
Efektifitas Penggunaan *Co immobilized - Lipase* pada Reaksi Esterifikasi Asam Lemak Hasil Hidrolisis Minyak Kelapa

Sigit Hadianoro*, Dwina Moentamaria, Muchamad Syarwani

Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang, Jl. Soekarno Hatta No. 9, Malang 65141, Indonesia

*E-mail: sghpolinema@yahoo.co.id

ABSTRAK

Kinerja enzim immobilisasi dapat ditingkatkan dengan penambahan *co immobilizer*, hal ini dilakukan agar ikatan kovalen antara enzim dan matriks lebih kuat dan mempermudah reaksi dari gugus fungsional yang ada pada matriks sehingga tidak diperlukan penambahan bahan kimia sebagai pembawa. Pada penelitian ini digunakan matriks *polyurethane foam* (PUF) dengan penambahan *co immobilizer* yang terdiri dari gelatin, lesitin, $MgCl_2$, dan *polyethyleh glycol* (PEG) 6000. Penelitian ini difokuskan untuk melihat efektifitas *co immobilized-lipase* pada reaksi hidrolisis-esterifikasi. PUF direndam dalam larutan *co immobilizer* dengan perbandingan 1:15; 1:20 dan 1:25 (b/b) selama satu jam setelah itu dipanaskan dalam oven selama satu jam pada suhu 30°C. Selanjutnya, matriks PUF direndam dalam *lipase* selama 24 jam dan dikeringkan dalam oven pada suhu 30°C selama 24 jam sehingga terbentuk matriks lipase terko-immobilisasi pada PUF dengan yang digunakan untuk reaksi hidrolisis-esterifikasi sebagai biokatalis. Pada reaksi hidrolisis digunakan 10 gram minyak yang diemulsikan dalam air dengan variabel rasio minyak-air 1:0,6; 1:1; 1:3 dan 1:5 (b/b) dan waktu reaksi 5, 10, 15 dan 20 jam. Kadar FFA minyak kelapa awal sebesar 0,21%. Produk terbaik reaksi hidrolisis adalah asam lemak bebas dengan kenaikan kadar FFA menjadi 1,18% pada kondisi perbandingan minyak/air 1:5 (b/b). Reaksi esterifikasi dilakukan dengan cara mereaksikan asam lemak hasil terbaik hidrolisis dengan sitronelol dan *co immobilized-lipase* sebagai biokatalis. Reaksi ini dilakukan dengan variabel asam lemak: sitronelol 1:0,8 ; 1:1 dan 1:3 (b/b) serta waktu reaksi: 5, 10, 15 dan 20 jam. Produk yang dihasilkan adalah perisa alami sebagai ester. Analisis kadar sitronelol awal dan akhir reaksi esterifikasi dilakukan dengan menggunakan GC-FID. Hasil terbaik dari penelitian ini yaitu konversi sebesar 92,88% diperoleh pada ratio massa asam lemak/sitronelol 1:3.

Kata kunci: *Co immobilized*, esterifikasi, hidrolisis, immobilisasi, *polyurethane foam*.

ABSTRACT

Immobilized enzyme performance can be enhanced by the addition of *co-immobilizer*, this is done so that the covalent bond between the enzyme and the matrix can become stronger and also to ease the reaction of the functional groups present in the matrix so that no addition of chemical as carrier is required. This study used Polyurethane Foam (PUF) as matrix with the addition of *co-immobilizer* which contain gelatin, lecithin, $MgCl_2$, and PEG 6000. This study focused on looking at the effect of *co-immobilized lipase* on hydrolysis-esterification reactions. PUF is immersed in an *co-immobilizer* solution of 1:15; 1:20 and 1:25 ratio (w/w) for one hour and heated for another hour at 30°C. After that, PUF is immersed in the lipase for 24 hours, after which is heated at 30°C also for 24 hours. This research was conducted in 2 stages of reaction, which is hydrolysis then continued by esterification. In the hydrolysis reaction, we used variables such as oil-water ratio for 1:0.6; 1:1; 1:3 and 1:5 (w/w); the reaction time 5, 10, 15 and 20 hours; and also PUF:*co-immobilized* ratio in 1:15; 1:20 and 1:25 (w/w). The best fatty acid obtained from hydrolysis results in oil-water ratio of 1:5 (w/w), with FFA 1.18%. Next is esterification reaction which is done by reacting fatty acid from hydrolyzed coconut oil with citronellol, with the addition of immobilized lipase (as a biocatalyst). This reaction was carried out with variables like mass ratio of fatty acids-citronellol 1:0.8; 1:1 and 1:3 and reaction time: 5, 10, 15 and 20 hours. The resulting product is the flavor enhancer as ester. The analysis of the percentage of initial and final citronellol on the end of esterification reaction were performed using GC-FID. The best results of this study, conversion percentage respectively 92.88% obtained at mass ratio of fatty acid-citronellol 1:3.

