

## Efektifitas Reaksi Transesterifikasi Minyak Kelapa dan Sereh untuk Pembuatan Perisa Alami dengan Biokatalisator Lipase serta Penggunaan Ultrasonik

Dwina Moentamaria, Nabila Rizki Amalia, Rosita Dwi Chrisnandari\*, Zakijah Irfin, and Dyah Ratna Wulan

Departemen Teknik Kimia, Politeknik Negeri Malang, Jawa Timur, Indonesia

Corresponding Author:  
Rosita Dwi Chrisnandari  
rositadwi86@polinema.ac.id

Received: December 2023  
Accepted: March 2024  
Published: March 2024

©Rosita Dwi Chrisnandari et al.  
This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

### Abstract

In general, flavor are synthesis through enzymatic hydrolysis and esterification reactions (up to 20 hours) using commercial ingredients based on free fatty acids and alcohol. Efficient endeavors utilizing enzymatic transesterification to expedite reactions are necessary to acquire flavored products. Substrates may originate from commercial or natural sources abundant in fatty acids and alcohol. Commercial fatty acids and alcohol (geraniol) are readily available in pure forms. Alternatively, fatty acids can be sourced from coconut oil, while geraniol can be derived from lemongrass oil, which is more cost-effective compared to commercial ingredients. Ultrasonics have emerged as a means to expedite enzymatic. **The objective of this study is to** investigate the impact of ultrasonic power and transesterification reaction time between coconut oil and geraniol on geraniol conversion. Utilizing lipase (415.99 U/g), coconut oil was subjected to transesterification with commercially obtained pure geraniol in a 1:3 weight ratio, conducted in an ultrasonic tank filled with water. Reaction durations spanned 30, 60, 90, 120, and 150 minutes, with ultrasonic powers set at 50, 70, and 90 watts. The study findings elucidated that the highest geraniol conversion rate of 50.59% was achieved with 70 watts of ultrasonic power over a 90-minute period. These optimal conditions were subsequently applied to transesterify coconut oil with geraniol from lemongrass oil, yielding a conversion rate of 90.29%. **This finding** demonstrate the possibility of employing coconut oil and lemongrass oil in a one-stage transesterification process to produce natural flavors via enzymatic lipase catalysis expedited by ultrasonic technology, facilitating swift reaction times.

**Keywords:** *ultrasonic; enzymatic lipase; coconut oil; lemongrass oil, geraniol*

### Pendahuluan

Perisa adalah salah satu jenis Bahan Tambahan Pangan (BTP). Perisa merupakan suatu bahan yang berfungsi untuk memberikan aroma tertentu namun tidak untuk dikonsumsi secara langsung, melainkan diaplikasikan pada bahan

pangan untuk menciptakan aroma pada makanan<sup>[1]</sup>. Perisa alami dapat diperoleh secara langsung atau melewati proses pengolahan secara fisika, kimia, mikrobiologis atau enzimatik dari tumbuhan atau hewan<sup>[1]</sup>. Pembuatan perisa alami sebagai alternatif untuk meminimalisir penggunaan perisa

sintetis. Resiko kesehatan terkait konsumsi bahan tambahan makanan buatan dapat membuat reaksi alergi, sakit perut, diare dan muntah<sup>[2]</sup>. Perisa sebagian besar digunakan dalam makanan, kosmetik, dan industri farmasi. Perisa ester diperoleh dari hasil reaksi antara asam lemak rantai panjang, rantai menengah, atau rantai pendek dari trigliserida dengan alkohol. Perisa ester merupakan senyawa aktif aroma penting yang digunakan sebagai penambah rasa dalam industri makanan dan wewangian dalam industri kosmetik. Secara kimia, zat aroma aktif adalah senyawa organik volatil seperti alkohol, aldehid, keton, asam, ester, fenolat, terpen, lakton dan pirazin yang memiliki bau sangat khas<sup>[3]</sup>.

Perisa dapat dibuat melalui reaksi transesterifikasi secara enzimatik. Minyak dan lemak secara kimia adalah trigliserida atau triasilgliserida yang merupakan bagian dari lipid. Trigliserida atau tiga molekul asam lemak adalah ester yang diperoleh dari reaksi antara gliserol (alkohol) dengan asam karboksilat. Transesterifikasi enzimatik trigliserida merupakan alternatif yang baik untuk proses kimia karena sifatnya yang ramah lingkungan, selektif, dan persyaratan suhu yang rendah<sup>[4][5][6][7][8]</sup>.

Enzim merupakan biokatalisator yang menunjang dalam berbagai proses industri. Enzim ini memiliki sifat khusus dapat memecahkan ikatan ester pada lemak dan gliserol<sup>[9]</sup>. Reaksi transesterifikasi dengan menggunakan katalis enzimatik dilakukan pada suhu antara 30-400°C. Enzim lipase dapat menghidrolisis trigliserida menjadi asam lemak untuk menghasilkan energi. Lipase dapat dimanfaatkan sebagai biokatalis pada reaksi esterifikasi, hidrolisis, alkoholisis, atau asidolisis tergantung pada kondisi reaksi dan sifat substrat<sup>[10]</sup>. Katalis lipase umumnya diproduksi dengan biaya mahal untuk mengubah asam lemak bebas dan alkohol pada suhu reaksi 30-40°C, menjadi perisa berupa metil ester dan gliserol. Produk samping berupa gliserol dapat *direcovery* dengan mudah dan meninggalkan

metil ester yang memiliki rendemen tinggi tanpa perlu pemurnian lebih lanjut<sup>[11]</sup>:

Keterbatasan utama dalam penggunaan enzim dalam media ini adalah efisiensi katalitiknya yang rendah<sup>[12]</sup>. Untuk meningkatkan efisiensi katalitik digunakan rekayasa protein. Penggunaan enzim menjadi penghalang karena biaya yang dibutuhkan lebih mahal<sup>[12]</sup>. Enzim lipase memiliki suhu optimum pemakaian antara 30-40°C. Reaksi kimia akan berjalan lebih lambat jika suhu yang digunakan rendah, namun reaksi akan berlangsung relatif lebih cepat pada suhu tinggi. Namun suhu tinggi akan menyebabkan proses denaturasi protein pada enzim yang akan mengganggu sisi aktif enzim sehingga aktivitas enzim akan berkurang dan kecepatannya akan menurun.

