

SINTESIS SECARA SEMI KONTINYU BIOSURFAKTAN ESTER SORBITOL OLEAT MENGGUNAKAN LIPASE GETAH PEPAYA IMOBIL

Semi-continuous synthesis of sorbitol oleate ester biosurfactan using immobilized lipase of Carica papaya latex

Suhardi¹⁾, Tranggono¹⁾, Pudji Hastuti¹⁾, M. Muchalal²⁾

ABSTRACT

Study on synthesis of sorbitol oleate ester biosurfactan using Carica papaya latex immobilized-lipase as catalyst was carried out using oleic acid as a raw material. In the first step, process optimization for biosurfactan production was done with Carica papaya latex immobilized-lipase as a catalyst using a semi continuous methods. Lipase from Carica papaya latex was extracted using phosphate buffer pH 7.3 containing NaCl 0.1M, then precipitated with addition of ammonium sulphate. Furthermore, the precipitated enzyme was solubilized in phosphate buffer pH 7.3, immobilized on Na-alginat (3%) and dried in freeze drier. Some variables for reaction were studied consisting of water concentration (20, 40, 60%), silica gel (0, 60, 120%) and reaction time (24, 48, 72 hours) with lipase concentration of 10%, and incubated at 45°C for those determined times and the acid value was monitored.

In the second step, production of biosurfactant was also carried out using the semi-continuous methods, oleic acid and sorbitol were used as reactants and immobilized-lipase of Carica papaya latex as a catalyst. Product functional properties were also determined including hydroxyl value, refraction index, melting point, fatty acid composition and HLB (hydrophilic-lipophilic balance) value, surface tension and emulsifier characteristics. Result showed that : semi continuous production of sorbitol fatty acid ester with feed rate 0.1 ml per minute, temperature 45°C, 10% immobilized-lipase of Carica papaya latex, water:sorbitol ratio (40.16%), silica gel: water ratio (63.66%), sorbitol : oleic acid ratio (1:3 mol), incubation time 41.37 hours, resulted 54.96% product.

The product characteristics were as follows : sorbitol oleate acid ester content 70%, rendement 60%, hydroxyl value 57 mg KOH/g, melting point 165°C, refractive index 1.4590, HLB value 7.5, surface tension 31.83 dyne/cm, capacity to keep emulsion (W/O) stability 140 minutes.

Key words : Biosurfactan, sorbitol oleate ester, immobilized lipase of Carica papaya latex

PENDAHULUAN

Biosurfaktan non ionik antara lain monogliserol, ester sorbitol asam lemak (ESAL) yang dapat disintesa secara kimia maupun enzimatis. Biosurfaktan digunakan untuk meningkatkan mutu produk, mempertahankan viskositas, tekstur, mengurangi kesulitan penanganan bahan yang mudah rusak. Kemampuan surfaktan ini disebabkan karena dapat membentuk emulsi.

Biosurfaktan nonionik yang dibuat oleh Akoh dan Swanson (1990) antara lain sukrosa polyester (SPE) dan rafinosa polyester (RPE) yang dibuat secara kimia pada suhu tinggi sehingga warnanya agak kecoklatan. Sucrose octaacetate (SOAC) dan FAME (fatty acid methyl ester) dari minyak salad, diinteresterifikasi dengan logam natrium sebagai katalis.

Hydrophile-lipophile balance (HLB) SPE dan RPE antara 2 – 6 satuan HLB, sehingga dapat meningkatkan emulsi air dalam minyak pada mentega, margarin, spread lemak rendah, karamel, coklat, kembang gula dan shortening. SPE maupun RPE sulit dicerna oleh lipase pankreas.

Shieh dkk. (1995) mengevaluasi SPE yang dibuat dari komposit yang berbeda-beda campuran FAME dari minyak safflower, minyak sawit dan minyak kacang dengan menggunakan metodologi respons permukaan (RSM). Sifat fisik SPE dipengaruhi oleh derajat kejenuhan dan panjang rantai komposit asam-asam lemak. Ester sorbitol asam lemak telah berhasil dibuat dari destilat asam lemak minyak sawit dengan cara kimia pada suhu 140-150°C, namun berwarna coklat. (Suhardi dkk 2001)

¹⁾ Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jl. Sosio Yustisia, Bulaksumur, Yogyakarta 55281.

²⁾ Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada, Jl. Sosio Yustisia, Bulaksumur, Yogyakarta 55281.

