



TRANSESTERIFIKASI ETIL *P*-METOKSISINAMAT HASIL ISOLASI RIMPANG KENCUR DENGAN VITAMIN C TERKATALIS *LIPASE*

Muhammad Alchaddad^{*)}, Kusoro Siadi dan Supartono

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima April 2015
Disetujui Mei 2015
Dipublikasikan Agustus 2015

Kata kunci:
etil *p*-metoksisinamat
transesterifikasi
enzim *lipase*

Abstrak

Reaksi transesterifikasi etil *p*-metoksisinamat dengan asam askorbat dilakukan dengan biokatalis enzim *lipase* yang diekstrak dari jamur tiram. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh ester-C dari turunan etil *p*-metoksisinamat dengan vitamin C sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan dasar kosmetik dan juga untuk mengetahui aktivitas dari enzim *lipase* sebagai biokatalis. Etil *p*-metoksisinamat dapat diisolasi dari rimpang kencur secara maserasi dengan pelarut *n*-heksana. Selanjutnya etil *p*-metoksisinamat yang memiliki gugus fungsi ester dapat ditransformasi gugus fungsi melalui reaksi transesterifikasi. Beberapa variasi yang diselidiki antara lain adalah variasi waktu dari 18, 36, 54, dan 72 jam dan pengaruh jumlah penambahan enzim *lipase* terhadap hasil sintesis ester-C. Identifikasi produk menggunakan spektrofotometer FT-IR, kromatografi GC-MS dan HPLC. Berdasarkan hasil penelitian diperoleh total randemen dari isolasi etil *p*-metoksisinamat sebesar 7,78% dengan aktivitas enzim *lipase* dari ekstrak jamur tiram adalah sebesar 1,784 u/mL. Dari analisis HPLC diperoleh persen area ester-C sebesar 4,75%.

Abstract

Transesterification reaction of ethyl *p*-methoxycinnamate with ascorbic acid catalysed by *lipase* biocatalyst that was extracted from oyster mushroom has been done. This aim of this research to produce ester-C ethyl *p*-methoxycinnamate derivative with vitamin C that can be used as cosmetic ingredients and to determine the activity of *lipase* enzyme as biocatalyst. Ethyl *p*-methoxycinnamate can be isolated from kaempferia rhizome by maseration using *n*-hexane as the solven. Ethyl *p*-methoxycinnamate which has ester functional group can be transformed ester functional groups through the transesterification reaction. Many variations of analysis includes the time variation of 18, 32, 54, and 72 hours, and influence the enzyme *lipase* addition to the synthesis ester-C. Identify of products are using FT-IR spectrophotometer, chromatography GC-MS and HPLC. The result showed total of rendemen ethyl *p*-methoxycinnamate isolation is 7.78% with activity *lipase* enzim from oyster mushroom extract is equal to 1.784 u/mL. From the analysis HPLC obtained percent of the site of ester-c of 4.75%.

Pendahuluan

Kencur (*Kaempferia galanga* Linn) adalah salah satu jenis rempah yang banyak dimanfaatkan oleh rumah tangga dan industri obat maupun makanan serta minuman dan industri rokok kretek yang memiliki prospek pasar cukup baik. Kandungan etil *p*-metoksisinamat (EPMS) didalam rimpang kencur menjadi bagian yang penting didalam industri kosmetik karena bermanfaat sebagai bahan pemutih dan juga penghambat penuaan jaringan kulit (Rosita, *et al.*; 2006). Asam sinamat dan turunannya memiliki struktur yang mirip dengan *L*-tirosin, sehingga dapat menghambat aktivitas enzim *tirosinase* secara kompetitif dan dapat digunakan sebagai pemutih kulit (Afriastini; 2002).

Isolasi dan pemurnian etil *p*-metoksisinamat dapat dilakukan dengan mudah, selain itu etil *p*-metoksisinamat mempunyai gugus fungsi yang reaktif sehingga mudah ditransformasi menjadi gugus fungsi lain (Barus; 2009).

Ester-C adalah bentuk derivat dari vitamin C yang dapat larut dalam minyak. Bentuk senyawa ini menawarkan bentuk baru dari antioksidan yang menempati bagian terpenting dari *ingredient* pada pangan dan kosmetik. Enzim *lipase* merupakan biokatalisator yang dapat digunakan untuk mengkatalis reaksi hidrolisis dan esterifikasi (Haas, *et al.*; 2007). Hal ini menyebabkan *lipase* dapat menjadi pilihan sebagai katalis pada industri makanan, farmasi dan kosmetik. Aplikasi enzim *lipase* untuk sintesis senyawa organik semakin banyak dikembangkan, terutama karena reaksi menggunakan enzim *lipase* bersifat regioselektif dan enantioselektif (Yu, *et al.*; 2008).