Pembuatan perisa alami dapat dilakukan dengan transesterifikasi enzimatik menggunakan substrat minyak kelapa sebagai trigliserida dan geraniol sebagai terpen alkohol. Minyak kelapa memiliki karakteristik tidak berwarna dan memiliki aroma khas kelapa<sup>[13]</sup>. Kandungan minyak kelapa yaitu  $\alpha$ -tokoferol yang terdapat pada bagian testa atau kulit daging buah kelapa bermanfaat sebagai antioksidan. Asam lemak jenuh merupakan kandungan utama dari minyak kelapa selain asam lemak tak jenuh yang persentasenya hanya berkisar antara 8-10%. Asam lemak jenuh rantai menengah yang memiliki prosentase paling tinggi adalah asam laurat, lalu diikuti asam lemak jenis lain yaitu asam miristat, palmitat, oleat, kaprat, dan kaplirat<sup>[13]</sup>. Kandungan asam lemak rantai menengah pada minyak kelapa dengan presentase tertinggi berupa asam laurat (45,1%) , lalu diikuti asam lemak jenis lain yaitu asam miristat (16,8 – 21%), palmitat (7,5 – 10,2%), oleat (5,0 – 10%), kaprat (5,0 – 8,0%), dan kaplirat (4,6 – 10%)<sup>[14]</sup>.

Terpen adalah bahan penyusun senyawa terpenoid, yang merupakan kelompok utama senyawa bioaktif dalam tumbuh-tumbuhan. Terpenoid sering disebut sebagai isoprenoid karena kerangka karbonnya sama seperti senyawa isopren (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>). Geraniol merupakan senyawa alkohol siklik yang termasuk dalam golongan monoterpenoid dengan formula

$C_{10}H_{18}O$ <sup>[15]</sup>. Geraniol banyak digunakan pada makanan, wewangian, dan industri kosmetik. Geraniol didemonstrasikan memiliki spektrum luas dalam aktivitas farmasi termasuk antimikroba, anti inflamasi, antioksidan, dan anti-kanker. Geraniol berwujud liquid dengan warna bening menuju kuning pucat dan tekstur berminyak serta memiliki aroma seperti citrus.

Minyak sereh wangi memiliki kandungan utama, yaitu sitronellal, sitronellol, dan geraniol serta senyawa ester dari geraniol dan sitronellol. Senyawa-senyawa tersebut dimanfaatkan sebagai bahan dasar dalam pembuatan parfum atau pewangi dan produk farmasi<sup>[16]</sup>. Geraniol merupakan senyawa penyusun minyak sereh wangi yang memiliki persentase terbesar dengan nilai 31,65% lalu diikuti oleh senyawa sitronellal dan sitronellol berturut-turut sebesar 19,42% dan 15,45%<sup>[17]</sup>.

Perkembangan teknologi pangan terutama pada bidang pembuatan perisa saat ini berlangsung pesat sesuai dengan kebutuhan produk pangan dan permintaan yang semakin beragam<sup>[18]</sup>. Pembuatan perisa membutuhkan waktu produksi yang cukup lama. Teknologi ultrasonik telah banyak digunakan dalam produksi biodiesel, karena kavitasi akustik adalah fenomena yang berpotensi mempercepat reaksi transesterifikasi<sup>[19]</sup>. Ultrasonik dapat menghomogenisasi antara reagen melalui kavitasi. Kavitasi adalah gelembung – gelembung yang ketika pecah akan menghasilkan peningkatan suhu dalam media reaksi. Fenomena ini mampu meningkatkan kecepatan reaksi, mengurangi jumlah katalis dan mengurangi waktu reaksi dari jam ke menit<sup>[19]</sup>. Hidrolisis enzimatis dengan bantuan ultrasonik menunjukkan hasil yang lebih baik dalam gula pereduksi dibandingkan dengan hidrolisis enzimatis konvensional tanpa ultrasonik. Sekitar 2,4 kali peningkatan konsentrasi gula pereduksi dicapai dengan hidrolisis enzimatis menggunakan ultrasonik dibandingkan dengan hidrolisis enzimatis konvensional<sup>[20]</sup>.

Berdasarkan penelitian terdahulu, ester mampu dihasilkan dari reaksi antara asam lemak hasil hidrolisis minyak kelapa dengan geraniol hasil

isolasi minyak sereh. Reaksi esterifikasi dengan bantuan enzim lipase bebas dan terimobilisasi dengan konsentrasi berturut-turut sebesar 6% dan 8% selama 20 jam menghasilkan ester dengan prosentase sebesar 28,91% dan 32,14%<sup>[21]</sup>. Terpen ester yang dihasilkan dari geraniol dan sitronelol komersial dengan asam lemak komersial dengan perbandingan 1:1 dengan bantuan enzim lipase terimobilisasi menghasilkan yield sebesar 80-100% selama 4 jam reaksi<sup>[22]</sup>. Pemakaian ultrasonik dengan daya 100 watt selama 90 menit pada proses esterifikasi antara asam laurat komersial dan sitronellol komersial dengan perbandingan 1:1 menggunakan enzim lipase terimobilisasi menghasilkan konversi sitronellol sebesar 75%. Hal ini menunjukkan adanya peningkatan konversi hingga 3,6 kali dari hasil esterifikasi tanpa menggunakan ultrasonik yaitu sebesar 20,8%<sup>[23]</sup>.

Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa esterifikasi perisa secara enzimatis menggunakan bahan baku hasil hidrolisis minyak dan juga alkohol hasil isolasi membutuhkan tahapan yang lebih banyak dan waktu reaksi yang lama, sedangkan dengan bantuan ultrasonik reaksi esterifikasi akan berjalan lebih cepat dan mampu meningkatkan jumlah konversi. Namun penggunaan bahan baku komersial menjadi salah satu kendala karena harganya yang mahal. Oleh karena itu penelitian yang menggunakan bahan baku seperti minyak kelapa dan juga minyak sereh dalam reaksi transesterifikasi dengan bantuan enzim lipase di dalam ultrasonik perlu dilakukan pada pembuatan perisa alami untuk mempersingkat tahapan, mempercepat waktu reaksi dan meningkatkan jumlah konversi. Dengan demikian, penelitian yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui kondisi terbaik yaitu waktu dan daya pada proses pembuatan perisa menggunakan ultrasonik. Hasil produk perisa melalui reaksi transesterifikasi menggunakan ultrasonik dihitung % konversi geraniol untuk mendapatkan kondisi terbaik dalam pembuatan perisa alami menggunakan bahan baku minyak kelapa dan bahan geraniol komersial sekaligus geraniol yang bersumber dari alam (minyak sereh).

## Metodologi Penelitian

### Bahan Kimia

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini, antara lain lipase bebas komersial *Mucor miehei* (Sigma Aldrich), buffer fosfat 0,1 M (teknis), minyak kelapa, geraniol komersial 98% (Sigma Aldrich), minyak zaitun, NaOH 0.05M (teknis), gom arab, etanol (teknis), aseton (teknis), indikator phenolptalein (teknis), Coomassie Brilliant Blue G-250 (Merck), metanol 95% (Merck), H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85% (teknis), aquades, Bovine Serum Albumin (BSA) (Merck).

### Peralatan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah peralatan gelas, ultrasonik (Bioevopeak USCG-2000 (1000-3000 mL)), *centrifuge* (Micro Centrifuge Mini-Centrifuge Mini-7G), inkubator oven (Mettler IN 30), pompa vakum, spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2900), vortex mixer (Stuart Scientific SA8), kromatografi gas (Thermo Scientific Trace 1310).

### Prosedur penelitian

#### Pengenceran Lipase

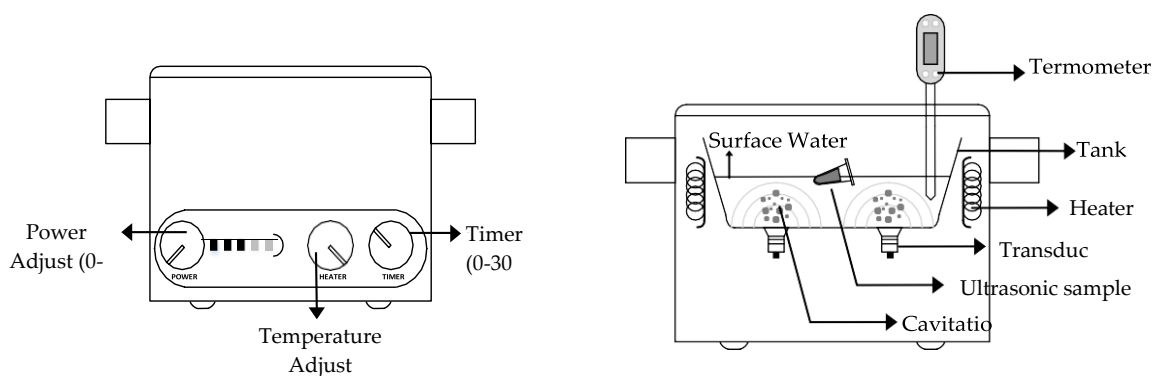
Preparasi lipase bebas yaitu dilakukannya pengenceran enzim lipase 1.000 kali. Lipase bebas komersial dari *Mucor miehei* merk Sigma

digunakan untuk biokatalisator pembuatan perisa alami. Lipase bebas komersial diencerkan dengan menggunakan larutan buffer fosfat 0,1 M, pH 7 dengan perbandingan enzim : buffer fosfat yaitu 1 : 1.000. Pengenceran dilakukan menggunakan labu ukur 1000 ml. Pada penelitian ini enzim lipase bebas komersial 1 ml dimasukkan kedalam labu ukur dan buffer fosfat dimasukkan hingga batas pada labu ukur 1000 ml.

#### Transesterifikasi dengan Ultrasonik

Reaksi transesterifikasi dilakukan dengan mereaksikan minyak kelapa sebagai trigliserida dengan geraniol menggunakan excess 20%. Penambahan lipase bebas pada substrat sebanyak 20% dari massa reaktan. Minyak kelapa dimasukkan kedalam tube 2 mL sebanyak 0,3 gram, lalu ditambahkan geraniol sebanyak 0,8 gram. Penambahan lipase bebas kedalam campuran sebanyak 0,169 gram. Sebelum direaksikan ke dalam ultrasonik, campuran dalam tube 2 ml dihomogenkan.

Waktu operasi dengan penggunaan ultrasonik yaitu 30, 60, 90, 120 dan 150 menit, dan daya power supply sebesar 50, 70, 90 Watt dengan suhu setting reaksi 40°C. Hasil produk perisa melalui reaksi transesterifikasi berupa 2 lapisan yang dipisahkan dengan bantuan alat centrifuge antara perisa (lapisan atas) dan gliserol (lapisan bawah).



**Gambar 1.** (a) Alat ultrasonik tampak depan (b) Alat ultrasonik tampak dalam

### *Analisis Aktivitas Lipase Metode Titrimetri*

Uji aktivitas lipase hasil pengenceran lipase bebas dilakukan dengan menggunakan metode titrimetri. Substrat yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak zaitun dan titran yang digunakan adalah NaOH 0,05 M yang berfungsi untuk menentukan jumlah asam lemak yang dibebaskan selama reaksi. Analisis aktivitas lipase diawali dengan melarutkan larutan gom arab 7% (w/v) dicampur dengan minyak zaitun dalam perbandingan 3:1 dan diambil sebanyak 5 ml, setelah itu 2 ml buffer fosfat 0,1 M ditambahkan pada campuran. Kemudian menambahkan 1 ml lipase pada campuran dan diinkubasi pada inkubator oven dengan suhu 37°C dengan waktu 30 menit. Selanjutnya menambahkan campuran etanol dan aseton 1:1 sebanyak 15 ml setelah proses inkubasi. Lalu sampel dititrasi dengan NaOH 0,05 M menggunakan indikator PP. Aktivitas lipase dapat diketahui dengan menganalisis sebelum dan sesudah diinkubasi. Pada pembuatan blanko langkah di atas diulangi tanpa menambahkan lipase bebas.

