

## Esterifikasi Gliserol dengan Asam Laktat Menggunakan Lipase yang Diamobilisasi dalam Karagenan

Dewi Luthfiana<sup>1\*</sup>, Anna Roosdiana<sup>2</sup>, Sutrisno<sup>3</sup>

<sup>1,2,3</sup>Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Program Studi Kimia, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

Email: <sup>1\*</sup>[dewiluthfiana7@gmail.com](mailto:dewiluthfiana7@gmail.com), <sup>2</sup>[aroos@ub.ac.id](mailto:aroos@ub.ac.id), <sup>3</sup>[tris\\_mc@ub.ac.id](mailto:tris_mc@ub.ac.id)

(\* : coresponding author)

**Abstrak** Pada penelitian ini, sumber senyawa alkohol berasal dari gliserol, sedangkan sumber senyawa asam karboksilat berasal dari asam laktat. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan waktu reaksi dan rasio mol reaktan optimum terhadap reaksi esterifikasi menggunakan enzim lipase *Candida rugosa* yang diamobilisasi dalam karagenan, serta melakukan identifikasi gliseril laktat menggunakan spektroskopi FTIR dan karakteristik berdasarkan nilai HLB. Reaksi esterifikasi gliserol dengan asam laktat menggunakan pelarut metilen klorida, variasi waktu yang digunakan (6, 12, 18, 24, dan 30) jam, rasio mol reaktan (1:1, 1:2, 1:4, 1:6, dan 1:8) mmol. Kondisi optimum dapat diketahui dari nilai persen konversi tertinggi dari variasi setiap parameter yang digunakan. Dari hasil penelitian, kondisi optimum esterifikasi diperoleh pada waktu reaksi 30 jam dan rasio mol gliserol:asam laktat 1:4 dengan nilai persen konversi 42,49%. Secara teoritis, identifikasi produk ester yang dihasilkan yaitu gliseril laktat dengan menggunakan spektroskopi FTIR ditandai dengan terjadinya pergeseran bilangan gelombang dan perubahan intensitas pada spektrum FTIR yang dibandingkan dengan spektrum FTIR gliserol dan asam laktat murni, serta terdapat vibrasi ulur C=O pada daerah bilangan gelombang 1750-1700  $\text{cm}^{-1}$  dan pada daerah bilangan gelombang 1300-1000  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan karakteristik vibrasi ulur C-O ester. Nilai HLB ester dari asam laktat pada rentang 7-8 yang merupakan emulsifier jenis *wetting agent* (agen pembasah).

**Kata Kunci:** asam laktat, *Candida rugosa*, enzim lipase amobil, esterifikasi, gliserol

**Abstract** The source of alcohol in this experiment was glycerol and the source of carboxylic acid compound was lactic acid. This experiment aimed to determine optimum conditions of reaction time, and molar ratio, and to characterize the resulted ester between glycerol and lactic acid toward esterification using immobilized lipase *Candida rugosa* in carrageenan. The identification of glyceryl lactic based on FTIR spectroscopy and the characterization based on HLB value. Esterification of glycerol and lactic acid used methylene chloride solvent with the reaction time (6, 12, 18, 24, and 30) hours and the molar ratio of (1:1, 1:2, 1:4, 1:6, and 1:8) mmol. The optimum condition can be seen from the highest percent conversion value from variations of each parameter used. The result showed that the optimum condition of esterification was reached at 30 hours with a 1:4 ratio of lactic acid: glycerol resulting in 42,49% of the conversion value. Theoretically, the resulted ester was identified by FTIR spectroscopy proven with a wavenumber shift and intensity changes in the FTIR spectrum, then compared to the FTIR spectrum of glycerol and pure lactic acid. There is a stretching vibration of C=O in the wavenumbers 1750-1700  $\text{cm}^{-1}$  and 1300-1000  $\text{cm}^{-1}$  which is characteristic of the stretching vibration of C-O ester. The HLB ester value of lactic acid (monoglyceride) is in the range of 7-8 which is a type of wetting agent emulsifier.

**Keywords:** *Candida rugosa*, esterification, glycerol, immobilized lipase, lactic acid

### 1. PENDAHULUAN

Biodiesel merupakan salah satu energi alternatif yang ramah lingkungan. Seiring dengan meningkatnya pembuatan biodiesel maka akan diikuti dengan meningkatnya jumlah produk samping yang dihasilkan. Gliserol sebagai hasil samping industri biodiesel nilai jualnya masih rendah karena belum banyak diolah menjadi produk yang dapat memberikan nilai tambah.

Usaha pengolahan gliserol menjadi produk lain perlu dilakukan agar nilai tambah gliserol mengalami peningkatan. Pemanfaatan gliserol mentah sebagai substrat dapat menjadi pertimbangan karena dapat menghasilkan produk sehingga dapat meningkatkan nilai jual pada industri biodiesel dan *biorefineries* [1]. Metode esterifikasi gliserol merupakan salah satu alternatif untuk mengkonversi gliserol menjadi produk turunannya. Ester yang dihasilkan dari proses reaksi esterifikasi ini mempunyai banyak kegunaan dan bernilai tinggi. Selain itu, produk turunan gliserol bersifat terbarukan dan ramah lingkungan karena bukan merupakan turunan dari minyak bumi. Gliserol jika diesterifikasi dengan asam laktat akan membentuk gliseril laktat. Gliseril laktat ini

banyak digunakan di industri makanan dan kosmetik sebagai zat pengemulsi, dispersan, penebal, pelarut, pelumas, bahkan dalam industri obat-obatan.

