

## PENGARUH WAKTU INKUBASI DAN PERBANDINGAN MOL PADA REAKSI TRANSESTERIFIKASI ENZIMATIS ANTARA MINYAK ZAITUN DAN POLYETHYLENE GLYCOL

Ageng Priatni dan Eldha Sampepana

Balai Riset dan Standardisasi Industri Samarinda

### ABSTRACT

The aim of this research is to know the optimum condition and the effect of mole ratio and incubation time of transesterification reaction between olive oil and polyethylene glycol. Olive Oil was transesterified by polyethylene glycol and catalyzed by lipases enzymes in oil-water emulsion system. The result of this research showed that mole ratio and incubation time had significant effect to reaction of conversion. The optimum mole ratio between olive oil and polyethylene glycol was 1:9 and optimum time needed for transesterification was four hours in pH 7 and temperature 40° C.

**Key words :** olive oil, polyethylene glycol, transesterification, optimum condition

### PENDAHULUAN

Polyethylene glycol dioleat adalah senyawa turunan oleokimia yang termasuk golongan surfaktan non ionik. Surfaktan non ionik adalah suatu zat afil yang molekulnya terdiri dari dua bagian yaitu hidrofil dan lipofil. Polyethylene glycol dioleat banyak digunakan oleh berbagai industri tekstil sebagai penyerap warna agar lebih merata dan tahan lama (pengawet warna) (Anonim, 2009). Polyethylene glycol dioleat dan polyethylene glycol monooleat dengan perbandingan berat campuran 34:49 juga digunakan sebagai bahan tambahan antikorosi dalam kemasan pangan yang diizinkan oleh BPOM RI (BPOM, 2009). Polyethylene Glycol Dioleat dapat diperoleh dengan jalan mereaksikan antara Polyethylene Glycol dengan asam oleat melalui reaksi transesterifikasi.

Polyethylene Glycol (PEG) yang juga dikenal sebagai Polyethylene Oxide (PEO) adalah jenis polyether yang paling komersial atau banyak aplikasinya. Polyethylene Glycol memiliki rumus molekul  $H(CH_2-O-CH_2)_nOH$  dan titik nyala 182-287 °C. Polyethylene Glycol ada yang larut dalam air, metanol, bensol, dicloromethane, dan ada juga yang tidak larut di dalam diethylether dan hexane. Polyethylene Glycol memiliki banyak kogunaan, diantaranya sebagai bahan dasar krim dan sebagai dispersant (yang mengikat air dan membantu menjaga karet seragam diseluruh pasta gigi) pada pasta gigi. Polyethylene Glycol juga telah digunakan untuk menjaga materi atau benda yang lama berada dalam air misalnya

kapal perang dan banyak lagi kegunaan dari Polyethylene Glycol (Anonim, 2009).

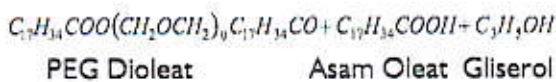
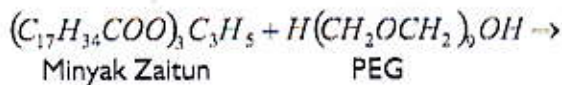
Asam oleat merupakan sebuah asam lemak tidak jenuh yang banyak terdapat dalam trigliserida dan memiliki satu ikatan rangkap. Nama lain dari asam oleat adalah asam 9-oktadekanoat dengan rumus molekul  $CH_3(CH_2)_7CH=CH(CH_2)_7COOH$ . Minyak tidak jenuh (PolyUnsaturated Fat) adalah minyak yang mengandung asam lemak tidak jenuh dalam jumlah banyak. Sebagai contoh adalah minyak jagung, minyak kedelai, minyak biji bunga matahari dan minyak zaitun (Winarno, 1997). Asam oleat mempunyai titik cair sekitar 16,3 °C dan titik didih 360 °C (Ketaren, 2005).

Minyak zaitun adalah minyak yang dihasilkan oleh buah zaitun yang tumbuh di sekitar Laut Tengah tetapi tidak terdapat di Indonesia. Warna minyak kuning, kadang-kadang agak hijau, hampir tidak bau dan sama sekali tidak ada rasa apa-apa. Minyak zaitun amat jernih dan berkilau serta baik untuk kesehatan manusia. Kandungan asam lemak yang di miliknya antara lain asam oleat atau omega 9 (79%), asam palmitat atau asam lemak jenuh (11%), asam linoleat atau omega 6 (7%), asam stearat (2%), dan lain-lain sebesar 1% (Rumah Herbal Madu, 2009).

Reaksi transesterifikasi adalah suatu reaksi antara trigliserida (minyak atau lemak) menjadi alkil ester melalui reaksi dengan alkohol (alkoholisis) dan menghasilkan produk samping yaitu gliserol dimana reaksinya biasanya berjalan



lambat namun dapat dipercepat dengan bantuan katalis. (Tarigan,2002). Adapun reaksi transesterifikasi antara minyak zaitun dan Polyethylene Glycol adalah sebagai berikut :



Gambar 1. Reaksi transesterifikasi antara minyak zaitun dengan PEG

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah membuat polyethylene glycol dioleat melalui reaksi transesterifikasi enzimatis antara minyak zaitun dan polyethylene glycol serta mengetahui pengaruh perbandingan mol dan waktu inkubasi pada reaksi tersebut.

## BAHAN DAN METODE

dikocok hingga homogen. Selanjutnya ditambahkan 40 (1 mol) ml minyak zaitun dan dikocok kembali hingga terbentuk emulsi. Sebagai katalis ditambahkan 10 ml enzim lipase (0,1 mg enzim lipase dalam 10 ml larutan buffer fosfat 0,1 M, pH 7) kedalam emulsi PEG-minyak zaitun dan selanjutnya diinkubasi pada suhu 40 °C. Setelah 2 jam reaksi dihentikan dengan cara dipanaskan hingga emulsi terpecah menjadi 2 fase, fase air dibagian bawah dan fase minyak dibagian atas. Fase minyak diambil dengan membuang fase air dengan menggunakan labu pemisah. Langkah-langkah tersebut di atas diulangi untuk perbandingan mol Minyak Zaitun-PEG 1:6 dan 1:9 serta waktu inkubasi selama 4 dan 6 jam. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Hasil yang diperoleh kemudian dianalisa kadar air (A) ; Bilangan Asam(Aa) ; Bilangan Penyabunan (As) (Sudarmadji dkk, 2003) dan Gliserol Total (Gttl) (FBI, 2003) dan selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus di bawah ini untuk memperoleh konversi reaksi :

$$Konversi(\%) = \frac{100(As - Aa - 18,29Gttl)}{As} - A$$

Nilai konversi yang diperoleh dari tiap-tiap perlakuan dan ulangan dianalisa dengan analisis sidik ragam, hasil yang menunjukkan perbedaan

## Bahan dan Alat

Bahan bahan yang digunakan antara lain minyak zaitun sebagai sumber asam lemak yang diperoleh dari Al-Ghuroba; Enzim lipase dari Pseudomonas Fluorescens sebagai katalisator dari WAKO; Lecitin sebagai emulsifier, Polyethylene Glycol 400, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> dan Etanol dari Merck. Peralatan yang digunakan antara lain penangas air bergoyang, pengocok (shakker), oven, corong pemisah, erlenmeyer, gelas ukur, pipet volume, pipet tetes, gelas piala, botol contoh dan enderop.

## Metode

### Proses Pembuatan Polyethylene Glycol Dioleat

Masukkan 41,88 ml PEG (3 mol) kedalam botol contoh yang telah disterilisasi kemudian ditambahkan 0,2 g emulsifier dan nyata diuji lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf 5 %.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji BNT 5 % terhadap pengaruh lamanya waktu inkubasi dan perbandingan mol reaksi transesterifikasi enzimatis sebagaimana pada Tabel 1.

Tabel 1. Konversi PEG Dioleat Hasil Transesterifikasi Enzimatis

Waktu Inkubasi	Perbandingan Mol		
	1:3	1:6	1:9
2	97,4867 d	97,5100 d	97,5533 d
4	97,4933 d	97,5667 d	97,6167 d
6	92,6833 a	94,9333 b	96,9167 c

Keterangan ;

1. Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata.
2. PEG Dioleat dihasilkan dari reaksi transesterifikasi enzimatis menggunakan lipase 1 % pada suhu 40 °C.



Tabel 1. menunjukkan bahwa pengaruh lamanya waktu inkubasi 4 jam tidak berbeda nyata dengan pengaruh lamanya waktu inkubasi 2 jam tetapi berbeda sangat nyata dengan pengaruh lamanya waktu inkubasi 6 jam. Enzim sebagai suatu protein, dapat mengalami denaturasi. Selain suhu dan pH, lamanya waktu reaksi juga dapat menyebabkan enzim terdenaturasi, maka pada bagian aktif enzim akan terganggu dan dengan demikian berpengaruh terhadap efektifitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim substrat (Poedjiadi & Supryanti, 1994). Akibatnya kecepatan reaksi menurun, yang dalam hal ini ditunjukkan dengan penurunan % konversi reaksi pada waktu inkubasi 6 jam.

