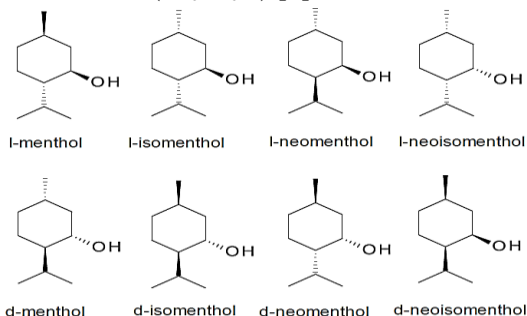


BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mentil Asetat sebagai Turunan Senyawa Mentol

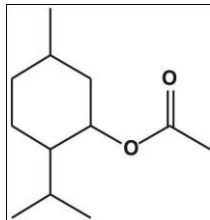
Mentil asetat merupakan turunan dari senyawa mentol, yang terkandung dalam tumbuhan *Mentha piperita* [8]. Kandungan mentol dan mentil asetat dalam tumbuhan pipppermint, yaitu mentol sebesar (30 – 47%) dan mentil asetat sebesar (1 - 9,5%) [9]. Mentol maupun mentil asetat terdapat pada minyak permen yang berasal dari tumbuhan *Mentha arvensis* dan *Mentha pipppermint*, tumbuhan tersebut telah banyak berada di Indonesia namun keberadaannya masih jarang digunakan [10]. Tumbuhan ini mengandung senyawa mentol dan turunannya yaitu mentil asetat yang dapat digunakan untuk bahan aditif, pada obat – obatan, kosmetik, shampoo, pasta gigi dan lainnya [11]. Mentol merupakan senyawa berupa kristal yang mempunyai aroma seperti mint, memberikan sensasi dingin yang menyegarkan. Secara stuktur senyawa tersebut merupakan golongan senyawa alkohol, dan termasuk senyawa monoterpena siklik, termasuk alkohol sekunder dan memiliki 8 stereoisomer. Mentol alami memiliki sifat optis aktif yaitu konfigurasi *l*-menthol yang disebut levomenthol dan dalam system IUPAC 2-isopropil-5-metil-sikloheksanol dengan berat molekul 156,27 g/mol, yang memiliki rumus molekul (C₁₀H₂₀O) [5].



Gambar 2.1 Delapan stereoisomer dari mentol [12].

Mentil asetat merupakan golongan monoterpen yang dapat teroksidasi, terpena adalah jenis senyawa yang berasal dari tanaman di alam, memiliki 8 isomer [13]. Mentil asetat lebih ringan daripada mentol, dimana mentil asetat memiliki sifat mint yang sangat kuat seperti mentol, dari segi aroma dan rasa. Mentil asetat memiliki

wujud liquid tidak berwarna atau berwarna kuning, memiliki aroma yang khas dan kuat, termasuk senyawa golongan alkohol dan berat molekul 198,31 g/mol, yang memiliki rumus molekul ($C_{12}H_{22}O_2$) [14]. Senyawa ini dapat disintesis dari mentol dengan sumber asetil asetat anhidrid yang akan menyumbang sumber asetil dengan bantuan biokatalis enzim lipase untuk mempercepat reaksi. Dalam reaksinya antara mentol dengan asetat anhidrid menghasilkan produk mentil asetat dengan mentol dan asam asetat sebagai produk samping [6].



Gambar 2.2 Struktur mentil asetat [13].

2.2 Enzim Lipase

Enzimologi berkembang pesat sejalan dengan bioteknologi modern. Perkembangan enzim ini sangat erat kaitannya dengan isu strategis sebagai produksi ramah lingkungan. Keunggulan dari enzim ini dapat memilih substrat yang sesuai, dapat meningkatkan jumlah hasil randemen produk. Enzim adalah senyawa protein yang dihasilkan oleh makhluk hidup yang berfun gsi sebagai katalis dalam reaksi biokimia, yaitu melalui pembentukan senyawa kompleks enzim-substrat [1]. Enzim diproduksi dari sel aktif dan sangat efisien sebagai katalis. Enzim merupakan gabungan dari katalis kimia yang sangat efisien sebagai katalis. Enzim amobil lebih stabil dan dapat digunakan kembali untuk reaksi yang sama. Enzim adalah protein yang berfungsi sebagai katalisator dan memiliki sifar yang spesifik yaitu hanya bekerja pada satu reaksi [15].

