

**Studi Reaksi Asilasi Terkatalisis Enzim Lipase dari  
*Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae* terhadap  
Senyawa l-Menthol secara *In Vitro* dan *In Silico***

**SKRIPSI**

**Oleh:  
SHASMITHA MUTIARA WAHYUNI  
135090200111025**



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



**Studi Reaksi Asilasi Terkatalisis Enzim Lipase dari  
*Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae* terhadap  
Senyawa l-Menthol secara *In Vitro* dan *In Silico***

**SKRIPSI**

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

Oleh :

**SHASMITHA MUTIARA WAHYUNI  
135090200111025**



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

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**Studi Reaksi Asilasi Terkatalisis Enzim Lipase dari  
*Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae* terhadap  
Senyawa l-Menthol secara *In Vitro* dan *In Silico***

Oleh :

**SHASMITHA MUTIARA WAHYUNI  
135090200111025**

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

Dr. Edi Priyo Utomo, MS  
NIP. 195712271986031003

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 : Shasmitha Mutiara Wahyuni

NIM : 135090200111025

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul :

Studi Reaksi Asilasi Terkatalisis Enzim Lipase dari  
*Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae*  
terhadap Senyawa l-Menthol 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 dikemudian hari 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,

(Shasmitha Mutiara Wahyuni)

NIM. 135090200111025

**Studi Reaksi Asilasi Terkatalisis Enzim Lipase dari *Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae* terhadap Senyawa l-Menthol secara In Vitro dan In Silico**

**ABSTRAK**

Studi mengenai reaksi asilasi senyawa l-menthol dengan katalis enzim lipase dari *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* telah dilakukan. Pada penelitian ini reaksi asilasi dilakukan melalui uji *in vitro* dengan menggunakan variasi asil, yaitu asam asetat anhidrid dan vinil asetat. Reaksi dilakukan pada temperatur 50°C dengan pelarut n-heksan pada berbagai variasi waktu. Hasil yang diperoleh enzim lipase *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* mampu mengkatalis reaksi asilasi l-menthol menjadi l-menthil asetat. Dari hasil penelitian, %l-menthol, selektivitas, dan konversi meningkat seiring dengan meningkatnya temperatur dan lama reaksi. Hasil terbaik reaksi diperoleh pada reaksi asilasi menggunakan asam asetat anhidrid sebagai sumber asil pada jam ke-24. %l-menthil asetat tertinggi yaitu menggunakan sumber asil asam asetat anhidrit pada jam ke-24 dengan nilai sebesar 58,45%. Hasil tersebut bersesuaian dengan hasil dari uji *in silico*. Dimana efektivitas masing-masing sumber asil tersebut dihitung melalui nilai Kd, dengan Kd dari asetat anhidrid lebih besar dibandingkan Kd vinil asetat.

**Kata kunci :** menthil asetat, asilasi, *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae*, *in vitro*, *in silico*

**Study on Acylation Reaction Catalyzed Lipase of *Candida antarctica* recombined *Aspergillus oryzae* for l-Menthol with In Vitro and In Silico Method**

**ABSTRACT**

The study of acylation reaction of l-menthol with lipase from *Candida antarctica* recombined *Aspergillus oryzae* has been performed. In this study, the acylation reaction was done through *in vitro* using acyl variation, that is acetic acid anhydride and vinyl acetate. The reaction is carried out at the temperature of 50 ° C with n-hexane solvent at various time. The results is lipase from *Candida antarctica* recombined *Aspergillus oryzae* were able to catalyze the l-menthol acylation reaction to l-menthyl acetate. From the results, %l-menthol, selectivity, and conversion increases with increasing temperature and reaction time. The best result of the reaction is in the acylation reaction using acetic acid anhydride as an acyl source at 24 hours. % L-menthyl acetate using acetic acid anhydride at 24 hours is 58.45%. These results correspond to the results of the *in silico*. The effectiveness of each source of acyl is calculated through the value of Kd, which Kd of anhydride acetate is greater than Kd of vinyl acetate.

