



SINTESIS ASKORBIL LAURAT MELALUI REAKSI ESTERIFIKASI DENGAN KATALIS ENZIM LIPASE

Sri Puji Lestari*), Harjono dan Supartono

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

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

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Januari 2012
Disetujui Februari 2012
Dipublikasikan Agustus 2012

Kata kunci:
asam askorbat
askorbil laurat
esterifikasi
antioksidan

Abstrak

Antioksidan merupakan salah satu produk alami yang dapat ditemukan di alam namun penggunaannya relatif lebih terbatas karena sifatnya yang hidrofilik. Antioksidan alami perlu dimodifikasi melalui reaksi esterifikasi dengan asam lemak agar dapat digunakan dalam media lipofilik. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis asam askorbat laurat melalui reaksi esterifikasi dengan katalis enzim lipase dari biji wijen (*Sesamum indicum* L) dalam pelarut organik. Enzim lipase dari biji wijen dipreparasi dengan menghaluskan biji wijen yang telah dikeringkan terlebih dahulu pada temperatur 40°C. Variabel dalam penelitian sintesis askorbil laurat ini adalah waktu (12 jam, 18 jam, 24 jam), temperatur (40°C, 50°C, 60°C), rasio mol (4 : 1; 8 : 1; 12 : 1; asam askorbat : asam laurat) dan pH reaksi (pH 6 dan pH 7). Yield yang tinggi dihasilkan pada waktu reaksi 18 jam, temperatur 50°C, rasio mol 4 : 1 (asam askorbat : asam laurat), dan pH reaksi 7 adalah 44,36 %. Identifikasi asam laurat yang bereaksi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan kurva kalibrasi standar. Identifikasi gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa askorbil laurat menggunakan spektrofotometer FT-IR dan uji kemurnian dengan TLC.

Abstract

Antioxidants are one of the natural product, but its use is relatively limited because it is hydrophilic. Natural antioxidants need to modify for increasing their solubility in lipophilic medium by esterification. This study aims to synthesize lauric ascorbic acid over esterification reaction with lipase catalyst from sesame seeds (*Sesamum indicum* L) in organic solvents. Lipase prepared from dried sesame seeds at temperature of 40°C. Variable in this research is conducted time (12 hours, 18 hours, 24 hours), temperature (40°C, 50°C, 60°C), mole ratio (4 : 1; 8 : 1; 12 : 1; ascorbic acid: lauric acid) and pH (pH 6 and pH 7). High yields was produced at 18-hour reaction time, temperature 50°C, mole ratio of 4:1 (ascorbic acid: lauric acid) and pH 7 with 44.362% value. Identification of lauric acid that reacts performed using UV-Vis spectrophotometer Shimadzu by measuring standard solution of lauric acid. The result linear equation $y = 51.86 x$. Identification of the functional groups in compounds of ascorbyl laurate with Shimadzu FT-IR spectrophotometer and purity test by TLC.

Pendahuluan

Peningkatan kepedulian manusia pada kesehatan dan lingkungan mengakibatkan kebutuhan terhadap produk alami dan ramah lingkungan semakin meningkat. Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menghambat oksidasi pada makanan atau kosmetik yang memiliki kandungan minyak yang sensitif (Viklund et al., 2003). Produk antioksidan terdapat dalam bentuk alami, semisintetik dan sintetik. Persyaratan umum antioksidan agar dapat digunakan dalam produk yang mengandung lemak antara lain: (a) antioksidan tersebut harus lipofilik dan tidak mengubah rasa, aroma serta warna produk (b) antioksidan atau hasil degradasinya tidak merusak keadaan fisiologis produk (Karmee, 2009).

Antioksidan sintetik atau buatan umumnya digunakan untuk mencegah oksidasi yang dapat menyebabkan ketengikan pada produk minyak dan makanan yang mengandung minyak (Yandri, 2006). Antioksidan buatan memiliki cakupan penggunaan yang lebih luas seperti butylated hydroxyl anisole (BHA), butylated hydroxy toluene (BHT), propyl gallate (PG) dan t-butyl hydroquinone (TBHQ). Antioksidan sintetik perlu pemurnian yang ekstensif sebelum digunakan karena adanya pelarut organik, katalis dan starting material yang digunakan pada saat sintesis. Penggunaan antioksidan sintetik perlu diperhatikan karena dapat terbentuk senyawa toksik akibat degradasi pada kondisi tertentu (Karmee, 2009). Antioksidan alami berupa vitamin seperti tokoferol dan asam askorbat lebih aman dan efisien untuk memperlambat oksidasi pada bahan makanan dibandingkan dengan antioksidan sintetik. Antioksidan alami terbukti tidak berbahaya tetapi penggunaannya terbatas hanya pada beberapa produk (Yanishlieva & Maslarova, 2001).