Esterifikasi pada umumnya menggunakan katalis anorganik, logam basa seperti ZnO (dilakukan pada suhu 140°C-160°C), dan asam yang dilakukan pada suhu yang relatif tinggi, sehingga dapat menyebabkan produk menjadi hitam dan mempengaruhi kualitas emulsifier. Dalam hal ini perlu digunakan alternatif lain. Salah satu metode yang dapat dilakukan yaitu menggunakan katalis berupa enzim. Lipase merupakan enzim yang dapat mengkatalis reaksi esterifikasi gliserol dengan asam lemak pada suhu rendah [2]. Lipase *Candida rugosa* merupakan enzim yang paling banyak digunakan karena memiliki sifat katalitik yang baik pada sintesis ester dan dapat menghasilkan produk ester lebih tinggi dari 90% pada 20 jam pertama.

Secara umum, pada akhir reaksi enzim cenderung sulit dipisahkan karena hanya larut pada pelarut tertentu sehingga kemampuan penggunaan ulangnya terbatas. Kendala tersebut dapat diatasi dengan suatu teknik yaitu amobilisasi enzim. Amobilisasi enzim pada penelitian ini dilakukan dengan matriks karagenan. Enzim lipase *Candida rugosa* yang teramobilisasi dalam karagenan dapat mempertahankan aktivitas katalitiknya hingga suhu 50°C dan dapat digunakan hingga lima siklus reaksi [3].

Ester dapat diidentifikasi menggunakan FTIR, analisis didasarkan pada vibrasi atom-atom dalam molekul. Adanya serapan bilangan gelombang spesifik menjelaskan gugus pada molekul tertentu. Asam 2-hidroksipropanoat (asam laktat) mempunyai dua jenis O-H; satu berasal dari asam dan yang lain berasal dari alkohol. Ikatan O-H asam akan menyerap pada daerah antara 2500 cm<sup>-1</sup> dan 3300 cm<sup>-1</sup>, sedangkan alkohol akan menyerap antara 3230 cm<sup>-1</sup> dan 3550 cm<sup>-1</sup>. Jika serapan ini muncul bersama, akan memberikan serapan yang sangat lebar pada daerah dari 2500 cm<sup>-1</sup> sampai 3550 cm<sup>-1</sup>. Tidak adanya batas dari kedua jenis O-H ini disebabkan oleh adanya serapan dari C-H. Serapan C=O muncul pada 1730 cm<sup>-1</sup> [4]. Spektrum gliserol menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 3382,91 cm<sup>-1</sup> yang merupakan vibrasi stretching O-H. Stretching C-H ditunjukkan oleh bilangan gelombang 2941,24 cm<sup>-1</sup> dan bending C-H muncul pada 1200-1300 cm<sup>-1</sup>. Gugus C-O pada gliserol mengalami vibrasi stretching pada bilangan gelombang 1000-1100 cm<sup>-1</sup> [5]. Jika reaksi esterifikasi berhasil ditandai dengan terbentuknya senyawa ester pada bilangan gelombang 1750–1735 cm<sup>-1</sup> yang merupakan karakteristik gugus C=O dari ester dengan intensitas serapan kuat [6].

Ester dapat dikarakterisasi menggunakan nilai HLB. *Hydrophile-lipophile balance* (HLB) merupakan suatu ukuran untuk menunjukkan keseimbangan antara gugus hidrofil dan lipofil [7]. Parameter yang digunakan pada penelitian esterifikasi gliserol dengan asam laktat menggunakan lipase yang diamobilisasi karagenan yaitu waktu reaksi dan rasio mol gliserol dan asam laktat dengan masing-masing parameter dilakukan 5 variasi. Hasil esterifikasi diidentifikasi menggunakan FTIR dan dikarakterisasi menggunakan nilai HLB.

## 2. METODE

### 2.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari – Juni 2020 di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya Malang.

### 2.2 Alat dan Bahan Penelitian

#### 2.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu alat-alat gelas, statif, klem, buret, *magnetic stirrer hot plate*, termometer, aluminium foil, kertas saring Whatman No. 41, neraca analitik (Mettler Toledo AL 204), dan Spektrofotometer Infrared (Shimadzu 8400 S).

#### 2.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu gliserol pro analisis (Sigma Aldrich; 87%; 92 g/mol), asam laktat pro analisis (Merck; 90%; 90.08 g/mol), kappa karagenan, aquades, asam oksalat pro analisis (Merck; 126 g/mol), natrium hidroksida pro analisis (Merck; 40 g/mol), CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O pro analisis (Merck; 147 g/mol), enzim lipase *Candida rugosa* (Sigma Aldrich; (1,04 U/g)), indikator

fenolftalein, ethanol 96% teknis, piridin pro analis (Merck; 79,01 g/mol), benzena pro analis (Merck; 78,11 g/mol), dan metilen klorida pro analis (Merck; 84,93 g/mol).

## 2.3 Tahap Penelitian

Tahapan penelitian dilaksanakan sebagai berikut:

1. Preparasi lipase amobil.
2. Esterifikasi gliserol dengan asam laktat.
3. Karakterisasi dan identifikasi gliseril laktat.
4. Analisis data.

## 2.4 Prosedur Penelitian

### 2.4.1 Preparasi Lipase Amobil

Karagenan ditimbang sebanyak 1 g dan dilarutkan ke dalam 30 mL aquades. Lalu diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen dan dipanaskan menggunakan *hot plate* hingga suhu 70°C kemudian didinginkan hingga suhu 50°C. Ditimbang enzim lipase sebanyak 0,02 g dan ditambahkan ke dalam larutan campuran karagenan dan aquades, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen. Selanjutnya, larutan campuran karagenan dan enzim lipase diteteskan ke dalam larutan CaCl<sub>2</sub> 0,15 M menggunakan pipet plastik. Enzim lipase yang telah terjebak di dalam matriks karagenan ditandai dengan terbentuknya manik-manik berwarna kuning kecokelatan. Manik-manik kemudian dibiarkan terendam dalam larutan CaCl<sub>2</sub> 0,15 M selama 1 hari agar manik-manik menjadi keras. Selanjutnya disaring menggunakan kertas saring untuk memisahkan manik-manik dengan filtrat. Lalu, manik-manik dicuci dengan aquades dan ditimbang.