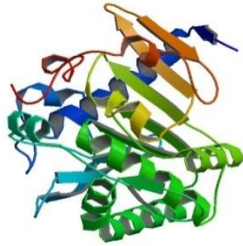
Enzim mempunyai kemampuan mempercepat reaksi hingga 10^6 - 10^{12} kali lebih cepat dibandingkan tanpa menggunakan enzim. Enzim memiliki sifat mudah terdenaturasi pada temperature tertentu yaitu dibawah temperatur $100^{\circ}C$ khususnya enzim lipase. Enzim tidak terpengaruh oleh perubahan energi pada saat reaksi melainkan mempengaruhi perubahan laju reaksi. Faktor – faktor yang mempengaruhi kerja enzim adalah temperature, pH, konsentrasi substrat dan inhibitor [15].

Enzim Lipase dapat digunakan sebagai katalis dalam aktivitas reaksi hidrolisis, esterifikasi, alkoholisis, asidolisis dan aminolisis untuk sintesis berbagai macam turunan senyawa yang selanjutnya senyawa tersebut digunakan dalam bidang farmasi, kosmetik, dan makanan [16]. Penggunaan enzim lipase dengan menggunakan pelarut organik lebih baik untuk menghasilkan produk dalam reaksi esterifikasi. Enzim lipase dalam pelarut n-heksan yang bersifat non polar baik untuk reaksi esterifikasi karena sifat pengubah air dengan pelarut n-heksan sangat lemah terkatalisis enzim lipase. Pada reaksi esterifikasi dengan menggunakan pelarut n-heksan memberikan % konversi yang tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya [17]. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Yuanita (2013), reaksi esterifikasi menggunakan enzim lipase lebih baik dibandingkan reaksi esterifikasi tanpa enzim [18].

Lipase merupakan enzim yang sering digunakan dalam proses sintesis suatu senyawa organik, khususnya reaksi esterifikasi. Lipase dapat digunakan untuk proses asetilasi-O ataupun asetilasi-N. Lipase merupakan suatu enzim yang tersusun atas berbagai macam asam amino. Beberapa sisi aktif yang berperan dalam proses reaksi asetilasi adalah asam amino aspartat, histidin dan serin [19, 20].

2.2.1 Enzim Lipase dari *Rhizomuchor miehei*

Enzim lipase dari *Rhizomuchor miehei* tersedia dalam bentuk padatan yang dapat larut dan dalam bentuk amobil. Enzim ini dapat diamobilkan dengan keadaan yang baik, juga dapat meningkatkan aktivitas enzim, selektivitas enzim dan dapat menurunkan inhibisi, dengan berbagai kondisi reaksi yang terjadi, misalnya dalam pelarut organik anhidrid). Enzim lipase dari *Rhizomuchor miehei* ini awalnya hanya digunakan dalam industri makanan, namun saat ini enzim lipase banyak digunakan dalam bidang kimia organik, yaitu pada bidang produksi biodiesel hingga sebagai bahan untuk reaksi kimia lainnya (umumnya dalam proses enantio atau regioselektivitas). Enzim ini sangat baik untuk reaksi esterifikasi karena stabilitas tinggi di media anhidrat dan aktivitas esterifikasinya baik [21].



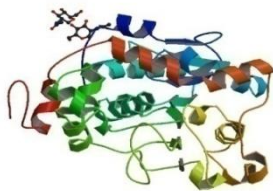
Gambar 2.4 Struktur 3D Enzim *Rhizomucor miehei* [21].

