001). Pengaruh suhu terhadap %konversi terlihat pada Tabel 4.4 dan Gambar 4.7.

**Tabel 4.4** Data Pengaruh Suhu Terhadap % Konversi

Suhu	% Konversi
30	0,67
35	1,18
37	2,16
40	1,37
45	1,01



**Gambar 4.7** Grafik Pengaruh Suhu ( $^{\circ}$ C) Terhadap % Konversi

Dari Gambar 4.7 terlihat suhu meningkat dari 30-37  $^{\circ}$ C. Reaksi enzimatik akan meningkat sebanding dengan peningkatan suhu. Peningkatan suhu menyebabkan peningkatan energi kinetik molekul sehingga akan meningkatkan kemungkinan tumbukan antara substrat-enzim yang menyebabkan laju reaksi meningkat. Ketika suhu melebihi suhu optimum, pada penelitian ini 37  $^{\circ}$ C, enzim mengalami penurunan sifat katalitiknya. Apabila suhu sistem terus meningkat melebihi optimum, maka aktivitas enzim akan terhambat dan akan kehilangan sifat katalitiknya (Pelezar & Chan, 1981).



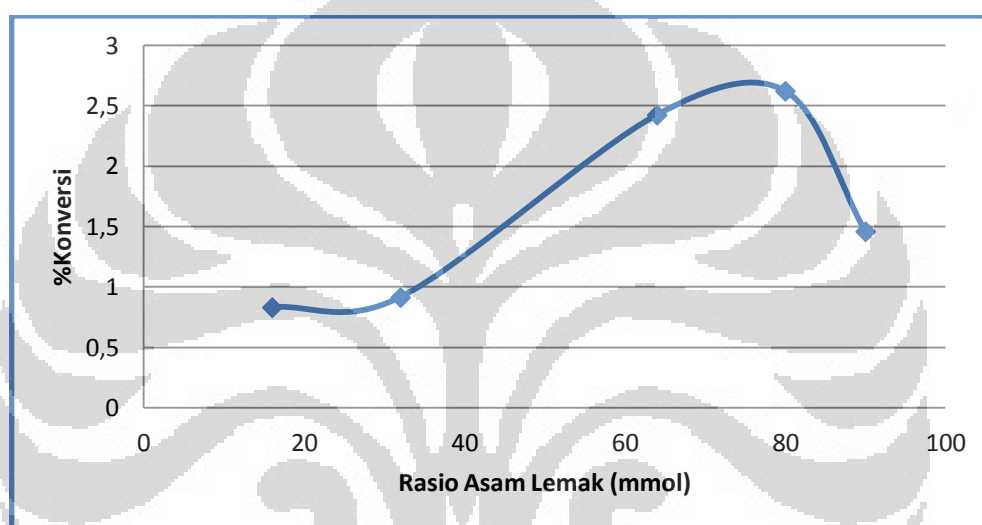
Berdasarkan penelitian sebelumnya, lipase *Candida rugosa* bebas memerlukan suhu 30°C untuk mencapai aktivitas optimumnya (Novianingsih, 2011). Penelitian lain mengatakan suhu optimum lipase *Candida rugosa* bebas pada suhu 31°C (Fadiloğlu & Soylemez, 1997). Secara teori enzim terimobilisasi memerlukan suhu optimum yang lebih tinggi dibanding enzim bebas, karena enzim imobil yang teradsorpsi pada matriks tidak dapat bergerak secepat *free enzyme* (ÖZTÜRK, 2001). Oleh karena itu, enzim terimobilisasi memerlukan energi lebih untuk dapat bergerak yang menyebabkan terjadinya peningkatan suhu optimum.

