

**Studi Perbandingan Reaksi Asetilasi terhadap  
Senyawa Mentol Menggunakan Enzim Lipase dari  
*Candida Antarctica Recombined Aspergillus oryzae*  
dengan *Rhizomucor miehei***

**SKRIPSI**

Oleh :  
**HIKMAWATI WIDYA PUTRI**  
**135090200111019**



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

## KATA PENGANTAR

Puji syukur atas kehadiran Allah SWT. Yang telah melimpahkan rahmat serta kasih sayang-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul, **Studi Perbandingan Reaksi Asetilasi terhadap Senyawa Mentol Menggunakan Enzim Lipase dari *Candida Antarctica Recombined Aspergillus oryzae* dengan *Rhizomucor miehei***, 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 selaku dosen pembimbing I atas segala arahan dan dukungan beliau dalam pelaksanaan penelitian hingga penulisan skripsi.
3. Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si, M.Kes selaku dosen pendamping akademik serta dosen pembimbing II atas kesabaran, arahan, dan bimbingannya dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi.
4. Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D selaku ketua jurusan kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya dan segenap Staff Kimia atas bantuan dalam penyusunan skripsi.
5. Papa, mama, kakak, mbak dan sadam serta keluarga yang telah sabar dan mendoakan demi kelancaran skripsi penulis.
6. Izma Fitria, R. Ay. Farah Ardiansyah, Rahayu Kinanthi, Shasmitha Mutiara, Anggita Rosiana, Berliana Nur Kholila, Yasmin Zhafirah dan teman-teman lain 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

# **Studi Perbandingan Reaksi Asetilasi terhadap Senyawa Mentol Menggunakan Enzim Lipase dari *Candida Antarctica Recombined Aspergillus oryzae* dengan *Rhizomucor miehei***

## **ABSTRAK**

Penelitian mengenai perbandingan enzim lipase dari *Rhizomucor miehei* dan *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* untuk mengkatalisis reaksi asetilasi senyawa mentol dengan perbedaan aktivitas dari enzim tersebut. Reaksi dilakukan pada kondisi temperatur 50°C menggunakan sumber asetil asetat anhidrid dalam pelarut n-heksan pada berbagai variasi waktu. Hasil yang diperoleh yaitu reaksi asetilasi mentol menggunakan enzim lipase dari *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* dan *Rhizomucor miehei* dengan unit aktivitas yang berbeda tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Perbedaan hasil produk akhir yaitu mentil asetat dari kedua enzim mengalami perubahan seiring dari waktu ke waktu menghasilkan perbedaan hasil pada jam ke – 24. Penggunaan lipase dari *Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae* mempunyai selektivitas yang lebih tinggi (96,93%) dalam membentuk mentil asetat dibanding lipase dari *Rhizomucor miehei* dengan mempunyai kemampuan mengkonversi sebesar 77,42%.

**Kata kunci** : *Asetilasi mentol, Enzim lipase, Rhizomucor miehei, Candida antarctica*

**Comparative Study of Acetylation Reactions to Mentol  
Compounds Using Lipase from *Candida Antarctica Recombined  
Aspergillus oryzae* with *Rhizomucor miehei***

**ABSTRACT**

Research on the comparison of lipase enzymes from *Rhizomucor miehei* and *Candida antarctica* in *Aspergillus oryzae* recombination to catalyze the reaction. The reaction is carried out at a temperature of 50 ° C using an anamide acetyl source in a n-hexane solvent at various time variations. The resulting result is the reaction of menthol acetylation using lipase enzyme from *Candida antarctica* recombination of *Aspergillus oryzae* and *Rhizomucor miehei* with different activity unit has no significant difference. The difference in end product yields is menthyl acetate of both things which can change the results at 24 hours. The use of lipase from *Candida antarctica* recombined *Aspergillus oryzae* has higher selectivity (96,93%) in forming menthyl acetate than lipase from *Rhizomucor miehei* with conversion ability 77,42%.

