

AMIDIFIKASI ENZIMATIK PADA SINTESIS LAURIL-DIETANOLAMIDA

Zuhrina Masyithah¹⁾, Tjahjono Herawan²⁾, Zul Alfian³⁾ dan
Sri Bima Sembiring³⁾

ABSTRAK

Amidifikasi enzimatis asam laurat dan dietanolamina menghasilkan surfaktan alkanolamida yaitu lauril-dietanolamida diamati pada kajian ini. Dua jenis enzim terimobilisasi digunakan yaitu lipase dari *Rhizomucor miehei* (Lipozym TM IL) dan lipase dari *Candida antarctica* (Novozym 435) serta sejumlah pelarut yaitu *n*-heksan, tert-butanol, tert-amilalkohol, dan isopropanol. Variabel reaksi yang diamati adalah temperatur, jenis dan rasio pelarut, waktu reaksi, molar rasio substrat dietanolamina/asam laurat, serta jumlah dan jenis enzim. Metode Permukaan Sambutan (Response Surface Methodology) dikembangkan pada kajian ini, pertama untuk mengkaji pengaruh interaksi variabel di dalam reaksi, dan kedua untuk menentukan nilai optimal. Kondisi optimum diperoleh bila menggunakan Novozym 435 dengan konsentrasi 10-11 % (b/b asam laurat), *n*-heksan sebagai pelarut, rasio molar substrat 2/1-3/1 (amina/asam laurat), waktu reaksi 24 jam dan temperatur reaksi 55-60°C. Reaksi pada kondisi optimum akan menghasilkan konversi asam lemak 73 %.

kata kunci: amidifikasi, asam laurat, dietanolamina, lauril-dietanolamida, Metode Permukaan Sambutan

ABSTRACT

Enzymatic amidification on lauric acid and diethanolamine to produce alkanolamide surfactant namely lauryl diethanolamide was studied. The reaction was catalyzed by a immobilized lipase from *Rhizomucor miehei* (Lipozyme TM IL) and *Candida antarctica* (Novozyme 435) in the presence of *n*-hexane, tert-butanol, tert-amylalcohol, or isopropanol as a solvents. The reaction variabel observed is temperature, solvent ratio, time of reaction, substrats molar ratio (diethanolamine/lauric acid), and enzyme concentration. The amidification process was optimized by application of Response Surface Methodology with central composite design. The optimum conversion of reaction is 73%, found at Novozym 435 as a catalyst, catalyst concentration were 10 % - 11 % (w/w lauric acid), *n*-hexane as a solvent, substrats molar ratio 2/1 3/1 (amine/lauric acid), time of reaction 24 hours and temperature 55-60°C

Keywords: amidification, lauric acid, diethanolamine, lauryl-diethanolamide, Response Surface Methodology.

¹⁾Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik USU, Medan

²⁾Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Jl. Brigjen Katamso 51, Medan

³⁾Departemen Kimia Fakultas MIPA USU, Medan

Diterima 11 September 2008; disetujui 17 November 2008

PENDAHULUAN

Pengembangan Surfaktan alkanolamida yang mempunyai ikatan amida banyak dikembangkan dalam industri pembuatan surfaktan karena ikatan amida secara kimia dan fisika sangat stabil pada media bersifat alkali (10). Alkanolamida dapat diperoleh dari hasil reaksi amidasi antara amina dengan asam lemak dari minyak nabati. Alkanolamida dari minyak nabati secara luas digunakan untuk berbagai aplikasi diantaranya pangan, kosmetika dan obat-obatan (16). Alkanolamida yang digunakan untuk formula pangan, kosmetika dan obat-obatan haruslah bebas dari bahan beracun, pelarut, asam lemak bebas, amina yang tidak bereaksi dan sabun serta harus tidak berbau dan bentuknya menarik. Namun penelitian untuk memproduksi alkanolamida pada skala industri masih kurang karena penghilangan sabun, pelarut dan warna yang tidak diinginkan memerlukan tahapan yang rumit dan biaya yang tinggi.

Secara kimia, alkanolamida dapat diproduksi melalui reaksi Schotten Baumann yaitu dengan mereaksikan asam lemak atau metil ester asam lemak dengan monoetanolamina atau dietanolamina menggunakan katalis metal oksida pada suhu 150°C selama 6 - 12 jam (6,8). Sintesis pada suhu tinggi ini merusak molekul-molekul dan menghasilkan pewarnaan pada produk akhir. Sintesis secara kimia juga memerlukan tahap reaksi yang rumit yaitu tahap proteksi dan deproteksi gugus hidroksil untuk mencegah terjadinya karbonasi amina dengan CO₂ (1). Selain itu, sintesis secara kimia menghasilkan produk samping berupa garam dan menggunakan pelarut bersifat toksik (DMF, metanol) yang harus dihilangkan dari proses agar

diperoleh produk yang lebih murni (11,14).

Alternatif yang menarik dibandingkan dengan menggunakan bahan bersifat toksik adalah sintesis alkanolamida secara enzimatik menggunakan biokatalis. Sintesis secara enzimatik mempunyai beberapa keunggulan seperti bekerja pada temperatur yang lebih rendah, dapat dilakukan menggunakan pelarut organik yang secara ekologis lebih kompatibel (2,13), serta tidak memerlukan proteksi/deproteksi reagen karena enzim bersifat regio dan stereo maupun kemoselektif (3). Kemoselektifitas lipase pada sintesis alkanolamida telah diamati dan ditemukan bahwa lipase mampu mengasilasi baik gugus amina maupun gugus alkohol (1,16). Kebanyakan lipase serentak mengkatalis reaksi amidasi dan esterifikasi dari alkanolamina, hanya saja, jika produk akhir yang diharapkan adalah amida, maka reaksi perlu dikontrol agar ester yang terbentuk dan migrasi asil dari alkohol ke amina dapat meningkatkan produk amida yang diperoleh. Dolores *et al.* (1) mengamati bahwa migrasi asil lebih cepat pada alkanolamina rantai pendek (C3) dibanding pada rantai panjang (C6).