Keywords: *Co immobilized*, esterification, hydrolysis, immobilization, polyurethane foam.

1. PENDAHULUAN

Penggunaan perisa sintesis semakin mendominasi produk makanan dan minuman di Indonesia. Hampir semua makanan dan minuman baik produk industri rumah atau skala besar mengandung bahan perisa sintetis. Secara umum, perisa diproduksi melalui sintesis kimia atau diekstrak dari tanaman/ bahan lainnya.

Menurut SNI-01-7152-2006, tentang perisa, yang disebut perisa alami adalah perisa yang diperoleh secara fisik, mikrobiologi, atau enzimatik dari bahan pangan tanaman atau hewan secara langsung ataupun melalui proses pengolahan. Perisa alami merupakan salah satu ester yang dapat dibuat dengan mereaksikan asam lemak dengan sitronelol, senyawa alkohol yang disintesis dari sotronelol, yaitu komponen utama minyak sereh. Asam lemak diperoleh dari hidrolisis minyak kelapa dengan biokatalis lipase. Penggunaan lipase sebagai biokatalis memiliki keunggulan, yaitu mempunyai aktivitas yang tinggi, spesifik dan ramah lingkungan [1].

Penelitian tentang penggunaan lipase untuk produksi perisa telah banyak dilakukan. Lipase digunakan sebagai biokatalis karena kemampuannya melakukan reaksi hidrolisis dan esterifikasi. Beberapa mikroorganisme penghasil lipase dari bakteri adalah *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Burkholderia sp.* dan *Staphylococcus sp.*, dari kapang diantaranya adalah *Rhizopus sp.*, *Aspergillus sp.*, *Geothricum sp.*, *Mucor sp.*, *Thricoderma reseei*, *Fusarium sp.* dan *Rhizomucor sp.*

Penelitian tentang penggunaan lipase untuk produksi perisa telah banyak dilakukan. Lipase merupakan enzim yang dapat melakukan katalis reaksi hidrolisis senyawa ester antara lain triasilgliserol menjadi gliserol dan asam lemak. Lipase juga bekerja secara reversible, berperan dalam reaksi esterifikasi maupun transesterifikasi dari gliserol dan asam lemak. Oleh karena lipase mampu melakukan berbagai jenis reaksi, lipase bermanfaat secara luas dalam industri aplikasi bioteknologi [2]. Beberapa mikroorganisme penghasil enzim lipase

berasal dari kelas fungi (*Rizhopus sp.*, *Aspergillus sp.*, *Geothricum sp.*, *Mucor sp.*, *Thricordema reseei*, *Fusarium sp.* dan *Rizhomucor sp.*), yeast (*Candida sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Pichia sp.*, *Saccharomyces crataegenesis*, *Torulospora globosa* dan *Trichosporon asteroid*) dan bakteri (*Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Burkholderia sp.* dan *Staphylococcus sp.*) [3].