**Keywords:** menthyl acetate, acylation, *Candida antarctica* recombined *Aspergillus oryzae*, *in vitro*, *in silico*

## KATA PENGANTAR

Puji Syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat serta kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul, **Studi Reaksi Asilasi Terkatalisis Enzim Lipase dari *Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae* terhadap Senyawa l-Menthol secara *In Vitro* dan *In Silico***, sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana sains dalam bidang kimia.

Dalam penyusunan skripsi ini, penulis telah dibantu oleh beberapa pihak. Oleh sebab itu, pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D., selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, yang telah mengesahkan skripsi ini.
2. Dr.Elvina Dhiaul Iftitah, M.Si., selaku dosen pembimbing akademik dan dosen pembimbing I yang telah memberikan arahan, kritikkan, saran, dan motivasi dengan penuh kesabaran kepada penulis dalam melaksanakan penelitian hingga penulisan skripsi.
3. Dr. Edi Priyo Utomo, MS., selaku dosen pembimbing II yang telah memberi bimbingan dan arahan kepada penulis dalam melaksanakan penelitian dan penulisan skripsi.
4. Orang tua tercinta, Bapak Moh. Hamim dan Ibu Sunarti serta adik tercinta yang telah memberikan dukungan, kesabaran, kasih sayang, dan doa kepada penulis.
5. Semua teman-teman yang turut memberikan dukungan dan do'a.

Dalam penulisan skripsi ini, penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan dan masih jauh dari kata sempurna. Oleh sebab itu, penulis mengharapkan kritik dan saran agar dapat digunakan untuk memperbaiki kesalahan dalam penulisan selanjutnya.

Malang, Agustus 2016

Penulis



## DAFTAR ISI

<b>Studi Reaksi Asilasi Terkatalisis Enzim Lipase dari <i>Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae</i> terhadap Senyawa l-Menthol secara <i>In Vitro</i> dan <i>In Silico</i></b>	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI</b>	ii
<b>LEMBAR PERNYATAAN</b>	ii
<b>LEMBAR PERNYATAAN</b>	iii
<b>ABSTRAK</b>	iv
<b>ABSTRACT</b>	v
<b>KATA PENGANTAR</b>	vi
<b>DAFTAR ISI</b>	vii
<b>DAFTAR GAMBAR</b>	ix
<b>DAFTAR TABEL</b>	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b>	xii
<b>BAB I</b>	1
<b>1.1 Latar Belakang</b>	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b>	3
<b>1.3 Batasan Masalah</b>	3
<b>1.4 Tujuan Penelitian</b>	4
<b>1.5 Manfaat Penelitian</b>	4
<b>BAB II</b>	5
<b>2.3 Enzim Lipase</b>	7
<b>2.3.1 Karakteristik Enzim Lipase</b>	7
<b>2.3.2 Enzim Lipase <i>Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae</i></b>	9

<b>2.4</b>	<b>Pemodelan Interaksi Molekul dengan Reseptor</b>	9
<b>2.5</b>	<b>Hipotesis</b>	11
<b>BAB III</b>		12
<b>3.1</b>	<b>Waktu dan Tempat Penelitian</b>	12
<b>3.2</b>	<b>Alat Penelitian</b>	12
<b>3.3</b>	<b>Bahan Penelitian</b>	12
<b>3.4</b>	<b>Tahapan Penelitian</b>	13
<b>3.5</b>	<b>Prosedur Kerja</b>	13
<b>3.5.1</b>	<b>Uji <i>In Vitro</i></b>	13
<b>3.5.2</b>	<b>Uji <i>In Silico</i></b>	15
<b>BAB IV</b>		17
<b>4.1</b>	<b>Analisis Hasil Uji <i>In Vitro</i></b>	17
<b>4.1.1</b>	<b>Analisis Starting Material</b>	17
<b>4.1.2</b>	<b>Peran Enzim dari <i>Candida antarctica</i> Recombined <i>Aspergillus oryzae</i> pada Reaksi Asilasi Menthol</b>	18
<b>4.2</b>	<b>Analisis Hasil Uji <i>In Silico</i></b>	31
<b>4.2.1</b>	<b>Preparasi Ligan dan Makromolekul</b>	31
<b>4.2.2</b>	<b>Analisis Hasil Docking</b>	33
<b>4.3</b>	<b>Analisis Mekanisme Reaksi Asilasi</b>	46
<b>BAB V</b>		49
<b>5.1</b>	<b>Kesimpulan</b>	49
<b>5.2</b>	<b>Saran</b>	49
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>		50
<b>LAMPIRAN</b>		54