Salah satu kelemahan pembuatan biosurfaktan secara enzimatik adalah perolehan yang masih rendah sehingga belum banyak biosurfaktan dikembangkan pada skala industri. Sehingga agar biosurfaktan lebih kompetitif maka biosurfaktan harus diproduksi dengan menggunakan bahan baku yang murah dan terbarukan serta dicari upaya-upaya untuk meningkatkan perolehan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi reaksi amidifikasi enzimatik yang optimum agar dapat menghasilkan surfaktan lauril-dietanolamida dari dietanolamina dengan asam laurat yang dikatalisis oleh lipase immobilisasi dalam pelarut organik.

c. Penentuan konsentrasi enzim

Penentuan level konsentrasi enzim dilakukan dengan menggunakan 6 level konsentrasi biokatalis dalam persen berat (b/b asam laurat) yaitu 6%, 8%, 10%, 12% dan 14%. Variabel tetap adalah rasio mol amina terhadap asam laurat 2/1, rasio pelarut 2/1 (v/b asam laurat) dan temperatur 30°C.

d. Penentuan rasio substrat

Penentuan level rasio substrat dilakukan dengan menggunakan 5 level rasio molar

dietanolamina/asam laurat yaitu 1/1, 2/1, 3/1, 4/1 dan 5/1. Variabel tetap adalah konsentrasi enzim 10% (b/b asam laurat), rasio pelarut 2/1 (v/b asam laurat) dan temperatur 30°C.

e. Penentuan Level Temperatur

Penentuan level konsentrasi enzim dilakukan dengan menggunakan 4 level temperatur yaitu 30, 40, 50 dan 60°C. Variabel tetap adalah konsentrasi enzim 10% (b/b asam laurat), rasio pelarut 2/1

Tabel 1. Variabel dan level untuk desain eksperimen 3 variabel

Variabel	Level terkode variabel				
	-1,682	-1	0	1	1,682
Temperatur (°C)	42,6	45	50	55	58,4
Rasio molar substrat (mol Dietanolamina/mol Asam Laurat)	1,318/1	2/1	3/1	4/1	4,682/1
Konsentrasi enzim (% b/b asam laurat)	6	8	10	12	14

Tabel 2. Kombinasi level terkode untuk lima level, tiga variabel

Nomor Percobaan	Konsentrasi enzim (X ₁)	Rasio molar substrat (X ₂)	Temperatur (X ₃)	Persen Konversi (%)
1	-1	-1	-1	59.0976
2	1	-1	-1	54.8019
3	-1	1	-1	66.8476
4	1	1	-1	68.8093
5	-1	-1	1	74.1895
6	1	-1	1	73.5281
7	-1	1	1	53.7296
8	1	1	1	62.5261
9	-1,682	0	0	59.9053
10	1,682	0	0	62.6835
11	0	-1,682	0	60.1662
12	0	1,682	0	56.3411
13	0	0	-1,682	72.2923
14	0	0	1,682	73.0046
15	0	0	0	73.2581
16	0	0	0	73.3259
17	0	0	0	72.2782
18	0	0	0	72.9754
19	0	0	0	72.8837
20	0	0	0	73.6821

BAHAN DAN METODE

Bahan kimia dan biologi

- Novozym 435 (lipase dari *Candida antarctica* yang diimmobilisasi pada resin acrylic) diperoleh dari Novo Industries (Denmark)
- Lipozym TM IL (lipase dari *Rhizomucor miehei*)
- Pelarut (n-heksan, tert-butanol, tert-amilalkohol, dan isopropanol), murni dari E Merck
- Dietanolamina (E Merck)
- Asam laurat dari P.T. Sinar Oleochemical International, Medan

Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan bertujuan untuk menentukan nilai terbaik dari masing-masing variabel proses. Indikator untuk menentukan nilai terbaik adalah dari besarnya persentase penurunan kandungan asam lemak. Persentase asam lemak yang terkonversi diperoleh dari rumus berikut:

$$\% \text{ konversi} = \frac{\text{bilangan asam awal} - \text{bilangan asam akhir}}{\text{bilangan asam awal}}$$

(Pers. 1)

dimana analisa bilangan asam dilakukan sesuai metode Porim (1995). Tahapan –

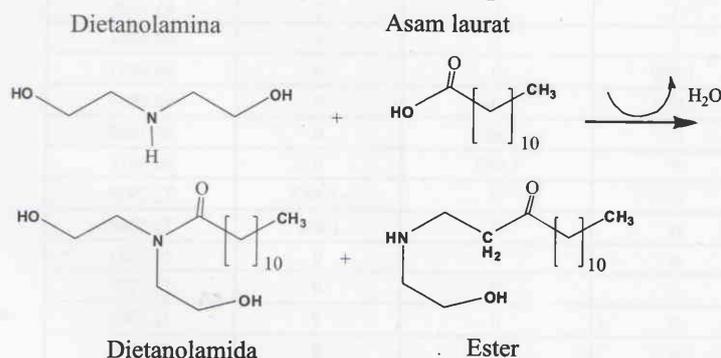
tahapan pada penelitian pendahuluan adalah:

a. Penentuan waktu reaksi dan jenis enzim

Amidasi asam laurat dengan dietanolamina diawali dengan melakukan screening enzim lipase. Screening enzim dilakukan pada dua jenis enzim terimmobilisasi yaitu adalah Novozym 435 (lipase dari *C. Antarctica*) dan Lipozym TM IL (lipase dari *R. Miehei*). Penelitian dilakukan pada rasio mol amina terhadap asam laurat 2/1, konsentrasi enzim 10% (b/b asam laurat) dan temperatur 30°C (7,10). Reaksi berlangsung selama 72 jam, sampling dilakukan setiap 4 jam dan dilakukan analisa bilangan asam.

b. Penentuan jenis pelarut

Keberadaan pelarut dalam sebuah reaksi yang melibatkan biokatalis akan mempengaruhi aktifitas dan stabilitas reaksi enzimatis. Pada penelitian ini dilakukan percobaan terhadap empat jenis pelarut organik yaitu n-heksan, isopropanol, tertbutanol dan tert amilalkohol, pada rasio mol amina terhadap asam laurat 2/1, konsentrasi enzim 10% (b/b asam laurat), rasio pelarut 2/1 (v/b asam laurat) dan temperatur 30°C.