Penggunaan lipase pada pembuatan perisa dapat dilakukan dengan metode enzim bebas maupun terimmobilisasi. Lipase dalam bentuk bebas tidak stabil terhadap perubahan lingkungan sekitar seperti pH, suhu, dan tidak dapat di-recovery serta digunakan secara berulang (*reusable*). Teknologi immobilisasi enzim telah dikembangkan untuk menjadi alternatif efisiensi pada penggunaan enzim. Teknologi immobilisasi enzim dilakukan dengan cara mengkondisikan enzim secara fisik pada ruang tertentu sehingga enzim yang terimmobilisasi dapat digunakan kembali untuk reaksi secara berulang. Teknologi immobilisasi enzim telah banyak digunakan pada industri makanan, farmasi dan kimia dengan menggunakan berbagai matriks diantaranya karbon aktif, keramik, resin polimer, silika, zeolit, *polyurethane foam* (PUF), dan lain-lain [4].

Pada penelitian ini, digunakan matriks *polyurethane foam* (PUF) karena keunggulannya yaitu bersifat inert, mempunyai porositas 97%, bersifat kaku dan mempunyai kemampuan mengikat lipase secara kovalen [4]. Kinerja immobilisasi lipase dapat ditingkatkan dengan penambahan *co immobilized* untuk mempermudah reaksi dari gugus fungsional yang ada pada matriks sehingga tidak diperlukan penambahan bahan kimia sebagai *carrier* [5]. Pada penelitian ini dilakukan penambahan gelatin, lesitin, MgCl₂, dan *poliethylen glycol* (PEG) 6000 sebagai *co immobilizer*, seperti yang telah dilakukan oleh Awang dkk. [6].

Pada penelitian Awang dkk. [6] dilakukan immobilisasi dengan metode perendaman PUF pada *co-immobilized agent* yaitu

lesitin, gelatin, PEG dan $MgCl_2$ selanjutnya dilakukan pengeringan. Selanjutnya ditambahkan lipase dan dikeringkan semalam. Reaksi esterifikasi dilakukan dengan mencampurkan asam oleat dan oleil alkohol lalu ditempatkan dalam labu yang berisi 100-500 mg immobilisasi lipase. Campuran diinkubasi pada suhu $40^\circ C$ selama 24 jam. Reaksi dihentikan penambahan 3,5 ml etanol-aseton dengan perbandingan 1:1. Pada produk ester diperoleh persen konversi sebesar 79,5%. Immobilisasi lipase dapat digunakan hingga 6x siklus pemakaian.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Prastia dan Diningrum [7], dilakukan immobilisasi lipase metode *covalent* menggunakan matriks *polyurethane foam* (PUF) yang direndam dalam larutan *co immobilizer* dengan perbandingan massa 1:2, lipase digunakan sebagai biokatalis untuk pembuatan perisa alami. Penambahan lipase dilakukan dengan variabel 4%, 6% dan 8% dari berat substrat dan variabel waktu proses esterifikasi yaitu 30, 90 dan 150 menit. Penambahan lipase untuk hasil produk perisa alami terbaik diperoleh pada penambahan 6% dengan waktu tinggal 90 menit.

Pada penelitian Pangesti dan Retno [8] dilakukan immobilisasi enzim lipase dari *Mucor meihei* pada matriks zeolit sebagai biokatalis esterifikasi pembuatan biodiesel. Penelitian ini menggunakan metode *entrapment* dan aplikasi zeolit digunakan sebagai penjernih dan pengering bahan pangan, aditif dan tanaman obat yang umumnya sensitif terhadap panas, sehingga menghasilkan produk mutu yang terbaik.

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu, penelitian tersebut dapat digunakan sebagai acuan dalam penelitian yang dilakukan, yakni untuk mengetahui pengaruh penambahan *co immobilized* - lipase pada reaksi esterifikasi untuk pembuatan perisa alami.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental, terdiri dari 5 tahap. Tahap pertama membuat larutan *crude lipase* dan larutan *co immobilized*. Tahap kedua yaitu immobilisasi PUF dengan larutan *co immobilized* dan *crude lipase*. Tahap ketiga aplikasi immobilisasi (*co immobilized* dan *crude lipase*) pada reaksi hidrolisis. Tahap keempat penggunaan immobilisasi pada reaksi esterifikasi (perisa). Tahap terakhir yaitu analisis ester menggunakan GC-FID.

