

STUDI REAKSI SIKLISASI-ASETILASI SITRONELAL DENGAN ANHIDRIDA ASAM ASETAT MENGGUNAKAN KATALIS LIPASE AMOBIL DARI

Aspergillus niger

Dalila Luthfi Heriyati, Elvina Dhiaul Iftitah*, Anna Roosdiana

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya
Jl. Veteran Malang 65145

*Alamat korespondensi, Tel : +62-341-575838, Fax : +62-341-575835

Email: vin_iftitah@ub.ac.id

ABSTRAK

Penggunaan enzim lipase sebagai katalis dalam berbagai reaksi kimia telah banyak diteliti. Dalam penelitian ini, lipase dimanfaatkan sebagai katalis dalam reaksi siklisasi-asetilasi sitronelal dengan pereaksi anhidrida asam asetat. Enzim lipase dibuat dari *Aspergillus niger* dan diamobilisasi dengan pasir laut menghasilkan enzim dengan aktivitas sebesar 0,4 $\mu\text{mol/mg}\cdot\text{menit}$. Reaksi siklisasi-asetilasi sitronelal dilakukan dengan menggunakan lipase menghasilkan produk siklisasi berupa isopulegol sebesar 0,51% dan sikloheksanetanol sebesar 3,53%.

Kata kunci : lipase, *Aspergillus niger*, sitronelal, katalis.

ABSTRACT

The use of lipase as a catalyst in various chemical reaction have been widely researched. In this study, lipase was used as a catalyst in cyclisation-acetylation reaction of citronellal with acetic anhydride. Lipase was made from *Aspergillus niger*, followed by immobilizing with sands produced enzyme with activity of 0.4 $\mu\text{mol/mg}\cdot\text{minute}$. The cyclisation-acetylation reaction of citronellal with lipase produced cyclisation product of isopulegol 0.51% and cyclohexanethanol 3.53%.

Keywords : lipase, *Aspergillus niger*, citronellal, catalyst.

PENDAHULUAN

Reaksi siklisasi-asetilasi terhadap sitronelal dapat menghasilkan senyawa isopulegil asetat. Isopulegil asetat merupakan senyawa parfum, perisa, pewangi, dan pengusir serangga. Menurut Cahyono, 2010 [1] senyawa isopulegil asetat dapat disintesis dari sitronelal melalui reaksi siklisasi-asetilasi, baik dalam satu tahapan ataupun melalui dua tahap reaksi yaitu siklisasi sitronelal menjadi isopulegol dan dilanjutkan dengan asetilasi isopulegol menjadi isopulegil asetat.

Penggunaan katalis biologis berupa enzim yang ramah lingkungan sedang dikembangkan dalam dunia kimia. Menurut Reetz (2002) [2], enzim yang paling banyak digunakan sebagai katalis dalam berbagai reaksi senyawa organik adalah lipase. Enzim lipase dapat diperoleh dari berbagai organisme, salah satunya adalah *Aspergillus niger*, yang mudah dikembangkan dan tidak menghasilkan toksin sehingga tidak membahayakan [3].

Berdasarkan informasi tersebut, pada penelitian ini dilakukan reaksi siklisasi-asetilasi sitronelal dengan menggunakan katalis lipase yang di produksi dari *Aspergillus niger*.

METODOLOGI

Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat refluks, *autoclave*, *Laminal flow*, *shaking waterbath*, *sentrifuge*, spektronik (*Genesys 20*), kawat ose, bunsen burner, alat-alat gelas, Kromatografi Gas Spektroskopi Massa, dan *Fourier Transform Infra Red (FTIR-8400S Shimadzu)*. *Aspergillus niger*, pepton, urea, KH_2PO_4 , CaCl_2 , asam oleat, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, kentang, dextrosa, *bacto* agar, kasein, (R)-(+)-Sitronelal (*Merck*), anhidrida asam asetat.

Prosedur

Produksi Enzim Lipase dari *Aspergillus niger*

Produksi enzim lipase dilakukan dengan mengoleskan spora *Aspergillus niger* pada media padat (*potato dextrose agar*) dan diremajakan selama 4 hari. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada media cair dan penambahan sitronelal sebagai induser selama 96 jam pada shaker. Kemudian dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan endapan dan supernatan. Supernatan yang dihasilkan disebut ekstrak kasar lipase. Ekstrak kasar lipase kemudian di amobilisasi dengan menggunakan pasir laut. Pasir laut dihomogenkan dan diaktivasi dengan HCl 0,4 M kemudian dinetralkan. Pasir laut teraktivasi kemudian dikalsinasi pada temperatur 500 °C selama 4 jam. Kemudian pasir yang telah dikalsinasi dicampurkan dengan ekstrak kasar lipase dan disaring, endapan yang dihasilkan merupakan enzim lipase yang teramobilisasi.