Seino and Tsuyoshi, (1984) mensintesis ester karbohidrat dari asam-asam lemak secara enzimatik guna menghindari masalah yang berkaitan dengan proses-proses kimia. Enzim yang digunakan adalah lipase dari mikrobial. Asam lemak murni (stearat, oleat dan linoleat) dan karbohidrat (sukrosa, glukosa, fruktosa dan sorbitol) digunakan sebagai reaktan. Hasilnya menunjukkan bahwa lipase *Candida cylindracea* atau *Candida rugosa* adalah enzim yang paling aktif untuk sintesis ester karbohidrat. Kondisi optimal aktivitasnya adalah: molar ratio karbohidrat terhadap asam lemak : 0,05-0,2 mol/L; banyaknya lipase 4g/L; pH 5,4 dalam bufer fosfat; lama reaksi : 72 jam.

Macrae (1983) menyatakan bahwa enzim lipase yang dapat mengkatalis reaksi interesterifikasi lemak dan minyak ada tiga macam yaitu lipase non-spesifik, lipase spesifik 1,3 dan lipase spesifik.

Getah *Carica papaya* mempunyai aktivitas lipolitik dan hidrolitik pada trigliserida dengan asam lemak rantai pendek (asam lemak dengan atom karbon 4-6) dengan posisi sn-3. Pada reaksi interesterifikasi lipase *Carica papaya* dapat mengkatalis untuk asam lemak rantai medium (8-10), pada posisi sn-1,3, tetapi perpindahan gugus asil lebih baik pada posisi sn-3 (Giordani dkk., 1991; Villeneuve dkk, 1995, Villeneuve and Foglia., 1997). Lipase getah pepaya mengkatalis esterifikasi asam lemak tidak jenuh dengan konformasi cis-9 misalnya asam oleat dan asam alfa linoleat (Mukherjee and Kiewitt, 1996, Caro dkk, 2000). Gandhi dan Mukherjee (2001) menyatakan bahwa esterifikasi dengan lipase getah pepaya dipengaruhi oleh panjang rantai alkohol, nomor dan konfigurasi ikatan olefinik, adanya cincin aromatis dan posisi primer, sekunder, tersier dari gugus hidroksi. Gugus alkohol atau hidroksi pada posisi primer lebih mudah mengalami esterifikasi dibandingkan posisi sekunder atau tersier. Lipase pepaya telah berhasil mensintesis ester metil asam lemak dan ester sorbitol asam lemak (ESAL) dari asam oleat. (Suhardi dkk, 2002)

Sampai sekarang belum dijumpai penelitian produksi biosurfaktan secara enzimatik secara semi kontinyu dari asam lemak dan lipase getah pepaya imobil sebagai sumber enzimnya. Keunggulan semikontinyu adalah aliran substrat relatif kecil sehingga enzim tidak lolos dari matrik, kontak substrat dengan enzim dapat berulang-ulang, produk dapat diresirkulasi sampai mendapatkan produk dengan kadar ESAL tinggi. Berdasarkan penelitian tahun 2002 dan 2003 telah diketahui kondisi optimum sintesis biosurfaktan nonionik ester sorbitol oleat melalui jalur esterifikasi secara batch pada suhu 42,08° C, kadar getah pepaya 9,44 %, waktu inkubasi 48,12 jam (Suhardi, dkk, 2002, Suhardi dkk, 2003). Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan kondisi optimum sintesis ester sorbitol asam oleat dari sorbitol dan asam oleat secara semikontinyu, menggunakan biokatalisator lipase getah pepaya imobil.

METODA PENELITIAN

Bahan dan alat

Sorbitol, asam oleat, isooktan. lipase getah pepaya yang diimobilisasi dengan Na-alginat, piridin, kupri sulfat, asetat anhidrad, butanol, KOH, indikator pp, NaCl, CaCl₂, bufer fosfat, ammonium sulfat, fenil metil sulfonat fluorida, dimetilformamida, petroleum eter, dietil eter, asam asetat glacial, asam sulfat. Semua bahan kimia kualitas proanalysis dari Sigma. Alat analisis spektrofotometer UV-Vis, TLC scanner Camag, sentrifuge, magnetig stirrer, dialysis tube, digital tensiometer K 10 T.

Preparasi imobilisasi lipase getah pepaya.

Diambil 100 g getah pepaya segar, ditambah 200 ml larutan NaCl 1M, diaduk dengan magnetig stirrer selama 3 jam pada suhu 5°C. Selanjutnya disaring dengan kertas saring whatman, filtrat diendapkan dengan ammonium sulfat (60%). Endapan protein disaring pada suhu 5°C, dan diuji aktivitas lipolitiknya. Endapan protein yang mempunyai aktivitas tertinggi dilarutkan dalam bufer fosfat encer 0,01M pH 7,3, agar ikatan enzim matrik tidak rusak, dan dilakukan dialisis selama 24 jam pada suhu 5°C. Cairan selanjutnya ditambah Na-alginat sampai kadarnya 3%. Campuran enzim dan Na-alginat dengan pipet drop, ditetaskan kedalam larutan CaCl₂ jenuh. Butiran enzim imobil ini kemudian dicuci dengan aquadest, selanjutnya dikeringkan pada suhu -50°C selama 48 jam. Lipase getah pepaya imobil (LGP) disimpan pada suhu 5°C.