#### 4.3.2 Optimasi Rasio Substrat pada Reaksi Esterifikasi

Optimasi yang dilakukan selanjutnya adalah optimasi perbandingan rasio substrat. Optimasi ini dilakukan dengan cara memvariasikan perbandingan mol asam lemak terhadap mol sukrosa yang tetap. Variasi yang dipilih untuk optimasi rasio adalah 1:16; 1:32; 1:64; 1:80; dan 1:96 untuk perbandingan mmol sukrosa terhadap mmol asam lemak. Pemilihan variasi ini didasari penelitian yang dilakukan Dandekar, PP et al (2009) yang melakukan reaksi esterifikasi secara enzimatis menggunakan lipase terhadap substrat fruktosa yang menunjukkan keadaan optimum pada perbandingan rasio 1:10. Byun, H.G (2007) yang melakukan reaksi esterifikasi secara enzimatis menggunakan lipase terhadap substrat gliserol yang menunjukkan keadaan optimum pada perbandingan rasio 1:6. Jumlah gugus hidroksil pada sukrosa adalah 8, berdasarkan penelitian sebelumnya penggunaan perbandingan rasio dua kali gugus hidroksil akan mengoptimalkan reaksi (Novianingsih, 2011). Oleh sebab itu, pemilihan perbandingan rasio pada penelitian ini kelipatan 16. Hubungan jumlah rasio substrat terhadap % Konversi Terlihat pada Tabel 4.5 dan Gambar 4.8.

**Tabel 4.5** Data Pengaruh Rasio Asam Lemak Terhadap %Konversi

Rasio (mmol)	% Konversi
16	0,83
32	0,91
64	2,42
80	2,62
90	1,46

**Gambar 4.8** Grafik Pengaruh Rasio Asam Lemak Terhadap %Konversi

Berdasarkan Gambar 4.10, dapat dilihat bahwa aktivitas enzim terimobilisasi terus meningkat dari perbandingan rasio 1:16 – 1:80. Pada saat perbandingan rasio lebih dari 1:80 aktivitas enzim menurun. Hal ini disebabkan penambahan substrat membuat sistem menjadi *crowded* sehingga substrat sendiri yang akan menjadi inhibitor pada reaksi yang menghalangi kontak enzim-substrat.

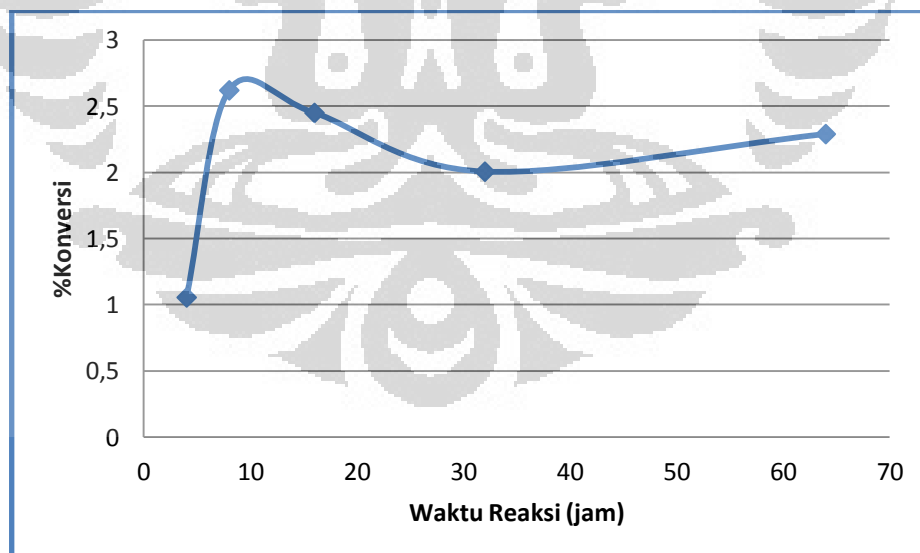
Jika dibandingkan dengan lipase bebas, lipase terimobilisasi membutuhkan rasio yang lebih untuk aktivitas katalitik enzimnya. Hal ini disebabkan lipase yang terimobilisasi bergerak tidak secepat lipase bebas, sehingga substrat yang dibutuhkan untuk mencapai aktivitas optimumnya lebih besar dibandingkan yang dibutuhkan lipase bebas.

### 4.3.3 Optimasi Waktu Reaksi Esterifikasi

Optimasi yang dilakukan selanjutnya adalah optimasi waktu, yang bertujuan untuk mengetahui waktu optimum yang dibutuhkan enzim untuk mengkatalis substrat secara maksimal. Secara teoritis waktu inkubasi akan terus meningkat sampai tercapainya waktu optimum reaksi. Saat reaksi melebihi waktu optimum tidak ada lagi penambahan produk dan jumlah produk akan cenderung konstan. Pengaruh waktu terhadap persen konversi terlihat pada Tabel 4.6 dan Gambar 4.9.