Reaksi Siklisasi-Asetilasi Sitronelal

Reaksi siklisasi-asetilasi sitronelal dilakukan dengan mencampurkan 3,5 mL anhidrida asam asetat dan 0,1 g lipase amobil didalam labu leher tiga yang dilengkapi *magnetic stirrer*, termometer dan pendingin balik. Campuran diaduk selama 2 menit pada temperatur ruang, kemudian ditambahkan tetes demi tetes sitronelal sebanyak 3,5 mL. Selanjutnya di alirkan gas N_2 setelah temperatur reaksi 50 °C dan dilakukan reaksi selama 24 jam. Dilakukan analisis KG-SM dan FTIR terhadap produk reaksi.

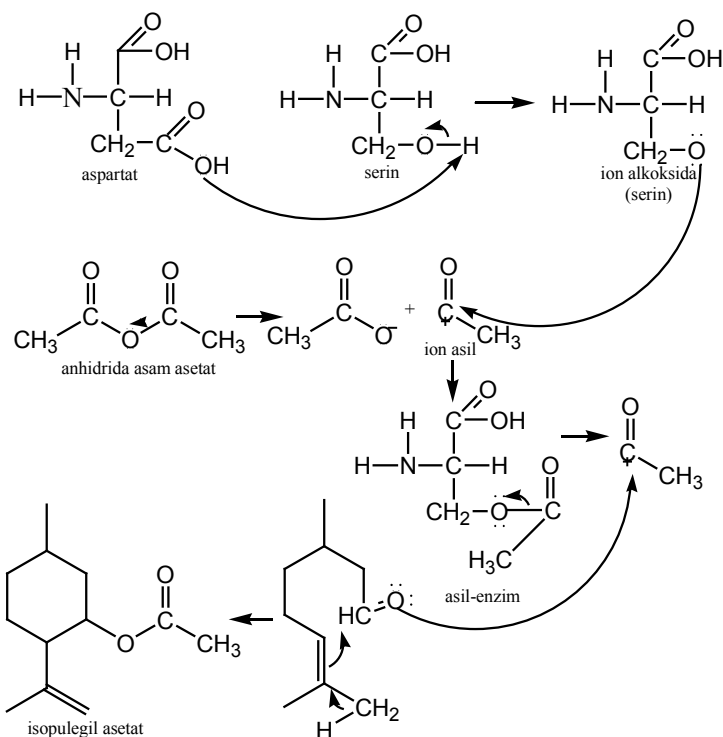
HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi Enzim Lipase dari *Aspergillus niger*

Produksi enzim lipase menghasilkan ekstrak kasar enzim lipase berupa cairan berwarna kuning dan enzim teramobilisasi berupa serbuk berwarna abu-abu. Enzim lipase amobil memiliki aktivitas sebesar 0,4 $\mu\text{mol}/\text{mg}\cdot\text{menit}$ dan kadar protein sebesar 0,6 mg/mL.

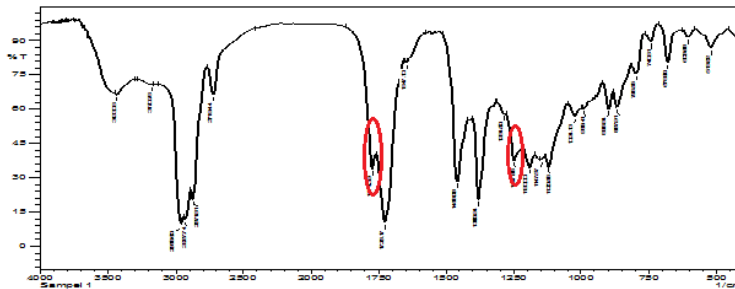
Reaksi Siklisasi-Asetilasi Sitronelal

Sisi aktif lipase yaitu serin dan aspartat membentuk kompleks asil-enzim melalui reaksi antara ion alkoksida yang dihasilkan reaksi antara keduanya dengan ion asil dari anhidrida asam asetat. Gugus asil dari asil-enzim tersebut akan memisahkan diri dan bereaksi dengan sitronelal membentuk senyawa isopulegил asetat, sebagaimana pada **Gambar 1**.