Pentahapan penelitian

Pertama kali dilakukan uji daya serap sorbitol dan silika gel terhadap uap air, untuk mengetahui jumlah bahan yang akan digunakan pada sintesis ester sorbitol asam lemak (ESAL). Air yang digunakan pada saat permulaan reaksi tidak boleh berlebihan yang ditandai sorbitol sebagian masih berupa kristal. Selanjutnya dilakukan sintesis ESAL secara semi kontinyu. Sorbitol dan asam oleat perbandingan 18,2 g : 84,6 g dialirkan ke kolom (volume 17,5 ml) yang berisi isolat lipase getah pepaya imobil (LGP) sebanyak 10,3 g atau 10 % substrat, kecepatan aliran 0,1 ml/menit. Reaktan yang telah melewati kolom dialirkan kembali kedalam kolom sehingga waktu kontak reaktan dan LGP 24-72 jam. Dengan pengaliran reaktan kembali ke kolom yang berulang-ulang ini memungkinkan kontak enzim dan reaktan menjadi lebih efisien. Pengaliran reaktan yang lambat memungkinkan lipase getah pepaya yang terikat dalam matrik tidak akan lolos mengikuti aliran reaktan. Dengan demikian cara semi kontinyu ini dimungkinkan akan lebih baik dibandingkan dengan cara pengadukan biasa. Setiap 24 jam sampel diambil, dan dilakukan analisis asam lemak bebas dengan metoda spektrofotometri (Marseno dkk, 1998). Diamati pula asam lemak bebas pada substrat sebelum inku-

basi. Faktor proses yang dipelajari yaitu jumlah air yang ditambahkan untuk melarutkan sorbitol (20-60%), silika gel yang digunakan untuk menyerap air hasil reaksi (0-120%), dan lama waktu inkubasi (24-72 jam). Untuk mencegah hidrolisis oleh proteolitik maka ditambahkan fenil metil sulfonat fluorida (PMSF) 0,01% terhadap LGP imobil yang digunakan. Desain percobaan disesuaikan dengan respon surface methodology (RSM) seperti Tabel 1. Pada tahap kedua dilakukan karakterisasi produk biosurfaktan yang dihasilkan. Skema alat semi-kontinyu sintesis ester sorbitol oleat seperti Gambar 1.

**Karakterisasi biosurfaktan ESAL
Angka Hidroksil (AOAC 965.32)**

Dengan Erlenmeyer ditimbang ESAL 0,5 g (A) ditambah 0,5 ml reagent piridin-asetat anhidrat 3:1, diasetilasi dan dibuat perlakuan blanko. Ditimbang 1 g ESAL untuk penentuan keasaman (B). Erlenmeyer ditutup kondensor balik diletakkan diatas penangas uap dipanaskan selama 1 jam. Satu mililiter aquades ditambahkan melalui kondensor dan dipanaskan lagi selama 10 menit. Ditambahkan 1,25 ml butanol netral dan erlenmeyer dibiarkan dingin, kemudian dilepaskan dari kondensor. Ditambahkan 1,25 ml butanol netral lagi dan 0,1 ml pp kemudian dititrasi dengan 0,5 N KOH alkoholik. Pada sampel untuk penentuan keasaman (B) ditambahkan 1 ml piridin, digoyang sampai bercampur, kemudian ditambah 0,1ml pp, dititrasi dengan 0,5 N KOH alkoholik sampai titik akhir pink.

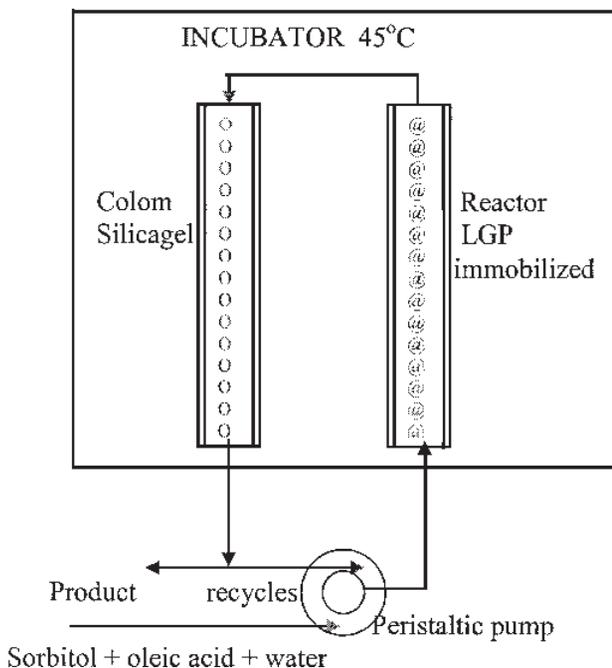


Figure 1.