### 2.4.2 Esterifikasi Gliserol dengan Asam laktat Secara Enzimatik

#### 2.4.2.1 Pengaruh waktu terhadap reaksi esterifikasi gliserol dengan asam laktat

Disiapkan erlenmeyer 100 mL sebanyak 25 buah yang telah bersih dan kering, masing-masing diisi dengan 0,08 gram (1 mmol) gliserol dan dicampur dengan asam laktat sebanyak 0,0810 gram (1 mmol). Kemudian, ditambahkan larutan metilen klorida 10 mL dan enzim lipase amobil 0,1 gram. Selanjutnya, ditutup dengan alumunium foil dan dilakukan inkubasi dengan waktu reaksi yang divariasikan pada (6, 12, 18, 24, 30) jam. Selanjutnya, enzim lipase amobil dikeluarkan dari erlenmeyer menggunakan gelas pengaduk. Kemudian, filtrat ditambahkan dengan etanol 5 mL dan indikator fenolftalein 3-4 tetes. Selanjutnya, dilakukan titrasi dengan larutan NaOH 0,25 M hingga terjadi perubahan warna larutan dari tidak berwarna menjadi merah muda permanen selama 30 detik. Perlakuan dilakukan sebanyak 4 kali.

#### 2.4.2.2 Pengaruh rasio mol terhadap reaksi esterifikasi gliserol dengan asam laktat

Disiapkan erlenmeyer 100 mL sebanyak 25 buah yang telah bersih dan kering. Ditimbang massa gliserol 0,08 gram (1 mmol) dan asam laktat (0,08; 0,1621; 0,3243; 0,4864; 0,6486) gram atau dengan variasi mol gliserol:asam laktat (1:1; 1:2; 1:4; 1:6; 1:8) mmol. Kemudian, ditambahkan metilen klorida 10 mL dan lipase amobil 0,1 gram. Selanjutnya, ditutup dengan alumunium foil dan dilakukan inkubasi pada waktu optimum yang telah diperoleh. Selanjutnya, enzim lipase amobil dikeluarkan dari erlenmeyer menggunakan gelas pengaduk. Kemudian, ditambahkan dengan etanol 5 mL dan indikator fenolftalein 3-4 tetes. Selanjutnya, dilakukan titrasi dengan larutan NaOH 0,25 M hingga terjadi perubahan warna larutan dari tidak berwarna menjadi merah muda permanen selama 30 detik. Perlakuan dilakukan sebanyak 4 kali.

### 2.4.3 Identifikasi dan Karakterisasi Gliseril Laktat

#### 2.4.3.1 Identifikasi Gliseril Laktat Menggunakan FTIR

Identifikasi menggunakan FTIR dilakukan pada gliserol dan asam laktat sebelum reaksi dan gliseril laktat setelah reaksi esterifikasi. Media yang digunakan dalam pengukuran yaitu pelet NaCl. Filtrat (sampel) dioleskan pada *NaCl Window*. Tekanlah kedua *NaCl Window*. Kemudian sampel dianalisis dengan FTIR pada panjang gelombang 4000-400 cm<sup>-1</sup>.

Asam 2-hidroksipropanoat (asam laktat) mempunyai dua jenis O-H; satu berasal dari asam dan yang lain berasal dari alkohol. Ikatan O-H asam akan menyerap pada daerah antara 2500 cm<sup>-1</sup>

dan  $3300\text{ cm}^{-1}$ , sedangkan alkohol akan menyerap antara  $3230\text{ cm}^{-1}$  dan  $3550\text{ cm}^{-1}$ . Jika serapan ini muncul bersama, akan memberikan serapan yang sangat lebar pada daerah dari  $2500\text{ cm}^{-1}$  sampai  $3550\text{ cm}^{-1}$ . Tidak adanya batas dari kedua jenis O-H ini disebabkan oleh adanya serapan dari C-H. Serapan C=O muncul pada  $1730\text{ cm}^{-1}$  [4]. Spektrum gliserol menunjukkan serapan pada bilangan gelombang  $3382,91\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan vibrasi stretching O-H. Stretching C-H ditunjukkan oleh bilangan gelombang  $2941,24\text{ cm}^{-1}$  dan bending C-H muncul pada  $1200-1300\text{ cm}^{-1}$ . Gugus C-O pada gliserol mengalami vibrasi stretching pada bilangan gelombang  $1000-1100\text{ cm}^{-1}$  [5]. Jika reaksi esterifikasi berhasil ditandai dengan terbentuknya senyawa ester pada bilangan gelombang  $1750-1735\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan karakteristik gugus C=O dari ester dengan intensitas serapan kuat [6]. Hasil identifikasi dari gliserol laktat dibandingkan dengan gliserol dan asam laktat sebelum bereaksi.

#### 2.4.3.2 Karakterisasi Gliseril Laktat Berdasarkan Nilai HLB

Gliseril laktat yang digunakan untuk menentukan nilai HLB merupakan hasil esterifikasi pada kondisi optimum. Penentuan nilai HLB dilakukan dengan metode bilangan air. Ditimbang gliseril laktat sebanyak 0,1 gram dengan neraca analitik. Kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 mL dan ditambahkan 2,5 mL larutan piridin:benzena (95:5), selanjutnya dilakukan titrasi menggunakan aquades hingga larutan keruh yang tidak hilang selama 30 detik. Kemudian dibuat kurva standar menggunakan surfaktan yang telah diketahui nilai HLB nya.