2.1. Pembuatan larutan *crude lipase* dan larutan *co immobilized*

Larutan *crude lipase* dibuat dengan menggunakan *Mucor miehe* yang terlebih dahulu diinokulasikan pada PDA agar miring.

Dextro Agar (PDA) yang terdapat pada agar miring. Selanjutnya, *Mucor miehei* dicampurkan dalam 250 ml media fermentasi padat yang terdiri dari pepton 5%; KH_2PO_4 1%; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,001%; Minyak zaitun 10%; Minyak kelapa sawit 10%; ampas kelapa kering 20% dan *aquadest* 53,99%. Larutan selanjutnya diinkubasikan pada suhu $40^\circ C$ dengan kecepatan 120 rpm selama lima hari, selanjutnya ditambahkan *buffer phosphat* dengan perbandingan media padat terhadap cair 1:4 (b/b) dan diinkubasi kembali pada suhu $40^\circ C$ dengan kecepatan 150 rpm selama 135 menit dan ditambahkan *tween* 0,5% (v/v). langkah terakhir yaitu pemisahan padatan dengan *crude lipase* dan sentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 150 rpm.

2.2. Immobilisasi PUF dengan larutan *co immobilized* dan *crude lipase*

Pembuatan larutan *co-immobilisasi* dilakukan dengan mencampurkan 50 gram lesitin, 50 gram gelatin, 20 gram PEG 6000 dan 10 gram $MgCl_2$ kemudian dilarutkan masing – masing bahan dengan satu liter *aquadest*. Selanjutnya, rendam PUF dalam larutan *co immobilized* dengan perbandingan PUF : *Co Immobilizer* 1:15; 1:20 dan 1:25 (b/b) selama 1 jam, keringkan menggunakan

oven selama 1 jam pada suhu 30°C, PUF hasil pengeringan direndam kembali dengan *crude lipase* sebanyak 15, 20 dan 25 gram selama 24 jam, kemudian oven selama 24 jam pada suhu 30°C.

2.3. Penggunaan pada reaksi hidrolisis

Hasil *co immobilized* dan *crude lipase* selanjutnya digunakan pada reaksi hidrolisis pada minyak kelapa sebanyak 10 gram dengan perbandingan minyak : akuades 1:0,6; 1:1; 1:3 dan 1:5 (b/b), ditambahkan lipase terimmobilisasi dan larutan diinkubasikan pada suhu 40°C dengan variasi waktu selama 5, 10, 15 dan 20 jam. Hasil akhir yang didapat yaitu gliserol dan FFA yang selanjutnya dipisahkan menggunakan corong pemisah dan diuji kadar FFA-nya. Kadar FFA menunjukkan banyaknya asam lemak bebas dalam minyak.

2.4. Penggunaan pada reaksi esterifikasi

FFA yang didapatkan dari reaksi hidrolisis selanjutnya digunakan untuk reaksi esterifikasi dengan perbandingan massa FFA : Sitronelol 1:0,8; 1:1 dan 1:3. Lipase terimmobilisasi ditambahkan pada larutan, diinkubasi pada suhu 40°C selama 5, 10, 15 dan 20 jam. Produk yang diperoleh yaitu ester (perisa) dan dipisahkan menggunakan *sentrifuge* dengan kecepatan 10000 rpm selama 15 menit, kemudian analisis ester menggunakan GC-FID yang bertujuan untuk mengetahui kandungan sitronelol yang terdapat pada ester (perisa).

2.5. Variabel percobaan

Variabel tetap terdiri dari matriks PUF dari pasar lokal, larutan *co immobilized* yang digunakan terdiri dari: lesitin, gelatin, MgCl₂ dan PEG 6000 dari pasar lokal dan suhu esterifikasi 40°C. Sedangkan untuk variabel berubah terdiri dari perbandingan PUF:Co Immobilized = 1:15; 1:20 dan 1:25 (b/b) pada reaksi hidrolisis, perbandingan FFA : Sitronelol 1:0,8; 1:1 dan 1:3 (b/b) pada reaksi esterifikasi, dan waktu reaksi 5, 10, 15 dan 20 jam.