### *Analisis Kadar Protein Metode Bradford*

Pengujian protein dilakukan dengan metode Bradford. Preparasi untuk reagen dibuat dengan melarutkan 100 mg Coomassie Brilliant Blue G-250 dalam 50 mL metanol 95%, kemudian ditambah 100 mL H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 85%, dan aquades hingga 1000 mL. Penyaringan reagen menggunakan pompa vakum set dan kertas Whatman #1.

Larutan standar pada analisis kadar protein dibuat menggunakan Bovine Serum Albumin (BSA). Diawali dengan melarutkan 0,1 g BSA dalam 10 mL aquades menjadi 100 mg/L larutan BSA. Selanjutnya, 0,5 mL diambil dan kembali diencerkan dengan 4,5 mL aquades menjadi 10 mg/L larutan BSA. Langkah yang sama dilakukan untuk konsentrasi 12, 15, 17, dan 20 mg/L. Besar absorbansi tiap pengenceran diukur menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 595 nm. Dari hasil konsentrasi dan absorbansi yang diperoleh akan didapatkan persamaan matematik untuk larutan standar

protein yang akan digunakan pada pengukuran kadar protein terlarut.

Reagen Bradford yang telah dibuat kemudian dikalibrasi menggunakan BSA. Sebanyak 0,1 mL sampel dan 5 mL reagen Bradford dicampur menggunakan vortex mixer hingga homogen di botol gelap. Setelah itu, sampel diinkubasi selama 10 menit. Analisis kadar protein dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 595 nm. Langkah yang sama diterapkan pada analisis kadar protein terhadap sampel.

### *Analisis % Konversi Geraniol*

Analisis hasil ester atau perisa untuk mengetahui % konversi menggunakan alat GC-FID. Sampel hasil perisa alami dimasukkan sebanyak 0,1 gram ke dalam botol GC, ditambahkan dengan 0,1 gram heksana dan benzil alkohol. Sampel preparasi diemulsikan, lalu akan disuntikkan ke dalam GC-FID. Setelah di analisis menggunakan GC, hasil injeksi dapat dilihat pada monitor dalam bentuk peak yang muncul pada grafik. Hasil analisis sampel keluar dan dapat dihitung % konversi geraniol menggunakan rumus berikut:

$$\% \text{ Geraniol} = \frac{\text{Mol geraniol awal} - \text{Mol geraniol akhir}}{\text{Mol geraniol awal}} \times 100\%$$

## **Hasil dan Diskusi**

### **Pengenceran Enzim**

Pembuatan ester menggunakan metode enzimatik memerlukan biaya produksi yang tinggi dan waktu reaksi yang lama, namun enzim memiliki potensial untuk mengurangi kebutuhan energi dan masalah lingkungan dalam bahan kimia dan industri farmasi<sup>[24]</sup>. Hasil analisis aktivitas lipase bebas yang diperoleh sebesar 5,83 U/mL. Satu unit (U) aktivitas lipase didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang mampu membebaskan 1 μmol asam-asam lemak per menit pada kondisi pengujian<sup>[25]</sup>. Keunggulan dari lipase yang berperan sebagai biokatalis yaitu memiliki aktivitas enzim yang tinggi, spesifik dan ramah lingkungan<sup>[26]</sup>.



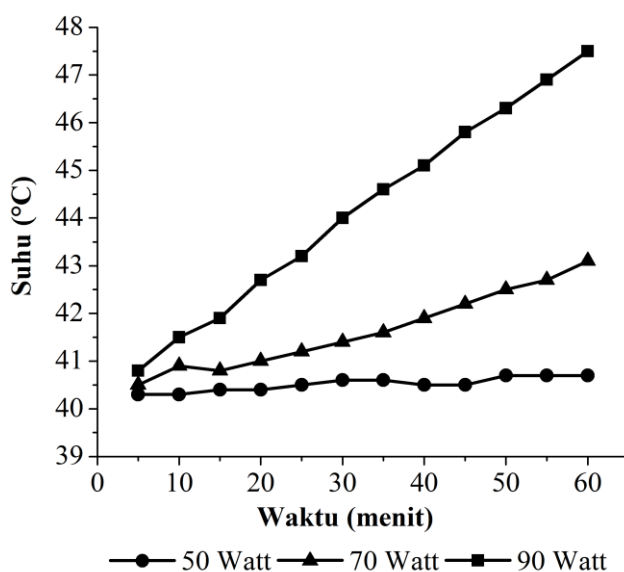
### Pengaruh Daya dan Waktu Reaksi pada Ultrasonik dalam Pembuatan Perisa Alami Metode Transesterifikasi

Reaksi transesterifikasi merupakan reaksi alkoholis yang terjadi pada lemak atau minyak nabati dengan alkohol yang menghasilkan ester dan gliserol sebagai produk samping. Dalam penelitian ini minyak kelapa sebagai trigliserida atau minyak nabati dan geraniol sebagai substrat alkohol. Geraniol yang digunakan merk Sigma 98%. Reaksi antara minyak nabati dan geraniol dengan katalis lipase bebas adalah untuk menghasilkan ester yang merupakan perisa alami beraroma khas citrus dan rempah.