Antioksidan alami seperti asam askorbat larut dalam air dengan kelarutan 200 g/L pada temperatur 25°C (Song et al., 2006). Asam askorbat yang tidak larut dalam minyak perlu dimodifikasi melalui reaksi esterifikasi atau transesterifikasi dengan asam lemak membentuk senyawa ester askorbil asam lemak agar dapat larut dalam minyak (Song et al., 2004). Ester askorbil asam lemak memiliki sifat yang tidak mengubah rasa, aroma dan warna pada produk makanan atau kosmetik (Karmee, 2009).

Senyawa antioksidan semisintetik ester

askorbil asam lemak seperti askorbil palmitat disintesis dari asam lemak jenuh rantai panjang (Viklund et al., 2003). Asam lemak jenuh rantai panjang kurang baik jika dikonsumsi oleh tubuh secara terus-menerus. Penggunaan asam palmitat dalam sintesis ester askorbil asam lemak dapat digantikan oleh asam lemak jenuh rantai sedang yang memiliki peran dalam menjaga kesehatan (Hermiati et al., 2008). Asam laurat merupakan asam lemak dengan jumlah atom karbon dua belas yang dapat diterima oleh tubuh karena memiliki aktivitas sebagai antimikroba, antivirus dan antiprotozoa yang dapat meningkatkan kekebalan tubuh seperti memberikan perlindungan dari virus HIV dan herpes serta berbagai bakteri patogen (Widiyarti & Hanafi, 2008), sehingga penggunaan asam laurat dalam sintesis ester askorbil asam lemak dapat meningkatkan nilai dari ester askorbil asam lemak.

Ester askorbil asam lemak yang disintesis dengan menggunakan katalis asam atau basa menghasilkan produk yang sedikit karena reaksi nonregioselektif. Reaksi esterifikasi dengan katalis asam umumnya terjadi pada temperatur yang tinggi sehingga mengakibatkan asam askorbat teroksidasi dan terdegradasi (Karmee, 2008). Permasalahan tersebut yang mendorong sintesis ester askorbil asam lemak perlu dilakukan dengan menggunakan katalis yang lebih aman dan tidak merusak asam askorbat yang digunakan.

Pada penelitian ini modifikasi asam askorbat dilakukan melalui reaksi esterifikasi dengan katalis enzim karena reaksi dapat berlangsung pada temperatur yang lebih rendah dan lebih regioselektif. Tujuan penelitian adalah untuk mensintesis asam askorbat laurat melalui reaksi esterifikasi dengan katalis enzim lipase dari biji wijen (*Sesamum indicum* L.) dalam pelarut organik.

Metode Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah neraca analitik, labu leher tiga, magnetik stirrer, pemanas listrik, pendingin bola, termometer, stopwatch, oven, bejana pengembang, spektrofotometer UV-Vis Shimadzu, spektrofotometer FT-IR Shimadzu. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: asam laurat, asam askorbat, t-butanol buatan Merck, enzim lipase biji wijen (lokal), minyak VCO, buffer fosfat (pH 6, 7 dan 7,5), n-heksana, akuabides, kertas indikator universal, kloroform, metanol, asam asetat, plat silika gel.

Enzim lipase diperoleh dari serbuk biji wijen yang sebelumnya telah dilakukan preparasi seperti yang dilakukan pada Arbianti et al. (2008). Enzim lipase diperoleh dari biji wijen yang dicuci dengan air distilasi (aquabides) sehingga benar-benar bersih dan steril. Biji wijen yang telah dibersihkan tersebut dikeringkan dalam oven dengan suhu 30-40°C selama 8 jam agar kandungan air yang ada dalam biji wijen tersebut berkurang. Biji wijen tersebut dihaluskan dengan menggunakan blender sampai menjadi serbuk dan diayak (50 mesh). Enzim lipase yang dihasilkan digunakan sebagai katalis dalam reaksi sintesis askorbil laurat.