Gambar 2.4 merupakan struktur enzim *Rhizomucor miehei* diperoleh dari *Protein Data Bank (PDB)* menggunakan Pymol vs 0.99. Enzim ini dapat diperoleh dari permukaan sel *Saccharomyces cerevisiae*. Enzim lipase dari *Rhizomucor miehei* akan bekerja secara efektif bila digunakan pelarut organik non polar dalam reaksinya. Pelarut non polar berperan dalam membantu reaksi yang memerlukan sedikit air, sehingga menghasilkan beberapa perubahan pada struktur enzim. Lipase digunakan dalam memproduksi enzim ini berasal dari berbagai jenis jamur atau bakteri, salah satunya dari jamur *Rhizomucor miehei*. *Rhizomucor miehei* adalah fungi termofilik yang tumbuh baik pada temperatur $\pm 50^{\circ}\text{C}$. Fungsi fungi termofilik adalah untuk memproduksi enzim yang stabil terhadap berbagai perubahan temperatur dalam proses industri [21].

2.2.2 Enzim Lipase dari *Candida antarctica* Recombined dengan *Aspergillus oryzae*

Lipase dari *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* merupakan salah satu jenis enzim lipase, dimana enzim ini memiliki 2 type, yaitu tipe A dan B. *Candida antarctica* lipase A mengkatalisis hidrolisis alkohol tersier membentuk gliserol dan asam lemak, enzim ini menunjukkan selektivitas dengan reaksi asetilasi ester amino- β . Sedangkan untuk *Candida antarctica* lipase B digunakan untuk sintesis ester etil D-glukopiranosida dari asam lemak yang lebih besar, seperti asam oktanoat dan juga dapat digunakan untuk mengkatalisis berbagai macam reaksi sintesis organik. Aplikasi dalam bidang industri digunakan untuk memproduksi transesterifikasi biodiesel. *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* merupakan jenis *Candida antarctica*

lipase B yang efektif dalam reaksi sintesis ester. Enzim ini di ekstraksi dari ragi, salah satu prosesnya dengan menyisipkan *Aspergillus oryzae* ke inang (*Candida antarctica*) yang diimmobilisasi dalam partikel pendukung biomassa yang terbuat dari poliuteraan. Enzim *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* biasa digunakan sebagai biokatalis dalam reaksi sintesis organik yang terkait dengan stereoselektivitasnya dan stabilitas termalnya dan sebaiknya dioptimalkan pada pH 7. Sedangkan *Aspergillus oryzae* adalah salah satu jamur filamen yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan enzim hidrolitik dalam jumlah besar. Biasa digunakan karena memiliki produktivitas protein yang tinggi [22]. *Candida antarctica* lipase B (CALB) sebagai katalis paling efektif dalam sintesis alkohol dan memiliki berat molekul 33 kDa. Enzim ini memiliki bentuk kristal bila dilihat dari dengan sinar – X, memiliki sisi aktif Asp187-His224-Ser105 berorientasi dari kiri ke kanan. Enzim ini dapat mengkatalisis reaksi esterifikasi, transesterifikasi dan hidrolisis. Enzim *Candida antarctica* lipase B memiliki selektivitas dan enantioselektivitas tinggi pada berbagai substrat sehingga membuat enzim ini dapat disintesis dalam kimia organik [19].

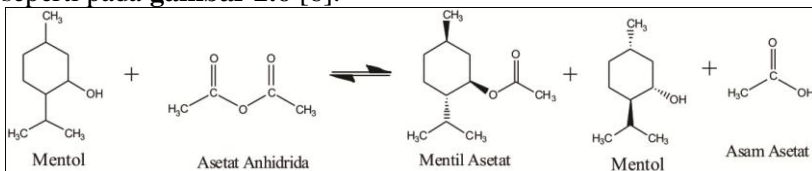


Gambar 2.5 Struktur 3D Enzim *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* [22].