#### 2.4.4 Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penentuan kondisi optimum waktu dan rasio molar menggunakan rancangan acak lengkap dengan tabel *One Way ANOVA*. F hitung yang diperoleh dibandingkan dengan nilai F kritis (tabel) dengan derajat kepercayaan 95% dan 99%. Jika F hitung > F tabel maka perlu dilakukan uji BNJ.

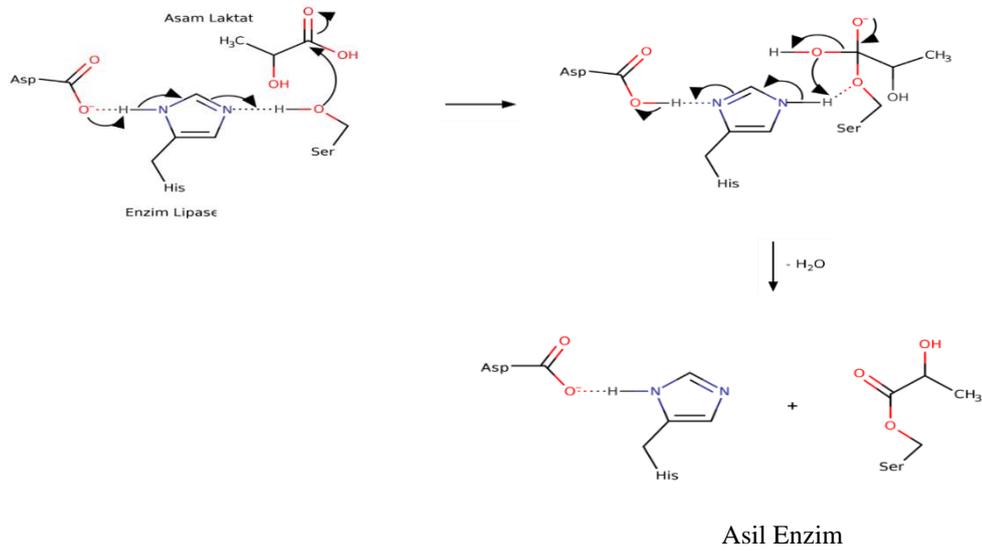
### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Esterifikasi Gliserol dengan Asam Laktat secara Enzimatik

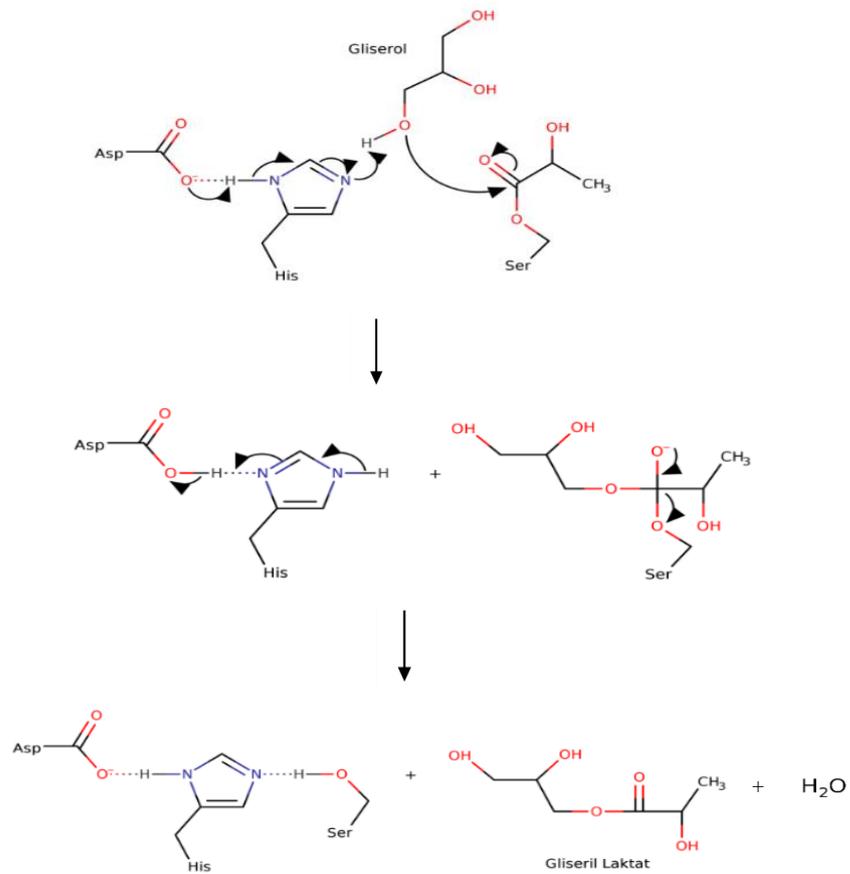
Esterifikasi merupakan suatu proses reaksi pembentukan ester yang berasal dari reaksi antara asam karboksilat dengan alkohol. Penelitian ini menggunakan asam laktat sebagai sumber senyawa asam karboksilat dan gliserol sebagai sumber senyawa alkohol. Reaksi esterifikasi dilakukan secara enzimatis menggunakan katalis enzim lipase dari *Candida rugosa* yang diamobilkan dalam matriks karagenan dengan metode penjebakan untuk menghasilkan gliseril laktat.

Mekanisme reaksi esterifikasi gliserol dengan asam laktat melalui dua tahap, yaitu asilasi dan deasilasi. Pada tahap asilasi, sisi aktif serin akan berikatan dengan asam laktat dan membentuk senyawa intermediet berupa asil enzim dan  $\text{H}_2\text{O}$ . Adanya serangan nukleofilik atom O dari sisi aktif serin terhadap atom C pada gugus asam karboksilat asam laktat akan membentuk senyawa asil enzim dan  $\text{H}_2\text{O}$ , sedangkan sisi aktif histidin dan aspartat akan distabilkan kembali oleh atom H dan membentuk ikatan hidrogen.