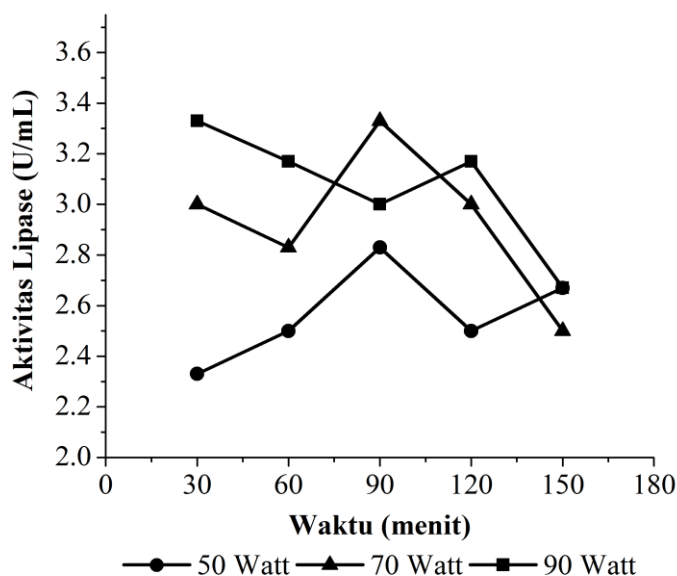
Stoikiometri reaksi transesterifikasi menunjukkan 1 mol trigliserida akan bereaksi dengan 3 mol alkohol untuk menghasilkan 1 mol ester dan 1 mol gliserol. Rasio molar antara trigliserida dan alkohol yang digunakan pada reaksi transesterifikasi memiliki peran yang sangat penting pada konversi hasil ester yang dihasilkan. Reaksi transesterifikasi merupakan reaksi yang *reversible* atau dapat balik, sehingga pergeseran reaksi ke kanan (ke arah produk) umumnya menggunakan alkohol secara berlebih dari kesetimbangan stoikiometri yang akan menyebabkan *yield* ester yang dihasilkan

semakin tinggi dan keseimbangan kimia akan bergeser ke arah ester hasil sintesis.

Penelitian ini menghasilkan perisa dengan bantuan alat ultrasonik menggunakan fenomena kavitasi. Fenomena kavitasi terjadi ketika gelembung-gelembung kecil terbentuk pada media perantara hingga lama-kelamaan gelembung – gelembung tersebut bertambah besar dan akhirnya pecah atau *collapse* yang diiringi dengan pelepasan tenaga yang besar, yang selanjutnya dapat digunakan untuk proses kimia. Pengaruh daya selama reaksi transesterifikasi terhadap suhu ditunjukkan oleh **Gambar 2**. Daya yang tinggi akan menghasilkan panas yang lebih tinggi, dan waktu reaksi transesterifikasi yang lebih lama cenderung akan meningkatkan suhu karena akumulasi energi sistem (**Gambar 2**). Perisa makanan tidak lepas dari jenis produk pangan keseluruhan seperti yang diinginkan dan pada umumnya melibatkan proses-proses yang berhubungan dengan reaksi panas<sup>[18]</sup>. Penggunaan ultrasonik menghasilkan input kerja yang diperoleh dari getaran mekanik tanduk getar. Input kerja ini mentransformasikan energi ke dalam sistem sehingga terjadi akumulasi energi dalam sistem yang ditunjukkan dengan adanya kenaikan suhu.



**Gambar 2.** Kurva pengaruh daya terhadap suhu reaksi menggunakan bantuan ultrasonik



**Gambar 3.** Kurva pengaruh daya ultrasonik terhadap aktivitas lipase (U/mL)

Umumnya di dalam proses akan terjadi perpindahan panas dari sistem ke lingkungan yang disebabkan suhu sistem lebih tinggi dari lingkungan. Namun demikian karena perpindahan energi dalam bentuk panas yang keluar dari sistem lebih kecil dibandingkan laju masukan energi dari getaran mekanik tanduk getar maka kenaikan suhu terus terjadi. Seperti yang terjadi pada proses transesterifikasi konvensional, penggunaan gelombang ultrasonik mengakibatkan terjadinya kenaikan temperatur serentak dengan proses pengadukan. Oleh karena proses pencampuran dapat terjadi secara mikroskopik maka kontak antara molekul-molekul reaktan menjadi lebih intensif.

Pada pengukuran aktivitas enzim tujuannya adalah mengetahui kemampuan enzim dalam mengkatalisis reaksi. Aktivitas enzim dinyatakan sebagai U/mL dalam satuan waktu menit. Dengan kata lain, aktivitas enzim lipase adalah jumlah yang dibutuhkan untuk menghidrolisis satu  $\mu\text{mol}$  ikatan per menit pada kondisi pengujian tertentu. Penggunaan ultrasonik dapat meningkatkan aktivitas lipase sebesar 12% dibanding tanpa ultrasonik.

Berdasarkan **Gambar 3**, aktivitas lipase tertinggi yaitu diperoleh pada waktu 90 menit

dengan daya 70 Watt sebesar 3,33 U/ml. Penurunan aktivitas lipase U/ml dipengaruhi oleh daya, semakin besar daya maka akan menurunkan aktivitas lipase. Daya berkaitan dengan suhu reaksi, semakin besar daya maka akan meningkatkan suhu reaksi yang menyebabkan lipase tidak optimal pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$ . Enzim memiliki kondisi optimal bila direaksikan terus menerus. Laju reaksi akan meningkat sejalan dengan waktu reaksi sampai batas optimal, lalu aktivitas lipase akan menurun karena telah melewati batas optimalnya. Penurunan pada kondisi ini disebut dengan denaturasi. Enzim mengalami denaturasi dengan penurunan aktivitasnya karena telah melewati batas optimal. Hal tersebut terjadi karena semakin lama waktu sonikasi akan meningkatkan suhu reaksi dan menaikkan tekanan uap dalam medium sehingga efek kavitasi akan mudah terbentuk tetapi pada suhu yang terlalu tinggi, gelembung-gelembung dihasilkan secara bersamaan<sup>[27]</sup>.

Penggunaan waktu yang relatif lama pada saat proses sonikasi juga akan menyebabkan denaturasi protein<sup>[28]</sup>. Protein sangat peka terhadap panas dan akan mengalami perubahan struktur kimia (denaturasi) akibat adanya pemanasan. Hal ini dipengaruhi oleh

lamanya waktu dan besarnya daya akan menyebabkan peningkatan suhu yang besar.