Gambar 1. Skema reaksi amidifikasi asam laurat dengan dietanolamina

c. Penentuan konsentrasi enzim

Penentuan level konsentrasi enzim dilakukan dengan menggunakan 6 level konsentrasi biokatalis dalam persen berat (b/b asam laurat) yaitu 6%, 8%, 10%, 12% dan 14%. Variabel tetap adalah rasio mol amina terhadap asam laurat 2/1, rasio pelarut 2/1 (v/b asam laurat) dan temperatur 30°C.

d. Penentuan rasio substrat

Penentuan level rasio substrat dilakukan dengan menggunakan 5 level rasio molar

dietanolamina/asam laurat yaitu 1/1, 2/1, 3/1, 4/1 dan 5/1. Variabel tetap adalah konsentrasi enzim 10% (b/b asam laurat), rasio pelarut 2/1 (v/b asam laurat) dan temperatur 30°C.

e. Penentuan Level Temperatur

Penentuan level konsentrasi enzim dilakukan dengan menggunakan 4 level temperatur yaitu 30, 40, 50 dan 60°C. Variabel tetap adalah konsentrasi enzim 10% (b/b asam laurat), rasio pelarut 2/1

Tabel 1. Variabel dan level untuk desain eksperimen 3 variabel

Variabel	Level terkode variabel				
	-1,682	-1	0	1	1,682
Temperatur (°C)	42,6	45	50	55	58,4
Rasio molar substrat (mol Dietanolamina mol Asam Laurat)	1,318/1	2/1	3/1	4/1	4,682/1
Konsentrasi enzim (% b/b asam laurat)	6	8	10	12	14

Tabel 2. Kombinasi level terkode untuk lima level, tiga variabel

Nomor Percobaan	Konsentrasi enzim (X ₁)	Rasio molar substrat (X ₂)	Temperatur (X ₃)	Persen Konversi (%)
1	-1	-1	-1	59.0976
2	1	-1	-1	54.8019
3	-1	1	-1	66.8476
4	1	1	-1	68.8093
5	-1	-1	1	74.1895
6	1	-1	1	73.5281
7	-1	1	1	53.7296
8	1	1	1	62.5261
9	-1,682	0	0	59.9053
10	1,682	0	0	62.6835
11	0	-1,682	0	60.1662
12	0	1,682	0	56.3411
13	0	0	-1,682	72.2923
14	0	0	1,682	73.0046
15	0	0	0	73.2581
16	0	0	0	73.3259
17	0	0	0	72.2782
18	0	0	0	72.9754
19	0	0	0	72.8837
20	0	0	0	73.6821

(v/b asam laurat) dan rasio mol amina terhadap asam laurat 2/1.

Penelitian Optimasi Proses

Pengaruh individu maupun interaktif pada sintesis alkanolamida dioptimisasikan dengan variabel lainnya untuk mencapai persentase konversi yang maksimum menggunakan Metode Permukaan Sambutan (Response Surface Methodology, RSM). Sebanyak lima level/tingkat dan tiga variabel penelitian dirancang mengikuti bentuk Central Composite Design (CCD), yang terdiri dari 8 point (titik) faktorial, 6 point aksial dan 6 point sentral (12). Titik pusat (*center point*) dalam rancangan percobaan CCD merupakan konversi terbaik dari masing-masing variabel yang diperoleh melalui penelitian pendahuluan. Variabel dan level yang dikembangkan tersebut ditunjukkan pada Tabel 1. Sedangkan Tabel 2 menunjukkan eksperimen aktual yang dilakukan (dengan 2 pengulangan) yang dikembangkan dari model.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis lauril-dietanolamida dengan cara amidifikasi dietanolamina dan asam laurat dipilih sebagai model reaksi. Kedua substrat merupakan molekul dengan polaritas dan kelarutan yang berbeda. Asam laurat larut dalam pelarut hidrofobik, sedangkan dietanolamina sedikit larut dalam beberapa pelarut. Beberapa jenis pelarut dipilih untuk digunakan pada sintesis ini yaitu n-heksan, isopropanol, tert-butanol, dan tert amilalkohol. Enzim komersial Novozym 435 (lipase dari *C. Antarctica*) dan Lipozyme TM IL (lipase dari *R. Miehei*)

dipilih sebagai katalis karena enzim imobilisasi ini stabil dalam media organik serta mudah direcoveri.

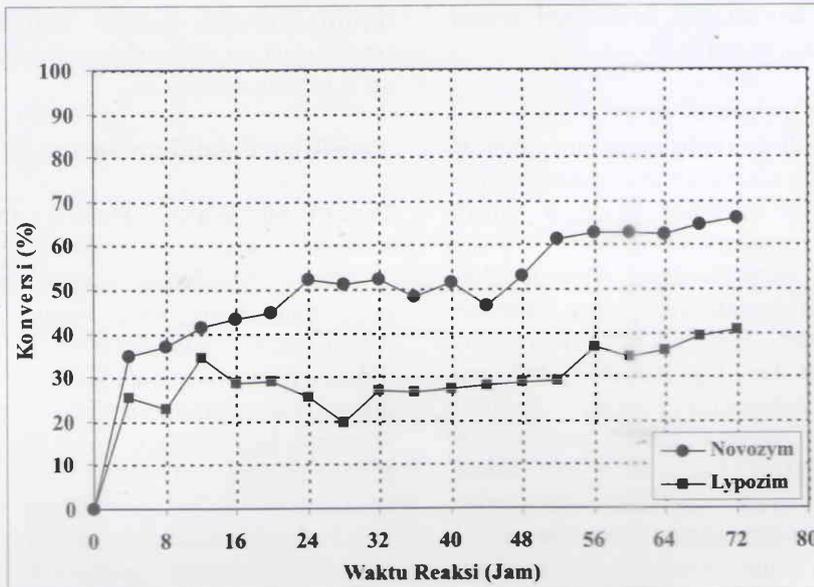
Penelitian Pendahuluan

Penentuan Waktu Reaksi dan Jenis Enzim

Hasil penentuan waktu reaksi dan pemilihan enzim yang sesuai sekaligus ditunjukkan pada Gambar 1, dimana diperoleh bahwa setelah 72 jam reaksi yang dikatalis oleh Novozym 435 menghasilkan konversi asam lemak yang tinggi untuk pasangan substrat asam laurat-dietanolamina.