Selanjutnya, pada tahap deasilasi terjadi pembentukan senyawa gliseril laktat dari hasil reaksi antara gliserol dengan asil enzim. Atom N dari sisi aktif histidin akan menyerang gugus O-H alkohol primer dari gliserol sehingga terbentuk ion  $\text{O}^{2-}$ , kemudian ion  $\text{O}^{2-}$  dari gliserol menyerang senyawa asil enzim. Akibatnya, atom O pada asil enzim lebih elektronegatif. Selanjutnya, sisi aktif serin akan melepas ikatan C-O dengan senyawa intermediet sehingga atom C lebih elektropositif. Atom O dari senyawa intermediet akan mendonorkan elektronnya ke atom C membentuk ikatan karbonil C=O, sehingga diperoleh molekul ester sebagai produk akhir dan enzim kembali ke bentuk semula. Berikut merupakan dugaan mekanisme reaksi esterifikasi asam laktat dan gliserol dengan enzim lipase (**Gambar 3.1 dan Gambar 3.2**):



**Gambar 3.1:** Mekanisme reaksi esterifikasi secara enzimatik (tahap asilasi)

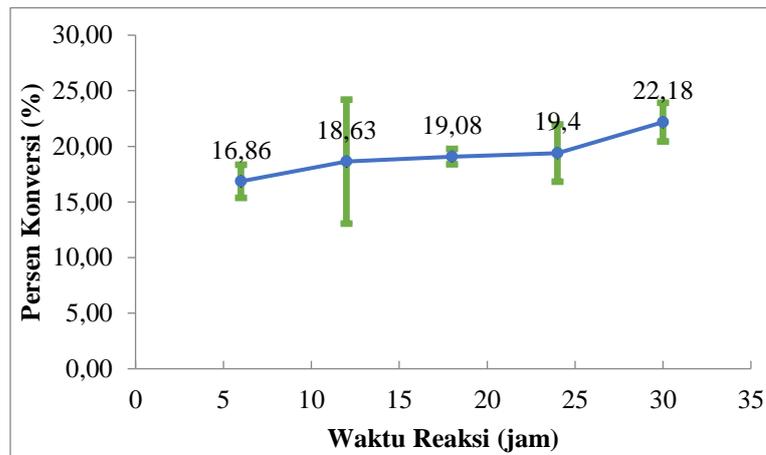


**Gambar 3.2:** Mekanisme reaksi esterifikasi secara enzimatik (tahap deasilasi)

### 3.1.1 Pengaruh Waktu Reaksi Esterifikasi Gliserol dengan Asam Laktat secara Enzimatis

Reaksi esterifikasi merupakan reaksi kesetimbangan, oleh karena itu esterifikasi gliserol dengan asam laktat secara enzimatik dilakukan pada berbagai waktu reaksi, hal tersebut dimaksudkan untuk menentukan waktu reaksi optimum.

Variasi waktu yang digunakan pada penelitian ini yaitu 6, 12, 18, 24, dan 30 jam. Berdasarkan hasil statistik dari uji ANOVA pada tingkat kepercayaan 95%, diperoleh nilai F hitung sebesar 1,70 dan F kritis sebesar 3,06. Dari data tersebut diketahui bahwa nilai  $F_{hitung} < F_{kritis}$ , hal ini menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan pengaruh waktu reaksi esterifikasi gliserol dengan asam laktat, sehingga tidak perlu dilakukan uji lanjut BNJ.



**Gambar 3.3:** Grafik hubungan variasi waktu reaksi terhadap persen konversi pada rasio (1:1) mmol

Persentase konversi produk gliseril laktat yang dihasilkan ditampilkan pada **Gambar 3.3**. Persentase konversi merupakan banyaknya gugus O-H pada senyawa gliserol yang bereaksi dengan asam laktat. Berdasarkan **Gambar 3.3** menunjukkan bahwa nilai persentase konversi berkorelasi positif dengan bertambahnya waktu, walaupun secara statistik tidak berbeda nyata. Nilai persentase konversi tertinggi yaitu 22,18% diperoleh pada waktu reaksi 30 jam, sedangkan nilai persentase konversi terendah yaitu 16,86% diperoleh pada waktu reaksi 6 jam. Hal ini disebabkan oleh semakin lama proses esterifikasi maka semakin banyak asam laktat yang bereaksi dengan gliserol. Selain itu, semakin lama reaksi menyebabkan tumbukan antara gliserol dengan asam laktat semakin sering terjadi sehingga konversi menjadi produk semakin besar.

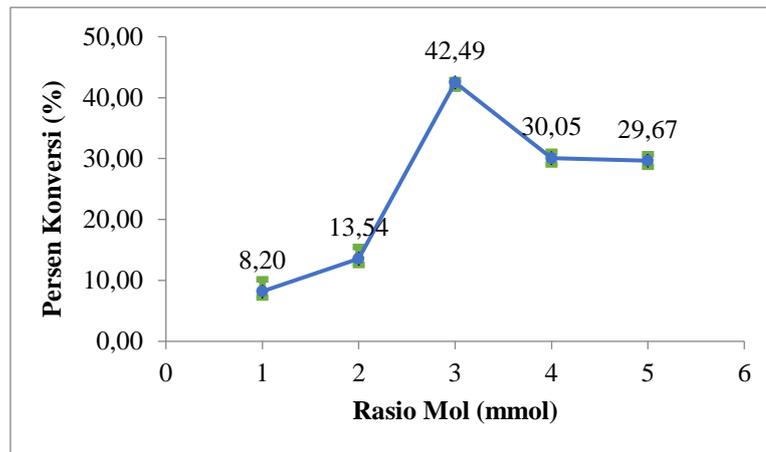
Pada penelitian Rahma [8], yaitu esterifikasi gliserol dengan asam stearat secara enzimatik menggunakan enzim lipase *Candida rugosa* diperoleh nilai persentase konversi sebesar 9,77%, waktu reaksi optimum dicapai pada 24 jam. Waktu yang digunakan lebih sedikit karena asam karboksilat dengan rantai lurus lebih cepat bereaksi daripada rantai bercabang, khususnya bercabang di posisi alfa. Asam stearat merupakan asam karboksilat dengan rantai lurus, sedangkan asam laktat merupakan asam karboksilat yang memiliki rantai bercabang yaitu gugus hidroksil pada posisi alfa. Hal ini mengakibatkan halangan ruang dari molekul asam laktat lebih besar daripada asam stearat maka laju reaksi akan menurun, sehingga waktu reaksi yang dibutuhkan asam laktat lebih lama daripada asam stearat.