Produk hasil proses esterifikasi didapatkan dua lapisan cairan, dimana lapisan atas merupakan ester sitronelol laurat dan lapisan bawah merupakan campuran air dan enzim. Lapisan atas dianalisis menggunakan GC-FID untuk mengetahui jumlah sitronelol yang terkonversi menjadi produk ester.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari penelitian ini didapatkan hasil dan pembahasan tentang penambahan *co immobilized – lipase* pada reaksi esterifikasi pada pembuatan perisa alami.

Tabel 1. Kadar FFA (%) hasil hidrolisis pada perbandingan PUF : *Co immobilized* 1:15 (b/b)

Waktu Reaksi (Jam)	Ratio Minyak : Air (b/b)			
	1:0,6	1:1	1:3	1:5
5	0,18	0,17	0,17	0,27
10	0,18	0,27	0,45	0,46
15	0,27	0,36	0,36	0,45
20	0,36	0,35	0,55	0,59

Tabel 2. Kadar FFA (%) hasil hidrolisis pada perbandingan PUF : *Co immobilized* 1:20 (b/b)

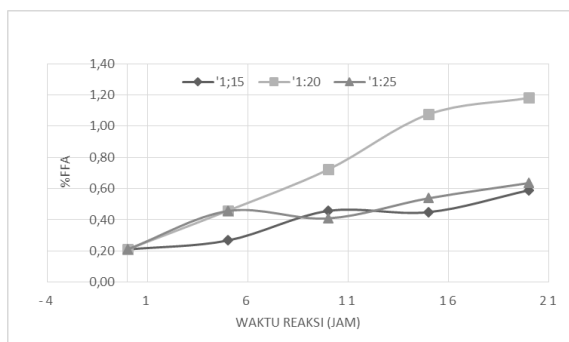
Waktu Reaksi (Jam)	Ratio Minyak : Air (b/b)			
	1:0,6	1:1	1:3	1:5
5	0,36	0,46	0,55	0,46
10	0,27	0,54	0,73	0,72
15	0,55	0,73	0,91	1,08
20	0,73	1,01	1,08	1,18

Tabel 3. Kadar FFA (%) hasil hidrolisis pada perbandingan PUF:Co Immobilized 1:25 (b/b)

Waktu Reaksi (Jam)	Minyak : Air (b/b)			
	1 : 0.6	1:1	1:3	1:5
5	0,28	0,27	0,36	0,46
10	0,23	0,32	0,41	0,41
15	0,27	0,37	0,46	0,54
20	0,36	0,46	0,54	0,64

3.1. Pengaruh penambahan *co immobilized* terhadap hasil hidrolisis pada preparasi pembuatan perisa alami

Kinerja immobilisasi *lipase* dapat ditingkatkan dengan penambahan *co immobilized* untuk mempermudah reaksi dari gugus fungsional yang ada pada matriks sehingga tidak diperlukan penambahan bahan kimia sebagai *carrier* [5].



Gambar 1. Waktu hidrolisis terhadap kadar FFA terbaik pada perbandingan minyak : air 1:5 (b/b)

Kadar FFA hasil hidrolisis berdasarkan Gambar 1 menunjukkan peningkatan terhadap kadar FFA awal minyak kelapa yaitu 0,21%. Hal tersebut menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah asam lemak bebas yang terbentuk dibandingkan minyak awal setelah dilakukan hidrolisis menggunakan *crude lipase* [9]. Semakin banyak kandungan air akan mengakibatkan nilai dari kadar FFA semakin tinggi. Hasil ini memiliki kecenderungan yang sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Yulianto dkk. [10] yang mendapatkan bahwa semakin besar konsentrasi air, maka peningkatan jumlah asam yang terbentuk juga akan semakin besar. Jumlah air yang semakin besar akan menyebabkan minyak semakin sukar untuk diemulsikan dalam air dan cenderung membentuk dia lapisan, sehingga kinerja enzim *lipase* tidak efektif. Kecenderungan nilai kadar FFA berbeda-beda pada setiap perbandingan PUF : *Co immobilized*, dapat dilihat pada Tabel 1-3 trend kenaikan kadar FFA lebih kecil pada

perbandingan PUF : *Co immobilized* 1:15 dan 1:25 (b/b) sedangkan pada perbandingan PUF : *Co Immobilized* 1:20 (b/b) trend kenaikan kadar FFA relatif lebih besar dari pada kedua variabel lainnya. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan penggunaan unit enzim berperan dalam hal apa sehingga berakibat naik atau turunnya kadar FFA.

Berdasarkan data tersebut semakin banyak enzim yang digunakan pada reaksi hidrolisis maka akan mengakibatkan nilai dari kadar FFA semakin besar. Hasil penelitian ini sependapat dengan penelitian Su'i dkk. [11] yang menyebutkan bahwa penambahan enzim terhadap substrat hingga konsentrasi enzim tertentu (12%) akan meningkatkan aktivitas *lipase Caesalpinia bonducella L.* Jika jumlah enzim ditingkatkan lagi, aktivitas *lipase* akan menurun yang ditunjukkan oleh jumlah produk hidrolisis yang lebih rendah [11]. Jika jumlah enzim ditingkatkan dengan jumlah substrat yang tetap, maka akan tercapai keadaan *steady state*, jumlah produk tidak dapat meningkat lagi. Penurunan hasil dapat disebabkan oleh proses pemisahan hasil dari enzim yang digunakan.

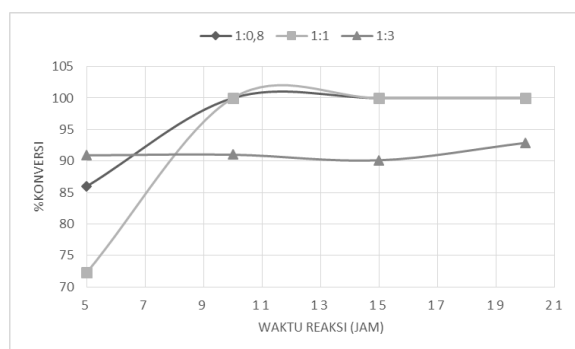
Berdasarkan hasil penelitian, maka diperoleh hasil hidrolisis terbaik pada perbandingan PUF : *Co immobilized* 1:20 (b/b) dengan rasio minyak : air 1:5 (b/b) dan waktu reaksi 20 jam. Nilai kadar FFA pada waktu tersebut adalah 1,18%. Hasil dari hidrolisis terbaik ini akan digunakan untuk esterifikasi pada pergram minyak.

3.2. Pengaruh perbandingan (b/b) asam lemak bebas : sitronelol terhadap konversi reaksi esterifikasi

Dalam penelitian variabel yang digunakan asam lemak bebas : sitronelol 1:0,8; 1:1 dan 1:3 dan waktu reaksi 5, 10, 15 dan 20 jam. Sedangkan biokatalis adalah *lipase* yang telah diimmobilisasi yang memiliki aktivitas sebesar 5,278 unit/gram (Tabel 4). Aktivitas 5,278 unit/gram dipilih sebagai biokatalis karena pada saat reaksi hidrolisis memiliki hasil yang terbaik yaitu PUF : *co immobilized* 1:20.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas lipase terco-immobilisasi

No	Co Immobilized (g)	Aktivitas Lipase (U/g)
1	15	6,611
2	20	5,278
3	25	7,667

**Gambar 2.** Pengaruh waktu reaksi terhadap konversi (%) untuk perbandingan massa FFA : sitronelol

Dari data tersebut terlihat bahwa untuk variabel yang sama perbandingan massa FFA : sitronelol 1:3 memiliki persen konversi yang lebih besar dibandingkan 1:0,8 dan 1:1. Reaksi antara FFA dan sitronelol merupakan reaksi kesetimbangan. Dengan perbandingan 1:3 diperoleh hasil terbaik. Hasil penelitian ini memiliki kecenderungan yang sama terhadap hasil penelitian yang dilakukan oleh Salihu dkk. [12] dilakukan berbagai perbandingan massa asam butirat dengan *n*-butanol 1:1; 1:2; 1:3; 1:4; 1:5; 1:6; 1:7 dan 1:8 dengan menggunakan katalis lipase *Candida cylindracea* dengan aktivitas enzim 75 U/mg, konversi meningkat pada perbandingan massa 1:8 sebesar 63,33%, perbandingan molar yang tinggi dapat memperoleh persen konversi tertinggi. Sedangkan pada penelitian Salihu dkk. [12] pada saat sintesis *cetyl oleat*, alkohol berlebih mempercepat sintesis ester dan laju paling cepat didapatkan pada perbandingan asam dan alkohol 1:10. Sehingga dalam penelitian ini, *molar ratio* tinggi

menghasilkan persentase konversi tertinggi, hal ini karena sifat setiap ester yang akan dihasilkan menentukan tingkat *molar ratio* asam terhadap alkohol yang akan digunakan. Pada Gambar 2 terlihat bahwa nilai persen konversi *ratio massa* 1:0,8 dan 1:1 memiliki konversi sebesar 100% pada waktu 10, 15 dan 20 jam. konversi 100% dapat disebabkan karena tidak adanya kandungan kadar sitronelol yang terdapat dalam analisis GC. Hal ini diduga pada saat pemisahan PUF dengan produk ester tidak maksimal sehingga menyebabkan tidak adanya kandungan sitronelol, selain itu karena kandungan sitronelol yang sangat sedikit dibandingkan asam lemak bebas sehingga semuanya terkonversi menjadi produk. Faktor lainnya karena variasi waktu reaksi yang sangat lama, sehingga semakin lama waktu kontak maka produk yang dihasilkan juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan penelitian Saravanan [13] tentang eseterifikasi asam butirat dan sitronelol yang menggunakan katalis *lipase* dari *Rhizopus sp.* dan *Mucor miehei* yang terimmobilisasi dengan menghasilkan konversi sebesar 100% setelah 24 jam.

3.3. Pengaruh variasi waktu reaksi terhadap konversi reaksi esterifikasi

Tujuan penggunaan variabel waktu yang berbeda-beda untuk mengetahui waktu optimum yang dibutuhkan enzim untuk mengkatalis substrat secara maksimal. Pengaruh variasi reaksi terhadap konversi dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada *ratio massa* yang sama 1:3, persen konversi pada waktu 5 jam sebesar 90,90%, sedangkan pada waktu 10 jam persen konversi sebesar 91,00% dan pada waktu 15 jam terjadi penurunan persen konversi yaitu 90,11%. Penelitian ini memiliki kecenderungan yang sama dengan penelitian Muhamad dkk. [14], reaksi terdiri dari asam karboksilat dan alkohol dengan *lipase Candida antarctica* yang telah diimmobilisasi dan diinkubasi pada suhu 37°C. Reaksi tersebut menghasilkan nonyl kaprilat dan variabel yang digunakan adalah variasi

waktu 1 hingga 12 jam. Dibutuhkan sekitar 5 jam untuk mencapai kesetimbangan dengan persen konversi 87,98%. Persen konversi 88,5% menunjukkan tingginya pertambahan selama 6 jam. Walaupun begitu dalam waktu 8 jam konversi mulai menurun sebesar 85,20%, sedangkan pada waktu 10 dan 12 jam persen konversi meningkat kembali. Persen konversi yang menurun pada waktu 8 jam disebabkan karena terbentuknya molekul air yang mencapai keadaan kesetimbangan. Disaat reaksi berjalan, konsentrasi substrat menurun sehingga menjadikan menurunnya tingkat dari enzim dengan substrat.

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 [15]. Sedangkan dari penelitian ini, persen konversi yang tinggi didapat pada waktu reaksi 20 jam, Sehingga bila waktu reaksi tersebut dilanjutkan maka akan diketahui waktu optimum reaksi. Selain waktu reaksi yang harus dilanjutkan, faktor lainnya karena komponen substrat yang masih ada, dan masih bereaksi dengan enzim.