Berdasarkan uraian tersebut, diharapkan dari isolasi etil *p*-metoksisinamat dapat dilakukan transformasi gugus fungsi senyawa bahan alam agar lebih baik pemanfaatannya. Transformasi gugus fungsi etil *p*-metoksisinamat dapat dilakukan melalui reaksi transesterifikasi dengan vitamin C terkatalis enzim *lipase* sehingga dapat meningkatkan daya antioksidan jika digunakan sebagai bahan aktif pada kosmetik.

Metode Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pengayak 50 mesh, oven Memmert, melting point Stuart Scientific, rotary vacuum evaporator, neraca analitik (Voyager ketelitian 0,1 mg), orbital shaker Yellow line, centrifus Centurion G.P. Series, GC-MS Shimadzu QP2010S, HPLC

Jasco LC-2000 plus series, Spektrofotometer FT-IR Shimadzu FT-IR 8201 PC. Bahan-bahan yang digunakan aseton, asam askorbat, *n*-heksana, kloroform, KOH, $\text{NH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, N_2HPO_4 , petroleum eter dengan kualitas *pro analyst* buatan Merck, kencur, jamur tiram, dan VCO.

Isolasi etil *p*-metoksisinamat dilakukan dengan cara menimbang 100 g serbuk kencur, kemudian dimaserasi dengan 200 mL pelarut *n*-heksana selama 48 jam pada oven dengan suhu 40°C kemudian dipisahkan residu kencur dan filtrat. Filtrat diuapkan dalam rotary vacuum evaporator dan didinginkan hingga terbentuk kristal. Selanjutnya direkristalisasi menggunakan pelarut petroleum eter hingga terbentuk kristal putih bersih. Hasil isolasi diidentifikasi menggunakan GC-MS dan FT-IR.

Ekstraksi enzim *lipase* dari 10 g jamur tiram dicucui dengan aquades hingga bersih. Selanjutnya diblender dengan menambahkan 48 mL aquades dan 2 mL buffer fosfat pH 7,0 sampai jamur tiram halus. Kemudian bubur yang diperoleh disentrifus pada 300 rpm selama 20 menit. Supernatan mengandung enzim *lipase* diambil dipisahkan dari residunya. Enzim *lipase* kemudian diuji aktivitasnya dengan metode Amatullah (2012) yang telah dimodifikasi.

Pengaruh variasi waktu pada reaksi transesterifikasi etil *p*-metoksisinamat dilakukan dengan cara 10 mmol (1,761 g) asam askorbat yang telah dilarutkan pada 1 mL ekstrak enzim *lipase* dan 2 mL buffer fosfat, kemudian ditambahkan 5 mmol (1,032 g) etil *p*-metoksisinamat, dicampur dan dilarutkan dalam 10 mL aseton. Dishaker dengan kecepatan 150 rpm selama 18, 36, 54, dan 72 jam pada suhu kamar. Hentikan aktivitas *lipase* dengan menaruhnya kedalam air mendidih selama 1 menit. Identifikasi struktur ester-C dilakukan dengan HPLC.

Pengaruh konsentrasi enzim pada reaksi transesterifikasi etil *p*-metoksisinamat dilakukan dengan cara menyiapkan 3 erlemeyer 100 mL masing-masing dimasukkan 10 mmol (1,761 g) asam askorbat yang telah dilarutkan pada 2 mL buffer fosfat, 5 mmol (1,032 g) etil *p*-metoksisinamat, ditambahkan enzim *lipase* dengan variasi 1; 1,5 ; dan 2 mL dicampur dan ditambahkan 10 mL aseton. Dishaker dengan kecepatan 150 rpm pada waktu 72 jam dan pada suhu kamar. Hentikan aktivitas *lipase* dengan menaruhnya kedalam air mendidih selama 1 menit. Identifikasi struktur ester-C dilakukan dengan HPLC dan FT-IR.

