

**Studi Reaksi Hidrolisis Enzimatis terhadap Senyawa
l-Mentil Asetat dengan Enzim Lipase dari *Candida
antarctica Recombined Aspergillus oryzae* secara
In Vitro dan *In Silico***

SKRIPSI

Oleh :

**YASMIN ZAFIRAH
135090200111028**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

**Studi Reaksi Hidrolisis Enzimatis terhadap Senyawa
l-Mentil Asetat dengan Enzim Lipase dari *Candida
antarctica Recombined Aspergillus oryzae* secara
In Vitro dan *In Silico***

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
dalam bidang Kimia

Oleh :

**YASMIN ZAFIRAH
135090200111028**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2017**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Studi Reaksi Hidrolisis Enzimatis terhadap Senyawa
l-Mentil asetat dengan Enzim Lipase dari *Candida antarctica*
Recombined Aspergillus oryzae secara
In Vitro dan *In Silico***

Oleh :
YASMIN ZAFIRAH
135090200111028

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Elvina Dhiaul Iftitah, M.Si
NIP. 197204191997022001

Drs. Suratmo, M. Sc
NIP. 196307061990021002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D
NIP. 197310202002121001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda di bawah ini :

Nama : Yasmin Zafirah
NIM : 135090200111028
Jurusan : Kimia
Penulis skripsi berjudul :

Studi Reaksi Hidrolisis Enzimatis terhadap Senyawa 1-Mentil asetat dengan Enzim Lipase dari *Candida antarctica* *Recombined Aspergillus Oryzae* secara *In Vitro* dan *In Silico*

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
 2. Apabila dikemudianhari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima
- Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, Agustus 2017
Yang menyatakan,

(Yasmin Zafirah)
NIM. 135090200111028

**Studi Reaksi Hidrolisis Enzimatis terhadap Senyawa
l-Mentil Asetat dengan Enzim Lipase dari *Candida antarctica*
Recombined Aspergillus oryzae secara
In Vitro dan *In Silico***

ABSTRAK

Penelitian mengenai hidrolisis l-mentil asetat terkatalisis enzim lipase dari *Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae* telah diamati secara *in vitro* dan *in silico*. Reaksi secara *in vitro* dilakukan dengan variasi pelarut dan waktu. Hasil yang diperoleh yaitu enzim lipase dari *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis l-mentil asetat menghasilkan l-mentol dengan hasil terbaik pada jam ke-16 dengan pelarut etanol dengan % konversi sebesar 13,76%. Setelah dilakukan uji secara *in silico* dengan metode *docking*, telah diamati mekanisme antara residu asam amino terhadap makromolekul. Serta pengaruh pelarut terhadap interaksi tersebut. Residu yang terlibat adalah Glu, Thr, Asp, Gln, Ser, His. Pelarut etanol menunjukkan interaksi yang baik dengan makromolekul dengan membentuk ikatan hidrogen.

Kata kunci : *l-mentil asetat, l-mentol, enzim lipase dari Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae, docking*

Study of Enzymatic Hydrolysis Reaction *l*-Menthyl Acetate using Lipase Enzyme from *Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae* by *In Vitro* and *In Silico*

ABSTRACT

Research about the hydrolysis of *l*-menthyl acetate catalyzed by lipase enzyme from *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* has been observed by *in vitro* and *in silico*. The reaction by *in vitro* method performed with variations of solvent and time. The result obtained that lipase enzyme from *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* is being able to catalyze the hydrolysis reaction of *l*-menthyl acetate to produce *l*-menthol. The best result is observed at 16 hours with ethanol solvent, which give % conversion about 13,76%. The research followed by *in silico* using the docking method, we observed the mechanism between amino acid residues to macromolecules as well as the influence of solvents on such interactions. The residues that involved in the reaction are Glu, Thr, Asp, Gln, Ser, His. The ethanol solvent shows a good interaction with macromolecules by forming hydrogen bonds.

