



UNIVERSITAS INDONESIA

**STUDI OPTIMASI REAKSI ESTERIFIKASI ANTARA ASAM
LEMAK HASIL HIDROLISIS MINYAK KELAPA SAWIT
DENGAN SUKROSA MENGGUNAKAN LIPASE *Candida
rugosa* EC 3.1.1.3 TERIMMOBILISASI PADA MATRIKS
ZEOLIT**

SKRIPSI

AHMAD BAIHAQI

0806452721

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI KIMIA

DEPOK

JULI 2012



UNIVERSITAS INDONESIA

**STUDI OPTIMASI REAKSI ESTERIFIKASI ANTARA ASAM
LEMAK HASIL HIDROLISIS MINYAK KELAPA SAWIT
DENGAN SUKROSA MENGGUNAKAN LIPASE *Candida
rugosa* EC 3.1.1.3 TERIMMOBILISASI PADA MATRIKS
ZEOLIT**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana sains

AHMAD BAIHAQI

0806452721

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 : Ahmad Baihaqi

NPM : 0806452721

Tanda Tangan :



Tanggal : 4 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Ahmad Baihaqi
NPM : 0806452721
Program Studi : Kimia S1 Reguler
Judul Skripsi : Studi Optimasi Reaksi Esterifikasi antara Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit dengan Sukrosa Menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 Terimmobilisasi pada Matriks Zeolit.

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

DEWAN PENGUJI

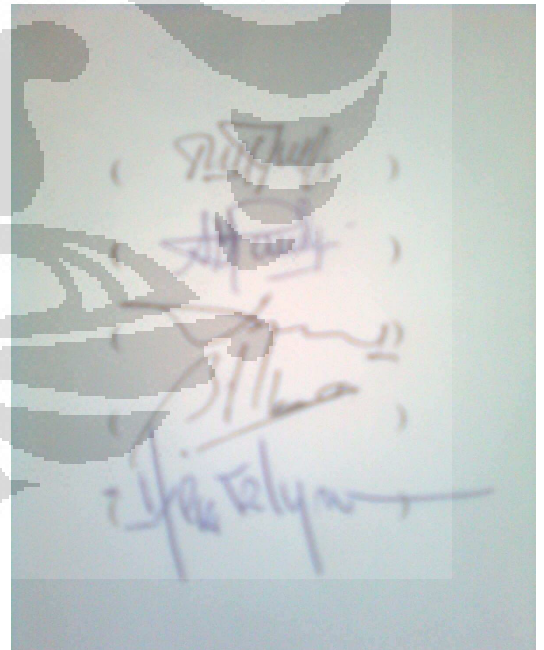
Pembimbing : Prof. Dr. Sumi Hudyono, PWS

Pembimbing : Dra. Sri Handayani, M.Biomed

Penguji : Dra. Siswati Setiasih Apt, M.Si

Penguji : Dr. rer. nat. Budiawan

Penguji : Dr. Ir. Antonius Herry Cahyana



Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 4 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, berkah dan karunia-Nya sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Studi Optimasi Reaksi Esterifikasi antara Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit dengan Sukrosa Menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 Terimmobilisasi pada Matriks Zeolit” ini tepat pada waktunya. Tugas akhir ini disusun untuk memenuhi salah satu persyaratan akademis untuk meraih gelar Sarjana Sains di Program Studi S1 Kimia, Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia.

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

1. Bapak Prof. Dr. Sumi Hudyono, PWS dan Ibu Dra. Sri Handayani M.Biomed, selaku dosen pembimbing, yang telah membimbing, memberi pengarahan, bantuan moril dan materil dalam penyusunan tugas akhir ini. Terima kasih atas segala bantuannya.
2. Kedua orangtua, kakak dan adik atas saran, motivasi, perhatian, kasih sayang, do'a yang tak pernah putus dan dukungan baik moril dan materil yang tak akan habis terbalas.
3. Ibu Dra. Siswati Setiasih Apt, M.Si, Bapak Dr. rer. nat. Budiawan, dan Bapak Dr. Ir. Antonius Herry Cahyana, selaku penguji yang telah memberi pengarahan pada penelitian ini.
4. Bapak Dr. Yoki Yulizar, Drs. Markus Sutiono yang telah memberikan bantuan bahan-bahan penelitian.
5. Bapak Dr. Ridla Bakri, selaku Ketua Departemen Kimia, Universitas Indonesia.
6. Mba Emma, Mba Tri, Mba Ina, Mba Cucu, selaku laboran Departemen Kimia, yang telah membantu dalam mendapatkan bahan-bahan penelitian dan berdiskusi mengenai penelitian.
7. Kak Awe dan Kak Ikan, yang telah bersedia memberikan saran dan bantuan serta diskusinya.

8. Bali, Sari, serta 3D (Desti, Dian, dan Dilah) sebagai teman seperjuangan dalam melaksanakan penelitian ini. Terima kasih telah membantu berdiskusi dan kerjasamanya.
9. Dini, Adde, Ocha, Vina, Rina, Edo, dan Helen sebagai teman berbagi kisah suka dan duka.
10. Jojon, Boy, dan Adi sebagai teman menghabiskan waktu luang dengan bermain *video game*.
11. Teman-teman lantai 4, Prilly, Decil, Esti, Hafiz, Putri, Daniel, Intan, Rasti, Lidya, Kak Widi, Linyo, Kak Fani dan teman-teman S2 lainnya.
12. Teman-teman lantai 3, Andi, Hadi, Reza, Budi, Asa, Pandu, Dewi, Nia, Mika, Michu, Khusnul, One, Asef, Kak Habibah, Inna, Irna, dan teman-teman lainnya.
13. Kakak dan teman-teman Laboratorium Afiliasi Departemen Kimia FMIPA UI.
14. Seluruh karyawan Departemen Kimia FMIPA UI atas segala bantuannya, terutama untuk Pak Sutrisno (Babeh), Pak Amin, Pak Kiri, Pak Wito, dll.
15. Teman-teman angkatan 2008 yang selama empat tahun terakhir ini berjuang bersama di Departemen Kimia.
16. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu yang telah membantu dalam penelitian dan penyusunan tugas akhir ini.

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

Penulis,

2012

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

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

Nama : Ahmad Baihaqi
NPM : 0806452721
Program Studi : S1 Kimia 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 Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Studi Optimasi Reaksi Esterifikasi antara Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit dengan Sukrosa Menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 Terimmobilisasi pada Matriks Zeolit

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

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 4 Juli 2012

Yang menyatakan,



(Ahmad Baihaqi)

ABSTRAK

Nama : Ahmad Baihaqi
Program Studi : S1 Kimia Reguler
Judul : Studi Optimasi Reaksi Esterifikasi antara Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit dengan Sukrosa Menggunakan Lipase *Candida rugosa* EC 3.1.1.3 Terimmobilisasi pada Matriks Zeolit

Ester asam lemak sukrosa dapat disintesis melalui esterifikasi antara sukrosa dengan asam lemak menggunakan lipase *Candida rugosa* bebas pada *buffer* pH 8. Pada penelitian ini, ester asam lemak sukrosa disintesis melalui esterifikasi antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa menggunakan lipase *Candida rugosa* yang terimmobilisasi pada matriks zeolit. Immobilisasi lipase *Candida rugosa* menunjukkan % *loading efficiency* terbesar sebesar 78,31% dan % aktivitas immobilisasi terbesar sebesar 10,475%. Optimasi reaksi esterifikasi dilakukan pada beberapa parameter, yaitu suhu, rasio substrat, waktu inkubasi dan berat *molecular sieve* untuk menghasilkan persentase konversi terbesar. Kondisi optimum diperoleh pada suhu 40 °C, rasio mol asam lemak dengan sukrosa 64:1, waktu inkubasi 32 jam, serta berat *molecular sieve* 1,1 gram dengan % konversi sebesar 3,698%.

Kata kunci : ester asam lemak sukrosa, lipase *Candida rugosa*, sukrosa, asam lemak minyak kelapa sawit, zeolit, immobilisasi.

xiii + 53 halaman : 23 gambar; 11 tabel; 13 lampiran

Daftar Pustaka : 27 (1986-2011)

ABSTRACT

Name : Ahmad Baihaqi
Study Programe : Chemistry
Title : Optimization Study of Esterification Reaction between Fatty Acid Obtained from Hydrolyzed Palm Oil with Sucrose Using Immobilized *Candida rugosa* Lipase EC 3.1.1.3 on Zeolite.

Sucrose fatty acid esters can be synthesized via esterification between sucrose with fatty acids enzymatically using free *Candida rugosa* lipase in buffer pH 8. In this study, sucrose fatty acid esters are synthesized by esterification between fatty acid obtained from hydrolyzed palm oil with sucrose used immobilized *Candida rugosa* lipase on zeolite. The highest % loading efficiency for immobilized lipase was 78.31% with highest % immobilizing activity 10.475%. Optimization of esterification reaction carried out on several parameters, such as temperature, substrate ratio, incubation time and the weight of molecular sieve to produce the largest percentage of conversion. The optimum condition is obtained at temperature in 40 °C, mole ratio in 64:1 fatty acids with sucrose, for 32 hours incubation time, and 1.1 grams of molecular sieve with 3,698% conversion.

Key words : sucrose fatty acid esters, *Candida rugosa* lipase, sucrose, palm oil fatty acid, zeolite, immobilize.

xiii + 53 pages : 23 pictures, 11 tables, 13 appendixes

References : 27 (1986-2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....	vi
ABSTRAK.....	vii
ABSTACT.....	viii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Hipotesis.....	2
1.5 Manfaat Penelitian.....	2
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	3
2.1 Tanaman Kelapa Sawit.....	3
2.2 Minyak Kelapa Sawit.....	5
2.3 Sukrosa.....	6
2.4 Lipase <i>Candida Rugosa</i>	6
2.5. Imobilisasi Enzim.....	8
2.6 Zeolit.....	8
2.7 <i>Molecular Sieve</i>	10
2.8 Reaksi Esterifikasi.....	10
2.9 Ester Asam Lemak-Glukosa.....	11
2.10 Analisis Gugus Fungsi.....	12
BAB 3 METODE PENELITIAN.....	14
3.1 Alat dan Bahan.....	14
3.1.1 Alat.....	14
3.1.2 Bahan.....	14
3.1.2.1 Enzim.....	14
3.1.2.2 Bahan Kimia.....	14

3.2	Prosedur Penelitian.....	15
3.2.1	Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit.....	15
3.2.2	Imobilisasi Lipase <i>Candida rugosa</i>	15
3.2.2.1	Penentuan Konsentrasi Protein yang Terimobilisasi.....	16
3.2.2.2	Penentuan % Aktivitas Immobilisasi.....	16
3.2.3	Sintesis Ester Sukrosa.....	17
BAB 4	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	19
4.1	Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit.....	19
4.2	Immobilisasi Lipase <i>Candida rugosa</i> pada Matriks Zeolit.....	20
4.2.1	Aktivasi Zeolit.....	20
4.2.2	Immobilisasi Lipase <i>Candida rugosa</i>	23
4.2.3	% <i>Loading Efficiency</i>	25
4.2.4	% Aktivitas Immobilisasi.....	27
4.3	Reaksi Esterifikasi.....	29
4.3.1	Optimasi Reaksi Esterifikasi.....	30
4.3.3.1	Optimasi Suhu.....	30
4.3.3.2	Optimasi Rasio Substrat.....	31
4.3.3.3	Optimasi Waktu Inkubasi.....	32
4.3.3.4	Optimasi Berat <i>Molecular Sieve</i>	33
BAB 5	PENUTUP.....	35
5.1	Kesimpulan.....	35
5.2	Saran.....	35
DAFTAR	PUSTAKA.....	37

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Peta Persebaran Luas Lahan dan Produksi Kelapa Sawit.....	4
Gambar 2.2	Struktur Molekul Sukrosa.....	6
Gambar 2.3	Struktur 3 Dimensi Lipase <i>Candida rugosa</i>	7
Gambar 2.4	Struktur Dasar Zeolit.....	9
Gambar 2.5	Reaksi Esterifikasi dengan Katalis Asam.....	11
Gambar 2.6	Struktur Poliester Sukrosa.....	12
Gambar 3.1	Skema Kerja secara Umum.....	18
Gambar 4.1	Reaksi Trigliserida Minyak Kelapa Sawit dengan Katalis Basa.....	19
Gambar 4.2	Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit pada Suhu Ruang.....	20
Gambar 4.3	Zeolit. (a) Sebelum Aktivasi, (b) Sesudah Aktivasi.....	21
Gambar 4.4	Spektrum FT-IR Zeolit. Sebelum Aktivasi (Merah), Sesudah Aktivasi (Biru).....	22
Gambar 4.5	Gambar Zeolit Sebelum Immobilisasi Enzim Menggunakan FE-SEM dengan Detektor SE. (a) 10.000 kali, (b) 50.000 kali, (c) 100.000 kali.....	23
Gambar 4.6	Enzim Immobilisasi Setelah Pengeringan.....	24
Gambar 4.7	Gambar Zeolit Setelah Immobilisasi Enzim Menggunakan FE-SEM dengan Perbedaan Detektor pada Perbesaran 10.000 kali. (a) SE, (b) BSE.....	24
Gambar 4.8	Grafik Absorbansi terhadap Konsentrasi Standar BSA.....	25
Gambar 4.9	Grafik Pengaruh Rasio Substrat terhadap % <i>Loading Efficiency</i> dan Berat Enzim yang Masuk.....	26
Gambar 4.10	Grafik Pengaruh Suhu terhadap % Aktivitas Immobilisasi.....	27
Gambar 4.11	Grafik Pengaruh Rasio Substrat terhadap % Aktivitas Immobilisasi.....	28
Gambar 4.12	Produk Hasil Reaksi.....	29
Gambar 4.13	Grafik Optimasi Suhu Reaksi Esterifikasi.....	30
Gambar 4.14	Grafik Optimasi Rasio Reaksi Esterifikasi.....	32
Gambar 4.15	Grafik Optimasi Waktu Inkubasi Reaksi Esterifikasi.....	33
Gambar 4.16	Grafik Optimasi Berat <i>Molecular Sieve</i> Reaksi Esterifikasi.....	34

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Taksonomi Pohon Kelapa Sawit.....	3
Tabel 2.2 Kadar Asam Lemak Dalam Minyak sawit.....	5
Tabel 4.1 Identifikasi Gugus Fungsi Spektrum IR Zeolit Sebelum Aktivasi dan Sesudah Aktivasi.....	22
Tabel 4.2 Data Absorbansi terhadap Konsentrasi Standar BSA.....	25
Tabel 4.3 Data % <i>Loading Efficiency</i> terhadap Rasio Substrat.....	26
Tabel 4.4 Data % Aktivitas Immobilisasi terhadap Suhu.....	27
Tabel 4.5 Data % Aktivitas Immobilisasi terhadap Rasio Substrat.....	28
Tabel 4.6 Pengaruh Suhu terhadap % Konversi.....	30
Tabel 4.7 Pengaruh Rasio Substrat terhadap % Konversi.....	31
Tabel 4.8 Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap % Konversi.....	33
Tabel 4.9 Pengaruh Berat <i>Molecular Sieve</i> terhadap % Konversi.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan BM Hidrolisat Minyak Kelapa Sawit.....	40
Lampiran 2 Data Analisis Kandungan Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit.....	41
Lampiran 3 Perhitungan Rasio Bahan.....	43
Lampiran 4 Perhitungan Hasil Reaksi.....	44
Lampiran 5 Perhitungan Immobilisasi Enzim.....	45
Lampiran 6 Absorbansi Sampel.....	46
Lampiran 7 Data Titrasi Asam Lemak Sisa Variasi Suhu.....	47
Lampiran 8 Data Titrasi Asam Lemak Sisa Variasi Rasio Substrat.....	48
Lampiran 9 Data Titrasi Asam Lemak Sisa Variasi Waktu.....	49
Lampiran 10 Data Titrasi Asam Lemak Variasi <i>Molecular Sieve</i>	50
Lampiran 11 Spektrum IR Zeolit Sebelum dan Sesudah Aktivasi.....	51
Lampiran 12 Spektrum IR Sukrosa	52
Lampiran 13 Spektrum IR Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit.....	53

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ester asam lemak sukrosa merupakan salah satu jenis karbohidrat poliester dengan inti sukrosa sebagai karbohidrat. Ester asam lemak sukrosa dibedakan menjadi dua, yaitu ester asam lemak sukrosa dan poliester sukrosa. Poliester asam lemak karbohidrat dengan derajat substitusi yang lebih besar antara 4-8 merupakan molekul yang bersifat lipofilik, serta tidak dapat dicerna dan diserap yang digunakan sebagai *fat replacer* (Adamopoulos, 2006).