**Keywords:** *Acetylation mentol, Lipase Enzyme, Rhizomucor miehei, Candida antarctica*

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda di bawah ini :

Nama : Hikmawati Widya Putri

NIM : 135090200111019

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul :

Studi Perbandingan Reaksi Asetilasi terhadap Senyawa Mentol Menggunakan Enzim Lipase dari *Candida Antarctica Recombined Aspergillus oryzae* dengan *Rhizomucor miehei*

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,

(Hikmawati Widya Putri)

NIM. 135090200111019

**LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI**

**Studi Perbandingan Reaksi Asetilasi terhadap Senyawa  
Mentol Menggunakan Enzim Lipase dari *Candida  
Antarctica Recombined Aspergillus oryzae* dengan  
*Rhizomucor miehei***

Oleh :

**HIKMAWATI WIDYA PUTRI  
135090200111019**

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. Arie Srihardyastutie, S.Si, M.Kes  
NIP. 197203262002122001

Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia  
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

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



## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL</b>	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN</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>DAFTAR ISTILAH</b>	xiv
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
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
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Mentil Asetat sebagai Turunan Senyawa Mentol	5
2.2 Enzim Lipase	6
2.2.1 Enzim <i>Rhizomucor miehei</i>	7
2.2.1 Enzim <i>Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae</i>	8
2.3 Reaksi Asetilasi Senyawa Mentol	9
2.4 Hipotesis	12
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	13
3.2 Alat Penelitian	13
3.3 Bahan Penelitian	13
3.4 Tahapan Penelitian	13
3.5 Prosedur Kerja	13
3.5.1 Analisis substrat ( <i>starting material</i> ) l-menthil asetat	13
3.5.2 Reaksi Asetilasi terhadap Senyawa Mentol Terkatalisis Enzim Lipase dari <i>Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae</i>	14



	dan <i>Rhizomucor miehei</i>	
3.5.4	Karakterisasi Produk Hasil Reaksi Asetilasi Mentol	14
3.5.6	Analisis Data	15
<b>BAB IV PEMBAHASAN</b>		
4.1	Analisis Substrat ( <i>starting material</i> ) Mentol	16
4.2	Pengaruh Perbedaan Hasil Reaksi Asetilasi Senyawa Mentol dengan Enzim Lipase dari <i>Rhizomucor miehei</i> dan <i>Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae</i>	18
4.3	Perbandingan Selektivitas dan Konversi terhadap Lama Reaksi pada Variasi Enzim Lipase dari <i>Rhizomucor miehei</i> dan <i>Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae</i> dalam reaksi asetilasi senyawa mentol	23
<b>BAB V PENUTUP</b>		
5.1	Kesimpulan	26
5.2	Saran	26
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>		<b>27</b>
<b>LAMPIRAN</b>		<b>30</b>

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 2.1</b>	Delapan stereoisomer dari menthol	5
<b>Gambar 2.2</b>	Stuktur mentil asetat	6
<b>Gambar 2.3</b>	Protein asli dan protein yang terdenaturasi	7
<b>Gambar 2.4</b>	Struktur 3D Enzim <i>Rhizomucor miehei</i>	8
<b>Gambar 2.5</b>	Stuktur 3D Enzim <i>Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae</i>	9
<b>Gambar 2.6</b>	Reaksi asetilasi mentol menjadi mentil asetat menggunakan biokatalis enzim lipase	10
<b>Gambar 2.7</b>	Mekanisme reaksi antara substrat dengan sisi aktif enzim lipase	10
<b>Gambar 2.8</b>	Mekanisme reaksi asetilasi antara alkohol dengan asam karboksilat terkatalisis lipase	11
<b>Gambar 2.9</b>	Mekanisme reaksi asetilasi isopulegol dengan asam asetat anhidrat membentuk isopulegil asetat	12
<b>Gambar 4.1</b>	Kromatogram senyawa l-mentol	16
<b>Gambar 4.2</b>	Spektra MS puncak dengan $t_R$ 13,139 menit	16
<b>Gambar 4.3</b>	Mekanisme fragmentasi l-mentol	16
<b>Gambar 4.4</b>	Spektra FTIR l-mentol	17
<b>Gambar 4.5</b>	Struktur Senyawa l-mentol	18
<b>Gambar 4.6</b>	Perkiraan reaksi asetilasi enzimatik L-mentol menjadi mentil asetat	18
<b>Gambar 4.7</b>	<i>Overlay</i> spektra FTIR hasil reaksi asetilasi mentol dengan enzim lipase dari <i>Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae</i> (C-24) dan <i>Rhizomucor miehei</i> (B-24) pada jam ke – 24	19
<b>Gambar 4.8</b>	Mekanisme fragmentasi senyawa mentil asetat	20
<b>Gambar 4.9</b>	Mekanisme reaksi asetilasi mentol dengan asetat anhidrid membentuk mentil	22

asetat

**Gambar 4.10** Grafik hubungan % area mentil asetat terhadap waktu pada reaksi asetilasi dengan enzim lipase 23

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 4.1</b>	Hasil reaksi asetilasi L-mentol dengan variasi enzim lipase dan waktu	19
<b>Tabel 4.2</b>	Perbandingan %konversi mentol dan %selektivitas mentil asetat pada reaksi asetilasi mentol selama 24 jam	25

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran A</b>	Diagram Alir Penelitian	
<b>A1</b>	Diagram Alir Tahapan Reaksi Asetilasi Enzim Lipase dari <i>Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae</i> dan <i>Rhizomucor miehei</i> terhadap Mentol	30
<b>Lampiran B</b>	Perhitungan mol substrat	
<b>B1</b>	Perhitungan mol Mentol	31
<b>B2</b>	Perhitungan mol Asetat Anhidrid	31
<b>Lampiran C</b>	Data Percobaan	
<b>C1</b>	Data KGSM Substrat L-mentol	31
<b>C2</b>	Data KGSM Asetilasi 4 jam dengan Enzim dari <i>Rhizomucor miehei</i>	31
<b>C3</b>	Data KGSM Asetilasi 8 jam dengan Enzim dari <i>Rhizomucor miehei</i>	32
<b>C4</b>	Data KGSM Asetilasi 12 jam dengan Enzim dari <i>Rhizomucor miehei</i>	33
<b>C5</b>	Data KGSM Asetilasi 16 jam dengan Enzim dari <i>Rhizomucor miehei</i>	33
<b>C6</b>	Data KGSM Asetilasi 20 jam dengan Enzim dari <i>Rhizomucor miehei</i>	35
<b>C7</b>	Data KGSM Asetilasi 24 jam dengan Enzim dari <i>Rhizomucor miehei</i>	36
<b>C8</b>	Data KGSM Asetilasi 4 jam dengan Enzim dari <i>Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae</i>	37
<b>C9</b>	Data KGSM Asetilasi 8 jam dengan Enzim dari <i>Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae</i>	37
<b>C10</b>	Data KGSM Asetilasi 12 jam dengan Enzim dari <i>Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae</i>	38
<b>C11</b>	Data KGSM Asetilasi 20 jam dengan Enzim dari <i>Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae</i>	37
<b>C12</b>	Data KGSM Asetilasi 24 jam dengan Enzim dari <i>Candida antarctica Recombined</i>	

	<i>Aspergillus oryzae</i>	39
<b>Lampiran D</b>	Perhitungan Konversi dan Selektivitas	
<b>D1</b>	Perhitungan Konversi dan Selektivitas Reaksi Asetilasi terhadap Pembentukan Mentil Asetat dengan Enzim dari <i>Rhizomucor miehei</i> 12 jam	40
<b>D2</b>	Perhitungan Konversi dan Selektivitas Reaksi Asetilasi terhadap Pembentukan Mentil Asetat dengan Enzim dari <i>Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae</i> 12 jam	40
<b>D3</b>	Perhitungan Konversi dan Selektivitas Per 4 jam Reaksi Asetilasi dengan Enzim dari <i>Rhizomucor miehei</i>	41
<b>D4</b>	Perhitungan Konversi dan Selektivitas Per 4 jam Reaksi Asetilasi dengan Enzim dari <i>Candida antarctica Recombined Aspergillus oryzae</i>	41

## DAFTAR ISTILAH

<b>Singkatan</b>	<b>Keterangan</b>
<b>RML</b>	:Enzim lipase dari <i>Rhizomucor miehei</i>
<b>CAL</b>	:Enzim lipase dari <i>Candida antarctica recombined Aspergillus oryzae</i>
<b>FTIR</b>	:Spektroskopi <i>Fourier Transform Infrared</i>
<b>KGSM</b>	:Kromatografi Gas dan Spektroskopi Massa