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b>	Reaksi menthol menjadi menthil asetat dengan katalis lipase	5
<b>Gambar 2.2</b>	Mekanisme reaksi asilasi menthol dengan lipase	6
<b>Gambar 2.3</b>	Model interaksi enzim dengan substrat	8
<b>Gambar 4.1</b>	Kromatogram menthol murni	17
<b>Gambar 4.2</b>	Spektra MS menthol murni	17
<b>Gambar 4.3</b>	Mekanisme fragmentasi menthol murni	18
<b>Gambar 4.4</b>	Kromatogram reaksi dengan vinil asetat jam 24	19
<b>Gambar 4.5</b>	Spektra MS reaksi dengan vinil asetat jam 24	19
<b>Gambar 4.6</b>	Spektra FTIR reaksi dengan vinil asetat jam 24	20
<b>Gambar 4.7</b>	Kromatogram reaksi dengan asetat anhidrid jam 8	21
<b>Gambar 4.8</b>	Spektra MS reaksi dengan asetat anhidrid jam 8	21
<b>Gambar 4.9</b>	Kromatogram reaksi dengan asetat anhidrid jam 12	22
<b>Gambar 4.10</b>	Spektra MS reaksi dengan asetat anhidrid jam 12	22
<b>Gambar 4.11</b>	Kromatogram reaksi dengan asetat anhidrid jam 16	22
<b>Gambar 4.12</b>	Spektra MS reaksi dengan asetat anhidrid jam 16	23
<b>Gambar 4.13</b>	Kromatogram reaksi dengan asetat anhidrid jam 20	23
<b>Gambar 4.14</b>	Spektra MS reaksi dengan asetat anhidrid jam 20	23
<b>Gambar 4.15</b>	Kromatogram reaksi dengan asetat anhidrid jam 24	24
<b>Gambar 4.16</b>	Spektra MS reaksi dengan asetat anhidrid jam 24	24
<b>Gambar 4.17</b>	Spektra FTIR reaksi dengan asetat anhidrid jam 24	25
<b>Gambar 4.18</b>	Grafik %area menthol dan menthil asetat	27
<b>Gambar 4.19</b>	Grafik %selektivitas dan %konversi dengan sumber asil vinil asetat	28
<b>Gambar 4.20</b>	Grafik %selektivitas dan %konversi dengan sumber asil asetat anhidrid	30
<b>Gambar 4.21</b>	Preparasi ligan	32
<b>Gambar 4.22</b>	Lipase dari CALB	33
<b>Gambar 4.23</b>	Interaksi makromolekul dan ligan	34
<b>Gambar 4.24</b>	Visualisasi 3D interaksi makromolekul, menthol, dan asetat anhidrid	35
<b>Gambar 4.25</b>	Visualisasi 2D interaksi makromolekul, menthol, dan asetat anhidrid	36

<b>Gambar 4.26</b>	Visualisasi 3D antara makromolekul, menthol, dan vinil asetat	38
<b>Gambar 4.27</b>	Visualisasi 2D antara makromolekul, menthol, dan vinil asetat	39
<b>Gambar 4.28</b>	Interaksi makromolekul dengan menthil asetat	44
<b>Gambar 4.29</b>	Visualisasi 3D makromolekul dan menthil asetat	45
<b>Gambar 4.30</b>	Mekanisme reaksi asilasi dengan sumber asil asetat anhidrid	46
<b>Gambar 4.31</b>	Mekanisme reaksi asilasi dengan sumber asil vinil asetat	47