### 3.1.2 Pengaruh Rasio Mol Gliserol dengan Asam Laktat pada Reaksi Esterifikasi secara Enzimatis

Pada tahap ini dilakukan variasi perbandingan mol antara gliserol dengan asam laktat berdasarkan waktu reaksi terbaik yang diperoleh dari tahap reaksi enzimatik variasi waktu yaitu 30

jam. Penentuan rasio mol optimum reaksi esterifikasi diperoleh dari nilai persen konversi tertinggi dari variasi rasio mol yang digunakan.

Variasi rasio mol yang digunakan pada penelitian ini yaitu 1:1, 1:2, 1:4, 1:6, dan 1:8. Berdasarkan hasil statistik dari uji ANOVA pada tingkat kepercayaan 95% dan 99%, diperoleh nilai F hitung sebesar 381,48 dan F kritis sebesar 3,06 dan 4,89. Dari data tersebut diketahui bahwa  $F_{hitung} > F_{kritis}$ , hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang nyata pada perlakuan pengaruh rasio mol gliserol dengan asam laktat, sehingga perlu dilakukan uji lanjut BNJ untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan pada tiap perlakuan. Berdasarkan uji lanjut BNJ diketahui bahwa nilai rata-rata perlakuan pada rasio mol 1:1, 1:2, dan 1:4 berbeda signifikan terhadap rasio mol lainnya.



**Gambar 3.4:** Grafik hubungan variasi rasio mol gliserol dengan asam laktat terhadap persen konversi (waktu 30 jam)

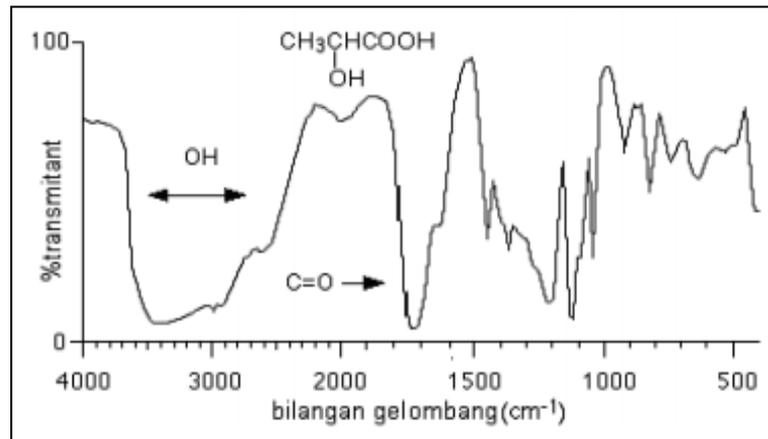
Persentase konversi produk gliseril laktat yang dihasilkan ditampilkan pada **Gambar 3.4**. Pada penelitian ini digunakan rasio mol asam laktat yang berlebih agar gugus hidroksil yang terdapat pada gliserol dapat teresterifikasi dengan baik dan dihasilkan produk yang maksimal. Berdasarkan **Gambar 3.4** diketahui bahwa nilai persen konversi mengalami peningkatan pada rasio mol gliserol dengan asam laktat 1:1 hingga 1:4. Hal ini disebabkan oleh reaksi esterifikasi merupakan reaksi reversibel sehingga asam laktat yang berlebih dapat menggeser kesetimbangan menuju produk, selain itu tumbukan antar molekul semakin besar sehingga mengakibatkan konversi semakin besar pula. Selanjutnya, pada rasio mol 1:6 hingga 1:8 nilai persen konversi mengalami penurunan seiring dengan meningkatnya mol asam laktat. Hal ini disebabkan oleh bertambahnya air sebagai produk samping dari hasil reaksi esterifikasi sehingga ester yang dihasilkan akan terhidrolisis menjadi asam laktat dan gliserol kembali. Bertambahnya air dalam medium reaksi dapat menyebabkan enzim cenderung mengarahkan reaksi ke arah reaksi hidrolisis, sehingga persen konversi yang dihasilkan menurun.

Pada penelitian Niam [9], yaitu esterifikasi gliserol dengan asam oleat secara enzimatik menggunakan enzim lipase *Candida rugosa*. Rasio mol optimum dicapai pada perbandingan 1:1 dengan konversi esterifikasi 11%, perbandingan rasio mol yang digunakan yaitu rasio mol gliserol lebih besar dibanding rasio mol asam lemak. Hal ini membuktikan bahwa penggunaan gliserol berlebih dengan kondisi esterifikasi yang telah ditentukan tidak menghasilkan nilai persen konversi menjadi lebih tinggi. Hal ini disebabkan kemurnian gliserol hanya sebesar 87% sehingga ketika ditambahkan gliserol lebih banyak, maka semakin besar pula pengotor yang berada dalam reaksi esterifikasi. Banyaknya pengotor ini akan menghambat proses pembentukan ester. Adapun pada penelitian ini, digunakan mol asam laktat yang lebih banyak dalam reaksi esterifikasi dan menghasilkan nilai persen konversi yang lebih tinggi. Rasio mol optimum pada penelitian ini dicapai pada perbandingan 1:4, dan diperoleh persen konversi sebesar 42,49%. Hal ini membuktikan bahwa semakin banyak asam lemak yang digunakan dalam reaksi esterifikasi, maka akan memperbesar terbentuknya ikatan ester antara gliserol dengan asam lemak.