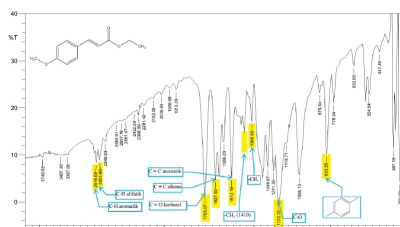
Hasil dan Pembahasan

Isolasi senyawa etil *p*-metoksisinamat dari 100 g serbuk rimpang kencur didapatkan kristal EPMS murni sebesar 7,782 g. Total randemen EPMS yang diperoleh sebanyak 7,78%. Berikut beberapa sifat fisik senyawa etil *p*-metoksisinamat disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat fisik etil *p*-metoksisinamat

No.	Sifat fisik	Keterangan
1	Bentuk	Kristal
2	Warna	Putih bening
3	Bau/Aroma	Harum seperti khas kencur
4	Titik leleh	47,5°C

Identifikasi FT-IR bertujuan mengetahui gugus fungsi yang ada pada senyawa etil *p*-Metoksisinamat. Hasil dari spektrum IR dari etil *p*-metoksisinamat dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Spektrum IR dari etil *p*-metoksisinamat.

Hasil interpretasi data spektrum IR dari etil *p*-metoksisinamat seperti ditunjukkan pada Tabel 2.

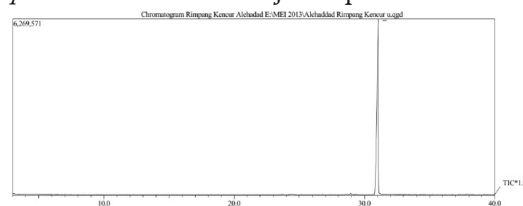
Tabel 2. Interpretasi data spektrum IR dari etil *p*-metoksisinamat.

No.	Gugus fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	
		Teoritik	Hasil FTIR
1	= C - H aromatik	3100 - 3000	2978,09
2	C - H alifatik	3000 - 2850	2931,80
3	C = O karbonil	1740 - 1705	1705,07
4	C = C alkena	1680 - 1600	1627,92
5	C = C aromatik	1600 - 1475	1512,19
6	- CH ₂ -	1475 - 1400	1419,61
7	- CH ₃	1400 - 1325	1365,60
8	C - O	1300 - 1000	1172,72
9	<i>p</i> -disubstitusi	860 - 800	833,25

Karakteristik ester pada senyawa etil *p*-metoksisinamat ditunjukkan dengan adanya serapan C=O karbonil pada bilangan gelombang 1705,07 cm⁻¹ dan serapan C-O muncul pada bilangan gelombang 1172,72 cm⁻¹. Sedangkan serapan C=C aromatik muncul pada bilangan gelombang 1512,19 cm⁻¹ untuk lebih mendukung hipotesis adanya gugus aromatik ditunjukkan munculnya serapan substitusi para dengan munculnya satu puncak pada bilangan gelombang 833,25 cm⁻¹.

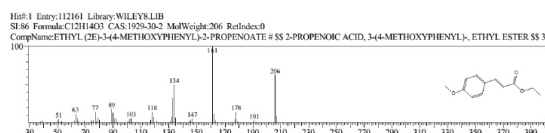
Identifikasi struktur etil *p*-metoksisinamat menggunakan kromatografi GC-MS bertujuan untuk mengetahui jumlah senyawa, kadar, rumus molekul, rumus struktur dan spektra massa senyawa. Hasil kromatografi GC dari etil

p-metoksisinamat ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kromatogram CG dari etil *p*-metoksisinamat.

Berdasarkan Gambar 2. muncul satu puncak pada waktu retensi 31,052 menit dengan luas area sebesar 48939183. Puncak ini diperkirakan puncak dari etil *p*-metoksisinamat hasil isolasi rimpang kencur dengan persentase relatif yang cukup tinggi mencapai 100%. Hal ini diperkuat hasil dari spektrum massa yang menunjukkan bahwa terlihat senyawa dengan $m/z = 206$ yang diperkirakan adalah etil *p*-metoksisinamat. Spektrum massa ini ditunjukkan pada Gambar 3.



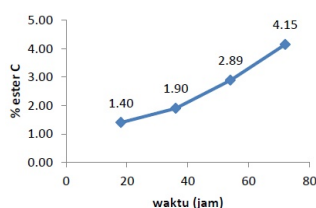
Gambar 3. Spektrum massa GC-MS dari etil *p*-metoksisinamat

Pola fragmentasi ini identik dengan pola fragmentasi yang telah diusulkan oleh Tanjung, sebagaimana dikutip oleh Taufikurohman dan Kusumwati (2007) yaitu m/z 191, 178, 161, 147, 134, 118, 103, 89, 77, 63, 51, dan 39.