2.3 Reaksi Asetilasi Senyawa Mentol

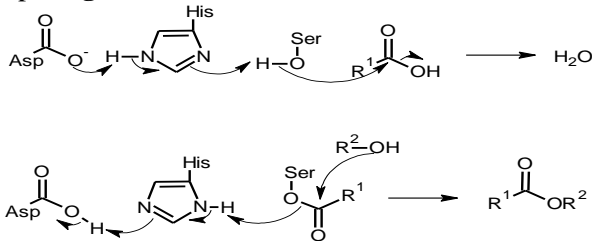
Reaksi substitusi elektrofilik dimana reaksi tersebut memindahkan gugus asetil ke suatu senyawa disebut reaksi asetilasi. Reaksi asetilasi dapat terjadi menggunakan sumber asetil dari asam anhidrat atau halida asam [7]. Reaksi esterifikasi adalah reaksi pembentukan senyawa ester. Reaksi ini merupakan suatu reaksi kimia, yaitu berupa pergantian atau pertukaran gugus hidroksil suatu senyawa karboksilat dengan gugus alkil yang bersifat nukleofil dari

reaktan. Senyawa nukleofil merupakan satu senyawa yang memiliki gugus hidroksil, seperti alkohol. Senyawa mentol dapat bereaksi dengan asetat anhidrid menghasilkan mentil asetat, yang merupakan salah satu turunan dari mentol. Dari penelitian yang sudah dilakukan yaitu menggunakan Biokatalis enzim lipase. Terjadi reaksi pembentukan mentil asetat dengan enzim lipase sebagai biokatalis seperti pada **gambar 2.6** [6].



Gambar 2.6 Reaksi asetilasi mentol menjadi mentil asetat menggunakan biokatalis enzim lipase [6].

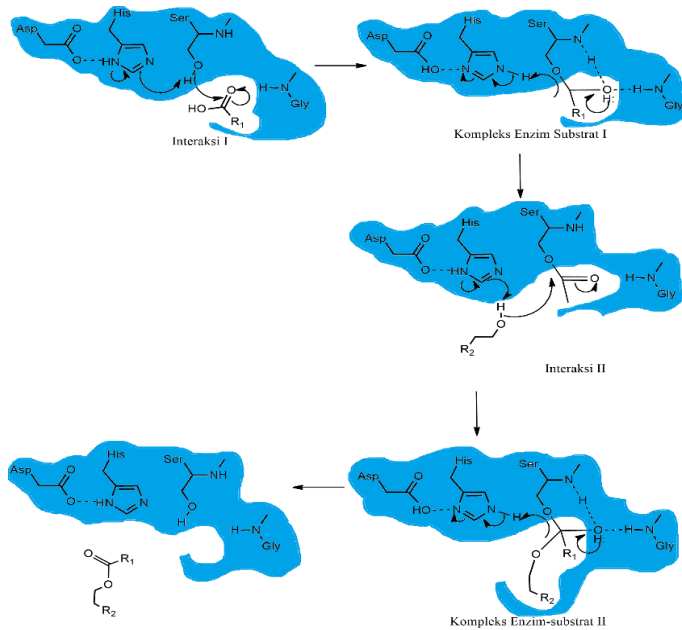
Menurut Usawatun (2014), mentol juga dapat membentuk mentil asetat dengan menggunakan katalis asam kuat yaitu H_2SO_4 5% dengan sumber asetil dari asetat anhidrid dapat menghasilkan mentil asetat dengan hasil randemen paling besar yaitu 28,26% [5]. Enzim lipase adalah salah satu jenis enzim yang dapat mempercepat reaksi esterifikasi yang berkerja sebagai biokatalis. Lipase memiliki tiga bentuk sisi aktif yaitu aspartate, histidin, dan serin. Mekanisme secara umum katalisis asetilasi dengan bantuan enzim lipase adalah seperti pada **gambar 2.7** berikut [20].



Gambar 2.7 Mekanisme reaksi antara substrat dengan sisi aktif enzim lipase [20].