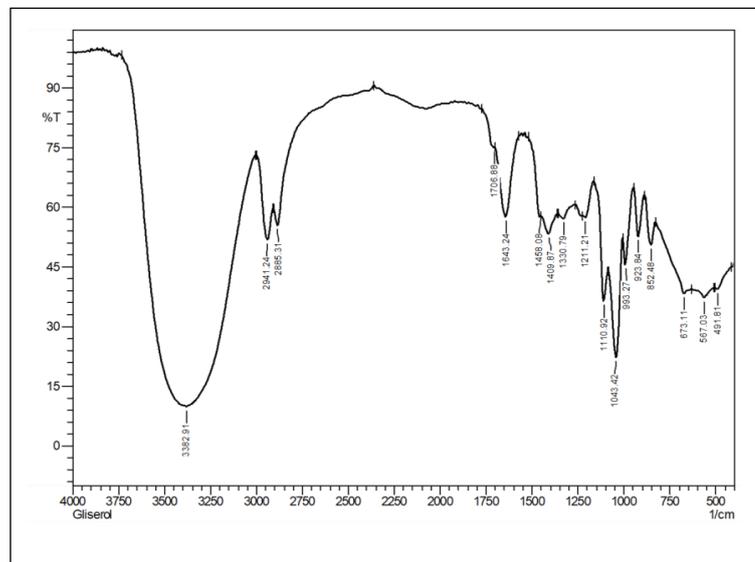
### 3.1.3 Identifikasi dan Karakterisasi Gliseril Laktat

#### a. Identifikasi Gliseril Laktat Menggunakan FTIR

Spektrofotometri FTIR adalah metode analisis berdasarkan pada perbedaan panjang gelombang absorpsi masing-masing gugus fungsi, sehingga dapat diketahui ada tidaknya gugus fungsi yang diinginkan pada senyawa hasil sintesis. Hasil reaksi antara gliserol dengan asam laktat akan menghasilkan gliseril laktat. Selanjutnya spektrum gliseril laktat hasil esterifikasi dibandingkan dengan spektrum FTIR asam laktat dan gliserol murni. Spektrum inframerah asam laktat murni ditampilkan pada **Gambar 3.5**, spektrum inframerah gliserol murni pada **Gambar 3.6**, dan karakter gugus fungsi FTIR pada **Tabel 3.1**.



**Gambar 3.5:** Spektrum infra merah asam laktat murni [4]



**Gambar 3.6:** Spektrum inframerah gliserol murni [5]

**Tabel 3.1:** Karakter gugus fungsi FTIR

No.	Senyawa	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )
1	Asam Laktat	O-H (Asam)	3300 dan 2500
	Asam Laktat	O-H (Alkohol)	3550 dan 3230

	Gliserol		3382,91
2	Asam Laktat	C-H (alkana)	3000-2900
3	Gliserol	C-H (alkana)	2941,24
		Stretching	
		C-H (alkana)	1300-1200
		Bending	
4	Asam Laktat	C=O	1730
		(asam karboksilat)	
5	Gliserol	C-O	1100-1000
6	Asam Laktat		

Asam laktat memiliki dua jenis O-H, satu berasal dari asam dan yang lain berasal dari alkohol. Pada **Gambar 3.5** di atas terdapat ikatan O-H asam pada daerah bilangan gelombang  $2500\text{ cm}^{-1}$  dan  $3300\text{ cm}^{-1}$ , sedangkan alkohol akan menyerap pada  $3230\text{ cm}^{-1}$  dan  $3550\text{ cm}^{-1}$ . Jika serapan ini muncul bersama, akan memberikan serapan yang sangat lebar pada daerah dari  $2500\text{ cm}^{-1}$  sampai  $3550\text{ cm}^{-1}$ . Tidak adanya batas dari kedua jenis O-H ini disebabkan oleh adanya serapan dari C-H. Pada **Gambar 3.6** terdapat vibrasi ulur gugus O-H pada bilangan gelombang  $3382,91\text{ cm}^{-1}$  dengan intensitas kuat dan melebar merupakan karakteristik gugus O-H dari gliserol.

Serapan vibrasi ulur gugus C-H  $\text{sp}^3$  pada bilangan gelombang  $3000\text{-}2900\text{ cm}^{-1}$  untuk asam laktat [10]. Sedangkan untuk gliserol C-H stretching pada bilangan gelombang  $2941,24\text{ cm}^{-1}$  dan C-H bending pada bilangan gelombang  $1300\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ . Serapan vibrasi ulur gugus C-O dari alkohol primer gliserol yaitu pada bilangan gelombang  $1100\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ . Reaksi esterifikasi gliserol dengan asam laktat jika berhasil ditandai dengan terjadinya pergeseran bilangan gelombang dan perubahan intensitas pada spektrum FTIR gliseril laktat yang dibandingkan dengan gliserol dan asam laktat murni. Vibrasi ulur C=O ester yang terbentuk berbeda dengan serapan dari vibrasi ulur C=O pada asam laktat. Serapan vibrasi ulur gugus C=O dari asam laktat yaitu pada  $1730\text{ cm}^{-1}$ . Serapan C-O ester muncul pada daerah bilangan gelombang  $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ . Selanjutnya, untuk membuktikan apakah ester yang terbentuk merupakan ester monosubstitusi, disubstitusi, atau trisubstitusi dapat dilakukan dengan mengamati pada daerah finger print ( $1500\text{-}600\text{ cm}^{-1}$ ).