Semi-continuous synthesis of sorbitol oleic acid ester immobilized-lipase of Carica papaya latex

Penentuan angka asam (Marseno dkk, 1998)

Supernatan hasil reaksi diambil sebanyak 200 µl, ditambah 1800 µl isooktan dan 400 µl larutan kupri asetat-piridin 5%, dogojog dengan vortex selama 90 detik, dan disentrifus 2000 rpm selama 2 menit dan ditera dengan spektrofotometer 715 nm. Kandungan asam lemak bebas dalam campuran ditentukan dengan membandingkan absorbansi campuran dengan kurva standar asam oleat.

Konfirmasi ESAL dengan TLC

TLC (Thin Layer Chromatography) yang digunakan berukuran 20 x 20 x 0,25 cm, dengan silika gel GF 60. Fase mobilnya yaitu petroleum eter : dietil eter : asam asetat glasial = 65: 35: 1 (v/v/v). Sampel dibuat dengan melarutkan 0,5 ml ESAL dalam 1 ml heksana. Sebanyak 5 – 15 µl aliquot digunakan untuk membuat spot pada TLC. Waktu untuk pengembangan adalah 30 – 60 menit. Visualisasi dilakukan dengan menyemprotkan 50% larutan asam sulfat, dikering-anginkan dan dipanaskan pada suhu 100 - 110°C selama 30 menit. Sebagai pembanding sorbitan monooleat dan sorbitan trioleat

Nilai HLB (hydrophylic-lipophylic balance)

Nilai HLB ester soibitol eleat ditentukan dengan metoda nilai air (water number) menurut Gupta dkk, (1983) menggunakan 5% benzena dalam dimetilformamida (DMF) kering sebagai solven

Uji Sifat biosurfaktan sebagai stabilisator emulsi

Dibuat emulsi minyak dalam air atau air dalam minyak, selanjutnya ditambah biosurfaktan digojok dengan shaker 10 menit dan dibiarkan dalam suhu ruang, diamati waktu terjadinya pemisahan emulsi. Sebagai pembanding digunakan sorbitan monooleat dan sorbitan trioleat.

Pengukuran sifat pelelehan (melting) dengan DSC (Differential Scanning Calorimeter).

Pengukuran indeks bias dengan refraktometer

Tegangan permukaan

Tegangan permukaan diukur dengan Digital Tensiometer K 10 T dengan metode *Du Nuoy Ring*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Daya serap silika gel dan sorbitol terhadap uap air.

Silika gel dan sorbitol yang digunakan dichek lebih dahulu daya serapnya terhadap uap air. Silika gel dan sorbitol masing-masing ditimbang 10 g dimasukkan kedalam eksikator yang sudah jenuh dengan uap air dan dinkubasikan selama 120 jam pada suhu kamar. Setiap 24 jam ditimbang dan

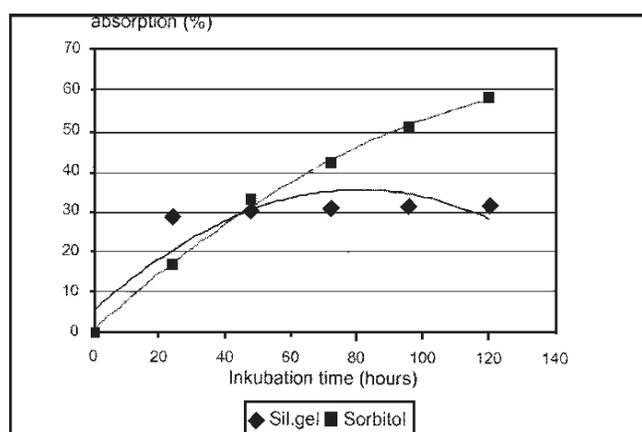


Figure 2.

Absorption of silica gel and sorbitol to aqueous vapour

dihitung air yang terserap kedalam bahan. Hasil pengamatan daya serap silika gel dan sorbitol terhadap uap air terlihat pada Gambar 2.