4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa persen konversi tertinggi diperoleh pada rasio massa 1:3 dan waktu reaksi 20 jam, yaitu sebesar 92,88%.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] D. Moentamaria, G. Againa, M. M. Ridhawati, A. Chumaidi, N. Hendrawati, Hidrolisis Minyak Kelapa dengan Lipase Terimmobilisasi Zeolit pada Pembuatan Perisa Alami, *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, vol. 5, no. 2, hal. 84-91, 2016.
- [2] E. Suyanto, E. S. Soetarto, M. N. Cahyanto, Produksi Lipase Kapang Lipolitik Pada Limbah Ampas Kelapa, *Bioeksperimen*, vol. 1, no. 1, hal. 12-17, 2015.
- [3] I. Riwayati, I. Hartati, L. Kurniasari, Teknologi Imobilisasi Sel Mikroorganisme pada Produksi Enzim Lipase, Prosiding SNST ke-3, hal. A.55-A.59, 2012.
- [4] X. Zhao, F. Qi, C. Yuan, W. Du, D. Liu, Lipase-catalyzed Process for Biodiesel Production: Enzyme Immobilization, Process Simulation and Optimization, *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 44, hal. 182-197, 2015.
- [5] L. Cao, Carrier-bound Immobilized Enzymes: Principles, Application and Design, Weinheim: Wiley-VCH, 2006.
- [6] R. Awang, M. R. Ghazuli, M. Basri, Immobilization of Lipase from *Candida Rugosa* on Palm-Based Polyurethane Foam as a Support Material, *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, vol. 3, no. 3, hal. 163-166, 2007.
- [7] D. E. Prastia, P. Diningrum, Pembuatan Perisa Alami dari Minyak Kelapa dan Citronellol Berbasis Minyak Sereh dengan Amobilisasi Lipase Secara Kontinyu, Laporan Akhir, Politeknik Negeri Malang, Indonesia, 2014.
- [8] R. A. Pangesti, M. Retno, Amobilisasi Lipase pada Matriks Zeolit untuk Sintesis Perisa Alami, Laporan Akhir, Politeknik Negeri Malang, Indonesia, 2015.
- [9] D. Moentamaria, Z. Irfin, S. Udjiana, Immobilized Lipase Technology for Making Natural Flavor, *International Journal of Engineering Research and Development*, vol. 11, no. 12, hal. 30-35, 2015.

- [10] M. E. Yulianto, R. W. Broto, I. Pudjihastuti, Studi Awal Pembuatan Asam Lemak secara Enzimatik dari Buah Segar Kelapa Sawit, Laporan Akhir, Universitas Diponegoro, Semarang, Indonesia, 2004.
- [11] M. Su'i, H. Harijono, Y. Yuniarta, A. Aulani'am, Aktivitas Hidrolisis Enzim Lipase dari Kentos Kelapa Terhadap Minyak Kelapa, *Agritech*, vol. 30, no. 3, hal. 164-167, 2010.
- [12] A. Salihu, M. Z. Alam, M. I. AbdulKarim, H. M. Salleh, Esterification for Butyl Butyrate Formation using *Candida cylindracea* Lipase Produced from Palm Oil Mill Effluent Supplemented Medium, *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 7, no. 6, hal. 1159-1165, 2014.
- [13] D. Saravanan, Immobilized Lipase Catalyzed Synthesis Of Citronellyl Butyrate In Organic Media, Mumbai: Institute of Chemical Technology (ICT), 2013.
- [14] S. K. Muhamad, S. M. Radzi, S. S. Othman, M. B. A. Rahman, H. M. Noor, Optimization of Lipase – Catalyzed Synthesis of Flavour Esters in Solvent Free System, *Journal of Fundamental Sciences*, vol. 6, no. 1, hal. 31-36, 2010.
- [15] N. D. Insani, 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, Skripsi, Universitas Indonesia, 2012.