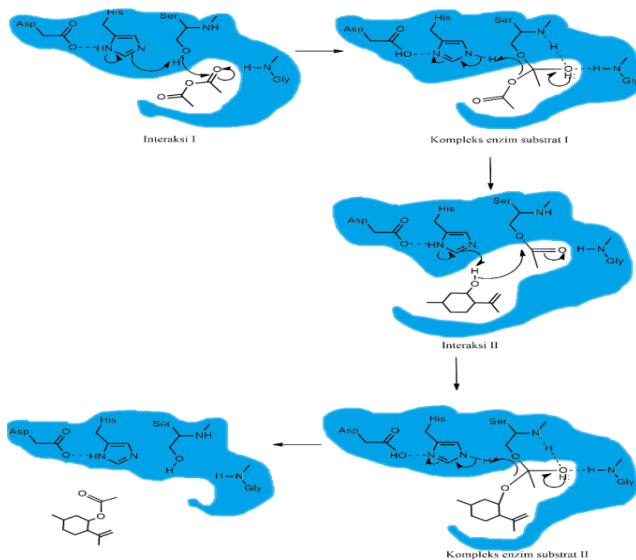
Dilihat dari mekanisme enzimatik dari enzim lipase diatas, dapat membentuk produk senyawa ester, enzim lipase sebagai biokatalis dapat membentuk senyawa mentil asetat melalui senyawa mentol dengan reaksi esterifikasi. Menurut Roji (2001), asetilasi mentol dapat dilakukan menggunakan enzim lipase sebagai biokatalis mempercepat reaksi [6]. Aspartat, histidin, serta serin

merupakan tiga asam amino yang mempunyai peran cukup besar dalam proses reaksi asetilasi. Beberapa penelitian mengungkapkan secara teoritis mekanisme asetilasi antara alkohol dengan asam karboksilat menggunakan lipase. Berdasarkan **gambar 2.8** menggambarkan mekanisme esterifikasi terkatalisis lipase secara umum.



Gambar 2.8 Mekanisme reaksi asetilasi antara alkohol dengan asam karboksilat terkatalisis lipase [20].

Dalam mekanisme tersebut terlihat bahwa pada awal reaksi, substrat asam karboksilat berinteraksi dengan sisi serin dari enzim. Tahap ini terlihat pada tahap **interaksi I**. Terjadinya interaksi ini menyebabkan terbentuknya intermediet berupa **kompleks enzim substrat I**. terbentuknya kompleks enzim ini memicu terjadinya interaksi enzim dengan substrat alkohol (**interaksi II**) sehinggaterbentuk **kompleks enzim substrat II**. Tahap terakhir dari reaksi tersebut terbentuklah suatu senyawa ester.



Gambar 2.9 Mekanisme reaksi asetilasi isopulegol dengan asam asetat anhidrat membentuk isopulegil asetat [20].

Berdasarkan **gambar 2.9** mekanisme reaksi dimulai dengan terjadinya interaksi antara asam asetat anhidrat dengan serin pada asam amino. Interaksi ini terlihat pada **interaksi I**, hasil interaksi I menghasilkan **kompleks enzim substrat I** antara asam asetat anhidrat dengan enzim lipase. Kompleks enzim substrat melepaskan ion asetat sebagai hasil sampingnya. Kemudian, gugus alkohol dari isopulegol menyerang kompleks enzim-substrat seperti yang terlihat pada **interaksi II**. Hasil dari **interaksi II** ini menghasilkan **kompleks enzim substrat II** dan lebih lanjut menghasilkan produk ester berupa isopulegil asetat [20].

2.4 Hipotesis

Penggunaan variasi enzim lipase dari *Candida antarctica recombined* *Aspergillus oryzae* dan *Rhizomucor miehei* sebagai katalis abiotik dalam mentol akan mempengaruhi terjadinya reaksi asetilasi. Selektivitas dan konversi lipase terhadap pembentukan mentil asetat dalam reaksi asetilasi mentol dipengaruhi oleh lama reaksi dan perbedaan aktivitas dari masing – masing enzim.