**Tabel 4.6** Data Pengaruh Waktu Reaksi Terhadap % Konversi

Waktu (jam)	% konversi
4	1,06
8	2,62
16	2,45
32	2,01
64	2,29



**Gambar 4.9** Grafik Pengaruh Waktu Terhadap % Konversi

Dari hasil optimasi waktu yang dilakukan, didapat persen konversi meningkat sampai waktu reaksi 8 jam. Saat melebihi 8 jam dari grafik terlihat produk yang dihasilkan cenderung konstan sampai waktu reaksi 64 jam. Adanya pengurangan % konversi pada waktu 8 jam sampai 32 jam disebabkan kemungkinan adanya ester yang terhidrolisis kembali.

#### 4.3.4 Optimasi *Molecular Sieve*

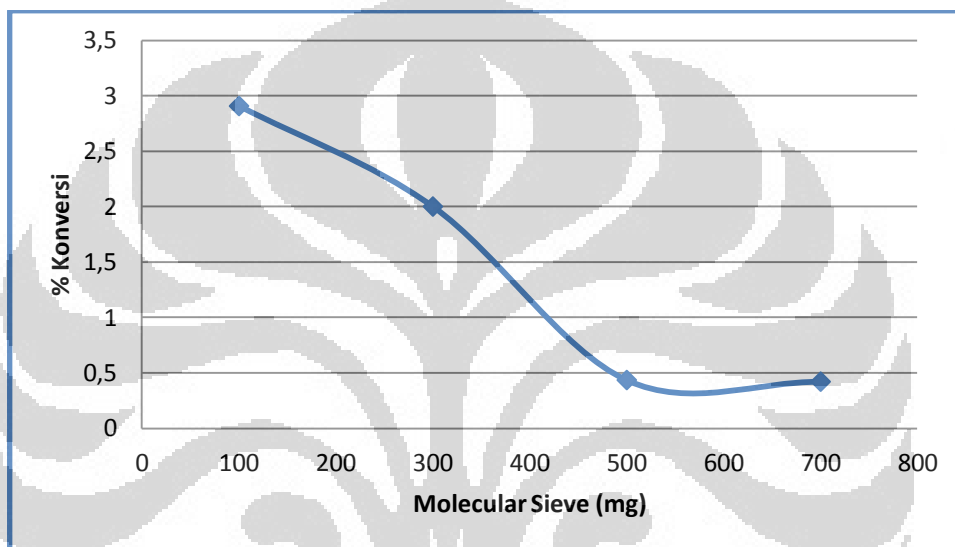
Reaksi esterifikasi merupakan reaksi kesetimbangan, yang produknya dapat kembali menjadi reaktan. Hal ini disebabkan hasil samping reaksi esterifikasi adalah air, sedangkan enzim lipase pada sistem banyak air akan cenderung melakukan reaksi hidrolisis dibandingkan reaksi esterifikasi.

Menurut azas Le Chatelier, jika ingin menggeser suatu keadaan setimbang ke arah produk, maka yang harus dilakukan adalah memperbanyak reaktan atau mengambil produk. Oleh sebab itu dalam penelitian ini dilakukan penambahan *molecular sieve* pada sistem, dengan tujuan air yang terbentuk dari hasil samping esterifikasi akan diserap oleh *molecular sieve*. Tipe *molecular sieve* yang digunakan pada penelitian ini adalah 3Å yang spesifik untuk menarik air, sehingga diharapkan kesetimbangan bergeser ke arah produk dan produk esterifikasi yang terbentuk menjadi lebih banyak.

Optimasi *molecular sieve* ditentukan untuk mencari keadaan optimum reaksi. Secara teoritis, penambahan *molecular sieve* akan meningkatkan hasil esterifikasi. Hal ini berlangsung sampai titik optimumnya, setelah itu penambahan *molecular sieve* tidak akan mempengaruhi jalannya reaksi dan jumlah produk akan konstan. Tabel 4.7 dan Gambar 4.10 menunjukkan pengaruh jumlah *molecular sieve* terhadap % konversi.