Kata kunci : *l*-menthyl asetat, *l*-menthol, lipase enzyme from *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae*, docking

KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT. Yang telah melimpahkan rahmat serta kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul, **studi reaksi hidrolisis enzimatis terhadap senyawa l-mentil asetat dengan enzim lipase dari *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* secara *in vitro* dan *in silico***, sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains dalam bidang kimia. Dalam penyusunan skripsi ini, penulis telah didukung oleh berbagai pihak untuk dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh sebab itu, penulis menyampaikan ucapan terimakasih sebesar – besarnya kepada :

1. Allah SWT. yang telah memberikan Rahmat serta Ridho-Nya.
2. Dr. Elvina Dhiaul Iftitah, S.Si, M.Si, dosen pembimbing I atas segala arahan dan dukungan beliau dalam pelaksanaan penelitian hingga penulisan skripsi.
3. Drs. Suratmo, M. Sc, pembimbing II atas kesabaran, arahan, dan bimbingannya dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi.
4. Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si, M.Kes, dosen pendamping akademik yang telah memberikan dukungan kepada penulis
5. Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D selaku ketua jurusan kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya
6. Orang tuaku tercinta serta keluarga yang telah sabar dan mendoakan demi kelancaran skripsi penulis.
7. Teman – teman yang membantu penyelesaian penulisan skripsi.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dan kesalahan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran, sehingga penulis dapat memperbaiki kesalahan dalam penulisan selanjutnya.

Malang, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 l-Mentil asetat	5
2.2 l-mentol	6
2.3 Enzim lipase dari mikroorganisme <i>Candida antarctica</i> terimobil (immobead 150) rekombinan <i>Aspergillus</i> oryzae	7
2.4 Reaksi hidrolisis enzimatis	8
2.5 Uji <i>in silico</i>	10
2.5 Hipotesis	10
BAB III METODE PENELITIAN	11
3.1 Waktu dan tempat penelitian	11
3.2 Alat Penelitian	11
3.3 Bahan Penelitian	11
3.4 Tahapan Penelitian	11
3.5 Prosedur Kerja	11
3.5.1 Uji <i>in vitro</i> reaksi hidrolisis l-mentil asetat menggunakan enzim lipase dari <i>Candida</i> antarctica B	11
A. Analisis starting material	12
B. Hidrolisis l-mentil asetat dengan variasi	12

pelarut	
3.5.2 Karakterisasi produk menggunakan KG-SM dan FT-IR	12
3.5.3 Uji <i>in silico</i> senyawa l-mentil asetat	12
A. Preparasi ligan	13
B. Preparasi makromolekul	13
C. Proses docking	13
BAB IV PEMBAHASAN	15
4.1 Analisis hasil uji <i>in vitro</i>	15
4.1.1 Analisis hasil starting material enzimatis l-menthil asetat	15
4.1.2 Pengaruh lama reaksi terhadap reaksi hidrolisis l-mentil asetat	16
4.1.3 Pengaruh kepolaran pelarut terhadap reaksi hidrolisis	20
4.2 Analisis hasil uji <i>in silico</i>	23
4.3 Tinjauan analisis mekanisme reaksi enzimatis berdasarkan uji <i>in silico</i>	33
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	38
5.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur l-mentil asetat	5
Gambar 2.2	Sintesis l-mentil asetat	5
Gambar 2.3	Struktur l-mentol	6
Gambar 2.4	Struktur d-mentol	6
Gambar 2.5	Enzim lipase dari <i>Candida antarctica</i> lipase B	8
Gambar 2.6	Reaksi hidrolisis secara umum	8
Gambar 2.7	Mekanisme reaksi hidrolisis ikatan ester terkatalisis lipase	9
Gambar 4.1	Kromatogram KG-SM substrat l-mentil asetat	15
Gambar 4.2	Spektra masa KG-SM substrat l-mentil asetat	15
Gambar 4.3	Spektra FT-IR substrat l-mentil asetat	16
Gambar 4.4	Kromatogram KG-SM hasil reaksi hidrolisis dalam pelarut etanol (16 jam)	17
Gambar 4.5	Spektra masa KG-SM hasil reaksi hidrolisis dalam pelarut etanol (16 jam)	17
Gambar 4.6	Pola fragmentasi l-mentol	18
Gambar 4.7	Grafik hubungan %l-mentol dan lama reaksi	19
Gambar 4.8	Overlay Spektra FT-IR Produk l-mentol dengan pelarut n-hexana dan etanol pada jam ke-24	21
Gambar 4.9	Grafik hubungan persen konversi pada berbagai jam	22
Gambar 4.10	Interaksi ligan l-mentil asetat dengan makromolekul CALB secara 3 dimensi dan 2 dimensi	24
Gambar 4.11	Interaksi multiligan dengan makromolekul CALB.	25
Gambar 4.12	Interaksi l-mentil asetat dengan makromolekul CALB	26
Gambar 4.13	Interaksi l-mentol dengan residu asam amino makromolekul CALB	26
Gambar 4.14	Interaksi l-mentil asetat dan n-hexana terhadap makromolekul CALB	28
Gambar 4.15	Interaksi n-hexana dengan makromolekul CALB 2D dan Interaksi n-hexana dengan residu asam amino makromolekul CALB 3D	28