#### b. Karakterisasi Gliseril Laktat Berdasarkan Nilai HLB

Nilai *hydrophilic-lipophilic balance* (HLB) merupakan salah satu dasar dalam menentukan aplikasi suatu emulsifier. Semakin tinggi nilai HLB maka kelarutan emulsifier dalam air semakin tinggi. Karakterisasi gliseril laktat dilakukan menggunakan metode bilangan air yaitu dengan cara membuat kurva standar hubungan antara nilai HLB dari bermacam-macam surfaktan yang telah diketahui nilai HLB-nya dan air yang digunakan untuk titrasi. Kurva yang diperoleh digunakan untuk interpolasi nilai HLB surfaktan yang belum diketahui nilai HLB-nya.

Kepala polar gliseril laktat yang bersifat hidrofilik akan tarik menarik dengan molekul air yang juga bersifat polar dan ion nitrogen dari molekul piridin yang bersifat semi polar. Titik akhir titrasi dicapai pada saat kekeruhan permanen, karena pada saat kekeruhan permanen larutan telah jenuh dan molekul gliseril laktat sudah tidak dapat berikatan dengan molekul air, piridin, maupun benzena.

Panjang rantai hidrokarbon memengaruhi nilai HLB surfaktan, semakin panjang rantai hidrokarbon suatu surfaktan maka semakin rendah nilai HLBnya. Hal ini disebabkan oleh HLB merupakan nilai yang bergantung pada perbandingan antara rantai hidrofilik dan lipofilik suatu molekul surfaktan.

Pada penelitian Niam [9], yaitu esterifikasi gliserol dengan asam oleat secara enzimatik menggunakan enzim lipase *Candida rugosa*, ester yang terbentuk yaitu oleil gliserol dengan nilai HLB yang diperoleh 3,62 dan merupakan emulsifier jenis W/O (*water in oil*). Hal ini membuktikan bahwa semakin panjang rantai hidrokarbon suatu surfaktan maka semakin rendah

nilai HLB nya. Oleil gliserol merupakan surfaktan yang memiliki rantai hidrokarbon panjang, sedangkan gliseril laktat merupakan surfaktan dengan rantai hidrokarbon pendek, sehingga nilai HLB gliseril laktat lebih tinggi dibandingkan dengan nilai HLB dari oleil gliserol.

#### 4. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka waktu reaksi tidak berpengaruh nyata terhadap hasil esterifikasi menggunakan lipase amobil secara enzimatik. Nilai persen konversi terbaik dicapai pada waktu reaksi 30 jam yaitu sebesar 22,18%. Rasio mol gliserol dengan asam laktat berpengaruh sangat nyata terhadap hasil esterifikasi menggunakan lipase amobil secara enzimatik. Rasio mol optimum esterifikasi gliserol dengan asam laktat pada rasio mol 1:4 dengan persen konversi 42,49%. Identifikasi senyawa produk hasil esterifikasi yaitu gliseril laktat menggunakan spektrofotometer inframerah (FTIR). Karakteristik spektrum pada senyawa ester yang terbentuk ditandai dengan terjadinya pergeseran serapan pada bilangan gelombang tertentu dan munculnya vibrasi ulur gugus C=O ester. Karakterisasi senyawa produk hasil esterifikasi menggunakan nilai HLB. Nilai HLB ester dari asam laktat (monogliserida) pada rentang 7-8 yang merupakan emulsifier jenis *wetting agent* (agen pembasah).

#### REFERENCES

- [1] N. Vivek, A. Pandey, and P. Binod, "Production and Applications of 1,3-Propanediol," *Curr. Dev. Biotechnol. Bioeng. Prod. Isol. Purif. Ind. Prod.*, pp. 719–738, Jan. 2017, doi: 10.1016/B978-0-444-63662-1.00031-2.
- [2] G. Hasenhuettl, R. Hartel, "Food Emulsifiers and Their Applications," University of Wisconsin, USA.
- [3] F. A. Wardoyo and F. F. Hidayah, "Thermal and reused stability of immobilized lipase in carrageenan," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 292, no. 1, 2019, doi: 10.1088/1755-1315/292/1/012028.
- [4] Dachriyanus, *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Sumatera Barat: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas, 2004.
- [5] E. F. Rahayu, W. Trisunaryanti, and K. Wijaya, "Konversi Gliserol menjadi Polihidroksibutirat dengan Menggunakan Bakteri Escherichia coli," vol. 6, no. 3, 2017.
- [6] "IR Spectrum Table." <https://www.sigmaldrich.com/ID/en/technical-documents/technical-article/analytical-chemistry/photometry-and-reflectometry/ir-spectrum-table> (accessed May 25, 2022).
- [7] I. Nawangsari, "Karakteristik Fisikokimia Ganda W/O/W Sodium Klorida (NaCl) Pada Bumbu Mi Instan," Prodi S1 Teknologi Pangan, Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, p. 111, 2017.
- [8] Z. Rahma, "Penentuan Kondisi Optimum Esterifikasi Gliserol dengan Asam Stearat Secara Enzimatis," Program Studi S1 Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, 2019.
- [9] S. Putri, "Penentuan Kondisi Optimum Esterifikasi Gliserol dengan Asam Oleat Secara Enzimatis," Program Studi S1 Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, 2019.
- [10] "Analytical chemistry-infrared spectroscopy-spectra of different molecules-solution to ethanol-lactic acid problem." <http://www.dynamicscience.com.au/tester/solutions1/chemistry/analytical-chem/soln1a.htm> (accessed April 21, 2020)