**Tabel 4.7** Data Pengaruh Jumlah *Molecular Sieve* Terhadap % Konversi

<i>Molecular Sieve</i>	% Konversi
100	2,90
300	2,00
500	0,43
700	0,42

**Gambar 4.10** Pengaruh *Molecular Sieve* Terhadap % Konversi

Dari Gambar 4.10 terlihat bahwa penggunaan *molecular sieve* sebanyak 100 mg menghasilkan % konversi tertinggi dibandingkan dengan penggunaan jumlah *molecular sieve* yang lebih banyak. Hasil penelitian ini bertentangan dengan teori penggunaan *molecular sieve*. Hal ini dapat terjadi karena penggunaan *molecular sieve* ditujukan pada keadaan reaksi yang menghasilkan banyak air. Pada penelitian ini % konversi optimal mencapai 2,90%. Rendahnya kuantitas substrat yang terkonversi menandakan rendahnya produk dan produk samping yang terbentuk. Oleh sebab itu, penggunaan *molecular sieve* pada sistem ini tidak memberikan dampak seperti yang diharapkan.

Pada penelitian ini substrat yang digunakan, asam lemak, memiliki viskositas yang tinggi. Penggunaan *molecular sieve* menyebabkan sistem menjadi

*crowded*, sehingga kontak antara substrat dan enzim terganggu. Oleh sebab itu, penambahan *molecular sieve* menyebabkan penurunan % konversi.

Berdasarkan hasil seluruh optimasi yang dilakukan, % konversi substrat mencapai 2,90%. Belum tercapainya % konversi yang tinggi disebabkan penggunaan jumlah enzim yang sedikit. Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan Novianingsih (2011), penggunaan lipase bebas untuk reaksi esterifikasi sebanyak 5% dari berat total substratnya atau sekitar 150 mg untuk perbandingan rasio asam lemak sukrosa 1:64 mmol mencapai nilai % konversi 30,56%. Penggunaan lipase terimobilisasi pada reaksi ini sebanyak 150 mg lipase terimobilisasi yang dibuat dari 40 mg enzim dengan penambahan 500 mg silika gel. Selain itu terdapat batas penyerapan enzim pada matriks dan penurunan aktivitas spesifik enzim terimobilisasi. Jika dihitung secara teoritis, total enzim yang ada pada 150 mg silika sekitar 3,65 mg dengan aktivitas spesifik 80,59% dibandingkan dengan enzim bebasnya.

## BAB 5

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Lipase yang telah teradsorpsi pada silika gel masih memiliki sifat katalitik yang terhitung baik. Hal ini terbukti dari efisiensi optimum lipase terimobilisasi sebesar 80,59% dengan % *loading* sebesar 45,63% untuk variasi berat silika gel 500 mg pada reaksi hidrolisis minyak kelapa sawit.
2. Lipase terimobilisasi dapat digunakan sebagai katalis reaksi esterifikasi, dengan nilai % konversi tertinggi asam lemak mencapai 2,90%.
3. Dari hasil optimasi reaksi esterifikasi yang dilakukan, didapat keadaan optimum pada variasi suhu 37°C, perbandingan rasio mmol sukrosa:asam lemak 1:80, waktu inkubasi 8 jam, dan jumlah *molecular sieve* 100 mg.
4. Penggunaan *molecular sieve* yang bertujuan meningkatkan % konversi ternyata memberi dampak sebaliknya, yaitu penurunan % konversi.

#### 5.2 Saran

Beberapa saran yang diusulkan untuk penelitian berikutnya adalah :

1. Menambah variasi optimasi imobilisasi lipase pada matriks silika gel, seperti, optimasi banyak pelarut yang digunakan, kekuatan pengadukan pada *magnetic stirrer*, dan waktu inkubasi imobilisasi untuk meningkatkan % *loading* dan aktifitas katalitik lipase terimobilisasi.
2. Menambah jumlah penggunaan lipase terimobilisasi untuk meningkatkan produk esterifikasi.
3. Menambah variasi optimasi esterifikasi seperti pelarut organik yang digunakan, jumlah pelarut yang digunakan, dan kekuatan pengadukan pada *shaker incubtor* untuk mendapatkan keadaan optimum reaksi esterifikasi.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Adamopoulos, L. (2006). Understanding the Formation of Sugar Fatty Acid Esters.
- Akoh, C. C., & Min, D. B. (2002). *Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology Second Edition, Revised and Expanded*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Balcao, V., & Malcata, F. (1998). Lipase catalyzed modification of milkfat. *Biotechnology advances*, 16, no 2, 309-341.
- Balcao, V., Pavia, A., & Malcata, F. (1996). Bioreactors with immobilized lipases: state of the art. *Enzyme and Microbial Technology*, 18, 392-416.
- 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.
- Cygler, M., & Scharag, J. D. (1999). Structure and Conformational Flexibility of *Candida rugosa* lipase. *Biochimica et Biophysica Acta 1441*, 205-214.
- Dandekar, PP et al. (2009). *Enzymatic synthesis of sucrose ester from mango kernel fat*. India : Institute of Chemical Technology.
- Fadiloğlu, S., & Soylemez, Z. (1997). Kinetics of lipase catalyzed hydrolysis of olive oil. *Food research international*, 30, 171-175.
- Hailing, P. J. (1990). *Solvent selection for biocatalysis in mainly organic systems Predictions of effects on equilibrium position*. *Biotech. Bioeng.* 35: 691-701.
- Hariyadi, Purwiyatno. (2010). Sepuluh karakter unggul minyak sawit. Info Sawit.
- Hashim, H. b., & Salimon, J. (2008). Kajian Pengoptimuman Tindak Balas Hidrolisis Minyak Kacang Soya. *The Malaysian Journal of Analytical Sciences Vol. 12, No. 1*.
- Kaim, W., and Schwederski, B., 1994, *Bioinorganic Chemistry: Inorganic Element in the Chemistry of Life An Introduction and Guide*, John Wiley & Sons Inc, Chichester.