Pada umumnya, reaksi yang melibatkan katalis hayati (enzim) berlangsung dalam waktu reaksi yang cukup lama, hal ini berkaitan dengan kemampuan lipase untuk merombak atau mensintesa suatu substrat pada kondisi tertentu. Gambar 2 menunjukkan bahwa pada waktu reaksi 24 hingga 40 jam, diperoleh konversi sekitar 52%. Bila reaksi berlangsung hingga 72 jam, perolehan telah konstan pada kisaran 65%. Hanya saja, mulai waktu 48 jam diamati pada campuran reaksi telah terbentuk busa yang diperkirakan merupakan hasil hidrolisis suatu amida. Hidrolisis basa suatu amida bersifat serupa dengan penyabunan ester, dengan produk yang terbentuk berupa garam karboksilat dan suatu amina bebas (4). Sehingga meskipun setelah waktu 72 jam persen konversi asam lemak mencapai 65% namun perolehan amida diperkirakan tidak tinggi karena selain reaksi amidasi juga terjadi hidrolisis amida dalam suasana basa menjadi garam karboksilat.

Berdasarkan kondisi tersebut, maka untuk percobaan berikutnya ditetapkan waktu reaksi selama 24 jam dengan



Gambar 2. Hasil pengamatan penentuan waktu reaksi dan pemilihan jenis enzim pada reaksi asam laurat dengan dietanolamina serta pelarut n-heksan

pertimbangan bahwa peningkatan waktu reaksi tidak memberikan perolehan produk amida yang nyata. Disamping itu penelitian pendahuluan dilakukan pada temperatur 30°C, sehingga upaya peningkatan konversi melalui peningkatan temperatur sangat mungkin dilakukan meskipun waktu reaksi cukup singkat yaitu 24 jam.

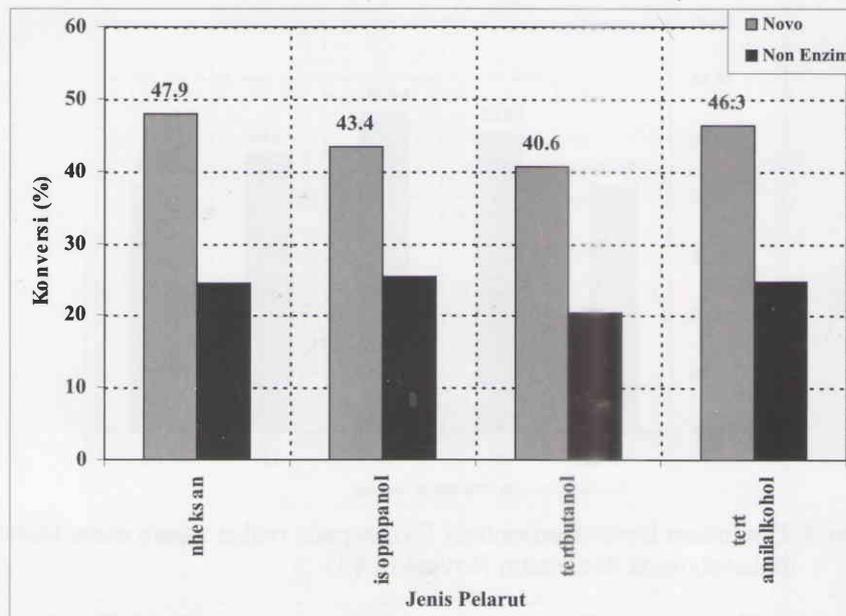
Penentuan Jenis Pelarut

Enzim lipase bekerja lebih baik pada pelarut yang bersifat hidrofobik (5). Untuk itu, empat jenis pelarut organik yaitu n-heksan, isopropil alkohol, tert amilalkohol dan terbutanol dipilih untuk digunakan. Hasil perbandingan keempat jenis pelarut organik tersebut menunjukkan bahwa reaksi amidasi dengan melibatkan enzim lipase memberikan hasil yang baik pada pelarut n-heksan (Gambar 3). Pemilihan

pelarut n-heksan juga didasarkan atas studi yang dilakukan oleh Rahman *et al.* (15) yang menyatakan bahwa n-heksan, benzen dan heptan merupakan pelarut yang memberikan hasil pada sintesa alkanolamida.

Penentuan Konsentrasi Enzim

Percobaan amidasi asam laurat dengan menggunakan enzim terimobilisasi dari *C. Antarctica* (Novozym 435) dilakukan pada 6 level konsentrasi enzim (b/b asam laurat) yaitu 6%, 8%, 10%, 12% dan 14%. Perolehan produk terbaik terdapat pada konsentrasi 10%. Dari Gambar 4 ditunjukkan bahwa aktifitas enzim mengalami penurunan pada konsentrasi enzim yang lebih tinggi. Hal ini menggambarkan adanya batasan aktifitas enzim, karena terbatasnya substrat yang tersedia. Berdasarkan hasil diatas ditetapkan



Gambar 3. Pemilihan jenis pelarut pada reaksi antara asam laurat dan dietanolamina dan enzim Novozym 435

konsentrasi enzim 10% sebagai nilai center point dalam Rancangan Susunan Terpusat (CCD) yang akan digunakan.