Gambar 4.16	Interaksi l-mentil asetat dengan makromolekul CALB 2D dan Interaksi l-mentil asetat dengan residu asam amino makromolekul CALB 3D	29
Gambar 4.17	Interaksi antara etanol, l-mentil asetat dan makromolekul CALB	30
Gambar 4.18	Interaksi antara etanol dengan residu asam amino CALB	31
Gambar 4.19	Interaksi antara l-mentil asetat dengan residu asam amino CALB	32
Gambar 4.20	Mekaniseme l-mentil asetat dan residu asam amino Glu294	33
Gambar 4.21	Tinjauan mekanisme reaksi antara pelarut n-hexana dengan residu asam amino makromolekul CALB	34
Gambar 4.22	Tinjauan mekanisme reaksi antara pelarut n-hexana dengan residu asam amino makromolekul CALB	35
Gambar 4.23	Tinjauan mekanisme reaksi antara pelarut etanoldengan residu asam amino makromolekul CALB	36

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Hasil reaksi hidrolisis dengan variasi pelarut pada jam ke 16	20
Tabel 4.2	Nilai ΔG° dan K_i masing – masing ligan	27
Tabel 4.3	Nilai Tabel data energi n-hexana, l-mentil asetat dan makromolekul CALB	28
Tabel 4.4	Nilai energi pelarut etanol, l-mentil asetat dan makromolekul	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A	Diagram Alir Penelitian	42
A1	Hidrolisis Enzimatis terhadap Senyawa l-Mentil Asetat dengan Enzim Lipase dari <i>Candida antarctica</i> Recombined <i>Aspergillus oryzae</i>	42
A2	Pemodelan secara <i>in silico</i>	43
Lampiran B	Perhitungan mol substrat	44
B1	Perhitungan mol l-menthil asetat	44
B2	Perhitungan mol Na ₂ CO ₃	44
Lampiran C	Data Percobaan	44
C1	Data KGSM Substrat L-menthil asetat	44
C2	Data KG-SM l-menthil asetat dengan pelarut n-hexana pada jam ke-8	45
C3	Data KG-SM l-menthil asetat dengan pelarut n-hexana pada jam ke-16	45
C4	Data KG-SM l-menthil asetat dengan pelarut n-hexana pada jam ke-24	46
C5	Data KG-SM l-menthil asetat dengan pelarut etanol pada jam ke-8	47
C6	Data KG-SM l-menthil asetat dengan pelarut etanol pada jam ke-16	48
C7	Data KG-SM l-menthil asetat dengan pelarut etanol pada jam ke-24	48
Lampiran D	Perhitungan Persen Selektivitas dan konversi	49
D1	Perhitungan konversi l-menthil asetat pada jam ke-8 dengan pelarut n-hexana	49
D2	Perhitungan konversi dan selektivitas l-menthil asetat pada jam ke-16 dengan pelarut n-hexana	50
D3	Perhitungan konversi dan l-menthil asetat pada jam ke-24 dengan pelarut n-hexana	50
D4	Perhitungan konversi l-menthil asetat pada jam ke-8 dengan pelarut etanol	50
D5	Perhitungan konversi dan selektivitas l-	50

	mentil asetat pada jam ke-16 dengan pelarut etanol	
D6	Perhitungan konversi l-mentil asetat pada jam ke-24 dengan pelarut etanol	50
Lampiran E	Perhitungan nilai K_i antara ligand an makromolekul	50
E.1	Perhitungan nilai K_i l-mentil asetat dengan makromolekul	50
E.2	perhitungan nilai K_i l-mentol asetat dengan makromolekul	51