- Ketaren, S. (1986). *Pengantar teknologi minyak dan lemak pangan*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Kirk, Borchert, T. V., & Fuglsang, C. C. (2002). Industrial enzyme applications. *Current Opinion in Biotechnology*, 345–351.
- Klibanov, A. M. (1986). *Enzymes that work in organic solvents*. Chemtech. 16:354-144.
- Laane, C, Tramper, J, dan Lilly, M. D. (Eds). (1987). *Biocatalysis in organic media*. Elsevier, Amsterdam
- Lowry, O. R. (1951). Protein measurement. *Journal of Biological Chemistry*, 265-275.
- Macrae, A. (1983). *Extracellular microbial lipases*. London.
- Maksi, 2007. Sejarah Kelapa Sawit. [http://seafast.ipb.ac.id/maksi/index.php?option=com\\_content&task=view&id=35&Itemid=25](http://seafast.ipb.ac.id/maksi/index.php?option=com_content&task=view&id=35&Itemid=25).
- Mala, J. G. S., Takeuchi, S. (2008). Understanding Structural Features of Microbial Lipases-An Overview. *Analytical Chemistry Insights*, 9-19.
- Minovska, V., Winkelhausen, E., & Kuzmanova, S. (2005). Lipase immobilized by different techniques on various support. *J. Serb. Chem. Soc*, 609–624.
- Nelson, David L. & Cox, Michael M. (2004). *Lehninger Principles of Biochemistry* (4th ed). W. H. Freeman.
- Novianingsih, Ika. (2011). 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 Sarjana Science. Depok: Universitas Indonesia.
- Oliveira P.C, Alves, G., & Castro, H. (2000). Immobilization studies and catalytic properties of microbial lipase onto styrene-divinylbenzene copolymer. *Biochemical engineering journal*, 5, issue, 63-71.
- Oscik, J., 1982, Adsorption, Ellis Horwood Limited, Chichester
- ÖZTÜRK, B. (2001, November 11). Immobilization of Lipase from *Candida rugosa* on Hydrophobic and Hydrophilic Supports. *Immobilization of Lipase from Candida rugosa on Hydrophobic and Hydrophilic Supports*. İzmir, Turkey: İzmir Institute of Technology.