Penentuan Rasio Substrat

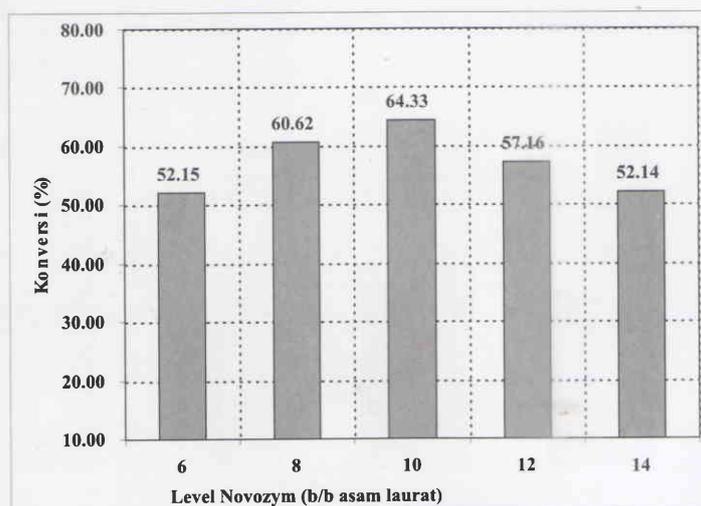
Dietanolamida dikenal sebagai foaming booster (peningkat busa) karena tingkat kepolaran yang dimiliki lebih baik dari alkonalamida lain (17). Reaksi antara asam laurat dengan dietanolamina dilakukan dengan menggunakan dietanolamina berlebih sehingga asam laurat berperan sebagai reaktan pembatas yang diobservasi. Percobaan dilakukan pada level rasio substrat dietanolamina/asam laurat 1/1, 2/1, 3/1, 4/1 dan 5/1.

Penggunaan alkanolamina yang berlebih dibutuhkan untuk pembentukan ikatan peptida yang efektif. Dari Gambar 5

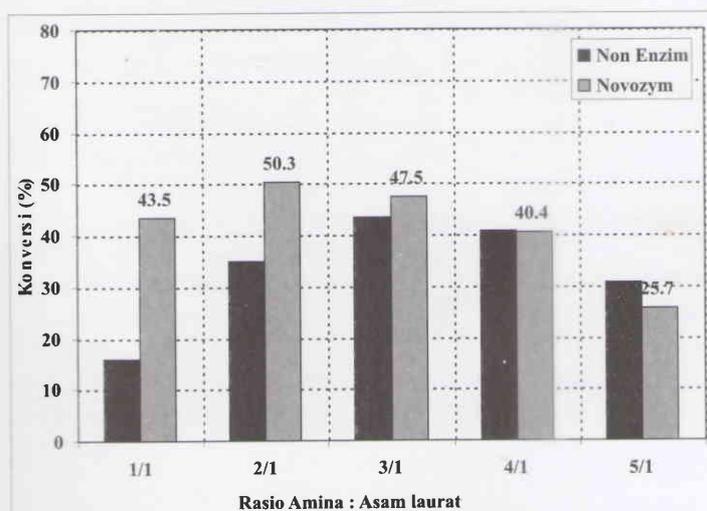
diketahui perolehan produk yang besar pada rasio substrat 2/1 dan 3/1 masing-masing sebesar 50,3% dan 47,5%. Hanya saja sebagai center point pada penelitian optimasi dipilih rasio 3/1 karena jika rasio 2/1 sebagai center point maka pada level -1,682, rasio substrat dapat menjadi 1/2 (mol amina/mol asam laurat) yang artinya asam laurat tidak lagi menjadi reaktan pembatas sehingga persen konversi asam laurat akan rendah.

Penentuan Level Temperatur

Penentuan level temperatur dilakukan dengan menggunakan 4 level temperatur yaitu 30, 40, 50 dan 60°C. Percobaan pendahuluan diperlukan untuk menentukan temperatur optimum yang akan digunakan sebagai titik center point. Dari



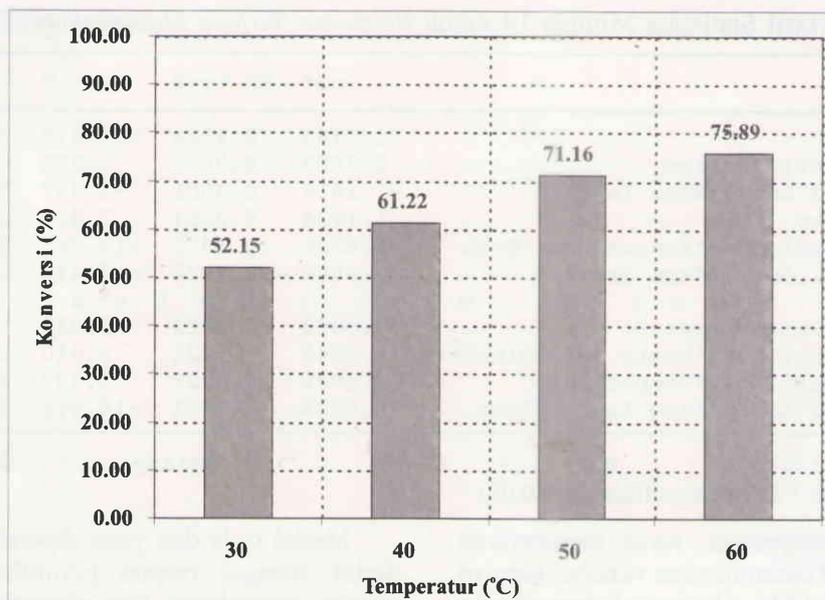
Gambar 4. Penentuan Level Konsentrasi Enzim pada reaksi antara asam laurat dan dietanolamina dan enzim Novozym 435



Gambar 5. Penentuan Rasio Substrat pada reaksi antara asam laurat dan dietanolamina dan enzim Novozym 435

hasil penelitian pada Gambar 6 diperoleh bahwa pada suhu 60°C diperoleh persen konversi asam lemak yang tinggi yaitu 75%. Akan tetapi sintesis pada suhu diatas 60°C akan menunjukkan perubahan warna

produk akhir. Untuk itu suhu 60°C hanya dapat digunakan sebagai level atas dan sebagai center point digunakan suhu 50°C yang perolehan konversinya sudah cukup tinggi yaitu 71,16%.



Gambar 6. Penentuan Level Konsentrasi Enzim pada reaksi antara asam laurat dan dietanolamina dan enzim Novozym 435

Penelitian Optimasi Proses

Penelitian optimasi bertujuan untuk mengetahui pengaruh interaksi dari ketiga variabel percobaan dalam central composite design (CCD), serta untuk menentukan konversi optimum yang dapat diperoleh dari amidasi asam laurat menggunakan Novozym 435 dan pelarut n-heksan.