Aktivitas enzim dapat ditentukan secara kualitatif dengan reaksi kimia yaitu dengan substrat yang dapat dihidrolisis oleh enzim tersebut, dan secara kuantitatif ditentukan dengan mengukur laju reaksi tersebut. Aktivitas enzim *lipase* mempunyai satuan unit (u). Satu unit aktivitas enzim *lipase* setara dengan 1 μ mol asam lemak bebas yang dihasilkan dari hidrolisis substrat yang dikatalisis oleh enzim *lipase* tiap satuan menit (Handayani; 2005). Dari titrasi VCO oleh KOH 0,0915 N diperoleh asam lemak bebas yang terhidrolisis sebesar 3,24% dengan aktivitas *lipase* sebesar 1,78 u/mL. Dapat disimpulkan bahwa enzim *lipase* yang diekstraksi dari jamur tiram dapat digunakan sebagai biokatalis dalam reaksi transesterifikasi.

Reaksi transesterifikasi etil *p*-metoksisinamat hasil isolasi rimpang kencur dilakukan dengan menggunakan asam askorbat pada suhu kamar dengan pelarut aseton dan variasi waktu selama 18, 36, 54, dan 72 jam. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan kromatografi

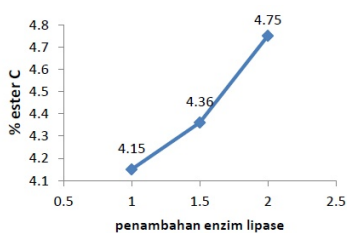
HPLC dan spektrometer FT-IR. Dari kromatogram HPLC dapat dibuat grafik pengaruh waktu terhadap persentase sintesis ester-C dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengaruh waktu terhadap persentase sintesis ester-C

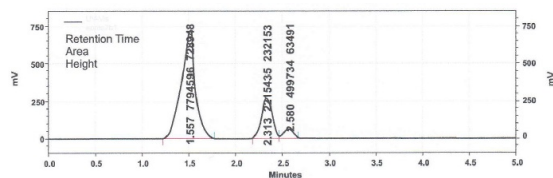
Gambar 4. menunjukkan bahwa semakin lama waktu yang digunakan dalam reaksi maka produk yang didapat akan semakin meningkat. Dengan begitu maka ditarik kesimpulan untuk waktu reaksi optimum dalam sintesis ester-C dari etil *p*-metoksisinamat yaitu pada waktu 72 jam dihasilkan ester-C sebesar 4,15% dengan luas area sebesar 442992.

Pengaruh variasi konsentrasi enzim yang digunakan pada penelitian ini yaitu 1; 1,5; dan 2 mL enzim *lipase* yang diekstrak dari jamur tiram dengan waktu 72 jam. Dari hasil kromatogram HPLC dapat dibuat grafik pengaruh konsentrasi enzim terhadap persentase sintesis ester-C dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pengaruh jumlah penambahan enzim terhadap sintesis ester-C

Berdasarkan Gambar 5. pada penambahan 2 mL enzim *lipase* memiliki persentase hasil sintesis ester-C yang paling tinggi yaitu 4,75%. Kromatogram HPLC dari sintesis ester-C penambahan 2 mL enzim *lipase* ditampilkan pada Gambar 6.

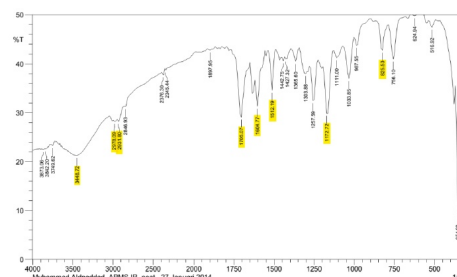


Gambar 6. Kromatogram HPLC konsentrasi penambahan 2 mL enzim

Berdasarkan Gambar 6. hasil kromatogram HPLC yang telah didapatkan dari penelitian terdapat 3 puncak. Setelah dilakukan uji sampel HPLC etil *p*-metoksisinamat muncul

pada waktu retensi 1,503 menit sedangkan vitamin C muncul pada waktu retensi 2,243 menit. Dari puncak-puncak tersebut diperkirakan puncak pada menit 2,580 merupakan puncak dari ester-C. Puncak ester-C akan muncul lebih lama dibandingkan puncak dari vitamin-C (Erviana; 2013).