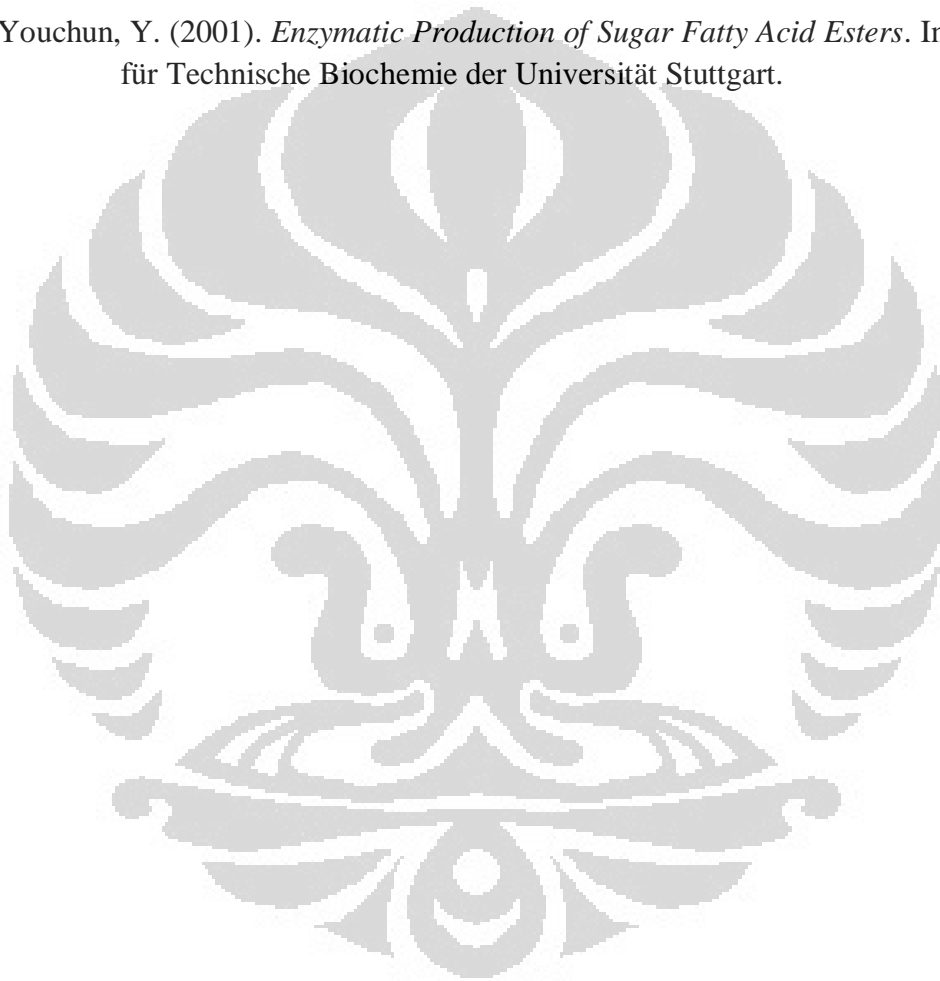
- Pandey, A., Benjamin, S., Soccol, C. R., Nigam, P., Krieger, N., & Soccol, V. (1999). The Realm of Microbial Lipase in Biotechnology. *Biotechnol. Appl. Biochem*, 119-131.
- Pelezar, M. J., & Chan, E. S. (1981). *Element of Microbiology*. McGraw hill Co. New York.
- Perindustrian, Departemen. (2007). *Gambaran sekilas industri minyak kelapa sawit*. Jakarta Selatan.
- Petersen, M., Fojan, P., & Petersen, S. (2001). How do lipases and esterases work: the electrostatic contribution. *Journal of biotechnology*, 85, issue 2, 115-147.
- Redjoso, Muhammad Titis. (2007). Reaksi Hidrolisis Minyak Zaitun Menggunakan Lipase *Rhizopus oryzae* yang di Imobilisasi Melalui Metode Adsorpsi. Skripsi Sarjana Teknik. Depok: Universitas Indonesia.
- 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.
- Sriyanti, Taslimah, Nuryono, & Narsito. (2005). Pengaruh Keasaman Medium dan Imobilisasi Gugus Organik pada Karakter Silika Gel dari Abu Sekam Padi. *JSKA. Vol. VIII. No.3*, 1-12.
- 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.
- Tischer, W., & Wedekind, F. (1999). Immobilized Enzymes: Methods and Applications. *Topics in Current Chemistry, Vol. 200*, 96-123.
- Villeneuve, P., Muderhwa, J., Graille, J., & Haas, M. (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.
- Verma, M. L., Azmi, W., Kanwar, S. S. (2011). Enzymatic Synthesis of Isopropyl Acetat by Immobilized *Bacillus Cereus* Lipase in Organic Medium. *Enzyme Research*, 1-7.
- Wulan, R. P., Rejoso, M. T., & Hermansyah, H. (2007). Reaksi Hidrolisis Minyak Zaitun Menggunakan Lipase *Rhizopus*.

Yamamoto, T., & Kimani, K. (1986). Production of Sucrose Fatty Acid Polyester. *US Patent, No. 4,611,055.*

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. S., Park, S. J., & Yoon, H. H. (2007). Enzymatic Synthesis of Sugar Fatty Acid Esters. *J. Ind. Eng. Chem*, 1-6.