Berdasarkan gambar 2, diketahui bahwa daya serap silika gel sudah mencapai maksimum pada inkubasi selama 48 jam 29 menit, sedangkan sorbitol masih dapat menyerap air lebih dari 120 jam inkubasi. Hal ini membuktikan bahwa kedua senyawa ini mampu menyerap air dalam jumlah yang besar yaitu silika gel 30,33%, sorbitol jenuh 24,53%. Pada keadaan jenuh air, sorbitol berupa campuran antara kristal sorbitol dan cairan tercapai pada inkubasi selama 36 jam. Berdasarkan hal ini maka pada sintesis ester sorbitol asam lemak (ESAL) dicoba ditambahkan air sampai diperoleh larutan sorbitol dan sorbitol lewat jenuh, sedangkan silika gel yang ditambahkan sebanyak yang diperkirakan dapat menyerap air sisa yang tidak terserap oleh sorbitol dan hasil reaksi esterifikasi.

2. Pengaruh air pada sintesis ester sorbitol asam lemak (ESAL)

Pengaruh air pada sintesis ESAL melalui esterifikasi dapat dilihat pada Gambar 3.

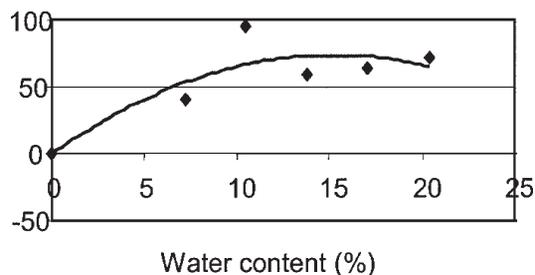


Figure 3.

The influence water conten at synthesis ESAL using Carica papaya latex lipase immobilized

Berdasarkan Gambar 3. tersebut diketahui bahwa makin tinggi air yang ada pada medium sampai kadar air 14,75 % sintesis ESAL lewat esterifikasi berlangsung meningkat, namun diatas kadar tersebut sintesis mulai menurun. Hal ini disebabkan sorbitol sudah mendekati melarut semua, akibatnya air hasil esterifikasi tidak dapat diikat sehingga ada dimedium yang makin lama makin banyak. Air bebas yang ada pada medium ini akan mendorong reaksi kearah hidrolisis sehingga terlihat reaksi sintesis menurun. Untuk mengambil air bebas ini maka percobaan berikutnya adalah dengan menambahkan silikagel kedalam sistem reaksi dalam jumlah yang tepat.

3. Pengaruh silika gel pada reaksi sintesis ESAL lewat jalur esterifikasi

Pada Gambar 4 terlihat dengan penambahan silika gel 60% terhadap air yang ditambahkan sebanyak 20% akan meningkatkan sintesis ESAL sampai inkubasi selama 48 jam. Apabila inkubasi diperpanjang justru terjadi penurunan sintesis ESAL. Apabila silika gel diperbanyak sampai 120 % terhadap air yang ditambahkan justru sintesis ESAL terhambat. Hal ini menunjukkan bahwa air meskipun dalam jumlah sedikit tetap diperlukan dalam sintesis ESAL. Berdasarkan data ini maka untuk selanjutnya optimasi sintesis ESAL akan ditentukan pada kisaran silika gel 0-120% terhadap air yang ditambahkan, sedangkan air yang ditambahkan 20-60% terhadap sorbitol yang digunakan dalam sistem.

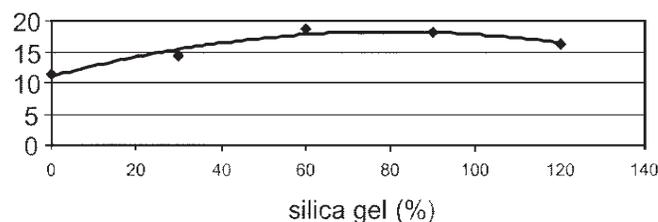


Figure 4.

The influence silica gel at synthesis ESAL using immobilized lipase of Carica papaya latex

3. Optimasi sintesis ESAL menggunakan lipase getah pepaya imobil secara semikontinyu

Hasil penelitian sintesis ESAL menggunakan lipase getah pepaya imobil disajikan pada Tabel 4. Setelah dianalisis coefisien regresi dan analisis optimasi dengan RSM diperoleh hasil seperti Tabel 5, dan Gambar 5. Hubungan factor proses air (x_1), silikagel (x_2) dan waktu (x_3) sebagai berikut:

Tabel 4. Optimisation semi-continuous synthesis of sorbitol oleiate ester using immobilized lipase of *Carica papaya* latex

No.	Water (%)	Silica gel (%)	Time incubation (hr)	Conversion (%)
1	20	120	48	28,85
2	20	60	72	45,97
3	60	60	72	54,31
4	40	60	48	55,36
5	60	0	48	24,43
6	40	60	48	55,40
7	60	120	48	49,01
8	40	0	24	50,98
9	20	0	48	51,68
10	40	120	24	51,70
11	40	120	72	56,31
12	20	60	24	45,97
13	40	60	48	55,36
14	40	0	72	51,01
15	60	60	24	45,27