Uji aktivitas enzim lipase diawali dengan pembuatan kurva kalibrasi asam laurat. Kurva kalibrasi asam laurat dibuat dengan beberapa variasi konsentrasi asam laurat. Konsentrasi yang dibutuhkan adalah antara 0; 3,5; 7; 10,5; 14 dan 17,5 ($\times 10^{-3}$ M). Variasi konsentrasi larutan tersebut dibuat dengan menggunakan larutan standar asam laurat 0,007 M, larutan tersebut diambil sebanyak 0; 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 mL lalu diencerkan dengan n-heksana sampai 10 mL. Selanjutnya campuran diambil 4 mL dan ditambahkan reagen tembaga (II) asetat 5% sebanyak 1 mL lalu diaduk 1 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 744 nm (Yuneta, 2009).

Penentuan aktivitas enzim lipase berdasarkan Yuneta (2009) termodifikasi. Serbuk biji wijen yang telah halus dioven pada suhu 120°C selama 1 jam untuk menonaktifkan enzim lipase. Minyak VCO sebanyak 2 mL, ditambahkan dengan 1 mL buffer fosfat pH 7,5; 0,5 mL CaCl_2 0,1 M dan 1 gram enzim (enzim aktif dan non aktif). Campuran dipanaskan pada suhu 40°C dan diaduk dengan kecepatan 160 rpm selama 30 menit. Campuran tersebut selanjutnya ditambahkan 1 mL larutan HCl 1 N dan 5 mL n-heksana. Campuran dikocok dan lapisan atas diambil sebanyak 4 mL, kemudian ditambahkan 1 mL reagen tembaga (II) asetat 5% dan diaduk 1 menit. Campuran diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 744 nm.

Pembentukan ester askorbil laurat dilakukan melalui reaksi esterifikasi antara asam askorbat dan asam laurat dengan katalis enzim lipase dalam pelarut t-butanol. Reaksi esterifikasi askorbil laurat dilakukan dengan mereaksikan asam askorbat dan asam laurat dengan rasio perbandingan mol antara asam

askorbat dan asam laurat (4:1) dengan menambahkan enzim lipase serbuk biji wijen sebanyak 70% dari substrat dalam 50 ml t-butanol dan buffer fosfat 7 sebanyak delapan tetes. Campuran reaksi diaduk dengan kecepatan 200 rpm menggunakan magnetik stirrer dalam labu leher tiga pada temperatur 40°C selama 24 jam. Campuran hasil reaksi sebanyak 1 mL ditambahkan 5 mL aquades dan 5 mL n-heksana, kocok selama 1 menit. Asam laurat sisa reaksi yang larut dalam n-heksana dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu. Hasil pengujian spektrofotometer Vis-Vis Shimadzu dapat dianalisis dan dibuat grafik hubungan antara kadar asam laurat dengan waktu reaksi (Arbianti et al., 2008; Yan, 2001).

Pemurnian produk diadaptasi dari hasil penelitian Bradoo, et al. (1999) termodifikasi. Campuran reaksi dipisahkan dari enzim biji wijen dengan menyaring campuran. Filtrat yang dihasilkan berupa campuran asam askorbat, asam laurat, produk reaksi berupa askorbil laurat, air dan pelarut. Pelarut dihilangkan dengan mengevaporasi campuran, sehingga menyisakan asam askorbat, asam laurat dan askorbil laurat. Kedalam campuran tersebut ditambahkan kloroform 15 mL. Kloroform melarutkan ester askorbil laurat dan asam laurat. Campuran tersebut di saring, dan filtratnya diuapkan kembali dan akan didapatkan ester askorbil laurat. Untuk mengetahui gugus fungsi dan kerangka struktur dari produk yang dihasilkan digunakan spektrofotometer FT-IR. Sedangkan untuk mengetahui kemurnian dilakukan uji dengan TLC.

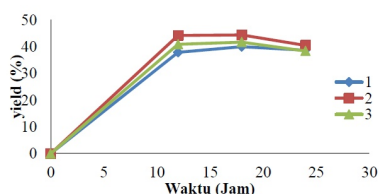
Analisis kualitatif hasil reaksi didasarkan Adamczak et al. (2006) dengan metode TLC. Eluen untuk pengembangan pertama yang digunakan merupakan campuran antara kloroform/metanol/asam asetat (48/1,5/0,5; v/v/v). Pada pengembangan kedua digunakan kloroform/metanol (18/2, v/v). Senyawa – senyawa ditunjukkan atau menyempatkan 5% larutan H_2SO_4 dalam pelarut etanol dan dipanaskan selama 10 menit dalam temperatur 100°C atau dengan menggunakan sinar UV.