Ester asam lemak sering dimodifikasi, baik untuk bahan makanan maupun untuk bahan surfaktan, aditif, detergen, dan lain sebagainya. Modifikasi ini tentunya akan menambah daya guna ester asam lemak ini. Metode yang biasa digunakan untuk membentuk ester asam lemak adalah dengan cara reaksi esterifikasi, interesterifikasi, alkoholisis, dan asidolisis (Tarigan, 2009).

Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan esterifikasi antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa menggunakan lipase *Candida rugosa* (Novianingsih, 2011). Kelemahan reaksi secara enzimatis, selain karena biaya, juga karena enzim tidak stabil terhadap kondisi yang berubah-ubah, ketersediaannya dalam jumlah yang kecil, dan juga kesulitan untuk memperoleh kembali enzim tersebut dari larutan di akhir proses katalisis. Oleh karena itu, modifikasi enzim dengan cara immobilisasi dewasa ini menjadi perhatian dalam perindustrian.

Immobilisasi enzim pada suatu matriks yang *inert* dan tidak larut memiliki beberapa keuntungan, salah satunya cenderung menstabilkan struktur enzim, sehingga meningkatkan ketahanan enzim terhadap kondisi pH, suhu, dan pelarut organik (Matsumoto dan Ohashi, 2003). Immobilisasi enzim diketahui juga mengurangi biaya operasional pada proses industri (Da Silva, *et al.*, 2008).

Pada penelitian ini dilakukan esterifikasi menggunakan substrat yang sama dengan penelitian sebelumnya. Namun, pada penelitian ini lipase *Candida rugosa*

diimmobilisasi pada suatu matriks, yaitu zeolit. Selain itu, pada esterifikasi ditambahkan *molecular sieve* untuk menarik produk samping, yaitu air, agar kesetimbangan reaksi tidak berbalik arah ke reaksi hidrolisis (Tarigan, 2009).

1.2 Perumusan Masalah

1. Perlu diketahui cara immobilisasi lipase *Candida rugosa* pada matriks zeolit.
2. Perlu diketahui suhu, waktu inkubasi, berat *molecular sieve* dan rasio substrat reaksi esterifikasi antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa untuk mendapatkan persen konversi ester sukrosa terbesar.

1.3 Tujuan Penelitian

1. Melakukan immobilisasi lipase *Candida rugosa* pada matriks zeolit sebagai katalis untuk reaksi esterifikasi antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa.
2. Mendapatkan kondisi optimum dari reaksi esterifikasi antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa menggunakan lipase *Candida rugosa* terimmobilisasi pada matriks zeolit.

1.4 Hipotesis

1. Lipase *Candida rugosa* dapat diimmobilisasi pada matriks zeolit dengan mempertahankan aktivitas katalitiknya.
2. Suhu, waktu inkubasi, berat *molecular sieve* dan rasio substrat reaksi esterifikasi antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa berpengaruh terhadap persentase konversi ester sukrosa.

1.5 Manfaat Penelitian

Melalui studi ini akan diketahui kondisi optimum reaksi esterifikasi antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa melalui bantuan lipase *Candida rugosa* terimmobilisasi pada matriks zeolit. Kondisi optimum ini didapatkan pada skala laboratorium, yang nantinya dimungkinkan untuk ditindaklanjuti dalam skala semi atau bahkan reaktor.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kelapa Sawit

Tanaman kelapa sawit umumnya digunakan untuk pertanian komersil berupa produk minyak kelapa sawit. Pohon kelapa sawit Afrika, *Elaeis guineensis*, berasal dari Afrika barat di antara Angola dan Gambia. Selain itu, pohon kelapa sawit Amerika, *Elaeis oleifera*, berasal dari Amerika Tengah dan Amerika Selatan.

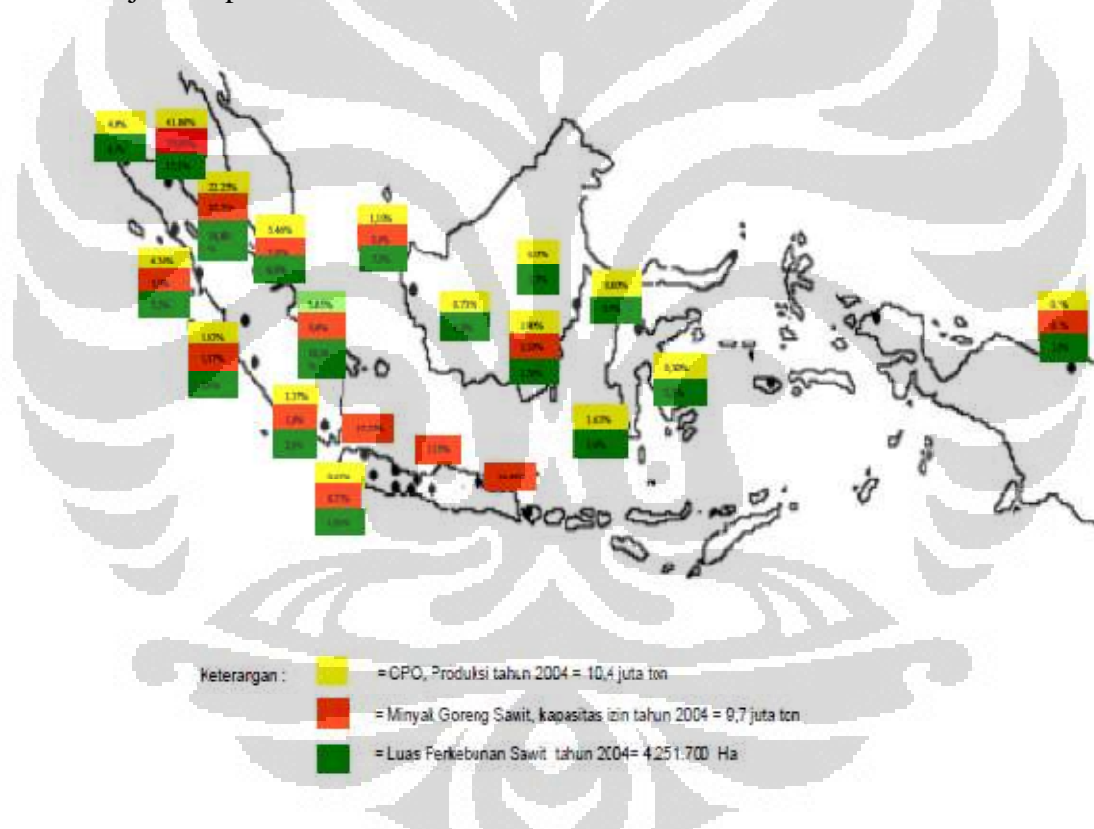
Kelapa sawit termasuk tumbuhan pohon yang tingginya dapat mencapai 24 meter. Bunga dan buahnya berupa tandan, serta bercabang banyak. Buahnya kecil dan apabila masak, berwarna merah kehitaman. Daging buahnya padat. Daging dan kulit buahnya mengandung minyak. Minyaknya digunakan sebagai bahan minyak goreng, sabun, dan lilin. Ampasnya dimanfaatkan untuk makanan ternak, khususnya sebagai salah satu bahan pembuatan makanan ayam. Tempurungnya digunakan sebagai bahan bakar dan arang. Taksonomi pohon kelapa sawit ditunjukkan pada Tabel 2.1 di bawah ini:

Tabel 2.1 Taksonomi Pohon Kelapa Sawit

Kingdom :	Tumbuhan
Divisi :	Magnoliophyta
Kelas :	Liliopsida
Ordo :	Arecales
Famili :	Arecaceae
Jenis :	<i>Elaeis</i>
Spesies :	<i>Guineensis</i>

[Sumber: Gambaran Sekilas Industri Kelapa Sawit, Depperin]

Kelapa sawit, sebagai tanaman penghasil minyak sawit dan inti sawit, merupakan salah satu primadona tanaman perkebunan yang menjadi sumber penghasil devisa non migas bagi Indonesia. Ceraahnya prospek komoditi minyak kelapa sawit dalam perdagangan minyak nabati dunia telah mendorong pemerintah Indonesia untuk memacu pengembangan areal perkebunan kelapa sawit. Berkembangnya sub-sektor perkebunan kelapa sawit di Indonesia tidak lepas dari adanya kebijakan pemerintah yang memberikan berbagai insentif, terutama kemudahan dalam hal perijinan dan bantuan subsidi investasi untuk pembangunan perkebunan rakyat dan dalam pembukaan wilayah baru untuk areal perkebunan besar swasta. Persebaran luas lahan dan produksi kelapa sawit ditunjukkan pada Gambar 2.1 di bawah ini:



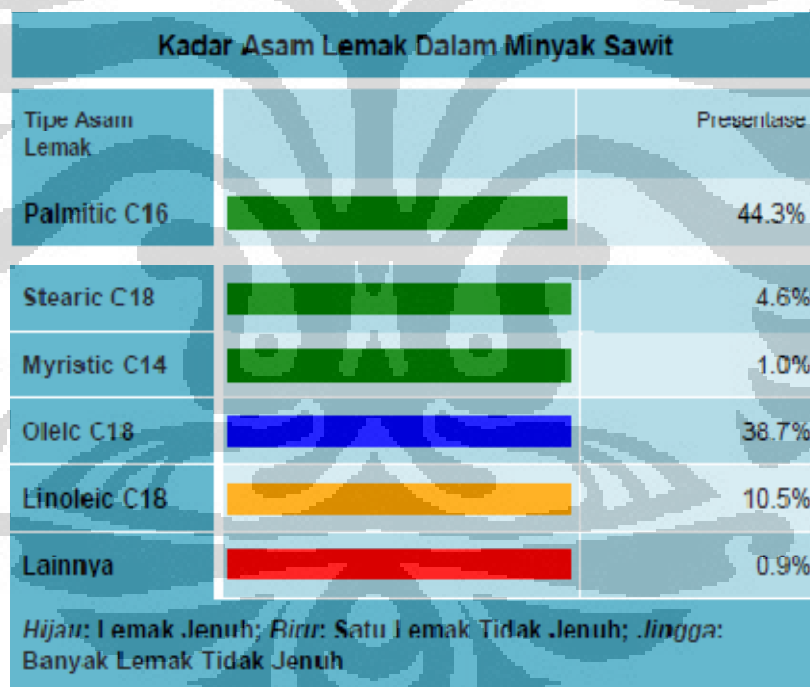
[Sumber: Pusat Data dan Informasi Departemen Perindustrian]

Gambar 2.1 Peta Persebaran Luas Lahan dan Produksi Kelapa Sawit

2.2 Minyak Kelapa Sawit

Produk minyak kelapa sawit sebagai bahan makanan mempunyai dua aspek kualitas. Aspek pertama berhubungan dengan kadar dan kualitas asam lemak, kelembaban, dan kadar kotoran. Aspek kedua berhubungan dengan rasa, aroma dan kejernihan serta kemurnian produk. Kelapa sawit bermutu prima (SQ, *Special Quality*) mengandung asam lemak (FFA, *Free Fatty Acid*) tidak lebih dari 2 % pada saat pengapalan. Kualitas standar minyak kelapa sawit mengandung tidak lebih dari 5 % FFA. Setelah pengolahan, kelapa sawit bermutu akan menghasilkan rendemen minyak 22,1 % - 22,2 % (tertinggi) dan kadar asam lemak bebas 1,7 % - 2,1 % (terendah). Kadar asam lemak dalam minyak sawit ditunjukkan pada Tabel 2.2 di bawah ini:

Tabel 2.2 Kadar Asam Lemak Dalam Minyak sawit

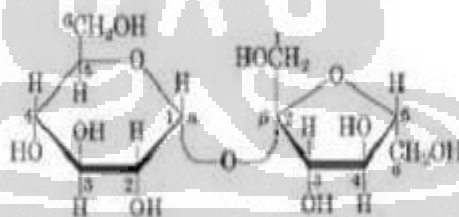


[Sumber: Gambaran Sekilas Industri Kelapa Sawit, Depperin]

2.3 Sukrosa

Sukrosa ($C_{12}H_{22}O_{11}$), atau yang biasa dikenal sebagai gula pasir, merupakan jenis gula yang terdapat paling banyak di alam. Gula ini dapat diperoleh dari batang tebu, nira palem, dll. Sukrosa merupakan senyawa disakarida yang tersusun atas molekul glukosa dan fruktosa (Barkah, 2011). Selain itu sukrosa lebih manis dibandingkan dengan glukosa. Unit glukosa dan fruktosa diikat oleh jembatan eter, yaitu berupa ikatan glikosida yang menghubungkan karbon ketal dan asetal yang bersifat β dari fruktosa dan α dari glukosa. Struktur ini dikenali melalui enam cincin glukosa dan lima cincin fruktosa. Selain itu sukrosa dapat dikenali melalui sifatnya yang tidak memiliki gugus hemiasetal, sebab sukrosa tidak mengandung atom karbon anomer bebas. Oleh karena itu, sukrosa bukan merupakan gula pereduksi dan di dalam air tidak berada dalam kesetimbangan dengan suatu bentuk aldehida atau keto serta tidak mengalami mutarotasi.