Identifikasi gugus fungsi dari ester-C digunakan spektrofotometer FT-IR. Hasil dari spektrum IR sintesis ester-C dapat ditampilkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Spektrum IR dari ester-c *p*-metoksisinamat

Hasil interpretasi data spektrum IR dari etil *p*-metoksisinamat seperti ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Interpretasi data spektrum IR dari ester-C *p*-metoksisinamat

No.	Gugus fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	
		Teoritik	Hasil FTIR
1	- OH	3700 – 3000	3448,72
2	= C – H aromatik	3100 – 3000	2978,80
3	C – H alifatik	3000 – 2850	2931,09
4	C = O karbonil	1740 – 1705	1705,07
5	C = C alkena	1680 – 1600	1604,77
6	C = C aromatik	1600 – 1475	1512,19
7	- CH ₃	1400 – 1325	1365,60
8	- OCH ₃	1300 – 1235	1257,59
9	C – O	1300 – 1000	1172,72
10	<i>p</i> -disubstitusi	860 – 800	825,53

Berdasarkan interpretasi data spektrum IR diduga terdapat puncak baru yang sebelumnya tidak terdapat pada interpretasi data spektrum IR etil *p*-metoksisinamat. Puncak dengan bilangan gelombang 3448,72 cm⁻¹ menunjukkan adanya munculnya gugus -OH. Beberapa puncak juga mengalami pergeseran bilangan gelombang. Serapan C=C alkena mengalami pergeseran dari 1627,92 cm⁻¹ menjadi 1604,77 cm⁻¹. Dari hasil analisis perbandingan interpretasi dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil reaksi transesterifikasi etil *p*-metoksisinamat dengan asam askorbat adalah askorbil *p*-metoksisinamat.

Simpulan

Kadar etil *p*-metoksisinamat yang dihasilkan dari penelitian ini sebesar 100% dengan menggunakan instrumen GC-MS dan dengan rendemen sebesar 7,78%. Aktivitas enzim *lipase* dari ekstrak jamur tiram yang diperoleh sebesar 1,784% u/mL dengan kandungan asam lemak bebas sebesar 3,24%. Kondisi waktu terbaik

yang telah dicapai dalam penelitian ini adalah 72 jam diperoleh persen area ester C sebesar 4,15% dan jumlah penambahan enzim terbaik pada penambahan 2 mL dengan persen area ester C sebesar 4,75%.

Daftar Pustaka

- Afriastini, J. 2002. *Bertanam Kencur Edisi Revisi*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Amaturrahim, R.A. 2012. *Penentuan pH dan Suhu Optimum untuk Aktivitas Ekstrak Kasar Enzim Lipase dari Kecambah Biji Kelapa Sawit (Elaeis Guineensis Jacq) terhadap Hidrolisis RBDPO (Refined Bleached Deodorized Palm Oil)*. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Barus, R. 2009. *Amidasi Etil p-Metoksisinamat yang Diisolasi dari Kencur (Kaempferia galangal L.)*. Tesis. Pasca Sarjana Universitas Sumatera Utara. Medan
- Erviana, W. 2013. *Sintesis Ester-C Melalui Reaksi Transesterifikasi dengan Katalis Enzim Lipase*. Skripsi. Universitas Negeri Semarang. Semarang
- Haas, M.J., K.M. Scott., T.A. Foglia & W.M. Marmer, 2007, The General Applicability of Insitu Transesterification for The Production of Fatty Acid Ester from Variety of Feedstocks, *J.Am.Oil Chem. Soc.*, 84 (10): 963-970
- Handayani, R. 2005. *Transesterifikasi Ester Asam Lemak Melalui Pemanfaatan Teknologi Lipase*. LIPI. Bogor
- Rosita, S.M., D.O. Rostiana dan W. Haryudin. 2006. *Respon Kencur (Kaempferia Galanga Linn) Terhadap Pemupukan*. Prosiding Seminar Nasional dan Pameran Tumbuhan Obat Indonesia XXVIII
- Taufikurohmah, T. dan N. Kusumawati. 2007. *Sintesis Etil p-metoksisinamil p-Metoksisinamat Hasil Isolasi Rimpang Kencur*. Semnas kimia UNESA. Surabaya 5 Desember 2007: 285-358
- Yu, J., Jianshe Z., Ang Z. & Xiaofei M., 2008, Study of Glucose Ester Synthesis by Immobilized Lipase From *Candida* sp, *Catalysis Communications*, 9(5):1369-1374