Note: Sorbitol oleiate acid ratio 1:3 molar, Incubation temp. 45°C, LGP immobilized 10%

$$Y = 55,3733 + 0,0688X_1 + 0,9713X_2 + 1,7100X_3 - 10,7504X_1^2 - 6,1304X_2^2 + 3,2571X_3^2 + 11,8525X_1X_2 + 2,26 X_1X_3 + 1,145 X_2X_3$$

Dengan variansi 97,5% dan R² = 92,9%, menunjukkan bahwa persamaan diatas dapat diterima dengan tingkat kesalahan dibawah 10%.

Kondisi optimum yang ditunjukkan plot contour dan respon permukaan dikuatkan dengan analisis kanonis hubungan faktor proses (air W₁; silika gel W₂; dan waktu inkubasi W₃) terhadap respon (konversi Y) dapat digambarkan dalam formulasi matematisnya sebagai persamaan kanonis. Y = 54,96-14,8216W₁²-2,3005W₂²+3,4984W₃²

Tanda didalam persamaan kanonis adalah campuran positif dan negative, berarti daerah stasionernya berbentuk sadel. (Figure 5)

Data dianalisis dengan statistika, Matlab dan RSM dihasilkan Gambar 5. dan diketahui kondisi optimum sintesis ESAL semikontinyu. Pada plot RSM diketahui bahwa makin banyak air yang ditambahkan sampai 40,16% terhadap sorbitol konversi semakin besar. Ini membuktikan bahwa sorbitol harus dalam keadaan terlarut agar mudah bereaksi. Namun diatas kadar 40,16% sintesis tidak meningkat, hal ini karena air yang berlebihan dapat menyebabkan terjadinya hidrolisis ESAL yang sudah terbentuk. Oleh karenanya air harus ditambahkan

Tabel 5: Regression coefficients for conversion

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	55.3733	1.4565	38.018	0.000
Water (%)	0.0688	0.8919	0.077	0.942
Silica gel (%)	0.9713	0.8919	1.089	0.326
Time (hour)	1.7100	0.8919	1.917	0.113
Water-water	-10.7504	1.3129	-8.188	0.000
Silicagel-Silicagel	-6.1304	1.3129	-4.669	0.005
Time-time	3.2571	1.3129	2.481	0.056
Water-silicagel	11.8525	1.2614	9.396	0.000
Water-time	2.2600	1.2614	1.792	0.133
Silicagel-time	1.1450	1.2614	0.908	0.406

S = 2.523 R-Sq = 97.5% R-Sq(adj) = 92.9%

secukupnya sesuai dengan kebutuhan. Untuk menghindari air yang berlebihan dalam medium maka ditambahkan penyerap air berupa silikagel. Silika gel dapat menyerap air yang ada dalam medium, sehingga konversi semakin besar. Penambahan silikagel yang berlebihan justru menurunkan sintesis ESAL. Makin banyak silikagel, air dalam medium makin kecil, menyebabkan sorbitol terlarut sangat kecil menyebabkan sintesis ESAL berlangsung lambat. Harus ada kesesuaian antara air dan silikagel dalam medium supaya terdapat air yang cukup

untuk terjadinya sintesis ESAL. Kondisi optimum adalah nisbah sorbitol : asam oleat (1:3 molar), penambahan air 40,16% terhadap sorbitol atau ekuivalen kadar air 7,11%, silika gel 63,66% terhadap air atau ekuivalen kadar 4,53%, dan waktu inkubasi pada suhu 45°C selama 41,38 jam, LGP imobil 10% terhadap substrat atau ekuivalen 7927 unit. Pada kondisi optimum ini konversi asam oleat menjadi ESAL sebesar 54,96%. Berdasarkan penelitian secara tidak kontinyu konversi asam oleat menjadi ESAL sekitar 45,02%, ini berarti