Secara kimia, sukrosa memiliki 8 gugus hidroksil, 3 di antaranya adalah gugus hidroksi primer dan 5 yang lainnya adalah gugus hidroksi sekunder (Novianingsih, 2011). Struktur sukrosa dapat dilihat pada Gambar 2.2 di bawah ini:



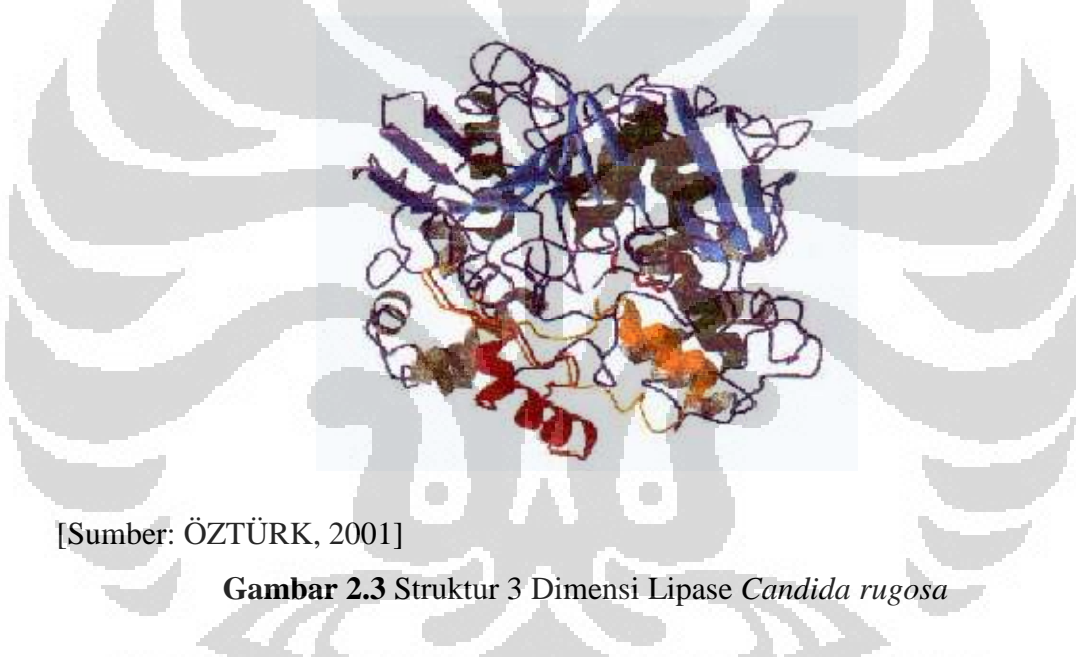
[Sumber: www.chem.-is-try.com]

Gambar 2.2 Struktur Molekul Sukrosa

2.4 Lipase *Candida rugosa*

Lipase merupakan enzim yang mengkatalisis pemecahan lemak dan minyak menjadi asam lemak bebas, diasilgliserol, monogliserol, dan gliserol.

Selain itu, lipase juga dapat digunakan untuk esterifikasi, transesterifikasi, dan aminolisis dalam pelarut organik (ÖZTÜRK, 2001). Enzim ini dapat diperoleh dari hewan, tumbuhan, dan mikroorganisme. Lipase *Candida rugosa* berasal dari mikroorganisme, yaitu khamir *Candida rugosa* dan memiliki massa molekular sebesar 120.000 Dalton dan titik isoelektrik berada pada pH 4,5, serta aktivitas optimum berada di antara pH 6,5 dan 7,5 (Petersen, *et al.*, 2001). Lipase yang diisolasi dari *Candida rugosa* termasuk ke dalam kelompok yang menghidrolisis triasilgliserol secara acak terhadap posisi asam lemak trigliserida menjadi asam lemak. Struktur tiga dimensi lipase *Candida rugosa* dapat dilihat pada Gambar 2.3 di bawah ini:



[Sumber: ÖZTÜRK, 2001]

Gambar 2.3 Struktur 3 Dimensi Lipase *Candida rugosa*

Beberapa lipase memiliki spesifisitas terhadap asam lemak rantai pendek. Di samping itu, beberapa lipase memiliki spesifisitas terhadap asam lemak rantai panjang. Sebagian besar lipase dari sumber mikroba menunjukkan spesifisitas yang kecil pada jenis asam lemak sebagai substrat. Namun, lipase dari *Geotrichum candidum* memiliki spesifisitas pada asam lemak rantai panjang yang mengandung ikatan rangkap cis-9. Lipase *Candida rugosa* spesifik untuk menghidrolisis asam lemak gliserida yang dibentuk oleh cis-9 asam lemak tak jenuh (oleat, linoleat, dan asam linolenat). Urutan spesifisitas asam lemak lipase *Candida rugosa*, yaitu oleat > laurat > palmitat > miristat > stearat (ÖZTÜRK, 2001).

Pada reaksi esterifikasi, lipase telah berhasil mengkatalisis 19 reaksi pembentukan ester dengan *yield* terbesar terbentuk pada ester rantai pendek (pentil propanoat, isopentil butanoat, dan butil butanoat). Penurunan *yield* terjadi seiring dengan penambahan panjang rantai karbon pada substrat. Meskipun banyak studi yang telah mempelajari spesifisitas lipase *Candida rugosa* terhadap substrat dalam reaksi esterifikasi, detail lengkap tentang spesifisitas tersebut belum dapat tersedia (Bezbradica, *et al.*, 2006).

2.5 Imobilisasi Enzim

Imobilisasi enzim adalah enzim yang secara fisik ditempatkan di dalam suatu daerah/ruang tertentu, sehingga dapat menahan aktivitas katalitiknya serta dapat digunakan secara berulang-ulang dan kontinyu.

Keuntungan Imobilisasi :

1. Dapat digunakan berulang.
2. Penghentian proses cepat (diambil dengan filtrasi, laju alir <<).
3. Kestabilan lebih baik dengan adanya ikatan pada imobilisasi.
4. Hasil tidak terkontaminasi enzim untuk pangan dan farmasi.
5. Dapat digunakan untuk tujuan analisis, misalnya menentukan umur tengah enzim dan perkiraan penurunan aktivitas.
6. Dapat digunakan untuk proses kontinyu.
7. Pengontrolan lebih baik.

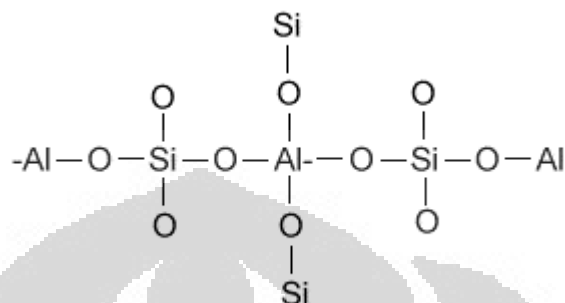
Pada dasarnya metode imobilisasi dapat dibedakan menjadi tiga yaitu metode pengikatan, adsorpsi, dan metode penjebakan atau pemerangkap.

2.6 Zeolit

Zeolit adalah mineral yang terdiri atas kristal alumino silikat terhidrasi yang mengandung kation alkali atau alkali tanah dalam kerangka tiga dimensi. Zeolit biasanya ditulis dengan rumus kimia $M_{x/n} [(AlO_2)_x (SiO_2)_y] \cdot zH_2O$, dengan x dan y adalah bilangan bulat, y/x sebanding atau lebih besar dari 1, n adalah valensi

logam M , z adalah jumlah molekul air dalam masing-masing unit, x dan y adalah masing-masing jumlah alumina dan silika (Tang 2003).

. Struktur dasar zeolit ditunjukkan pada Gambar 2.4 di bawah ini:



[Sumber: <http://www.cheresources.com/zeolitezz.shtml>]

Gambar 2.4 Struktur Dasar Zeolit

Menurut proses pembentukannya, zeolit dapat digolongkannya menjadi dua kelompok, yaitu zeolit alam dan zeolit sintesis. Zeolit alam terbentuk karena adanya proses perubahan alam (zeolitisasi) dari batuan vulkanik, sedangkan zeolit sintesis direkayasa oleh manusia secara proses kimia (Rosdiana, 2006).

Jenis-jenis zeolit yang umum di temukan adalah analsim $\text{Na}_{16}(\text{Al}_{16}\text{Si}_{32}\text{O}_{96}) \cdot 16\text{H}_2\text{O}$, kabasit $(\text{Na}_2, \text{Ca})_6(\text{Al}_{12}\text{Si}_{24}\text{O}_{72}) \cdot 40\text{H}_2\text{O}$, klinoptilolit $(\text{Na}_4\text{K}_4)(\text{Al}_8\text{Si}_{40}\text{O}_{96}) \cdot 24\text{H}_2\text{O}$, erionit $(\text{Na}, \text{Ca}_5\text{K})(\text{Al}_{19}\text{Si}_{27}\text{O}_{72}) \cdot 27\text{H}_2\text{O}$ ferrierit $(\text{Na}_2\text{Mg}_2)(\text{Al}_{16}\text{Si}_{30}\text{O}_{72}) \cdot 18\text{H}_2\text{O}$, heulandit $\text{Ca}_4(\text{Al}_8\text{Si}_{28}\text{O}_{72}) \cdot 24\text{H}_2\text{O}$, laumonit $\text{Ca}(\text{Al}_8\text{Si}_{16}\text{O}_{48}) \cdot 16\text{H}_2\text{O}$, mordenit $\text{Na}_8(\text{Al}_8\text{Si}_{40}\text{O}_{96}) \cdot 24\text{H}_2\text{O}$, filipsit $(\text{Na}, \text{K})_{10}(\text{Al}_{10}\text{Si}_{22}\text{O}_{64}) \cdot 20\text{H}_2\text{O}$, natrolit $\text{Na}_4(\text{Al}_4\text{Si}_6\text{O}_{20}) \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, dan wairakit $\text{Ca}(\text{Al}_2\text{Si}_4\text{O}_{12}) \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. Jenis yang paling umum dijumpai di Indonesia adalah jenis klinoptilolit dan mordenit (PPPTM 1994).

Perbedaan jenis zeolit adalah mempunyai daya serap (*adsorption*) molekul yang berbedabeda secara selektif (Ginting, dkk., 2007). Keselektifan ini tergantung dari struktur masing-masing jenis zeolit, sehingga zeolit dapat digunakan sebagai:

1. Penyaring ion, molekul atau sebagai katalis

Zeolit dapat menyaring ion, molekul, maupun atom karena mempunyai saluran (*channel*) dan rongga (*cavity*) dalam struktur zeolit bila *oxygen window* dari saluran atau rongga lebih kecil dari ion, molekul, atau atom.

Zeolit mempunyai pori sehingga juga dapat digunakan sebagai katalis untuk mempercepat reaksi dalam proses kimia.

2. Bahan penyerap

Bila zeolit dipanaskan pada suhu tinggi maka akan terjadi dehidrasi, penguapan yang dikandungnya, sehingga menyebabkan zeolit akan selektif dalam menyerap molekul-molekul seperti He, N₂, O₂, CO₂, SO₂, Ar, dan Kr. Proses penyerapan molekul oleh zeolit terjadi karena strukturnya juga mempunyai polaritas yang tinggi.

3. Penukar ion

Pertukaran ion pada dasarnya terjadi dalam suatu cairan yang mengandung anion, kation, dan molekul air yang salah satu atau sebagian ion yang terikat pada matriks mikropori berfase padat.

2.7 *Molecular Sieve*

Molecular sieve merupakan material yang mengandung pori-pori yang sangat kecil dengan ukuran yang seragam, biasanya digunakan sebagai adsorben untuk gas dan cairan. *Molecular sieve* memiliki empat tipe, yaitu tipe 3A, 4A, 5A, dan 13X. Tipe 3A spesifik untuk adsorpsi molekul NH₃ dan H₂O. Tipe 4A digunakan untuk adsorpsi SO₂, CO₂, H₂S, C₂H₄, C₂H₆, dan C₃H₆. Tipe 5A biasa diaplikasikan untuk adsorpsi nC₄H₁₀, nC₄H₉OH, C₃H₈-C₂₂H₄₆. Tipe 13X untuk adsorpsi gas H₂O, H₂S, dan CO₂.

Setelah digunakan, *molecular sieve* dapat diregenerasi. Metode untuk meregenerasi *molecular sieve* di antaranya ialah perubahan tekanan, pemanasan, dan pembersihan dengan *carrier gas*, atau pemanasan dibawah tekanan yang vakum. Suhu yang biasa digunakan untuk meregenerasi *molecular sieve* tipe 3A (yang mengadsorpsi air) ialah antara 175° – 260°C.

2.8 Reaksi Esterifikasi

Esterifikasi secara umum dikenal sebagai suatu reaksi pembentukan ester antara alkohol dengan asam karboksilat. Reaksi ini merupakan reaksi kebalikan

dari reaksi hidrolisis. Umumnya reaksi ini menggunakan katalis asam anorganik seperti HCl dan H₂SO₄. Reaksi ini juga dapat dipercepat dengan menggunakan katalis enzim. Esterifikasi menggunakan katalis enzim memiliki beberapa keuntungan, yaitu reaksi berjalan dengan lembut, mengurangi produk samping, serta reaksi lebih spesifik (ÖZTÜRK, 2001). Reaksi esterifikasi dengan katalis asam dapat dilihat pada Gambar 2.5 di bawah ini:



[Sumber: Novianingsih, 2011]

Gambar 2.5 Reaksi Esterifikasi dengan Katalis Asam

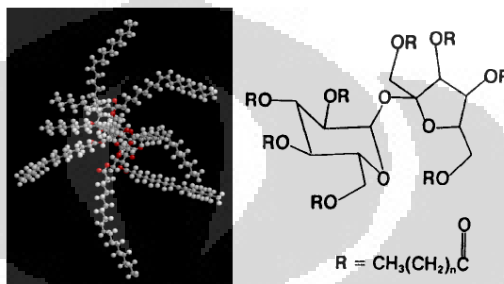
Reaksi ini dapat berlangsung dengan melakukan dehidrasi, yaitu dengan menarik air yang terbentuk sebagai hasil samping reaksi. Air dapat dipisahkan dengan cara menambahkan pelarut yang bersifat nonpolar seperti misalnya benzen dan kloroform, sehingga ester yang terbentuk akan segera tertarik pada pelarut yang digunakan. Dehidrasi juga dapat dilakukan dengan menambahkan *molecular sieve* (Tarigan, 2009).