Analisa Pengaruh Variabel

Hasil pengolahan data percobaan dapat digunakan untuk melihat pengaruh signifikansi variabel-variabel yang digunakan. Pada tabel berikut dicantumkan hasil analisa statistika serta interaksinya masing-masing untuk signifikansi pengaruh dari ketiga variabel yaitu temperatur reaksi (X_1), rasio mol asam laurat terhadap dietanolamina (X_2) dan konsentrasi Novozym (X_3).

Berdasarkan hasil analisa statistika di atas, dapat diketahui bahwa konsentrasi biokatalis memberikan pengaruh yang positif sebesar 0,7669 dan signifikan terhadap pembentukan produk. Tetapi kuadrat variabel konsentrasi biokatalis dan interaksinya dengan rasio mol dietanolamina memberikan efek negatif sebesar -4,020. Begitu pula interaksi konsentrasi dengan temperatur yang memberikan efek positif 1,3086 dengan nilai p 0,008. Hal ini menunjukkan adanya batasan dalam penggunaan biokatalis, rasio mol dietanolamina dan temperatur yang dilibatkan pada reaksi. Rasio mol dietanolamina terhadap asam laurat turut memberikan pengaruh yang signifikan pada negatif -1,1816, dan interaksinya dengan temperatur (X_1, X_2) memberikan efek negatif yang juga signifikan.

Tabel 3. Hasil Statistika Minitab 14 untuk *Response Surface Methodology (RSM)*

Term	Coef	SE Coef	T	P
Constant	73.0455	0.4524	161.479	0.000
Konsentrasi Novozym	0.7669	0.3001	2.555	0.029
Rasio mol Amina/Asam laurat	-1.1816	0.3001	-3.937	0.003
Temperatur	1.1434	0.3001	3.810	0.003
Konsentrasi Novo*Konsentrasi Novo	-4.0206	0.2922	-13.761	0.000
Rasio mol Amina/Asam laurat*	-5.0956	0.2922	-17.441	0.000
R a s i o m o l A m i n a / A L				
Temperatur*Temperatur	-0.0063	0.2922	-0.022	0.983
Konsentrasi Novo*Rasio mol Amina/AL	1.9644	0.3921	5.010	0.001
Konsentrasi Novo*Temperatur	1.3086	0.3921	3.337	0.008
Rasio mol Amina/Asam laurat*Temp.	-6.6524	0.3921	-16.965	0.000

S = 1.109 R-Sq = 98.8% R-Sq(adj) = 97.7%
 Keterangan: * Faktor signifikansi (p<0,05)

Variabel temperatur, turut memberikan efek positif dibandingkan variabel lainnya sebesar 1,1434. Interaksi temperatur dengan variabel reaksi lainnya juga tidak signifikan. Ini menunjukkan bahwa laju reaksi enzimatis antara asam lemak dengan dietanolamina banyak dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi Novozym dan rasio mol dietanolamina terhadap asam lemak, sedangkan peningkatan temperatur memberikan pengaruh yang tidak signifikan terhadap laju pembentukan produk n-metil glukamida. Namun penggunaan variabel konsentrasi biokatalis dan rasio mol dietanolamina terhadap asam laurat juga memiliki batasan tertentu, sebab dalam reaksi enzimatis dikenal adanya hambatan oleh substrat.

Model persamaan yang dapat menunjukkan hubungan variabel reaksi dan interaksinya terhadap persen konversi asam laurat diperoleh sebagai berikut:

(Pers. 2)

$$Y = 73,0455 + 0,7669X_1 - 1,1816 X_2 + 1,1434 X_3 - 4,0206 X_1^2 - 5,0956 X_2^2 - 0,0063 X_3^2$$

Model orde dua yang diperoleh akan diplot sebagai respon permukaan dan kontur permukaan tiga dimensi untuk mengekspresikan respon % konversi dari penelitian.

Pengaruh konsentrasi enzim dan rasio molar substrat

Gambar 7 menunjukkan plot respon kontur dan permukaan pengamatan pengaruh konsentrasi enzim dan rasio mol dietanolamina/asam laurat terhadap konversi. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa konversi dietanolamida akan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi enzim dan rasio mol dietanolamina hingga batasan tertentu. Plot kontur ini mengekspresikan bahwa peningkatan konversi alkanolamida lebih tajam pada peningkatan rasio mol alkanolamina dibandingkan dengan bertambahnya konsentrasi enzim. Bertambahnya rasio dietanolamina akan menyebabkan peningkatan konsentrasi campuran. Pada konsentrasi substrat yang tinggi, peluang terjadinya tumbukan antar partikel semakin besar, sehingga kemungkinan

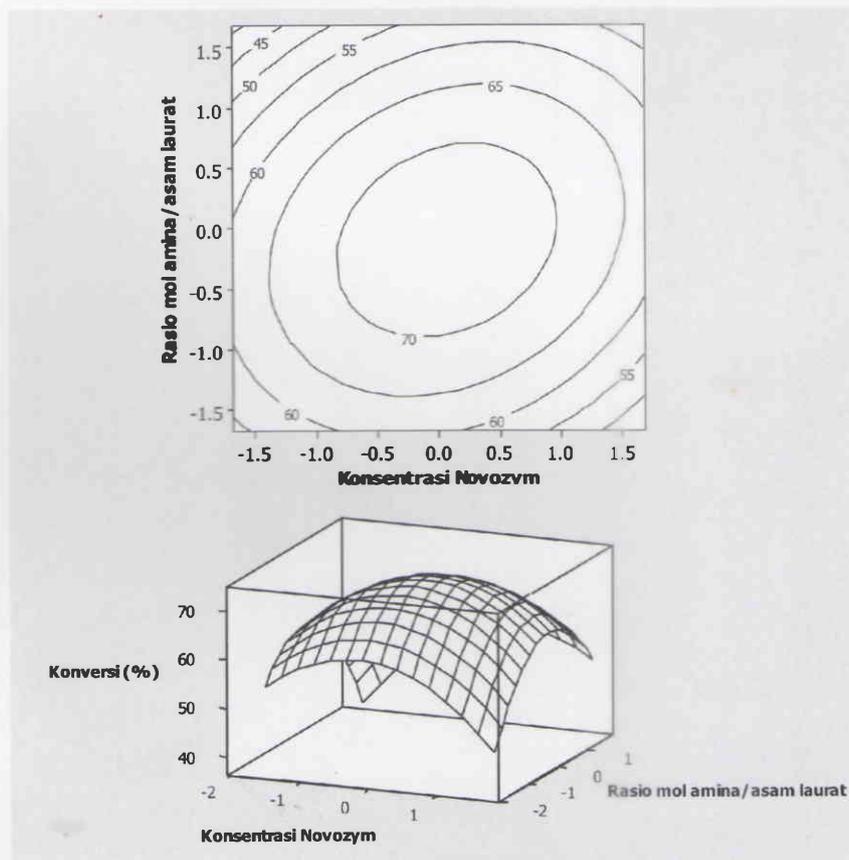
terjadinya reaksi amidasi semakin besar.