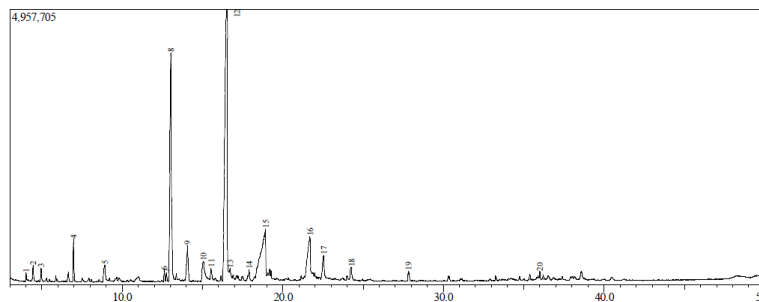
Gambar 1. Mekanisme reaksi sisi aktif lipase dengan sitronelal yang diusulkan

Pada hasil analisis dengan menggunakan spektroskopi Infra Merah (IR) menunjukkan adanya senyawa hasil siklisasi-asetilasi yang terdeteksi melalui adanya serapan C=O dan C-O ester. Hasil reaksi siklisasi-asetilasi sitronelal dengan menggunakan enzim lipase sebagai katalis memberikan serapan C=O ester pada bilangan gelombang $1774,39\text{ cm}^{-1}$ dengan luas area 16,92% dan C-O ester pada bilangan gelombang 1247,86 dengan luas area 21,68 sebagaimana disajikan pada **Gambar 2**.

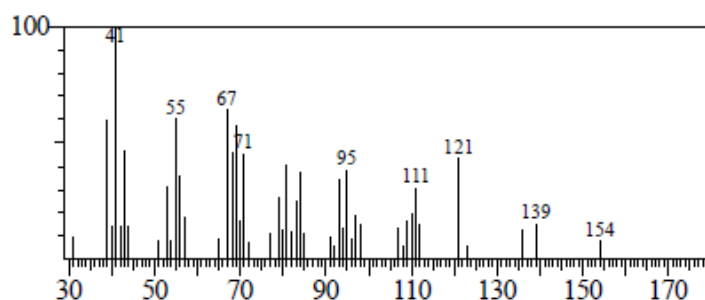


Gambar 2. Spektra infra merah hasil reaksi siklisasi-asetilasi sitronelal dengan menggunakan lipase

Hasil analisis menggunakan kromatografi gas spektroskopi massa pada hasil reaksi siklisasi-asetilasi dengan menggunakan lipase sebagai katalis, menghasilkan produk siklisasi yaitu isopulegol sebesar 0,51% pada t_R 12.756 dan sikloheksanetanol sebesar 3,53% pada t_R 14,058 serta didapatkan sitronelal yang tidak bereaksi sebesar 22,69% pada t_R 12,619 dan 13.032. Kromatogram dari produk reaksi disajikan pada **Gambar 3** dan spektra massa dari isopulegol disajikan pada **Gambar 4**.



Gambar 3. Kromatogram produk reaksi siklisasi-asetilasi sitronelal dengan menggunakan lipase



Gambar 4. Spektra massa isopulegol hasil analisis dengan KG/SM

Tidak terbentuknya produk siklisasi-asetilasi yang diharapkan pada penelitian yaitu isopulegil asetat dimungkinkan karena masih terdapat kandungan air pada enzim lipase yang diproduksi, sehingga menyebabkan isopulegil asetat terhidrolisis menjadi isopulegol.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian mengenai reaksi siklisasi-asetilasi sitronelal dengan menggunakan enzim lipase dari *Aspergillus niger* sebagai katalis dapat disimpulkan bahwa enzim lipase yang digunakan sebagai katalis dalam reaksi ini masih mengandung air sehingga produk isopulegil asetat yang diharapkan terhidrolisis menjadi isopulegol, oleh karena itu terbentuk produk isopulegol sebesar 0,51% sedangkan isopulegil asetat tidak terbentuk.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kami sampaikan kepada Drs. Suratmo, M.Sc. selaku Kepala Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang. Dra. Anna Roosdiana, M.App.Sc. selaku Kepala Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang. Staff Laboratorium Kimia Organik dan Biokimia, Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Brawijaya, Malang. Staff Laboratorium Kimia Organik, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta.

DAFTAR PUSTAKA

1. Cahyono, E., 2010, Kajian Reaksi Siklisasi-Asetilasi R-(+)-Sitronelal dengan Anhidrida Asam Asetat Dikatalisis Asam Lewis dan Zeolit Alam Termodifikasi, *Disertasi*, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta
2. Reetz, M.T, 2002, Lipases as Practical Biocatalyst. *Current Opinion in Chemical Biology*, Vol.6, 145-150
3. Maryanty, Y., H. Pristianti, dan P. Ruliawati, 2010, Produksi *Crude Lipase* dari *Aspergillus niger* pada Substrat Ongok Menggunakan Metode Fermentasi Fase Padat, *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*, Malang