Hasil dan Pembahasan

Enzim lipase dalam penelitian ini dihasilkan dari biji wijen. Arbianti, et al. (2008) telah melakukan penelitian menggunakan enzim lipase dari biji wijen untuk mempercepat reaksi esterifikasi antara gliserol dan asam laurat. Lipase dapat digunakan sebagai biokatalisator

reaksi hidrolisis dari trigliserida menjadi asam lemak bebas (Handayani & Sulisty, 2005). Pada reaksi hidrolisis digunakan trigliserida dari Virgin Coconut Oil (VCO). Penonaktifan enzim dilakukan dengan cara memanaskan serbuk biji wijen dalam oven pada suhu 120°C selama satu jam, pada suhu tersebut enzim telah nonaktif karena mengalami denaturasi protein. Konsentrasi asam laurat setelah inkubasi 30 menit pada enzim yang aktif adalah 2,967 $\mu\text{mol/mL}$ sedangkan pada enzim nonaktif sebesar 1,021 $\mu\text{mol/mL}$, selisih konsentrasi asam laurat yang dihasilkan menunjukkan adanya aktivitas enzim lipase. Satu unit aktivitas hidrolisis lipase dinyatakan sebagai jumlah enzim lipase dalam biji wijen yang menghasilkan 1 μmol asam laurat per menit. Aktivitas enzim lipase biji wijen dalam reaksi hidrolisis trigliserida VCO menjadi asam laurat sebesar 0,454 unit/gram biji wijen.

Reaksi esterifikasi untuk mensintesis askorbil laurat dilakukan dengan memvariasi waktu reaksi, temperatur reaksi, rasio mol reaksi, dan pH reaksi. Waktu reaksi mempengaruhi jumlah konversi ester yang dihasilkan. Berdasarkan waktu reaksi esterifikasi untuk tiap variasi memiliki kecenderungan pada waktu reaksi 24 jam jumlah asam laurat mengalami peningkatan dan pada waktu 18 jam menghasilkan senyawa askorbil laurat terbesar yang ditunjukkan dengan jumlah asam laurat yang bereaksi lebih banyak seperti pada Gambar 1.

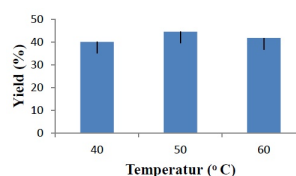


Gambar 1. Pengaruh waktu reaksi pada yield askorbil laurat pada tiap temperature (1 = 40°C, 2 = 50°C, 3 = 60°C)

Pada reaksi esterifikasi 24 jam jumlah asam laurat kembali meningkat hal tersebut menunjukkan bahwa adanya reaksi hidrolisis senyawa askorbil laurat. Reaksi hidrolisis lebih dominan dibandingkan dengan reaksi esterifikasi dengan adanya peningkatan jumlah air yang dihasilkan pada reaksi dengan katalis enzim lipase. Kinerja enzim dalam media pelarut organik dipengaruhi oleh aktivitas air, yaitu aktivitas air yang tinggi mengurangi hasil reaksi dengan adanya hidrolisis ester yang dihasilkan. Laju reaksi dan konversi yang tinggi dapat dicapai dengan cara menghilangkan air

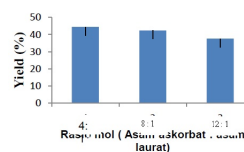
(Adamczak et al., 2005).

Temperatur reaksi sangat berpengaruh terhadap sintesis asam askorbat ester. Pengaruh temperatur reaksi yaitu mempengaruhi kelarutan dari asam askorbat dan menaikkan laju reaksi pada sintesis ester. Reaksi esterifikasi dengan variasi temperatur 40°, 50° dan 60°C dihasilkan asam laurat yang bereaksi berturut-turut 1,999 x 10⁻² M; 2,393 x 10⁻² M dan 2,143 x 10⁻² M dengan konversi yield berturut – turut 40%; 44,4% dan 41,7% seperti pada Gambar 2. Berdasarkan hasil reaksi pada temperatur 40°C, 50°C dan 60°C menunjukkan bahwa temperatur terbaik untuk reaksi esterifikasi antara asam askorbat dengan asam laurat oleh enzim lipase biji wijen (*Sesamun indicum*) pada temperatur 50°C. Enzim lipase yang berasal dari biji wijen ini cenderung lebih stabil pada temperatur 50°C jika dibandingkan dengan reaksi pada temperatur 40°C dan 60°C. Pada suhu 40°C jumlah ester askorbil laurat yang dihasilkan lebih sedikit karena enzim kurang aktif. Reaksi esterifikasi pada suhu 60°C dihasilkan ester yang lebih sedikit karena protein enzim lipase mengalami denaturasi yang mengakibatkan stabilitas dan aktivitas enzim menurun. Berdasarkan hasil tersebut meningkatnya temperatur reaksi dapat meningkatkan aktivitas enzim tetapi pada temperatur yang tinggi dapat mendenaturasi enzim.