Permukaan kontur menunjukkan bahwa untuk maksimum konversi lauril-dietanolamida dapat diperoleh apabila rasio mol dietanolamina/AL berada pada level 0 (rasio mol amina/AL pada 3/1), sedangkan konsentrasi biokatalis pada level antara -0,5 hingga 0,5 (10%-11%). Pada kondisi reaksi ini, dapat diperoleh konversi amida mencapai 73%. Hal ini diikuti dengan tinjauan bahwa untuk penggunaan rasio mol amina yang lebih besar dari level 0 baik pada level konsentrasi biokatalis yang rendah atau

tinggi diperoleh penurunan konversi produk.

Pengaruh Konsentrasi Enzim dan Temperatur

Pengamatan pengaruh konsentrasi enzim dan temperatur terhadap konversi ditunjukkan pada Gambar 8. Terlihat bahwa ekspresi respon temperatur pada konsentrasi enzim yang rendah adalah tetap. Manakala pada konsentrasi enzim di level 2 (> 14%), peningkatan temperatur akan meningkatkan konversi secara nyata. Lebih lanjut diamati bahwa peningkatan

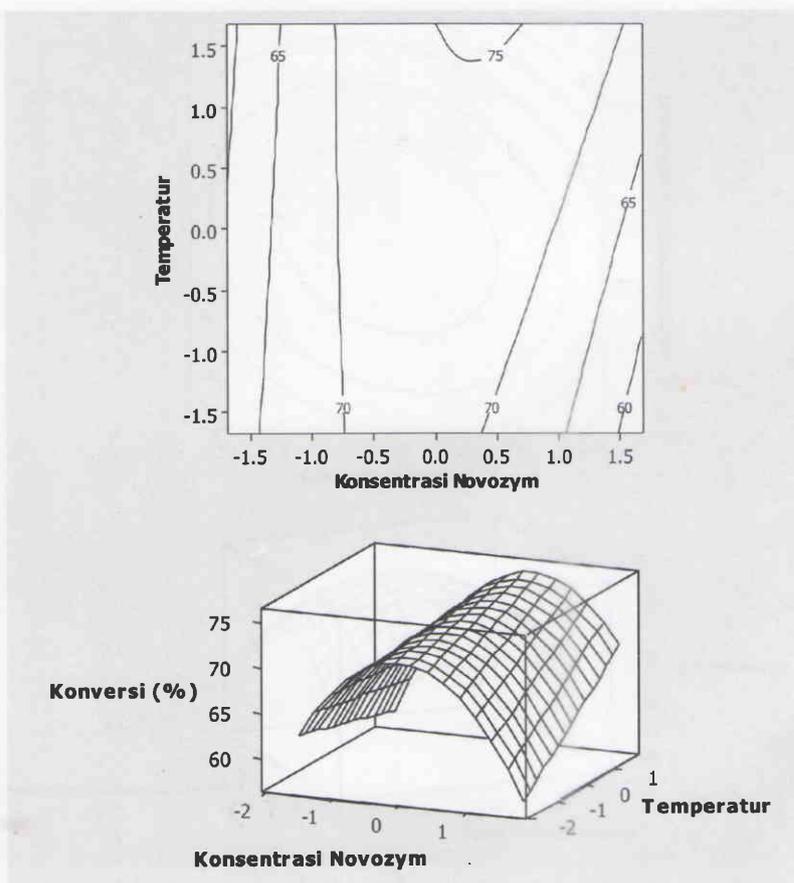


Gambar 7. Respon permukaan dan kontur dari plot konsentrasi enzim terhadap rasio mol dietanolamina/asam laurat.

konsentrasi akan meningkatkan konversi baik pada level temperatur rendah maupun tinggi, meskipun konversi yang maksimum diperoleh pada level temperatur 1 sampai 1,5 (55-60°C) dan level konsentrasi Novozym 435 0 sampai 0,5 (10-11 %).

Dari kontur pada Gambar 8, dapat diketahui bahwa dengan mendesain kondisi temperatur pada level 1,5 (55°C-60°C) serta konsentrasi biokatalis pada level 0-0,5 (10 - 11%) dapat menghasilkan perolehan % konversi lauril-dietanolamida yang maksimum. Pada level temperatur ini memungkinkan adanya

peningkatan aktifitas enzim lipase terhadap reaksi amidasi. Kenaikan konsentrasi pada penggunaan temperatur pada level tetap pada awalnya akan meningkatkan perolehan produk. Tetapi pada akhirnya, kenaikan konsentrasi akan menurunkan perolehan produk yang cukup tajam. Hal ini menunjukkan bahwa pada level temperatur > 1,5 (> 60°C) enzim lipase kurang aktif bekerja. Kondisi ini mengekspresikan bahwa temperatur dapat memicu aktifitas enzim lipase pada substrat asam laurat pada reaksi amidasi.



Gambar 8. Respon permukaan dan kontur dari plot konsentrasi enzim terhadap temperatur

Pengaruh Temperatur dan Rasio Mol Substrat

Respon permukaan pada Gambar 9 menunjukkan bahwa pada temperatur rendah (level -1,5), perolehan % konversi lauril-dietanolamida meningkat seiring dengan tingginya penggunaan rasio mol dietanolamina/AL. Reaksi dengan perolehan produk terbesar berada pada kondisi temperatur di level 1,5 (55–60°C).