Youchun, Y. (2001). *Enzymatic Production of Sugar Fatty Acid Esters.* Institut für Technische Biochemie der Universität Stuttgart.



## LAMPIRAN

### 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	35,50	256	90,88
Stearat, C18	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

## Komposisi Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit

Asam Lemak	Rumus	% Terhadap Asam Lemak Total		
		Kisaran*	Rata-rata*	Persentase**
Asam Minisat	C14:0	0,9 0-1,5	1,1	1
Asam Palmitat	C16:0	41,8 – 45,8	44,0	44,3
Asam Stearat	C18:0	4,2 – 5,1	4,5	4,6
Asam Oleat	C18:1	37,3 – 40,8	39,2	38,7
Asam Linoleat	C18:2	9,1 – 11,0	10,1	10,5
Asam Laurat	C12:0	0,1-1,0	0,2	0,9
Asam Palmitoleat	C16:1	0,1 – 0,3	0,1	
Asam Linolenat	C18:3	0,0 – 0,6	0,4	
Asam Ara Chidat	C20:0	0,2 – 0,7	0,4	

[Sumber: Hariyadi, 2010\* & Departemen Perindustrian, 2007\*\*]

## Lampiran 3

## Perhitungan Penentuan Rasio Bahan

## 1. Penentuan Masa Jenis Asam Lemak

Penentuan masa jenis asam lemak digunakan piknometer 10 mL.

$$\text{Masa asam lemak} = 8,4050 \text{ g}$$

$$\rho \text{ asam lemak} = \frac{8,4050 \text{ gr}}{10 \text{ ml}} = 0,8405 \text{ g/mL}$$

## 2. Penentuan Masa dan Volum Asam Lemak

$$\text{Masa} = \text{mmol} \times \text{Mr}$$

$$= 1,6 \text{ mmol} \times 271 \text{ mg/mmol}$$

$$= 433,6 \text{ mg}$$

$$\text{Volum} = \frac{0,4336 \text{ g}}{0,8405 \text{ g/mL}} = 0,5158 \text{ mL}$$

## 3. Penentuan Masa Sukrosa

$$1 \text{ ml sukrosa } 0,1 \text{ M} = 0,1 \text{ mmol}$$

$$\text{Masa} = \text{mmol} \times \text{Mr}$$

$$= 0,1 \text{ mmol} \times 342,2 \text{ mg/mmol}$$

$$= 34,22 \text{ mg}$$

## 4. Penentuan Volum Pelarut (n-heksan)

$$\text{Volum n-heksan} = \text{Volum sukrosa} + \text{volum asam lemak}$$

$$= 1 \text{ mL} + 0,5 \text{ mL}$$

$$= 1,5 \text{ mL}$$

## Lampiran 4

## Perhitungan Hasil Reaksi

1. Penentuan Aktivitas Enzim melalui reaksi hidrolisis

$$= \frac{(\text{volum NaOH sampel} - \text{Volum NaOH blanko}) \times N \text{ NaOH} \times 1000}{\text{massa minyak} \times \text{waktu (menit)}}$$

2. Penentuan Aktivitas Spesifik Enzim

$$= \frac{\text{aktivitas enzim}}{\text{mg enzim}}$$

3. Perhitungan % Konversi Asam Lemak

$$= \frac{(\text{volum blanko} - \text{volum sampel}) \times N \text{ NaOH} \times 100\%}{\text{mol asam lemak awal}}$$

Lampiran 5  
Perhitungan Imobilisasi Lipase

1. Perhitungan % *Loading*

Untuk menghitung % *loading* dari enzim yang terimmobilisasi dapat ditentukan

dengan persamaan: 
$$\frac{C_i V_i - C_f V_f}{C_i V_i} \times 100 \%$$

Keterangan:  $C_i$  = konsentrasi awal  
 $V_i$  = volume awal  
 $C_f$  = konsentrasi akhir  
 $V_f$  = volume akhir

2. Penentuan Jumlah Lipase Terimmobilisasi

= % *loading* x 40 mg lipase

3. Penentuan Berat Akhir Lipase Terimmobilisasi

= berat silika awal (mg) x 1,5

4. Penentuan Jumlah Lipase yang Digunakan

= 
$$\frac{\text{jumlah lipase terimmobilisasi} \times \text{berat lipase terimmobilisasi yang digunakan}}{\text{berat lipase terimmobilisasi}}$$

5. Efisiensi Enzim Terimmobilisasi

= 
$$\frac{\text{aktivitas spesifik enzim terimmobilisasi} \left(\frac{u}{mg}\right)}{\text{aktivitas spesifik enzim bebas} \left(\frac{u}{mg}\right)}$$



Lampiran 6  
Absorbansi Sampel

1. Absorbansi BSA

[BSA] ppm	A, Blanko	A, Sampel
100	0,117	0,246
200	0,117	0,363
300	0,117	0,454
400	0,117	0,597
500	0,117	0,691

2. Absorbansi Sisa Larutan Lipase Terimobilisasi

Silika (mg)	Absorbansi	Volum Larutan (mL)
100	0,309	25
250	0,307	25
500	0,265	25
750	0,368	10
1000	0,316	10

## Lampiran 7

## Data Titration Asam Lemak untuk Reaksi Hidrolisis Lipase Terimobilisasi

Silika	Molaritas NaOH	Erlenmeyer	Volum NaOH (mL)
100		1	9,3
		2	9,45
		3	9,2
		Blanko	8,9
250		1	8,8
		2	8,7
		3	8,9
		Blanko	8,45
500	0,09422	1	8,5
		2	8,6
		3	8,7
		Blanko	7,85
750		1	7,25
		2	7,3
		3	7,15
		Blanko	6,9
1000		1	7,05
		2	7
		3	7
		Blanko	6,9

Lampiran 8  
Data Titrasi Asam Lemak Sisa untuk Variasi Suhu

Suhu (°C)	Erlenmeyer	Volum NaOH (mL)	Molaritas NaOH
30	1	14,10	0,0926
	2	14,00	
	Blanko	14,50	
35	1	13,60	
	2	14,60	
	3	14,25	
	Blanko	15,15	
37	1	19,20	
	2	17,70	
	3	17,80	
	Blanko	19,75	
40	1	13,50	
	2	12,85	
	3	13,20	
	Blanko	14,10	
45		13,00	0,1001
		12,15	
	Blanko	13,2	

## Lampiran 9

## Data Titration Asam Lemak Sisa untuk Variasi Rasio Asam Lemak

Rasio (mmol)	Erlenmyer	Volum NaOH (mL)	Molaritas NaOH
1,55	1	3,35	0,1031
	2	3,40	
	Blanko	3,50	
3,10	1	4,55	0,1031
	2	5,00	
	Blanko	5,05	
6,20	1	10,0	0,0859
	2	10,5	
	Blanko	12,00	
8,06	1	16,50	0,1031
	2	17,40	
	Blanko	20,00	
9,61	1	14,60	0,0859
	2	13,20	
	3	14,70	
	Blanko	15,80	

## Lampiran 10

## Data Titrasi Asam Lemak Sisa untuk Variasi Waktu

Waktu (jam)	Erlenmeyer	Volum NaOH (mL)	Molaritas NaOH
4	1	16,5	0,0859
	2	15,5	
	3	14,9	
	Blanko	16,625	
8	1	16,5	0,1031
	2	17,4	
	Blanko	19	
16	1	20	0,0859
	2	18,5	
	Blanko	21,55	
32	1	20,8	0,0859
	2	18	
	3	18,55	
	Blanko	21	
64	1	27	0,0859
	2	26,1	
	Blanko	30,7	

## Lampiran 11

Data Titration Asam Lemak Sisa untuk Variasi *Molecular Sieve*

<i>Molecular Sieve</i> (mg)	Erlenmeyer	Vol NaOH (mL)	Molaritas NaOH
0,1	1	15,7	0,1042
	2	15	
	Blanko	17,6	
0,3	1	12,8	0,1002
	2	12,5	
	Blanko	14,2	
0,5	1	18	0,1042
	2	18	
	Blanko	18,35	
0,7	1	19,85	0,1042
	2	19,5	
	Blanko	20	

## Lampiran 12

Data Spesifikasi Lipase *Candida rugosa*

Sigma-Aldrich Certificate of Analysis http://buchprsv05.europe.sial.com/anpr/cofa3.php?az\_charge=1298612...

**SIGMA-ALDRICH** **Fluka**  
Analytical

Industriestrasse 25, CH-9471 Buchs (SG), Switzerland  
Tel: +41 81 756 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 <sub>2</sub> 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	

*E. Schwarz*  
 Edeltraud Schwarzler, 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 13

## Spektrum FT-IR Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit