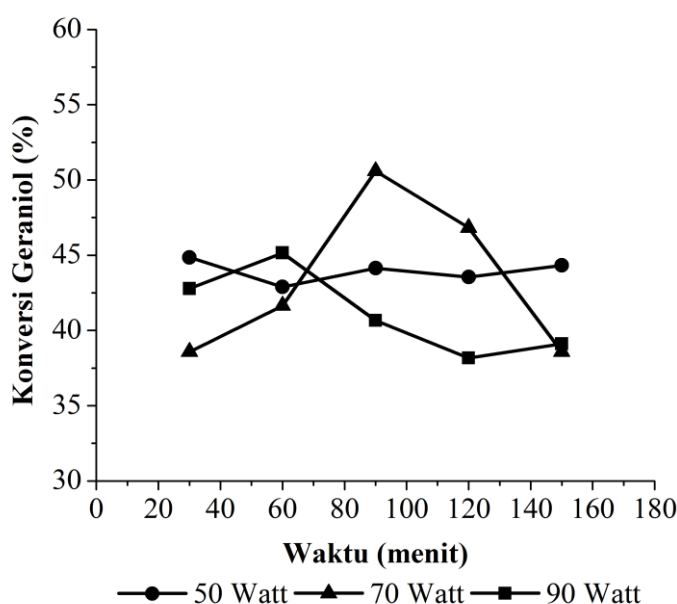
#### Pengaruh Daya dan Waktu Reaksi pada Ultrasonik dalam Pembuatan Perisa Melalui Reaksi Transesterifikasi terhadap % Konversi Geraniol

Pembuatan perisa alami melalui metode transesterifikasi minyak kelapa dan geraniol menghasilkan produk berupa ester dan gliserol. Secara stoikiometri jumlah alkohol yang dibutuhkan untuk reaksi adalah tiga mol untuk setiap satu mol trigliserida untuk memperoleh 3 mol ester dan 1 mol gliserol. Kelebihan alkohol ini diperlukan agar reaksi berjalan searah (reaksi *irreversible*). Rasio reaktan yang semakin besar cenderung menghasilkan konversi yang semakin tinggi. Hal ini terjadi karena kelebihan alkohol dapat meningkatkan intensitas tumbukan antar reaktan. Semakin banyak perbandingan minyak kelapa dan geraniol akan menggeser kesetimbangan reaksi ke kanan sehingga pembentukan produk akan semakin banyak.

Ultrasonik dalam pembuatan perisa alami menggunakan daya yang akan membentuk gelembung-gelembung kecil. Gelembung kecil ini akan memperbesar rasio luas permukaan

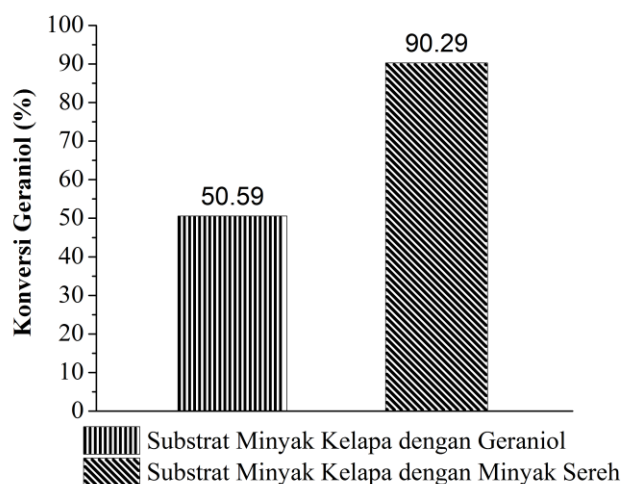
terhadap volume sehingga meningkatkan perpindahan massa dan laju reaksi. Selain itu, pembentukan gelembung atau disebut fenomena kavitasi juga berpengaruh terhadap energi panas yang dihasilkan. Menurut Kobus<sup>[29]</sup>, energi panas dapat dihasilkan oleh ultrasonik melalui beberapa perubahan tahapan. Berawal dari energi listrik yang terkonversi menjadi energi mekanik melalui transducer untuk menghasilkan getaran. Getaran yang dihasilkan akan berubah menjadi gelombang ultrasonik yang tersebar melalui medium yang disonikasi. Medium (liquid) yang tersonikasi ini akan menghasilkan gelembung-gelembung kavitasi berukuran mikro dengan jumlah yang sangat banyak, namun tak terlihat secara kasat mata. Gelembung-gelembung kecil akan meletup dan energi yang dihasilkan akan terabsorpsi pada °media yang disonikasi sehingga dapat menghasilkan energi panas yang dapat menaikkan temperatur pada medium yang disonikasi.

**Gambar 4** menunjukkan bahwa hasil % konversi geraniol yang menjadi perisa memiliki nilai terbesar yaitu pada daya 70 Watt selama 90 menit sebesar 50,59%. Kadar geraniol dalam pembuatan perisa berkisar 50-65%.



**Gambar 4.** Kurva pengaruh daya reaksi terhadap % konversi geraniol





**Gambar 5.** Grafik perbandingan hasil konversi % alkohol pada geraniol dan minyak sereh wangi

Hal ini terjadi karena suhu yang tepat menghasilkan aktivitas enzim optimal. Suhu reaksi ini dipengaruhi oleh daya. Semakin tinggi daya ultrasonik maka suhu operasi akan mengalami peningkatan dan melewati suhu optimum kerja enzim yaitu antara 30 – 40°C [11]. Berdasarkan **Gambar 2**, diketahui bahwa daya 70 watt berada di kisaran suhu 40°C yang merupakan kondisi optimum bagi enzim lipase bekerja. Lama waktu ultrasonik akan meningkatkan suhu operasi akibat adanya proses kavitasi berulang yang menyebabkan tekanan di dalam sistem meningkat, sehingga semakin lama waktu operasi ultrasonik maka aktivitas enzim lipase akan mengalami penurunan akibat adanya proses denaturasi protein yang disebabkan oleh panas [27][28].

#### **Perbandingan Hasil Konversi % Geraniol pada Terpen Alkohol Geraniol dan Minyak Sereh Wangi dengan Kandungan Geraniol melalui Reaksi Transesterifikasi**

Hasil terbaik pada pembuatan perisa dengan substrat minyak kelapa dan geraniol murni yang menghasilkan % konversi geraniol sebesar 50,59 % diaplikasikan pada minyak sereh. Kondisi operasi yang terbaik pada substrat minyak kelapa dan geraniol dalam penggunaan ultrasonik dengan waktu selama 90 menit dengan daya 70 Watt digunakan untuk transesterifikasi minyak sereh. **Gambar 5** menunjukkan grafik perbandingan antara

konversi % alkohol pada geraniol dan minyak sereh wangi. Substrat minyak kelapa dengan minyak sereh wangi menghasilkan konversi % alkohol sebesar 90,29 %. Perbandingan hasil konversi % alkohol pada geraniol dan minyak sereh wangi cukup besar. Minyak sereh wangi mengandung kurang lebih 85 % total geraniol (termasuk 35 % sitronelal)<sup>[30]</sup>. Minyak sereh wangi mempunyai komponen penyusun utama yaitu sitronellal, geraniol dan sitronellol. Senyawa lain pada minyak sereh yaitu geraniol asetat, sitronellil, sitronellil asetat, geraniol<sup>[31]</sup>. Geraniol asetat merupakan senyawa ester yang dapat disintesis dari geraniol<sup>[32]</sup>. Maka hasil % konversi geraniol pada minyak sereh lebih tinggi disebabkan oleh bantuan senyawa-senyawa lain dalam minyak sereh yang bereaksi menjadi perisa.

Minyak sereh wangi dapat dikatakan efektif terhadap pembuatan perisa karena menghasilkan konversi yang sangat besar. Selain efektif dalam pembuatan perisa, minyak sereh wangi memiliki harga jual yang lebih murah dibandingkan dengan harga jual komponen minyak sereh wangi. Sehingga minyak sereh wangi lebih ekonomis dibandingkan dengan geraniol komersial.

Konversi geraniol dari minyak sereh lebih tinggi dibanding geraniol murni komersial karena geraniol murni komersial memiliki

kadar geraniol di atas 90% dan sebagai excess pada reaksi transesterifikasi dapat menjadi inhibitor pada biokatalisator lipase, yang mengakibatkan penurunan aktifitas lipase. Sedangkan pada minyak sereh dengan kandungan geraniol 31,65%, tidak menyebabkan excess sebanyak geraniol murni komersial sehingga kinerja lipase tidak terganggu yang menghasilkan konversi geraniol yang lebih tinggi, dibandingkan geraniol murni komersial. Maka dengan penggunaan bahan baku minyak sereh, secara ekonomi menjadi lebih murah dibanding geraniol murni komersial.

### Kesimpulan

Pembuatan perisa alami efektif melalui satu tahapan reaksi, yaitu transesterifikasi minyak kelapa (mengandung asam lemak laurat) dan minyak sereh (mengandung alkohol geraniol) dengan biokatalisator lipase menggunakan ultrasonik. Penggunaan substrat kedua bahan alam yang banyak ditemukan di Indonesia tersebut dan harganya murah jika dibanding bahan komersial, menghasilkan formulasi produk perisa ester dengan konversi geraniol 90,29% pada kondisi operasi ultrasonik 70 watt, 90 menit.

### Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi melalui skema penelitian Unggulan Perguruan Tinggi (PTUPT), dengan nomor kontrak 12905/PL2/TU/2023 yang telah mendanai penelitian ini.

### Daftar Pustaka

1. BPOM RI., Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 13 Tahun 2020 Tentang Bahan Tambahan Pangan Perisa. *Bpom Ri*, **11**: 1–16 (2021).
2. Potera, C., DIET AND NUTRITION: The Artificial Food Dye Blues. *Environ. Health Perspect.*, **118**(10): (2010).
3. Hassan, K. T. S., Horáček, P. & Tippnera, J., Evaluation of Stiffness and Strength of Scots Pine Wood using Resonance Frequency and Ultrasonic Techniques. *BioResources*, **8**(2): 1634–1645 (2013).
4. Du, W., Xu, Y. Y., Liu, D. H. & Li, Z. B., Study on Acyl Migration in Immobilized Lipozyme TL-Catalyzed Transesterification of Soybean Oil for Biodiesel Production. *J. Mol. Catal. B Enzym.*, **37**(1–6): 68–71 (2005).
5. Kamini, N. R. & Iefuji, H., Lipase Catalyzed Methanolysis of Vegetable Oils in Aqueous Medium by *Cryptococcus spp.* S-2. *Process Biochem.*, **37**(4): 405–410 (2001).
6. Iso, M., Chen, B., Eguchi, M., Kudo, T. & Shrestha, S., Production of Biodiesel Fuel from Triglycerides and Alcohol using Immobilized Lipase. *J. Mol. Catal. B Enzym.*, **16**(1): 53–58 (2001).
7. Kaieda, M., Samukawa, T., Matsumoto, T., Ban, K., Kondo, A., Shimada, Y., Noda, H., *et al.*, Biodiesel Fuel Production from Plant Oil Catalyzed by *Rhizopus oryzae* Lipase in a Water-containing System without an Organic Solvent. *J. Biosci. Bioeng.*, **88**(6): 627–631 (1999).
8. Du, W., Xu, Y., Zeng, J. & Liu, D., Novozym 435-catalysed Transesterification of Crude Soya Bean Oils for Biodiesel Production in a Solvent-free Medium. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, **40**(2): 187–190 (2004).
9. Sumarsih, S., Sulistiyanto, B., Sutrisno, C. I. & Rahayu, E. S., Peran Probiotik Bakteri Asam Laktat terhadap Produktivitas Unggas. *J. Litbang Provinsi Jawa Teng.*, **10**(1): 1–9 (2012).
10. Uyanik, A., Sen, N. & Yilmaz, M., Improvement of Catalytic Activity Of Lipase from *Candida rugosa* Via Sol–Gel Encapsulation in the Presence of Calix(aza)Crown. *Bioresour. Technol.*, **102**(6): 4313–4318 (2011).
11. Packter, N. M., Lipases — Their Structure,

- Biochemistry and Application: Edited by P Woolley and S B Petersen. pp 363. Cambridge University Press. 1994. £45. *Biochem. Educ.*, **22(4)**: 216–216 (1994).
12. Shah, S., Sharma, S. & Gupta, M. N., Enzymatic Transesterification for Biodiesel Production. *Indian J. Biochem. Biophys.*, **40(6)**: 392–399 (2003).
  13. Yahya, A. R. M., Anderson, W. A. & Moo-Young, M., Ester Synthesis in Lipase-Catalyzed Reactions. *Enzyme Microb. Technol.*, **23(7)**: 438–450 (1998).
  14. Bawalan, D. D. & Chapman, K., *Virgin Coconut Oil Production Manual for Micro- and Village-Scale Processing*. (2006).
  15. Chen, W. & Viljoen, A. M., Geraniol – A Review of a Commercially Important Fragrance Material. *South African J. Bot.*, **76(4)**: 643–651 (2010).
  16. Ganjewala, D., Cymbopogon Sessential Oils: Chemical Compositions and Bioactivities. *Int. J. Essent. Oil Ther.*, **3(2–3)**: 56–65 (2009).
  17. Udawaty, Wis., Yusro, F. & Sisillia, L., Identifikasi Senyawa Kimia Minyak Sereh Wangi Klon G3 (*Cymbopogon nardus* L.) dengan Media Tanam Tanah Gambut dan Potensinya Sebagai Antibakteri *Enterococcus faecalis*. *Tengkawang J. Ilmu Kehutan.*, **9(2)**: 71–81 (2020).
  18. Susilowati, A., Proses Fraksinasi dalam Pembuatan Perisa Serupa Daging dari Autolisat Kacang Hijau (*Phaseolus radiatus* L) Terfermentasi oleh *Rhizopus oligosporus* (Fractionation Process in Preparation of Meat-like Flavor from Autolysis of Mung Bean (*Phaseolus radiatus* L) Fermented by *Rhizopus oligosporus*). (2014). doi:10.33964/JP.V23I3.260
  19. Oliveira, P. A., Baesso, R. M., Moraes, G. C., Alvarenga, A. V. & Costa-Félix, R. P. B., Ultrasound Methods for Biodiesel Production and Analysis. *Biofuels - State Dev.*, **(July 2018)**: (2018). doi:10.5772/intechopen.74303
  20. Subhedar, P. B., Babu, N. R. & Gogate, P. R., Intensification of Enzymatic Hydrolysis of Waste Newspaper using Ultrasound for Fermentable Sugar Production. *Ultrason. Sonochem.*, **22**: 326–332 (2015).
  21. Moentamaria, D., Muharja, M., Widjaja, T., Widjaja, A., A Performance Study of Home-Made Co-Immobilized Lipase from *Mucor miehei* in Polyurethane Foam on The Hydrolysis of Coconut Oil to Fatty Acid. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis*, **14(2)**: 391-403 (2019). doi:10.9767/bcrec.14.2.3848.391-403
  22. Moentamaria, Dwina, Rulianah, S., Chumaidi, A., A, R. R. B., & Romadoni, A., Enhancement in Synthesis of Citronellyl Laurate Flavour by Combined Effect of Ultrasound and Immobilized Lipase as Heterogeneous Biocatalyst. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, (2021). doi:10.1088/1757-899X/1073/1/012001
  23. da Silva Corrêa L., Henriques R., Rios J., Lerin L., de Oliveira D., Furigo A., Lipase-Catalyzed Esterification of Geraniol and Citronellol for the Synthesis of Terpenic Esters. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, **190(2)** 574-583, (2020). doi: 10.1007/s12010-019-03102-1
  24. Ghaly, A., Ghaly, A., Dave, D., Brooks, M. & Budge, S., Production of Biodiesel by Enzymatic Transesterification: Review. *Am. J. Biochem. Biotechnol.*, **6(2)**: 54–76 (2010).
  25. Lopes, D. B., Fraga, L. P., Fleuri, L. F. & Macedo, G. A., Lipase and Esterase - to What Extent Can this Classification be Applied Accurately? *Cienc. e Tecnol. Aliment.*, **31(3)**: 608–613 (2011).
  26. Mahdiyah, D., Isolasi Bakteri Dari Tanah Gambut Penghasil Enzim Protease. *J. Pharmascience*, **2(2)**: 73 (2015).
  27. Pramono, I. A., Haryadi, W. & Raharjo, T. J., Optimasi Ekstraksi Lipid dari *Spirulina*

- platensis* Menggunakan Tekanan Osmotik dengan Bantuan Gelombang Ultrasonik dan Produksi Metil Esternya Secara Enzimatis. *Berk. MIPA*, **25(2)**: 116–128 (2018).
28. Setyantoro, M. E., Haslina, H. & Wahjuningsih, S. B., PENGARUH WAKTU EKSTRAKSI DENGAN METODE ULTRASONIK TERHADAP KANDUNGAN VITAMIN C, PROTEIN, DAN FITOKIMIA EKSTRAK RAMBUT JAGUNG (*Zea mays* L.). *J. Teknol. Pangan dan Has. Pertan.*, **14(2)**: 53 (2019).
29. Kobus, Z. & Elzbieta Kusinska., Influence of Physical Properties of Liquid on Acoustic Power of Ultrasonic Processor. *TEKA Kom. Mot. Energy Roln*, **8a(January)**: 71–78 (2008).
30. Dwi Kaniawati, A. Kadarohman, G. D., KONVERSI SITRONELAL HASIL ISOLASI MINYAK SEREH WANGI MENJADI SITRONELOL DAN ISOPULEGOL. *Jur. Pendidik. Kim.*, **(1973)**: 1–10 (2004).
31. Ariyani, F., Setiawan, L. E. & Soetaredjo, F. E., Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Tanaman Sereh dengan Menggunakan Pelarut Metanol, Aseton, dan N-Heksana. *Widya Tek.*, **7, No. 2**: 124–133 (2015).
32. Puspawati, N. M., Suirta, I. W. & Bahri, S., ISOLASI, IDENTIFIKASI, SERTA UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI PADA MINYAK ATSIRI SEREH WANGI (*Cymbopogon winterianus* Jowitt). *J. Kim.*, (2016).  
doi:10.24843/JCHEM.2016.V10.I02.P08