Gambar 2. Pengaruh temperatur pada yield askorbil laurat

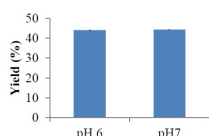
Pada penelitian ini rasio mol yang digunakan dalam reaksi esterifikasi antara asam askorbat dengan asam laurat adalah 4 : 1; 8 : 1 dan 12 : 1 dengan asam laurat yang bereaksi berturut-turut 2,393 x 10⁻² M; 2,210 x 10⁻² M dan 1,806 x 10⁻² M dengan konversi yield berturut-turut 44,4%; 42,4% dan 37,6%. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui rasio mol terbaik untuk sintesis askorbil laurat dengan lipase dari biji wijen adalah 4 : 1 (asam askorbat : asam laurat) seperti pada Gambar 3.



Gambar 3. Pengaruh rasio mol pada yield askorbil laurat

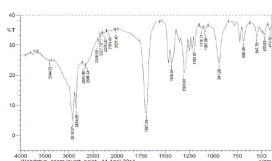
Pada rasio mol yang tinggi konversi yield mengalami penurunan. Penurunan konversi yield tersebut terjadi karena adanya inhibisi substrat. Konsentrasi asam askorbat yang berlebih mengakibatkan tidak adanya aktivitas air dalam sistem sehingga mengganggu stabilitas dari konformer aktif enzim. Pada Yan (2001) konversi yield mengalami peningkatan dari 50%, 65% dan 76% dengan rasio mol 1:1; 1,5:1; 2:1 (asam askorbat : asam laurat), sedangkan pada rasio mol 3:1 (asam askorbat : asam laurat) yield menurun menjadi 75%.

Pada penelitian ini sintesis askorbil laurat dilakukan pada pH 6 dan 7 dengan konsentrasi asam laurat yang bereaksi $2,364 \times 10^{-2}$ M dan $2,392 \times 10^{-2}$ M dengan konversi yield 44,1% dan 44,4%. Esterifikasi pada pH 6 tidak menunjukkan hasil yang maksimal dimana asam laurat yang bereaksi hanya sedikit jika dibandingkan dengan esterifikasi pada 7 seperti pada Gambar 4. Reaksi pada pH 7 menunjukkan asam laurat yang bereaksi dengan asam askorbat lebih banyak dibandingkan dengan reaksi pada pH 6. Berdasarkan hasil tersebut lipase dari biji wijen (*Sesamun indicum*) menunjukkan aktifitas yang lebih aktif pada pH 7. Aktivitas dari lipase tergantung pada pH. Beberapa lipase lipase stabil pada rentang pH tertentu. Lipase umumnya stabil pada atau mendekati pH netral, beberapa stabil pada rentang pH antara 4 sampai 8 (Rajendran et al., 2006).

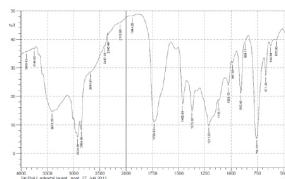


Gambar 4. Pengaruh pH pada yield askorbil laurat

Karakterisasi produk ester askorbil laurat pada penelitian ini dilakukan dengan spektrofotometer FT-IR Shimadzu. Gambar 5 dapat dicermati spektra IR dari asam laurat dan pada Gambar 6 dapat dicermati spektra IR askorbil laurat dalam pelarut kloroform. Data dua spektra tersebut dapat dibandingkan serapan – serapan gugus fungsi asam laurat sebelum dan sesudah mengalami reaksi esterifikasi dengan asam askorbat yang dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 5. Spektrum IR senyawa asam laurat