2.9 Ester Asam Lemak Sukrosa

Ester asam lemak sukrosa merupakan salah satu jenis karbohidrat poliester dengan inti sukrosa sebagai karbohidrat. Ester asam lemak sukrosa dapat dibedakan menjadi dua, yaitu ester asam lemak sukrosa dan poliester sukrosa. Ester sukrosa asam lemak ini dapat disintesis dengan 3 cara, yakni : 1) reaksi esterifikasi antara asil klorida asam lemak ataupun anhidrida asam lemak dengan sukrosa, 2) interesterifikasi antara metil ester asam lemak dengan sukrosa pada pemanasan suhu tinggi, dan 3) reaksi enzimatik antara sukrosa dengan asam lemak menggunakan lipase (Novianingsih, 2011).

Ester asam lemak sukrosa dengan Derajat Substitusi (DS) 1-3 merupakan ester non ionik yang memiliki gugus yang bersifat lipofilik dan hidrofilik. Ester asam lemak sukrosa dengan derajat substitusi yang rendah dapat digunakan

sebagai *emulsifier* dan telah banyak digunakan secara luas pada bahan makanan karena mudah dicerna dan diabsorpsi dalam tubuh. Poliester asam lemak karbohidrat dengan derajat substitusi yang lebih besar antara 4-8 merupakan molekul yang bersifat lipofilik, serta tidak dapat dicerna dan diserap yang digunakan sebagai *fat replacer* (Adamopoulos, 2006). Struktur poliester sukrosa ditunjukkan pada Gambar 2.6 di bawah ini:



[Sumber: Adamopoulos, 2006]

Gambar 2.6 Struktur Poliester Sukrosa

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

2.10 Analisis Gugus Fungsi

Analisis gugus fungsi dilakukan dengan menggunakan FT-IR (*Fourier Transformation Infrared*) untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam sampel. Spektroskopi infra merah merupakan teknik spektroskopi yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsional. Spektrum radiasi inframerah terletak pada kisaran bilangan gelombang $12800-10\text{ cm}^{-1}$. Berdasarkan pertimbangan instrumentasi dan aplikasi, sejauh ini yang paling banyak digunakan

terbatas pada daerah $4000\text{-}760\text{ cm}^{-1}$ (daerah inframerah tengah) terutama untuk tujuan identifikasi. (Khopkar 1990).

Pada dasarnya inti-inti atom yang terikat oleh ikatan kovalen dapat mengalami getaran (vibrasi). Atom dalam molekul bervibrasi secara konstan, baik berupa uluran (*stretching*) maupun tekukan (*bending*). Tipe ikatan yang berbeda akan menyerap radiasi infra merah pada panjang gelombang yang berbeda pula, sehingga spektroskopi infra merah dapat digunakan untuk tujuan kualitatif yaitu untuk mengidentifikasi berbagai gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa yang diujikan (Novianingsih, 2011).



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Alat dan Bahan

3.1.1 Alat

Pada penelitian ini alat yang digunakan adalah *beaker glass*, batang pengaduk, corong biasa, labu ukur, pipet tetes, pipet ukur, gelas ukur, erlenmeyer, neraca analitik, tabung reaksi, tabung *sentrifuge*, *sentrifuge*, *magnetic stirrer*, *horizontal incubator shaker*, labu leher tiga, termometer, corong pisah, *hot plate*, sistem refluks, buret, *rotatory evaporator*, dan pH meter. Peralatan yang digunakan untuk keperluan analisis adalah instrumen FT-IR Shimidzu, FE-SEM FEI Inspect F50, dan Spektrofotometer sinar tampak.

3.1.2 Bahan

3.1.2.1 Enzim

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

3.1.2.2 Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan didapatkan dari Laboratorium Biokimia dan Organik Departemen Kimia FMIPA Universitas Indonesia. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini, di antaranya : minyak kelapa sawit, NaOH, indikator fenolftalein (pp), aseton, etanol 95%, minyak kelapa sawit, sukrosa, HCl 0,1 N dan 3 N, KOH 1 M dalam etanol 95%, n-heksana, Na₂SO₄ anhidrat, gum, *buffer* tris-HCl pH 7, zeolit alam, NaCl 1 M, metil asetat, *molecular sieve* tipe 3A, BSA, Natrium Karbonat 2%, NaOH 0,1 N, CuSO₄ 1,56% berat, Natrium Pottasium Tartarate 2,37% berat, reagen Folin 1 N, dan aquades.

3.2 Prosedur Penelitian

3.2.1 Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit

Hidrolisis ini dilakukan dengan mencampurkan 20 g minyak kelapa sawit dengan 100 mL KOH 1 M dalam alkohol 95% di dalam labu bulat berleher tiga. Selanjutnya campuran dipanaskan dengan sistem refluks selama 1 jam pada suhu 62 ± 2 °C sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer*. Setelah itu, ke dalam campuran tersebut ditambahkan 50 mL aquades, serta diasamkan dengan 35 mL HCl 3 N, dan diekstraksi dengan 50 mL n-heksana. Lapisan atas dipisahkan dari lapisan bawah. Lapisan atas ditambahkan 1 g Na₂SO₄ anhidrat. Setelah itu, cairan dalam campuran tersebut didekantasi untuk memisahkan padatan Na₂SO₄. N-heksana diuapkan seluruhnya dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 70 °C.

3.2.2 Immobilisasi Lipase *Candida Rugosa*

Zeolit ditumbuk kemudian diayak menggunakan saringan mesh berukuran 0,8 mm agar ukuran menjadi seragam. Kemudian zeolit yang diperlukan ditimbang. Zeolit yang sudah ditimbang kemudian dicuci dengan air untuk dibersihkan pada suhu 70 °C selama 1 jam dengan pengulangan sebanyak tiga kali.

Zeolit diaktivasi dengan direndam pada NaCl 1 M selama 12 jam dengan penggantian larutan sebanyak 2 kali untuk menghilangkan ion K⁺. Zeolit kemudian dipanaskan pada suhu 300 °C selama 3 jam dalam oven dan didinginkan pada suhu ruang. Zeolit yang sudah teraktivasi ini kemudian dipersiapkan untuk proses immobilisasi lipase.

Lipase yang telah ditimbang dengan variasi (1:3; 1:4; 1:5) terhadap zeolit dilarutkan pada 50 mL *buffer* Tris-HCl 0,05 M pH 7. Zeolit yang sudah teraktivasi kemudian dimasukkan ke dalam larutan *buffer* yang sudah berisi lipase. Campuran kemudian diaduk dengan variasi suhu (27, 32, 37 dan 45) °C selama 1 jam. Diharapkan selama proses pengadukan terjadi proses adsorpsi lipase pada zeolit. Pada tahap proses adsorpsi inilah lipase akan menempel pada penyangganya (lipase terimmobilisasi). Kemudian, campuran disaring dengan penyaring vakum dan dibilas dengan *buffer* Tris-HCl pH 7. Filtrat diambil untuk penentuan %

loading efficiency enzim. Enzim yang telah terimmobilisasi disimpan pada suhu 4 °C sampai digunakan.

Enzim immobilisasi serta zeolit murni dianalisis dengan FT-IR dan FE-SEM.

3.2.2.1 Penentuan Konsentrasi Enzim yang Terimmobilisasi (% *Loading Efficiency*)

Metode yang digunakan untuk menentukan konsentrasi enzim yang terimmobilisasi adalah dengan menggunakan metode Lowry. Pertama, dibuat kurva kalibrasi dengan cara membuat larutan Bovine Serum Albumin (BSA) dengan konsentrasi 1 mg/L. Setelah itu, reagen untuk analisis dibuat dengan cara 2 g padatan Na₂CO₃ dilarutkan pada NaOH 0,1 N 100 mL (reagen a) dan 10 mL larutan CuSO₄ 1,56% berat dicampurkan dengan Natrium Pottasium Tartarate 2,37% berat (reagen b). Selanjutnya 50 mL reagen a dicampurkan dengan 1 mL reagen b, sehingga terbentuk reagen analisis.

Larutan BSA diencerkan dengan konsentrasi yang berbeda dengan air. Volum dari setiap tabung reaksi adalah 6 mL. Konsentrasi BSA berkisar antara 6,67-33,33 ppm. Selanjutnya, 0,5 mL BSA pada masing-masing konsentrasi ditambahkan 5 mL reagen analisis, kemudian campuran dikocok dan diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit. Setelah itu, ke dalam larutan ditambahkan 0,5 mL reagen Folin 1 N, lalu diinkubasi selama 30 menit. Setelah itu, standar BSA tersebut diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 700 nm. Konsentrasi sampel dihitung menggunakan kurva standar tersebut.

3.2.2.2 Penentuan % Aktivitas Immobilisasi

Aktivitas immobilisasi pada penelitian ini ditentukan dengan metode titrasi pada reaksi hidrolisis. Pertama, *gum* ditambahkan ke dalam campuran yang berisi 0,425 mL minyak sawit dan 7,65 mL *buffer* tris-HCl pH 7 agar campuran teremulsi, kemudian diaduk. Larutan tersebut ditambahkan enzim immobilisasi dan dikocok pada suhu ruang pada kecepatan 150 rpm selama 1 jam. Selanjutnya,

reaksi diterminasi dengan cara ditambahkan 10 mL aseton : alkohol = 1:1 (v/v). Setelah itu, larutan dititrasi menggunakan NaOH 0,05 M.

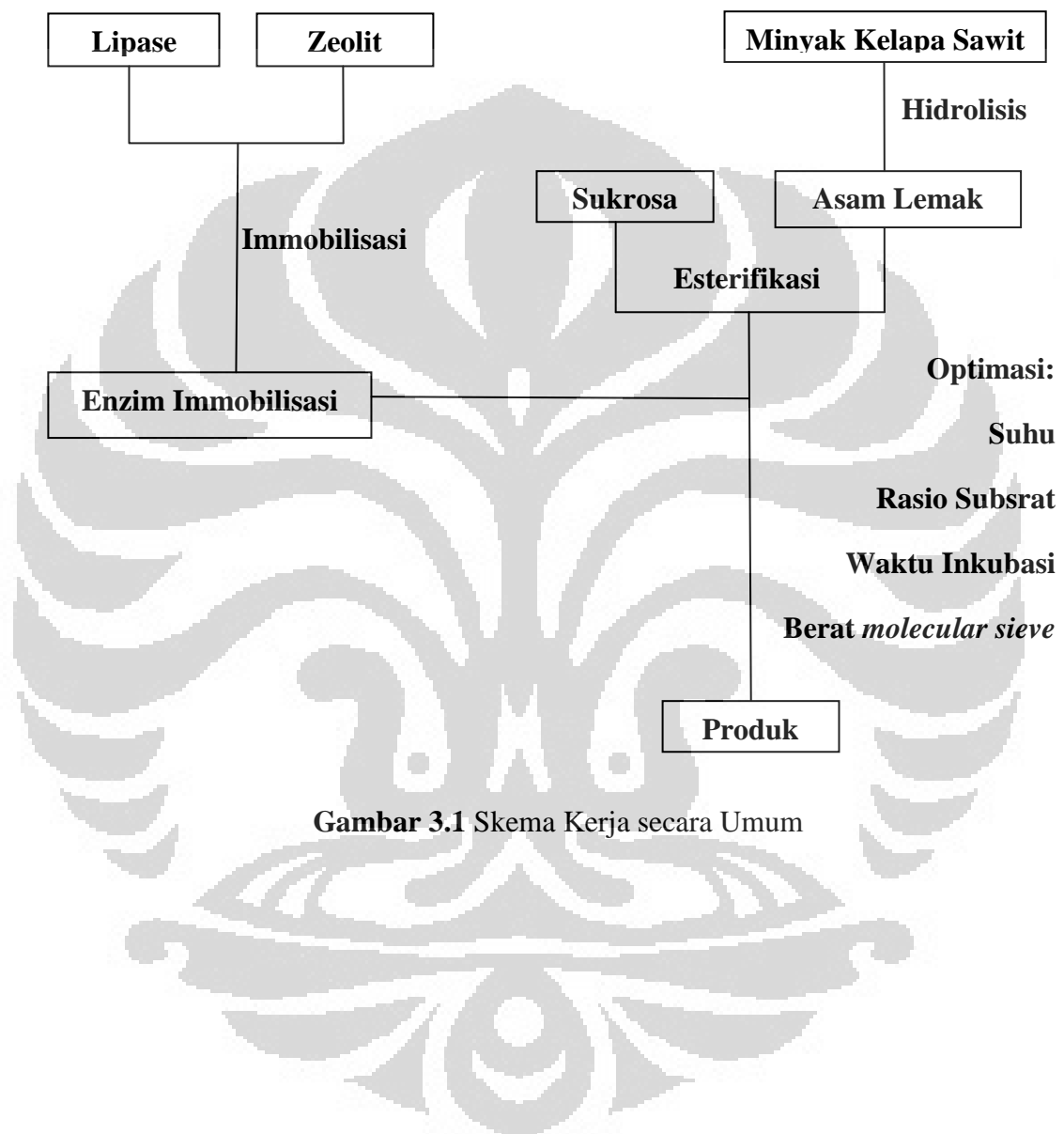
3.2.3 Sintesis Ester Sukrosa

Sintesis ester sukrosa dilakukan dengan mencampurkan sukrosa, *molecular sieve*, dan asam lemak yang terlarut dalam n-heksana, kemudian campuran di inkubasi ke dalam *horizontal incubator shaker* selama beberapa menit untuk pengkondisian sesuai keadaan saat reaksi. Campuran memiliki komposisi bahan, yaitu asam lemak : sukrosa = 2,7:1 (v/v) setara dengan perbandingan mol asam lemak dengan sukrosa 80:1; enzim immobilisasi 0,1 gram, rasio pelarut : substrat = 1:1 (v/v), dan 0,1 gram *molecular sieve*.

Ke dalam campuran tersebut ditambahkan dengan lipase dari *Candida rugosa* yang telah diimmobilisasi pada matriks zeolit. Campuran diinkubasi pada suhu 40 °C dalam *horizontal incubator shaker*.

Sistem dibuat triplo dengan melakukan variasi pada waktu inkubasi, temperatur, dan perbandingan molar rasio antara sukrosa dengan asam lemak. Variasi temperatur reaksi yang digunakan adalah suhu 30, 35, 37, 40, dan 45 °C. Variasi waktu inkubasi yang digunakan adalah 4, 8, 16, 32, dan 64 jam. Variasi perbandingan molar rasio antara sukrosa dan asam lemak yang digunakan adalah rasio 1:16, 1:32, 1:64, 1:80. Variasi berat molecular sieve yang digunakan adalah 0,1; 0,7; 1,1; dan 1,5 gram.

Produk hasil esterifikasi dihitung sebagai % konversi asam lemak yang bereaksi menggunakan metode titrimetri menggunakan NaOH 0,1 N dengan indikator fenolftalein.



Gambar 3.1 Skema Kerja secara Umum

BAB 4

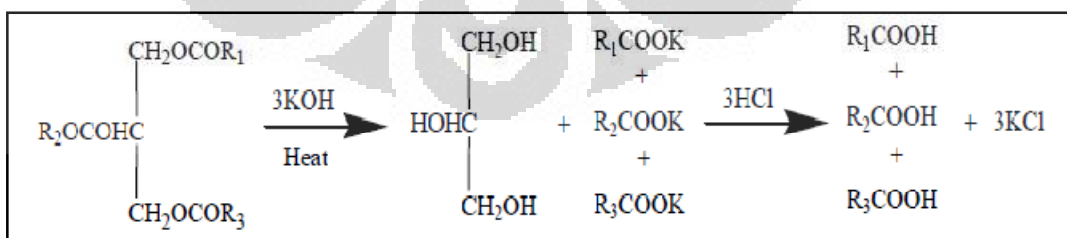
HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit

Reaksi hidrolisis trigliserida minyak kelapa sawit bertujuan untuk memperoleh asam lemak yang terkandung di dalam minyak tersebut. Pada dasarnya reaksi ini dapat menggunakan katalis asam, basa, ataupun enzim. Namun, penelitian ini digunakan katalis basa, yaitu KOH. Katalis basa memiliki beberapa kelebihan dibandingkan katalis lainnya, yaitu bersifat *irreversible*, mudah disimpan, serta lebih ekonomis (Refaat, *et al.*, 2008).

Penggunaan KOH sebagai katalis basa yang digunakan didasari oleh kelebihan KOH dibandingkan katalis basa lainnya, yaitu kalium lebih reaktif sehingga mudah membentuk garam asam lemak. Selain itu, garam asam lemak yang terbentuk lebih larut dalam air sehingga memudahkan untuk proses pemisahan. KOH terlarut dalam etanol 95% yang berfungsi sebagai medium interaksi antara KOH dengan minyak.

Setelah proses saponifikasi selesai, aquademin ditambahkan ke dalam campuran yang berfungsi sebagai medium pemisah antara lipid tersabunkan dengan lipid yang tidak tersabunkan. Lipid tersabunkan yang berupa garam asam lemak kalium selanjutnya diasamkan dengan HCl untuk mengubah garam tersebut menjadi asam lemak. Reaksi trigliserida minyak kelapa sawit ditunjukkan pada Gambar 4.1 di bawah ini:



Gambar 4.1 Reaksi Trigliserida Minyak Kelapa Sawit dengan Katalis Basa

Selanjutnya, untuk mengisolasi asam lemak yang terbentuk, dilakukan pemisahan dengan cara ekstraksi menggunakan n-heksana. Pada tahap ekstraksi

ini diperoleh dua lapisan, yaitu lapisan atas berwarna kuning yang merupakan asam lemak terlarut dalam n-heksana serta lapisan bawah tidak berwarna yang merupakan pereaksi sisa dan produk samping dalam fasa air.

Asam lemak murni didapatkan setelah lapisan atas dipisahkan lalu diuapkan menggunakan *rotatory evaporator* sehingga n-heksana menguap seluruhnya.



Gambar 4.2 Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit pada Suhu Ruang

Asam lemak yang dihasilkan berwarna kuning terang pada wujud cair. Namun, asam lemak tersebut berwujud padat pada suhu ruang dan berwarna kuning pucat seperti terlihat pada Gambar 4.2. Hal ini disebabkan mayoritas asam lemak yang terkandung di dalam minyak kelapa sawit berantai panjang. Hidrolisis ini menghasilkan % yield sebesar 90,6%. Berdasarkan hasil analisis sebelumnya yang dilakukan oleh BBIA (Balai Besar Industri Agro), kandungan asam lemak terbesar yaitu asam palmitat dan oleat.

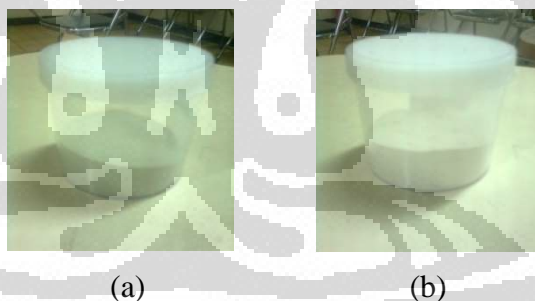
4.2 Immobilisasi Lipase *Candida rugosa* pada Matriks Zeolit

4.2.1 Aktivasi Zeolit

Aktivasi zeolit dilakukan untuk menghasilkan luas permukaan yang lebih luas melalui pembentukan struktur berpori dan juga untuk menghilangkan senyawa-senyawa pengotor (Rosdiana, 2006). Sebelum aktivasi dilakukan, zeolit dihaluskan dengan cara ditumbuk agar ukuran partikelnya seragam, kemudian disaring menggunakan penyaring mesh berukuran 0,8 mm. Zeolit kemudian dicuci dengan aquades yang bertujuan untuk menghilangkan senyawa-senyawa pengotor

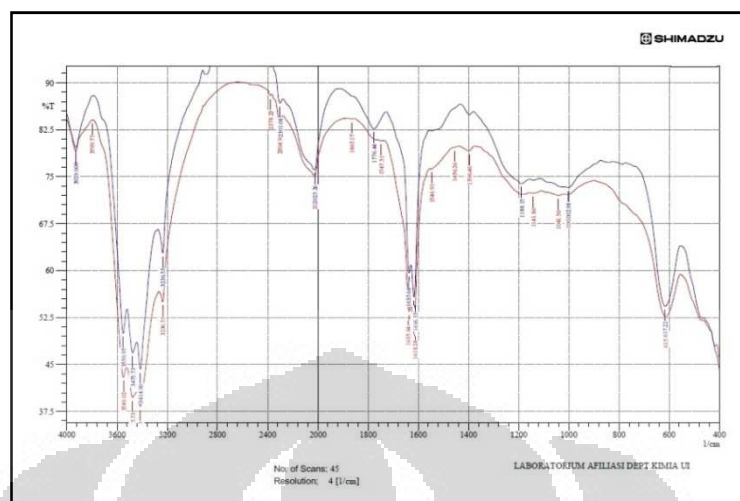
yang bersifat polar. Pencucian ini disertai dengan pengadukan agar senyawa-senyawa tersebut dapat terpisah dari zeolit, kemudian didiamkan semalam agar pemisahan lebih sempurna. Dalam proses ini terbentuk 3 lapisan, yaitu lapisan atas berupa senyawa-senyawa pengotor terlarut dalam aquades, lapisan tengah berupa koloid yang mengandung partikel zeolit yang berukuran sangat kecil, dan lapisan bawah berupa partikel zeolit yang berukuran lebih besar. Lapisan bawah inilah yang diambil untuk diproses selanjutnya. Pencucian ini diulang sebanyak 3 kali agar zeolit lebih bersih.

Oleh karena zeolit yang digunakan merupakan klinoptilolit, dengan rumus molekul $(\text{Na}_4\text{K}_4)(\text{Al}_8\text{Si}_{40}\text{O}_{96}) \cdot 24 \text{H}_2\text{O}$ memiliki dua yang kation berbeda, maka diperlukan proses penyeragaman kation yaitu natrium. Penyeragaman kation tersebut menggunakan NaCl melalui proses perendaman dengan penggantian larutan sebanyak 2 kali. Di dalam proses tersebut terjadi pergantian kation kalium oleh kation natrium sehingga menghasilkan Na-Zeolit. Kemudian zeolit tersebut dikalsinasi untuk menghilangkan senyawa-senyawa pengotor yang mengandung atom karbon. Zeolit sebelum dan sesudah aktivasi ditunjukkan pada Gambar 4.3 di bawah ini:



Gambar 4.3 Zeolit. (a) Sebelum Aktivasi, (b) Sesudah Aktivasi

Sebelum dan sesudah proses aktivasi, zeolit diidentifikasi dengan menggunakan FT-IR untuk mengetahui gugus-gugus yang terkandung di dalamnya. Berikut ini spektrum serapan yang dihasilkan pada identifikasi tersebut:



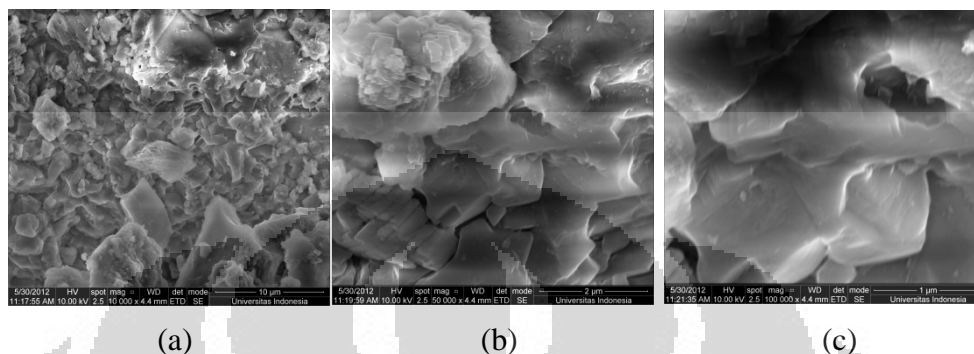
Gambar 4.4 Spektrum FT-IR Zeolit. Sebelum Aktivasi (Merah), Sesudah Aktivasi (Biru)

Tabel 4.1 Identifikasi Gugus Fungsi Spektrum IR Zeolit Sebelum Aktivasi dan Sesudah Aktivasi

No	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Identifikasi Jenis Gugus
1	3236-3550	O-H
2	2301-2378	Si-OH
3	1616-1635	Si-O
4	1041	Al-O
5	615-617	Na-O

Berdasarkan Spektrum FT-IR pada Gambar 4.4 dan Tabel 4.1 diketahui bahwa serapan-serapan yang terjadi pada bilangan gelombang 3236-3550 cm⁻¹ (gugus OH), 2301-2378 cm⁻¹ (gugus Si-OH), 1616-1635 cm⁻¹ (gugus Si-O), 1041 cm⁻¹ (gugus Al-O), 615-617 cm⁻¹ (gugus Na-O). Gugus-gugus tersebut merupakan gugus yang khas pada zeolit alam (Supriatna, 1995). Perubahan spektrum FT-IR zeolit sebelum dan sesudah aktivasi hanya berkurangnya intensitas serapan-serapan pada tiap-tiap panjang gelombang. Hal tersebut disebabkan proses aktivasi yang dilakukan kurang optimal.

Selain identifikasi menggunakan FT-IR, zeolit sesudah aktivasi juga diidentifikasi dengan menggunakan FE-SEM (*Field Emission Scanning Electron Microscope*). Berikut ini Gambar yang diperoleh pada identifikasi tersebut:



Gambar 4.5 Gambar Zeolit Sebelum Immobilisasi Enzim Menggunakan FE-SEM dengan Detektor SE (Secondary Electron). (a) 10.000 kali, (b) 50.000 kali, (c) 100.000 kali.

Berdasarkan Gambar 4.5 di atas dapat diketahui bahwa pada perbesaran 10.000 kali pori belum terlihat jelas, sedangkan pada perbesaran 50.000 kali agak terlihat jelas dan pada perbesaran 100.000 kali barulah terlihat jelas. Jumlah pori dari zeolit berdasarkan identifikasi FE-SEM secara keseluruhan sangat sedikit. Hal tersebut disebabkan banyak pori yang belum terbuka atau dengan kata lain masih tertutup oleh pengotor-pengotor (Rosdiana, 2006).

4.2.2 Immobilisasi Lipase *Candida rugosa*

Immobilisasi lipase *Candida rugosa* pada matriks zeolit ini bertujuan agar enzim tersebut lebih stabil atau dengan kata lain memiliki ketahanan yang baik terhadap kondisi pH, suhu, dan pelarut organik serta dapat digunakan kembali. Zeolit sebagai matriks pada immobilisasi ini memiliki beberapa kelebihan, yaitu murah dan mudah disimpan. Namun, zeolit memiliki ikatan yang lemah dengan enzim. Immobilisasi pada matriks zeolit ini merupakan tipe immobilisasi berupa adsorpsi (Knezevic, 1998).

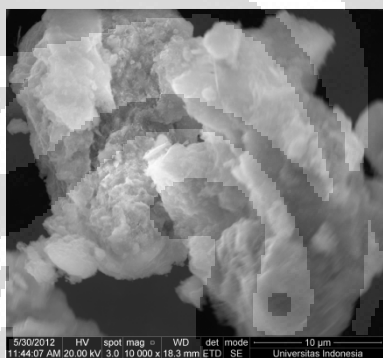
Pada proses tersebut, lipase *Candida rugosa* dilarutkan terlebih dahulu di dalam *buffer* tris-HCl pH 7 agar enzim tersebut berada pada kondisi optimum

sebelum diimmobilisasi. Enzim immobilisasi setelah pengeringan ditunjukkan pada Gambar 4.6 di bawah ini:

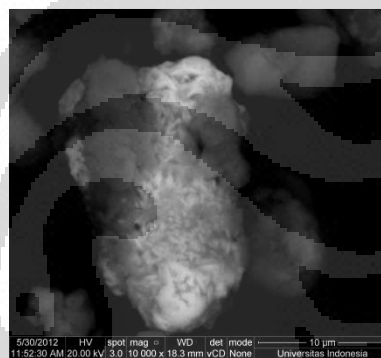


Gambar 4.6 Enzim Immobilisasi Setelah Pengeringan

Guna mengetahui enzim tersebut teradsorpsi pada bagian mana di dalam zeolit, maka dilakukan identifikasi dengan menggunakan FE-SEM. Berikut ini merupakan Gambar yang diperoleh pada identifikasi tersebut:



(a)



(b)

Gambar 4.7 Gambar Zeolit Setelah Immobilisasi Enzim Menggunakan FE-SEM dengan Perbedaan Detektor pada Perbesaran 10.000 kali. (a) SE (*Secondary Electron*), (b) BSE (*Back Scattered Electron*).

Identifikasi zeolit setelah immobilisasi menggunakan detektor berbeda, yaitu BSE (*Back Scattered Electron*), karena detektor tersebut dapat menghasilkan Gambar dengan memperhatikan perbedaan senyawa kimia di dalam sampel. Perbedaan senyawa ditandai dengan perbedaan kontras. Pada Gambar (a) tidak menunjukkan adanya perbedaan kontras. Namun, Pada Gambar (b) terlihat terdapat bagian yang lebih kontras dibandingkan dengan senyawa yang menjadi latarnya. Bagian tersebut merupakan enzim yang menempel pada permukaan

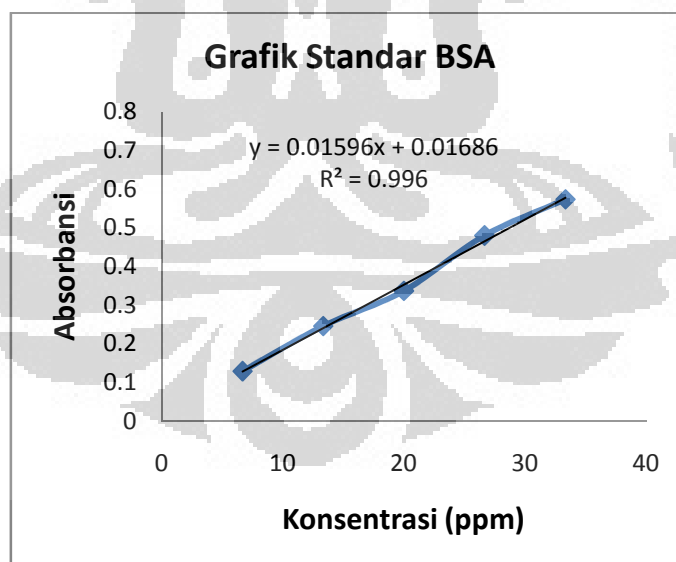
zeolit. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa enzim hanya teradsorpsi pada permukaan zeolit atau dengan kata lain tidak masuk ke dalam pori karena ukuran enzim yang relatif lebih besar.

4.2.3 % *Loading Efficiency*

Adsorpsi lipase pada zeolit ditandai dengan % *loading efficiency* yang didapatkan melalui metode Lowry. Untuk mengetahui pengaruh rasio substrat terhadap adsorpsi lipase pada zeolit maka dilakukan variasi rasio substrat.

Tabel 4.2 Data Absorbansi terhadap Konsentrasi Standar BSA

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
6,67	0,129
13,33	0,246
20,00	0,337
26,67	0,480
33,33	0,574



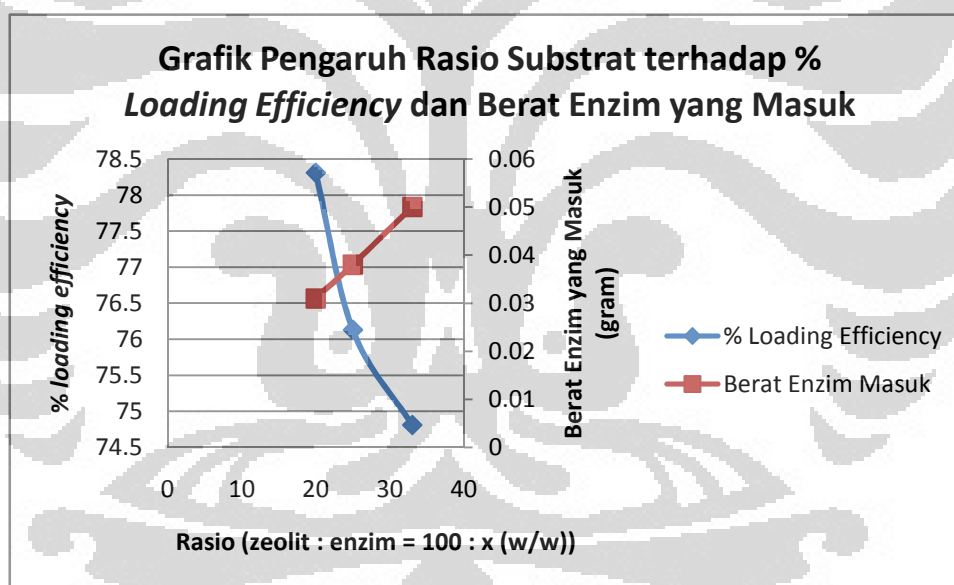
Gambar 4.8 Grafik Absorbansi terhadap Konsentrasi Standar BSA

Melalui Tabel 4.2 dan Gambar 4.8 di atas dapat dihitung konsentrasi enzim (protein) pada variasi rasio substrat dengan menggunakan persamaan yang

terdapat di dalam grafik tersebut. Konsentrasi yang telah ditemukan selanjutnya digunakan untuk menghitung % *loading efficiency* pada variasi tersebut.

Tabel 4.3 Data % *Loading Efficiency* terhadap Rasio Substrat

Rasio Substrat (zeolit : enzim = 100 : x) (w/w))	% <i>Loading Efficiency</i>	Berat Enzim Masuk (gram)
20	78,31	0,031
25	76,13	0,038
33	74,81	0,050



Gambar 4.9 Grafik Pengaruh Rasio Substrat terhadap % *Loading Efficiency* dan Berat Enzim yang Masuk.

Dari Tabel 4.3 dan Gambar 4.9 terlihat bahwa % *loading efficiency* terbesar terdapat pada rasio zeolit : enzim = 100 : 20 (w/w) sebesar 78,31%. Selanjutnya, % *loading efficiency* mengalami penurunan seiring bertambah besarnya rasio substrat. Jika dihitung jumlah berat enzim yang teradsorpsi pada jumlah zeolit yang tetap, maka yang terbesar pada rasio zeolit : enzim = 100 : 33

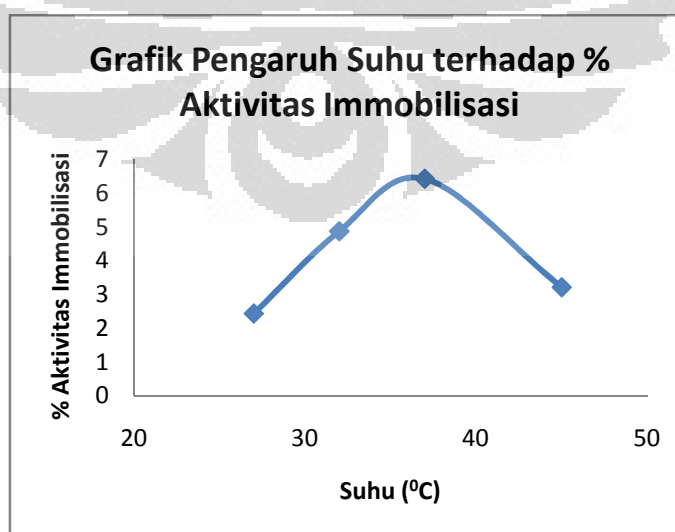
(w/w) sebesar 0,05 gram. Hal ini menandakan bahwa pada jumlah zeolit yang tetap, semakin besar jumlah enzim yang dicampurkan maka akan semakin besar pula jumlah enzim yang teradsorpsi pada zeolit.

4.2.4 % Aktivitas Immobilisasi

Selain dihitung % *loading efficiency*-nya, enzim immobilisasi ini juga dihitung % aktivitas immobilisasinya. % Aktivitas immobilisasi menandakan perbandingan seberapa besar aktivitas enzim yang telah diimmobilisasi terhadap aktivitas enzim bebas. Pada penelitian ini dihitung aktivitas enzim immobilisasi pada reaksi hidrolisis minyak karena reaksi hidrolisis minyak cenderung lebih mudah dan cepat dibandingkan reaksi-reaksi lain yang dapat dikatalisisi oleh enzim tersebut. Pengaruh suhu terhadap % aktivitas immobilisasi dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan Gambar 4.10 di bawah ini:

Tabel 4.4 Data % Aktivitas Immobilisasi terhadap Suhu

Suhu (°C)	% Aktivitas Immobilisasi
27	2,441
32	4,882
37	6,433
45	3,217



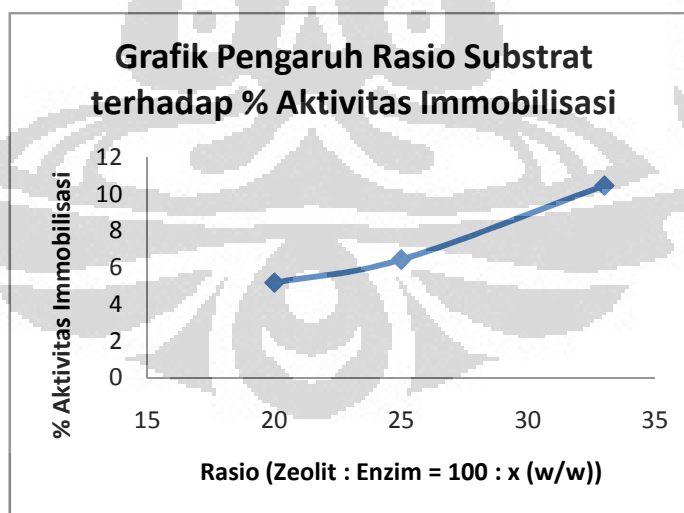
Gambar 4.10 Grafik Pengaruh Suhu terhadap % Aktivitas Immobilisasi

Berdasarkan Tabel 4.4 dan Gambar 4.10 diperoleh suhu optimum immobilisasi enzim lipase *Candida rugosa* pada zeolit, yaitu 37 °C sebesar 6,433%. % Aktivitas immobilisasi meningkat seiring peningkatan suhu. Namun, setelah mencapai suhu optimum % aktivitas menurun yang disebabkan oleh berubahnya struktur primer enzim akibat kerusakan asam-asam amino tertentu (Ahern dan Klibanov, 1987).

Selanjutnya pengaruh rasio substrat terhadap % aktivitas immobilisasi dapat dilihat pada Tabel 4.5 dan Gambar 4.11 di bawah ini:

Tabel 4.5 Data % Aktivitas Immobilisasi terhadap Rasio Substrat

Rasio Substrat (zeolit : enzim = 100 : x (w/w))	% Aktivitas Immobilisasi
20	5,191
25	6,433
33	10,475



Gambar 4.11 Grafik Pengaruh Rasio Substrat terhadap % Aktivitas Immobilisasi

Berdasarkan Tabel 4.5 dan Gambar 4.11 di atas diperoleh pengaruh rasio substrat terhadap % aktivitas immobilisasi. Dalam jumlah zeolit yang tetap,

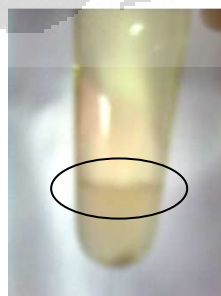
semakin banyak jumlah enzim yang diadsorpsi maka semakin besar % aktivitas immobilisasinya.

Dengan didasari oleh data % loading efficiency serta % aktivitas immobilisasi yang didapatkan, ditentukan suhu dan rasio substrat immobilisasi enzim yang digunakan untuk reaksi esterifikasi antara sukrosa dan asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit, yaitu pada suhu 37°C dan rasio zeolit : enzim = 100 : 25 (w/w). Rasio substrat yang digunakan bukan zeolit : enzim = 100 : 33 (w/w) walaupun memiliki % aktivitas immobilisasi yang lebih besar disebabkan pertimbangan ekonomi serta ketersediaan enzim yang kurang memadai.

4.3 Reaksi Esterifikasi

Pada reaksi esterifikasi antara asam lemak minyak sawit dengan sukrosa secara enzimatik, beberapa parameter yang perlu dipertimbangkan antara lain suhu, rasio substrat, waktu inkubasi, dan berat molecular sieve reaksi.

Reaksi pada penelitian ini menggunakan substrat yang berlebih, yaitu asam lemak. Digunakan substrat berlebih agar kesetimbangan reaksi bergeser ke arah pembentukan ester (Yoo, *et al.*, 2006). Pelarut yang digunakan adalah n-heksana karena memiliki nilai $2 < \log P < 4$ agar tidak mengganggu aktivitas enzim (Novianingsih, 2011). Reaksi tersebut merupakan reaksi *reversible* yang menghasilkan produk samping air. Oleh sebab itu, diperlukan *molecular sieve* untuk menarik produk samping tersebut agar kesetimbangan reaksi tidak berbalik ke arah reaksi hidrolisis. Untuk mengetahui kondisi optimum reaksi, dilakukan optimasi pada suhu, rasio substrat, waktu inkubasi, dan berat *molecular sieve* reaksi. Penampakan produk setelah disentrifugasi ditunjukkan pada Gambar 4.12 di bawah ini:



Gambar 4.12 Produk Hasil Reaksi

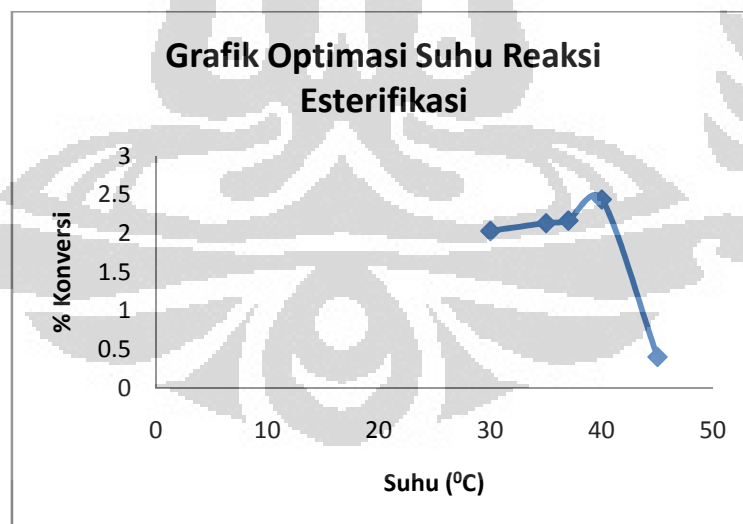
4.3.1 Optimasi Reaksi Esterifikasi

4.3.1.1 Optimasi suhu

Optimasi yang pertama dilakukan adalah optimasi suhu karena suhu merupakan parameter utama dalam reaksi esterifikasi secara enzimatik. Hal ini disebabkan aktivitas enzim immobilisasi sangat berpengaruh pada perubahan suhu. Optimasi ini dilakukan pada kondisi rasio sukrosa : asam lemak = 1:80; 0,1 gr *molecular sieve* dan waktu reaksi 4 jam. Pengaruh suhu terhadap % konversi reaksi tersebut ditunjukkan pada Tabel 4.6 dan Gambar 4.13 di bawah ini:

Tabel 4.6 Pengaruh Suhu terhadap % Konversi

Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	% Konversi
30	2,032
35	2,134
37	2,167
40	2,439
45	0,407



Gambar 4.13 Grafik Optimasi Suhu Reaksi Esterifikasi

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.13 di atas diperoleh suhu optimum reaksi esterifikasi antara sukrosa dengan asam lemak minyak kelapa sawit, yaitu

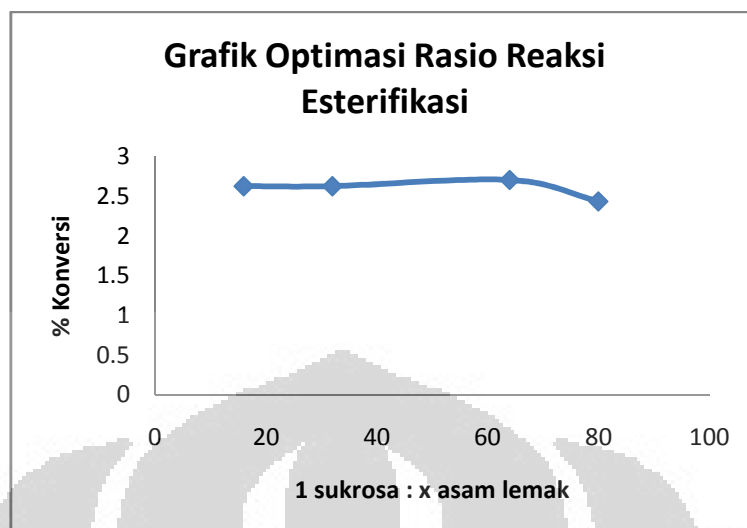
40 °C dengan % konversi sebesar 2,439%. Laju reaksi esterifikasi secara enzimatis meningkat seiring dengan meningkatnya suhu reaksi. Namun, setelah suhu optimum enzim akan menjadi inaktif karena adanya perubahan struktur primer enzim yang disebabkan oleh kerusakan asam-asam amino tertentu (Ahern dan Klivanov, 1987).

4.3.1.2 Optimasi Rasio Substrat

Rasio substrat juga merupakan parameter penting dalam reaksi esterifikasi. Untuk membuat reaksi esterifikasi menjadi optimal, maka kesetimbangan diusahakan bergeser ke arah sisi pembentukan ester dengan menggunakan reaktan berlebih atau dengan membuang salah satu produk (Yoo, et.al., 2006). Reaktan berlebih yang digunakan adalah asam lemak karena apabila digunakan sukrosa sebagai reaktan berlebih maka kadar air akan semakin tinggi. Optimasi ini dilakukan pada kondisi suhu reaksi 40°C; 0,1 g *molecular sieve* dan waktu reaksi 4 jam. Pengaruh penambahan asam lemak terhadap % konversi reaksi tersebut ditunjukkan pada Tabel 4.7 dan Gambar 4.14 di bawah ini:

Tabel 4.7 Pengaruh Rasio Substrat terhadap % Konversi

Rasio Substrat (1 Sukrosa : x Asam Lemak)	% Konversi
16	2,629
32	2,629
64	2,708
80	2,439



Gambar 4.14 Grafik Optimasi Rasio Reaksi Esterifikasi

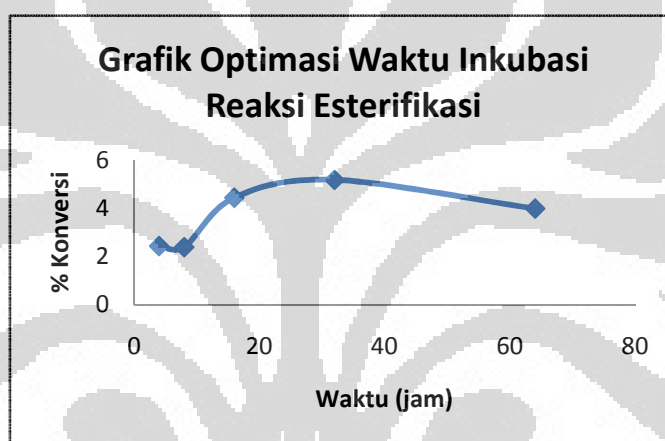
Berdasarkan grafik pada Gambar 4.14 di atas diperoleh rasio substrat optimum pada reaksi esterifikasi antara sukrosa dengan asam lemak minyak kelapa sawit, yaitu pada rasio sukrosa : asam lemak = 1:64 dengan % konversi sebesar 2,708%. Peningkatan % konversi seiring dengan peningkatan jumlah asam lemak. Namun, setelah titik optimum tercapai, terjadi penurunan % konversi yang disebabkan substrat berlebih yang bertindak sebagai inhibitor sehingga terjadi penurunan aktivitas enzim (Reed, Michael C., 2010).

4.3.1.3 Optimasi Waktu Inkubasi

Parameter lain yang juga penting dalam reaksi esterifikasi adalah waktu inkubasi. Optimasi waktu inkubasi dilakukan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan untuk menghasilkan ester sukrosa dengan % konversi terbesar. Kondisi reaksi pada suhu 40 °C, 0,1 gr *molecular sieve*, dan rasio sukrosa : asam lemak = 1:80. Pengaruh waktu inkubasi terhadap % konversi ester sukrosa ditunjukkan pada Tabel 4.8 dan Gambar 4.15 di bawah ini:

Tabel 4.8 Pengaruh Waktu Inkubasi terhadap % Konversi

Waktu Inkubasi (jam)	% Konversi
4	2,439
8	2,395
16	4,454
32	5,192
64	4,000

**Gambar 4.15** Grafik Optimasi Waktu Inkubasi Reaksi Esterifikasi

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.15 di atas diperoleh waktu inkubasi optimum untuk reaksi antara sukrosa dengan asam lemak minyak sawit, yaitu 32 jam dengan % konversi sebesar 5,192%. Setelah waktu optimum tercapai, terjadi penurunan % konversi yang disebabkan meningkatnya volume air yang dihasilkan dari produk samping hasil esterifikasi seiring dengan semakin panjangnya waktu inkubasi. Peningkatan volume air ini dapat menyebabkan enzim cenderung mengarahkan ke reaksi hidrolisis (Villeneuve, et al., 2003).

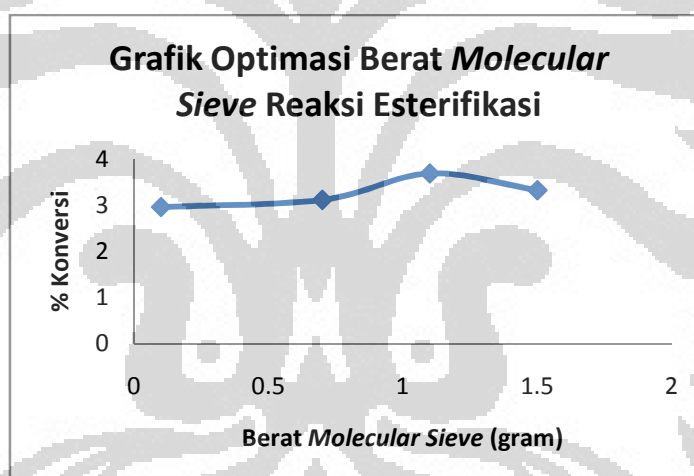
4.3.1.4 Optimasi Berat *Molecular Sieve*

Berat *molecular sieve* juga dijadikan sebagai parameter dalam reaksi esterifikasi. Optimasi ini dilakukan paling akhir karena *molecular sieve* memiliki peran utama apabila kesetimbangan reaksi sudah berjalan sempurna atau dengan

kata lain pada kondisi waktu inkubasi optimum. Kondisi reaksi pada suhu 40 °C, rasio sukrosa : asam lemak = 1:64, dan waktu inkubasi 32 jam. Pengaruh berat *molecular sieve* terhadap % konversi ditunjukkan pada Tabel 4.9 dan Gambar 4.16 di bawah ini:

Tabel 4.9 Pengaruh Berat *Molecular Sieve* terhadap % Konversi

Berat Molecular Sieve (gram)	% Konversi
0,1	2,969
0,7	3,125
1,1	3,698
1,5	3,333



Gambar 4.16 Grafik Optimasi Berat *Molecular Sieve* Reaksi Esterifikasi

Berdasarkan grafik pada Gambar 4.16 di atas diperoleh berat *molecular sieve* optimum untuk reaksi esterifikasi antara sukrosa dengan asam lemak minyak kelapa sawit, yaitu 1,1 gram dengan % konversi sebesar 3,698%. Peningkatan % konversi seiring dengan peningkatan berat *molecular sieve*. Namun, setelah berat optimum, terjadi penurunan % konversi yang disebabkan oleh terhambatnya pergerakan substrat akibat jumlah *molecular sieve* yang berlebih.

BAB 5

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

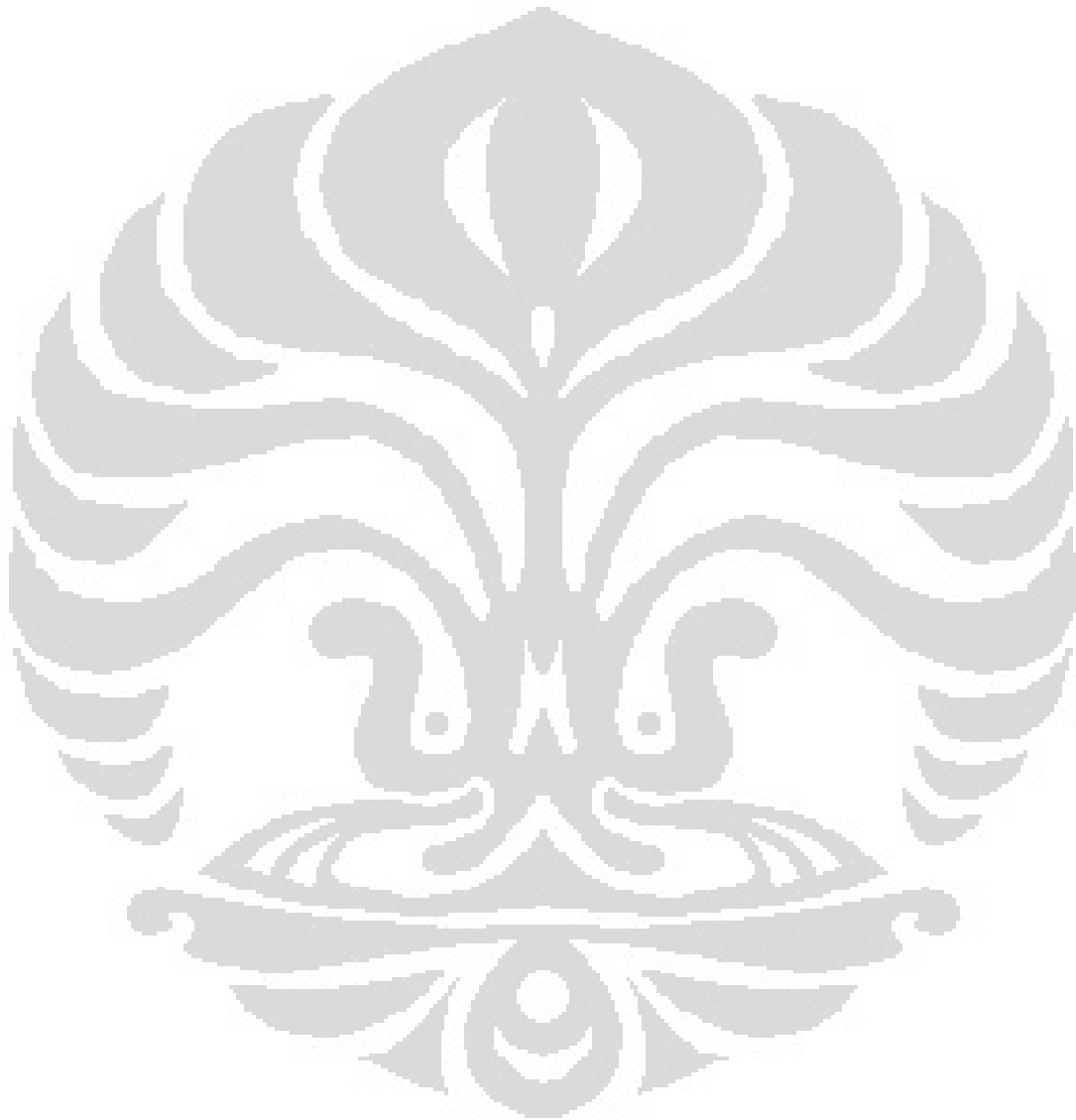
1. Immobilisasi lipase *Candida rugosa* pada matriks zeolit berhasil dilakukan dengan % *loading efficiency* terbesar sebesar 78,31% serta % aktivitas immobilisasi terbesar sebesar 10,475%.
2. Hasil analisis dengan FE-SEM menunjukkan bahwa immobilisasi lipase *Candida rugosa* terjadi pada permukaan zeolit.
3. Enzim immobilisasi dapat mengkatalisis reaksi esterifikasi antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa sawit dengan sukrosa.
4. Kondisi optimum reaksi esterifikasi terjadi pada suhu 40 °C, rasio sukrosa : asam lemak = 1:64, waktu inkubasi 32 jam dan berat *molecular sieve* 1,1 gram.
5. Esterifikasi pada kondisi optimum menghasilkan % konversi yang belum baik, yaitu 3,698%.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya, hendaknya:

1. Pada proses aktivasi zeolit digunakan aktivasi kimia pula dengan pencucian menggunakan asam dan basa, selain aktivasi fisik, agar zeolit yang digunakan untuk immobilisasi lebih bersih, pori-pori banyak yang terbuka serta luas permukaan zeolit seragam.
2. Dilakukan karakterisasi yang lebih rinci terhadap zeolit agar mendukung proses immobilisasi enzim.
3. Digunakan metode esterifikasi yang lebih baik agar menghasilkan % konversi yang baik.
4. Dilakukan isolasi ester sukrosa agar mendukung proses identifikasi produk tersebut.

5. Dilakukan identifikasi derajat substitusi ester sukrosa yang didapat agar mengetahui jenis ester sukrosa yang terbentuk.
6. Dilakukan uji keterulangan terhadap enzim immobilisasi pada reaksi esterifikasi agar mengetahui berapa kali pengulangan enzim immobilisasi dapat digunakan kembali.



DAFTAR PUSTAKA

- Adamopoulos, L. (2006). *Understanding the formation of sugar fatty acid esters*. Faculty of North Carolina State University.
- Barkah, A. (2011). *Studi Reaksi Esterifikasi antara Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa dengan Sukrosa Menggunakan Lipase Candida rugosa EC 3.1.1.3*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia.
- Bezbradica, D., Karalazic, I., Ognjanovic, N., Mijin, D., Marinkovic, S. S., and Knezevic, Z. (2006). *Studies on the specificity of Candida rugosa lipase catalyzed esterification reactions in organic media*. Faculty of Technology and Metallurgy, Karnegijeva 4, 11000 Belgrade, Serbia and Montenegro.
- Da Silva, F. C. Vania., Contesini, J. Fabiano., and Carvalho, O. de Patricia. (2008). *Characterization and Catalytic Activity of Free and Immobilized Lipase from Aspergillus niger: a Comparative Study*. Universidade São Francisco.
- Ginting, Br., Aslina., Anggraini, D., Indaryati, S., Kriswarini, R., (2007). *Karakterisasi Komposisi Kimia, Luas Permukaan dan Sifat Termal dari Zeolit Bayah, Tasikmalaya, dan Lampung*. Pusat Teknologi Bahan Bakar Nuklir – BATAN, Serpong.
- <http://khairulanam.files.wordpress.com/2010/08/enzim-imobil-s2-revisi.pdf>,
Senin, 30 Januari 2012
- <http://www.cheresources.com/zeolitezz.shtml>, Senin, 30 Januari 2012
- Khopkar, S. M. (1990). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Terjemahan A. Saptoraharjo. Jakarta: UI Press.
- Klibanov, A. M. (1986). *Enzymes that work in organic solvents*. Chemtech. 16: 354-144.

- Knezevic, Zorica.; Mojovic, Ljiljana and Adnadjevic, Borivoje. (1998). *Palm oil hydrolysis by lipase from Candida cylindracea immobilized on zeolite type Y. Department of Biochemical Engineering and Biotechnologies, Faculty of Technology and Metallurgy, Faculty of Physical Chemistry, University of Belgrade, Belgrade, Yugoslavia.*
- Matsumoto, M and Ohashi, K. (2003). *Effect of immobilization on thermostability of lipase from Candida rugosa. Biochemical Engineering Journal 14, 75–77.*
- Novianingsih, I. (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. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia.*
- ÖZTÜRK, B. (2001). *Immobilization of lipase from Candida rugosa on hydrophobic and hydrophilic supports. Department of Biotechnology and Bioengineering, Major of Biotechnology _zmir Institute of Technology _zmir, Turkey.*
- Perindustrian, Departemen. (2007). *Gambaran sekilas industri minyak kelapa sawit. Jakarta Selatan.*
- Petersen M.T.N., Fojan P., Petersen S.B., *How do lipases and esterases work: the electrostatic contribution, Journal of biotechnology, 85, issue 2, (2001), 115-147.*
- [P3TM] Pusat Penelitian & Pengembangan Teknologi Mineral. (1994). *Cara Uji Pengukuran Luas Permukaan Spesifik Mineral Zeolit. Bandung: Pusat Penelitian & Pengembangan Teknologi Mineral.*
- Reed, Michael C., Anna L., H. Frederik N. (2010). *The biological significance of substrate inhibition: A mechanism with diverse functions. Department of Mathematics and Department of Biology, Duke University, Durham, USA.*
- Refaat, A.A.; Attia, N.K.; Sibak, H.A.; El Sheltawy, S.T.; El Diwani, G.I. (2007). *Production optimization and quality assessment of biodiesel from waste*

vegetable oil. Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Cairo University, Egypt.

Rosdiana, Tina. (2006). *Pencirian dan Uji Aktivitas Katalitik Zeolit Alam Teraktivasi*. Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Supriatna, dkk. (1995). *Kinetika Serapan Zeolit Terhadap Ion Sianida*. Di dalam: Prosiding Seminar Nasional Kimia II. Jakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia.

Tang Y R. (2003). *Adsorbent Fundamental and Applications*. Canada: J Wiley.

Tarigan, Juliati. (2009). *Ester Asam Lemak*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara.

Villeneuve P., Muderhwa J.M., Graille J., Haas M.J. (2000). “*Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches*. *Journal of molecular catalysis B: enzymatic*, 9, issues 4-6, 113-148.

www.chem.-is-try.com, Minggu 24 Juni 2012.

www.sigma aldrich.com, Minggu 24 Juni 2012.

Yagiz, Funda (2007). *Biodiesel production from waste oils by using lipase immobilized on hydrotalcite and zeolites*. Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, University of Marmara, Istanbul, Turkey.

Yoo, I, et al. (2007). *Enzymatic Synthesis of Sugar Fatty Acid Esters*. Department of Chemical Engineering, Kyungwon University, Kyunggi 461-701, Korea.

Lampiran 1

Perhitungan BM Hidrolisat Minyak Kelapa Sawit

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

[Sumber: Ika, 2011]

Lampiran 3

Perhitungan Rasio Bahan

1. Perhitungan Massa Jenis Asam Lemak

Perhitungan massa jenis asam lemak digunakan piknometer 10 ml.

$$\text{Massa asam lemak} = 8,4050 \text{ gr}$$

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

2. Perhitungan Massa dan Volume Asam Lemak

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

$$= 8,0 \text{ mmol} \times 271 \text{ mg/mmol}$$

$$= 2.168 \text{ mg}$$

$$\text{Volume} = \frac{2,168 \text{ gr}}{0,8405 \text{ gr/ml}} = 2,694 \text{ mL}$$

3. Perhitungan Massa Sukrosa

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

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

$$= 0,1 \text{ mmol} \times 342,3 \text{ mg/mmol}$$

$$= 34,23 \text{ mg}$$

4. Perhitungan Volume Pelarut (n-heksana)

$$\text{Volume n-heksana} = \text{Volume sukrosa} + \text{volume asam lemak}$$

$$= 2,694 \text{ ml} + 1 \text{ ml}$$

$$= 3,694 \text{ ml}$$

Lampiran 4

Perhitungan Hasil Reaksi

1. Perhitungan Aktivitas Enzim (u/ml) 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. Perhitungan 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 Immobilisasi Enzim

1. % *Loading Efficiency*

Untuk menghitung *loading efficiency* dari enzim yang terimmobilisasi

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. % Aktivitas Immobilisasi

% Aktivitas immobilisasi dihitung dengan membandingkan aktivitas spesifik enzim terimmobilisasi dengan aktivitas spesifik enzim bebas.

$$= \frac{\text{aktivitas spesifik enzim terimmobilisasi } \left(\frac{u}{mg}\right)}{\text{aktivitas spesifik enzim bebas } \left(\frac{u}{mg}\right)} \times 100\%$$

Lampiran 6
Absorbansi Sampel

1. Absorbansi BSA

[BSA] ppm	Absorbansi Blanko	Absorbansi 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 Filtrat Enzim Imobilisasi

Rasio Enzim : Zeolit	Absorbansi
1:3	0,544
1:4	0,435
1:5	0,353

Lampiran 7
Data Titration Asam Lemak Sisa Variasi Suhu

Suhu (°C)	Erlenmeyer	Volum NaOH (ml)	Molaritas NaOH (mol/L)
30	1	13,30	0,4878
	2	13,20	
	3	13,00	
	Blanko	13,50	
35	1	12,70	
	2	12,60	
	3	12,65	
	Blanko	13,00	
37	1	20,20	0,1000
	2	20,40	
	3	20,50	
	Blanko	22,10	
40	1	12,90	0,4878
	2	12,80	
	3	13,00	
	Blanko	13,30	
45	1	13,60	
	2	13,55	
	3	13,60	
	Blanko	13,65	

Lampiran 8
Data Titration Asam Lemak Sisa Variasi Rasio Substrat

Rasio (mmol)	Erlenmyer	Volum NaOH (ml)	Molaritas NaOH (mol/L)
16	1	6,80	0,0971
	2	6,70	
	3	7,10	
	Blanko	7,30	
32	1	12,50	
	2	12,40	
	3	12,10	
	Blanko	13,20	
64	1	22,30	0,1000
	2	22,50	
	3	22,30	
	Blanko	24,10	
80	1	12,80	0,4878
	2	12,90	
	3	13,00	
	Blanko	13,30	

Lampiran 9

Data Titration Asam Lemak Sisa Variasi Waktu

Waktu (jam)	Erlenmeyer	Volum NaOH (ml)	Molaritas NaOH (mol/L)
4	1	12,90	0,4878
	2	12,80	
	3	13,00	
	Blanko	13,30	
8	1	11,50	0,1000
	2	11,70	
	3	11,40	
	Blanko	12,30	
16	1	51,70	0,0967
	2	52,00	
	3	50,60	
	Blanko	54,20	
32	1	44,50	0,1000
	2	46,50	
	3	44,00	
	Blanko	49,30	
64	1	35,40	0,1000
	2	35,50	
	3	34,10	
	Blanko	38,20	

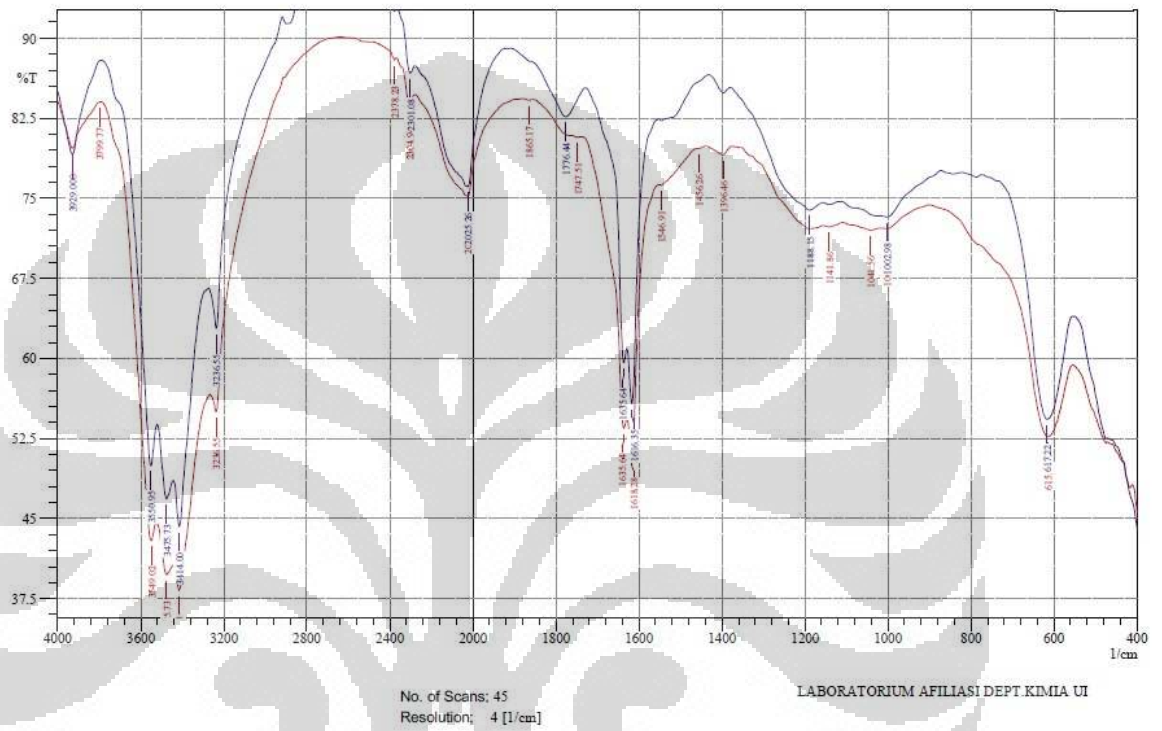
Lampiran 10

Data Titration Asam Lemak Variasi *Molecular Sieve*

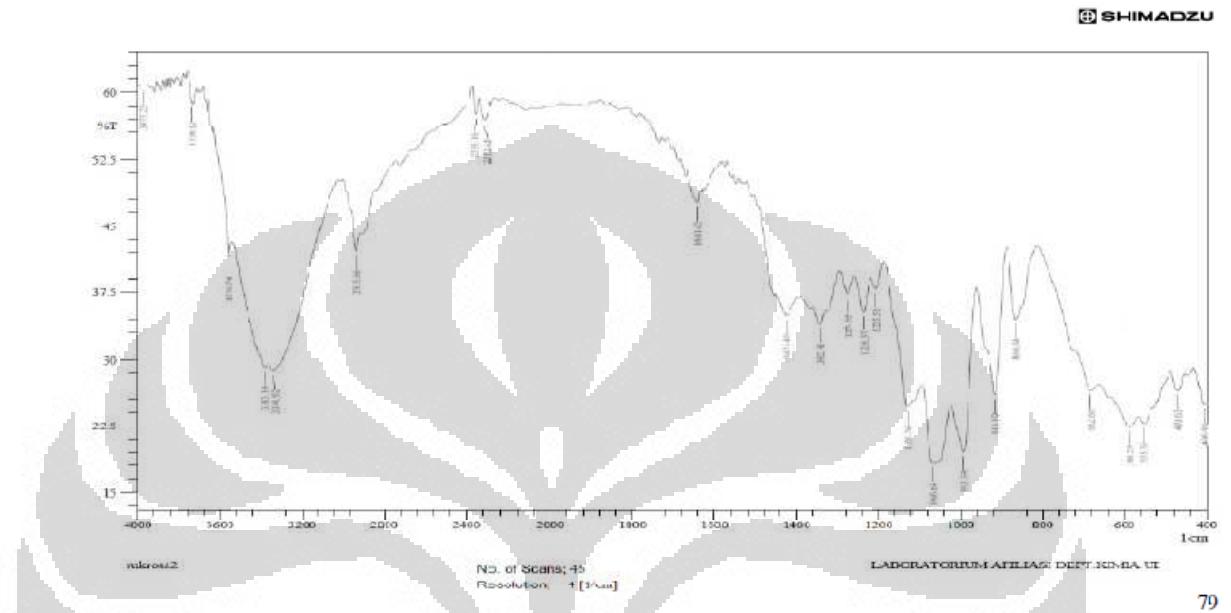
Berat <i>Molecular Sieve</i> (gram)	Erlenmeyer	Volum NaOH (ml)	Molaritas NaOH (mol/L)
0,1	1	44,50	0,1000
	2	44,70	
	3	44,30	
	Blanko	46,40	
0,7	1	41,60	
	2	41,20	
	3	41,70	
	Blanko	43,50	
1,1	1	39,50	
	2	39,70	
	3	39,40	
	Blanko	41,90	
1,5	1	42,50	
	2	42,20	
	3	42,10	
	Blanko	44,40	

Lampiran 11
Spektrum IR Zeolit Sebelum dan Sesudah Aktivasi

SHIMADZU



Lampiran 12
Spektrum IR Sukrosa



[Sumber: Ika, 2011]

Lampiran 13

Spektrum IR Asam Lemak Minyak Kelapa Sawit