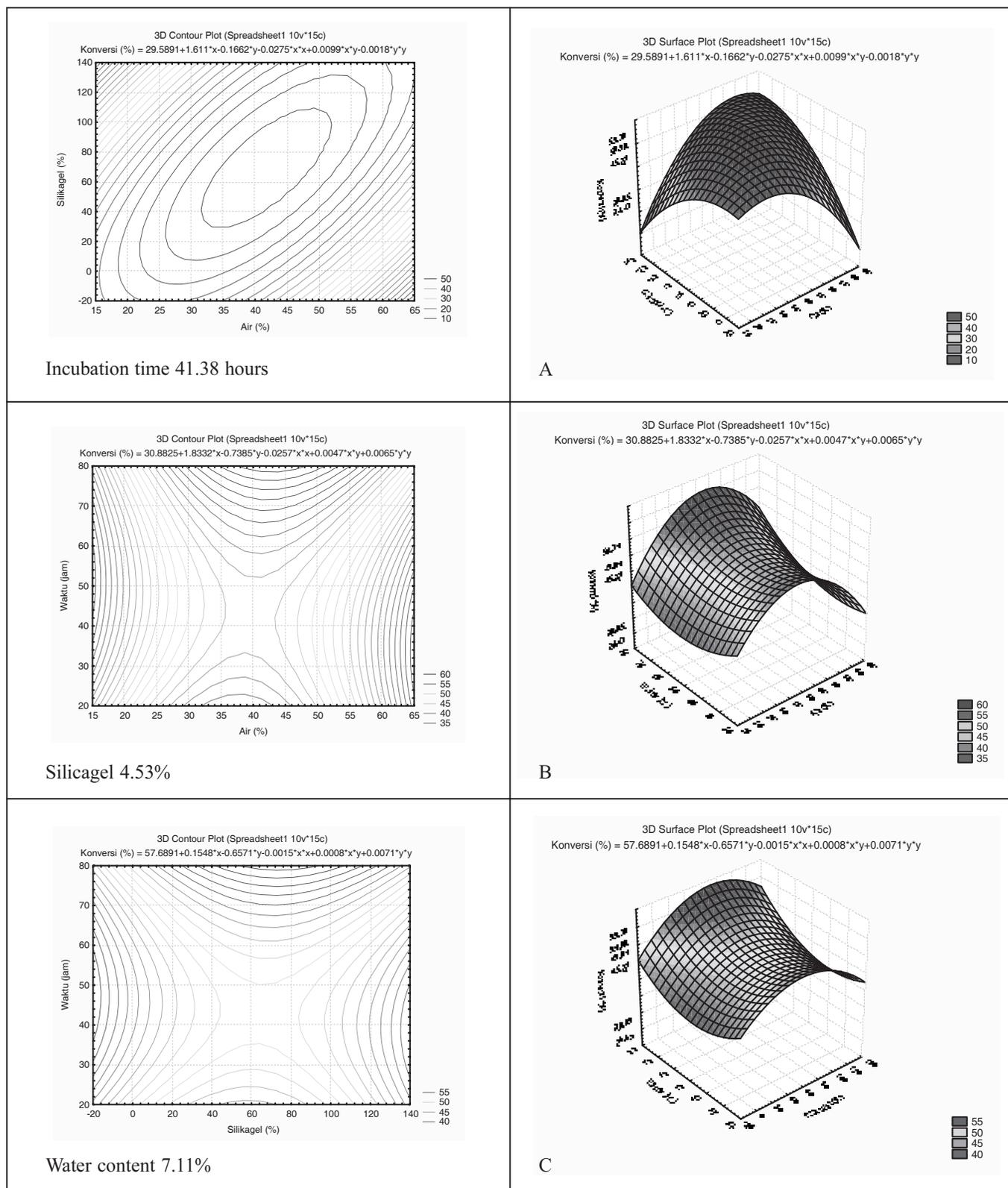


Figure 5.

Plot countur and response surface semi-continuous synthesis of ESAL from oleic acid and sorbitol using immobilized lipase of carica papaya latex.

(A. Incubation 41.34 hour; B. Silicagel content 4.53%; C. Water content 7.11%)

ada peningkatan sebesar 9,94% apabila menggunakan cara semi kontinyu. Hal ini membuktikan bahwa penyerapan air hasil reaksi oleh silika gel dapat meningkatkan sintesis ESAL sebesar 22,1%.

Karakteristik produk ESAL, kadar ESAL 70%, rendemen 60%, angka hidrokisi 57 mg KOH/g, angka hidrokisi sorbitol 85 mg KOH/g yang berarti derajat ester ESAL adalah 1,9. ESAL mempunyai titik leleh 15-20°C, titik asap 165°C, indeks refraksi 1,4590. Nilai HLB ESAL 7,5 lebih tinggi dari pada HLB sorbitan monooleat 4,3, tegangan permukaan 31,83 dyne/cm lebih tinggi dari pada sorbitan trioleat 20,37 dyne/cm, kemampuan menahan emulsi air dalam minyak 140 menit lebih rendah dari pada sorbitan trioleat 315 menit. Sifat fungsional ESAL masih lebih rendah dibandingkan sorbitan oleat disebabkan produk belum murni kadarnya ESAL baru 70%, sehingga masih mengandung impurities berupa asam oleat maupun sorbitol. Untuk pemurniannya perlu dilakukan dengan kolom kromatografi.