Pada Tabel 1 juga dapat dilihat bahwa pengaruh perbandingan mol minyak zaitun : *polyethylene glycol* (1:9) berbeda sangat nyata dengan perbandingan mol minyak zaitun : *polyethylene glycol* (1:3) dan perbandingan mol minyak zaitun : *polyethylene glycol* (1:6). Menurut Winarno, 1982, reaksi enzimatik, berjalan mengikuti postulat Michaelis-Menten. Adapun skemanya adalah sebagai berikut :



Gambar 2. Reaksi antara enzim dengan substrat menurut Michaelis-Menten

Sebelum reaksi berlangsung substrat bergabung dengan enzim membentuk kompleks enzim substrat dengan konstanta kecepatan  $k_1$ . Kompleks enzim substrat kemudian mengalami 2 kemungkinan penguraian yaitu pertama kembali terurai menjadi E dan S dengan konstanta kecepatan  $k_2$ , atau melanjutkan reaksi dengan menghasilkan produk (P) atau E dengan konstanta kecepatan  $k_3$ . Substrat dalam penelitian ini adalah minyak zaitun dan *polyethylene glycol*. Semakin besar mol *polyethylene glycol* yang ditambahkan berarti konsentrasi substrat semakin besar. Menurut Poedjiadi & Supryanti, 1994, pada konsentrasi enzim yang tetap, maka penambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi sampai kecepatan yang tetap. Untuk dapat terjadi kompleks enzim substrat diperlukan adanya kontak antara enzim dengan substrat.

Kontak ini terjadi pada suatu tempat atau bagian enzim yang disebut bagian aktif. Pada konsentrasi substrat rendah, bagian aktif enzim ini hanya menampung substrat sedikit. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang dapat berhubungan dengan enzim pada bagian aktif tersebut. Dengan demikian konsentrasi kompleks enzim substrat semakin besar dan hal ini menyebabkan makin besarnya kecepatan reaksi. Kecepatan reaksi semakin besar berarti jumlah produk atau hasil reaksi yang diperoleh bertambah besar. Besarnya hasil reaksi/produk yang diperoleh dalam penelitian ini ditunjukkan dengan % konversi reaksi.

Pengaruh interaksi antara lamanya waktu inkubasi 4 jam dan perbandingan mol minyak zaitun : *Polyethylene Glycol* (1:9) berbeda sangat nyata dengan pengaruh interaksi lamanya waktu inkubasi 6 jam pada perbandingan mol 1:3; 1:6 dan 1:9, tetapi tidak ada perbedaan dengan pengaruh interaksi lamanya waktu inkubasi 2 jam pada perbandingan mol 1:3; 1:6 dan 1:9 dan lamanya waktu inkubasi 4 jam pada perbandingan mol 1:3 dan 1:6.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kesimpulan bahwa perbandingan mol antara minyak zaitun dan *Polyethylene Glycol* serta lamanya waktu inkubasi berpengaruh sangat nyata terhadap % konversi reaksi. Konversi reaksi optimum sebesar 97,62 % diperoleh pada perbandingan mol minyak zaitun dan *Polyethylene Glycol* 1:9 pada waktu inkubasi 4 jam.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Baristand Industri Samarinda sebagai penyandang dana dan Kepala Baristand Industri Samarinda atas kesediaannya dalam memberikan tempat, alat dan bahan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2009, <http://www.kimialipi.net/index.php?pillhan=litbang&kunci=&kategori=5&id=2>, akses tgl. 03 Maret 2009.
- Anonim, 2009, [http://en.wikipedia.org/wiki/Polyethylene\\_glycol](http://en.wikipedia.org/wiki/Polyethylene_glycol), diakses tgl. 05 Maret 2009.
- Anonim, 2009, Komposisi Minyak Zaitun dari OLIVE OIL EXTRA VIRGIN, Distributed By AL -GHUROBA, Sukoharjo-Solo, Indonesia.
- BPOM, 2009, "Peraturan Kepala BPOM RI No. 00.05.01.55.1.621 Tentang Pengawasan Pemasukkan Bahan Kemasan Pangan", BPOM RI, Jakarta.
- FBI, 2003, FBI-A02-03, Metode Analisis Standar untuk Kadar Gliserol Total, Bebas, dan Terikat di dalam Biodiesel Ester Alkil : Metode Iodometri-Asam Periodat.
- Ketaren, S., 2005, "Minyak dan Lemak Pangan", hal. 256, UI-Press, Jakarta.
- Poedjadi, A dan Supryanti, T., 1994, "Dasar - Dasar Biokimia", hal. 158-162, UI Press, Jakarta.
- Rumah Herbal Madu, 2009, Berkenalan Dengan Zaitun", [www.rumahherbalmadu.com](http://www.rumahherbalmadu.com), Jakarta.
- Sudarmadji S., Haryono B dan Suhardi, 2003, "Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian", Liberty, Yogyakarta.
- Tarigan J.B., 2002, Ester Asam Lemak, hal. 3, USU Digital Library, Sumatera Utara.
- Winarno, F.G., 1997, "Kimia Pangan dan Gizi", hal. 90 & 91, PT. Gramedia, Jakarta.
- Winarno, F.G., 1982, "Enzim Pangan", hal. 66; 67; 68, PT. Gramedia, Jakarta.