Respon kontur menunjukkan bahwa untuk mendapatkan perolehan persentase produk dietanolamida yang maksimum, variabel temperatur dapat didesain pada level 1–1,5 (55–60°C) dan level rasio mol Amina/AL -1 sampai 0 (2/1 sampai 3/1). Pada kondisi tersebut, perolehan konversi dapat mencapai 74%. Rasio mol lauril-dietanolamida memberikan pengaruh yang lebih besar daripada temperatur terhadap pembentukan dietanolamida. Pada kondisi temperatur 60°C, peningkatan rasio mol pada awalnya mampu meningkatkan perolehan dengan cukup besar, tetapi pada akhirnya akan memberikan penurunan perolehan yang cukup tajam.

Hal ini berhubungan dengan adanya hambatan oleh produk pada reaksi enzimatis. Dalam hambatan produk, aktifitas enzim secara langsung dipengaruhi oleh konsentrasi substrat dan produk didalam lingkungan mikro enzim (9). Pada kondisi ini hambatan produk berasal dari telah penuhnya ruang aktif enzim yang berikatan dengan substrat, sehingga enzim tidak mampu lagi mensintesa substrat. Dari hasil analisa FT-IR menunjukkan bahwa pada temperatur 50°C dan 60°C (hasil optimasi) pada rasio mol amina/AL berlebih tidak

menunjukkan adanya pembentukan amina ester. Kondisi ini menunjukkan bahwa kenaikan temperatur tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap reaksi enzimatis.

Hasil Analisa FTIR

Dari hasil analisa spektrofotometer infra red (FT-IR) pada kondisi optimum menunjukkan pita amida (ikatan C=O) pada 1621,99 cm⁻¹ dan 1466,83 cm⁻¹ (ikatan C-N), pita hidroksi pada 3365,60 cm⁻¹ (ikatan O-H), ikatan alkil 2924,59 cm⁻¹ serta pita alkohol pada 1068,41 cm⁻¹, sedangkan puncak amina ester yang berada pada 1700 cm⁻¹ tidak terbentuk.

KESIMPULAN

1. Amidifikasi menggunakan asam laurat sebagai substrat lemak dan dietanolamina sebagai sumber amina, dengan waktu reaksi 24 jam telah dikembangkan untuk memperoleh surfaktan lauril-dietanolamida yang di sintesis secara enzimatis menggunakan enzim terimobilisasi Novozym 435.
2. Hasil penelitian optimasi reaksi amidasi asam laurat dengan dietanolamina dapat diperoleh pada rentang konsentrasi Novozym 435 sebesar 10%-11% (b/b), rasio mol dietanolamina/asam laurat 2/1-3/1 dan temperatur 55–60°C. Reaksi pada kondisi optimum ini menghasilkan konversi asam lemak 73%.
3. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk meningkatkan konversi, misalnya dengan melihat kecepatan pengadukan dan jenis pengaduk terhadap konversi asam lemak.

- acid-based surfactants from palm oil fractions. *Journal of Biosci. and Bioeng.*, 95:361-367.
4. FESSENDEN, J. RALPH dan J.S. FESSENDEN. 1999. *Kimia Organik*. Edisi ketiga. Penerbit Erlangga. Jakarta.
 5. GAUTAM, K.K. DAN V.K. TYAGI. 2005. *Microbial Surfactant*. *Journal of Oleo Science*. 55(4):155-156.
 6. HERAWAN, T. 1998. Biosurfaktan : aplikasi dan peluang minyak sawit sebagai bahan bakunya. *Warta Pusat Penelitian Kelapa Sawit*. 6(2):83-92.
 7. KURNIASIH, E. 2008. Pemanfaatan asam lemak sawit distilat sebagai bahan baku dietanolamida menggunakan lipase (*Rhizomucor meihei*). Tesis, Universitas Sumatera Utara.
 8. MAAG, H. 1984. Fatty Acid derivatives: important surfactant for household, cosmetic and industrial purposes. *J.Am. Oil Chem. Soc.*, 61(2):259-267.
 9. MANGUNWIDJAJA, D dan A. SURYANI. 1994. *Teknologi Bioproses*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.
 10. MAUGARD, T., REMAUD-SIMEON, M., PETRE, D. and MONSAN, P. 1997. Enzymatic synthesis of glycamide surfactants by amidification reaction. *Tetrahedron*, 53(14), 5185 - 5194.
 11. MAUGARD, T., M. REMAUD-SIMEON, D. PETRE and P. MONSAN. 1998. Enzymatic amidification for the synthesis of biodegradable surfactants: synthesis of n-acylated hydroxylated amines. *Journal of Molecular Science*, 5:13-17.
 12. MONTGOMERY, D.C. 1997. *Design and analysis of experiments*. 5-ed, John Wiley and Son Inc.
 13. NAGAO, A. and M. KITO. 1989. Synthesis of O-acyl homoserin by lipase. *J.Am. Oil Chem. Soc.*, 66:710-713.
 14. PAR TUFVESSON, A. ANNERLING, R. HATTI-KAUL and D. ADLESCRENTZ. 2007. Solvent-free enzymatic synthesis of fatty alkanolamides. *Biotechnology and Bioengineering*, 97(3): 447-453.
 15. RAHMAN, ABDUL., M.B. YAP., C.L.K. DZULKEFLY and N R.N.Z. ABDUL RAHMAN. 2003. Synthesis of palm kernel oil alkanolamide using lipase. *Journal of Oleo Science (JOS)*, 52(2):65-72.
 16. SOLEDAD, C., P. DOMINGUEZ and J.V. SINISTERRA. 2000. Enzymatic amidation and alkoxy-carbonylation of amines using native and immobilised lipases with different origins: a comparative study. *Tetrahedron*, 56:1387-1391.

17. TAKAYA, S. and Y. KANEKO. 2004.
The effect of some foam booster
on the foam ability and foam
stability of anionic system.
Journal of Oleo Science (JOS),
52(2): 65-72.