ESAL dikonfirmasi dengan TLC dan sebagai pembanding sorbitan monooleat dan sorbitan trioleat, ternyata nilai Rf ESAL antara kedua pembanding tersebut, sehingga dapat diperkirakan berupa ester sorbitol dioleat sesuai dengan derajat esterifikasi 1,9.

KESIMPULAN

1. Kondisi optimum sintesis ESAL secara semi kontinyu adalah: Nisbah sorbitol : asam oleat (1:3 molar), penambahan air 40,16% terhadap sorbitol atau ekuivalen dengan kadar air 7,1%, silika gel 63,66% terhadap air atau kadar 4,53%, waktu inkubasi pada suhu 45°C selama 41,38 jam, lipase getah pepaya imobil 10% ekuivalen 7927 unit. Pada kondisi optimum konversi asam oleat menjadi ESAL sebesar 54,96%.
2. Karakteristik produk ESAL, kadar ESAL 70%, rendemen 60%, angka hidrokisi 57 mg KOH/g, yang berarti derajat ester ESAL adalah 1,9, titik leleh 15-20°C, titik asap 165°C, indeks refraksi 1,4590, HLB 7,5 tegangan permukaan 31,83 dyne/cm, kemampuan menahan emulsi air dalam minyak 140 menit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini peneliti mengucapkan terima kasih kepada RUSNAS-MAKSI yang telah memberikan dana penelitian pada tahun 2003-2004.

DAFTAR PUSTAKA

Akoh CC, and Swanson BG. 1990. Optimized synthesis of sucrose polyesters : Comparison of physical properties of sucrose polyesters, raffinose polyesters and salad oils, J. Food Sci. 55 : 236 - 243.

- AOAC, 1995. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analysis Chemists*. Sidney W. (ed.). The AOAC Inc., Virginia. USA.
- Caro Y Villeneuve P, Pina M, Reynes M, and Graille J. 2000. Investigation of crude latex from various *Carica papaya* varieties for lipid bioconversions. *J.Am.Oil Chem. Soc.* 77 : 891-901
- Gandhi NN and Mukherjee KD. 2001. Specificity of papaya lipase in esterification of aliphatic alcohols- a comparison with microbial lipases. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 78 : 161-165
- Giordani R, Moulin A, Verger R. 1991. Tributylglycerol hydrolase activity in *Carica papaya* and other latices, *Phytochemistry* 30:1069-1072
- Gupta RK, James K, and Smith FJ. 1983. Sucrose esters and sucrose ester / glyceride blend as emulsifiers. *JAOCS.* 60: 862-869.
- Macrae AR. 1983. Lipase catalyzed interesterification of oil and fat. *JAOCS.* 60: 291-294.
- Marseno DW, Indarti R, and Ohta Y. 1998. A Simplified methods for determination of free fatty acids for soluble and immobilized lipase assay. *Indonesia Food and Nutrition Progress.* 5:79-83.
- Mukherjee KD, Kiewitt I. 1996. Specificity of *Carica papaya* latex as biocatalyst in the esterification of fatty acids with 1-butanol. *J Agric Food Chem* 44:1948-1952
- Seino H, and Tsuyoshi U. 1984. Enzymatic synthesis of carbohydrate esters of fatty acid (I) Esterification of sucrose, glucose, fructose and sorbitol. *JAOCS.* 61: 1761-1765 .
- Shieh CJ, Akoh CC and Koehler PE. 1995. Four factor response surface methodology. *J.Am. Oil Chem. Soc.* 72 (6) : 619-623.
- Suhardi, Tranggono, dan Supranto. 2001. Pembuatan gula alkohol poliester dengan menggunakan destilat asam lemak minyak sawit (DALMS) sebagai sumber asam lemaknya. RUT VI. Proyek Pusat Penelitian Ilmu Pengetahuan dan Teknologi.
- Suhardi, Tranggono, dan Sudarmanto. 2002. Pembuatan minyak makan rendah kalori polioli poliester secara enzimatik dari minyak kelapa sawit dan aplikasinya untuk margarin. Laporan Penelitian HIBAH BERSAING X.
- Suhardi, Tranggono, Supranto, dan Pudji Hastuti. 2003. Produksi biosurfaktan nonionik secara enzimatik berbasis minyak sawit. RUSNAS Pengembangan Industri Hilir Kelapa Sawit-MAKSI.
- Villeneuve P, Pina M, Montet D, Graille J. 1995. *Carica papaya* latex lipase: sn-3 stereoselectivity or short-chain selectivity? Model chiral triglycerides are removing the ambiguity. *J Am Oil Chem Soc* 72:753-755
- Villeneuve P dan Foglia TA. 1997. Lipase specificities: Potential application in lipid bioconversions. *INFORM.* 8:640-650.