Gambar 6. Spektrum IR askorbil laurat dalam kloroform

Tabel 1. Interpretasi data spektra IR asam laurat dan askorbil laurat

No	Bilangan Gelombang cm^{-1}		Intensitas	Keterangan
	Asam laurat	Askorbil laurat		
1	3394,72 – 2646,34	-	Lemah	-COOH
2	-	3410,15	Melebar	-OH
2	2916,37	2924,09	Kuat	CH alkana
3	1697,36	1735,93	Kuat	C=O
4	1435,04	1465,90	Sedang	-CH ₂
5	1373,32	1373,32	Sedang	-CH ₃
6	1211,30	1211,30	Sedang	-CO-

Penentuan kemurnian senyawa askorbil laurat dengan menggunakan metode TLC (Thin Layer Chromatography) dua dimensi. Pengembangan pertama dengan menggunakan eluen kloroform/metanol/asam asetat (24/0,75/0,25; v/v/v), pada pengembangan kedua dengan menggunakan eluen kloroform/metanol (18/2, v/v). Hasil pengembangan tersebut hanya terdapat satu spot senyawa, hal tersebut menunjukkan bahwa metode pemurnian dengan kloroform menghasilkan satu senyawa. Spot pada hasil pengembangan pertama menghasilkan nilai Rf 0,85. Spot pada pengembangan pertama ditunjukkan dengan menyinari sinar UV pada plat silika gel dan pada pengembangan kedua plat silika gel disemprot dengan menggunakan 5% larutan H₂SO₄ dalam pelarut etanol kemudian dioven pada temperatur 100oC selama 10 menit. Pada penelitian Yan (2001) produk askorbil laurat menghasilkan nilai Rf 0,75 dengan menggunakan eluen etilasetat/metanol/air (80/20/5, v/v/v).

Simpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan menunjukkan bahwa konversi yield yang optimum dihasilkan pada waktu reaksi 18 jam, temperatur reaksi 50°C, rasio mol 4 : 1 (asam askorbat : asam laurat) dan pH reaksi 7 dengan konversi yield sebesar 44,4 %.

Daftar Pustaka

- Adamczak M., U.T. Bornscheuer, W. Bednarski. 2005. Synthesis of ascorbyl oleate by immobilized *Candida antarctica* lipase. *Proses Biochemistry*. 40 : 3177-3180.
- Arbianti R., T. S. Utami, H. Hermansyah, W. Handayani. 2008. Pemanfaatan biji wijen sebagai sumber enzim lipase untuk reaksi esterifikasi gliserol- asam laurat pada pembuatan agen pengemulsi. *Prosiding Semnas rekayasa kimia & proses*. 1411-

- 4216.
- Bradoo S., R. K. Saxena, R. Gupta. 1999. High yield of ascorbyl palmitate by thermostable lipase-mediated esterification. *JAACS*. 76 (11).
- Karmee S.K.. 2009. Biocatalytic synthesis of ascorbyl esters and their biotechnological applications. *Appl Microbiol Biotechnol*. 81:1013–1022.
- Song Q.X., D.Z. Wei, W.Y. Zhou, W.Q. Xu, S.L. Yang. 2004. Enzymatic synthesis and antioxidant properties of L-ascorbyl oleate and L-ascorbyl linoleate. *Biotechnology Lett*. 26: 1777-1780.
- Song Q.X., Y. Zhao, W.Q. Xu, W.Y. Zhou, D.Z. Wei. 2006. Enzymatic synthesis of L-ascorbyl linoleate in organic media. *Bioprocess Biosyst eng*. 28: 211-215.
- Viklund F., J. Alander, K. Hult. 2003. Antioxidative properties and enzymatic synthesis of ascorbyl FA ester. *J. Am Oil Chem Soc*. 80(8):795-799.
- Widiyarti G., M. Hanafi. 2008. Pengaruh konsentrasi katalis dan perbandingan molaritas reaktan pada sintesis senyawa α -monolaurin. *Reactor*. 12(2): 90-97.
- Yan Y. 2001. Enzymatic production of sugar fatty acid esters. Disertasi. Germany. Stuttgart University.
- Yandri A. S. 2006. Zat aditif. Makalah seminar kimia expo X. Lampung : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lampung.
- Yanishslieva N.V., Maslarova. 2001. Inhibiting oxidation. Sofia : Woodhead Publishing Ltd.
- Yuneta R. 2009. Pengaruh suhu pada lipase dari bakteri *Bacillus subtilis*. Skripsi. Surabaya. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember.