

**KAJIAN KARAKTERISTIK FUNGSIONAL PRODUK ETANOLISIS
CAMPURAN CPO (*CRUDE PALM OIL*) DAN PKO (*PALM KERNEL OIL*) PADA
REAKSI ETANOLISIS TINGKAT DUA**

[The Study of functional characteristics of ethanolysis product of CPO (Crude Palm Oil) and PKO (Palm Kernel Oil) mixture at level two ethanolysis reaction]

Fizzaria Khasbullah¹⁾, Murhadi²⁾ dan Suharyono A.S.²⁾

- ¹⁾ Mahasiswa Program Magister Teknologi Industri Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung
²⁾ Dosen Program Magister Teknologi Industri Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung

ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the concentration of NaOH and ethanol containing NaOH to the weight of the media on level two ethanolysis reaction CPO-PKO mixture that produces the highest of antimicrobial activity, emulsifying properties and to investigate the distribution patterns of glyceride compounds. The treatments were ratio of ethanol containing NaOH to the weight of the media of level two ethanolysis reaction of CPO-PKO mixture, which were 1,20; 1,60 and 2,00 (v/w) and NaOH concentration to the weight of the media of ethanolysis reaction CPO-PKO mixture level two is 0,75; 1,0 and 1,25% (w/w). The results showed that the highest treatment was on treatment with ethanol at a ratio of 1,20 with NaOH concentration of 0,75%. The antimicrobial activities of *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium* and natural microbial culture were 12,36%, 16,76 mm, 20,75 mm, 12,98 mm, and the highest emulsion stability power was found on 6% and 16,04% concentration. The level two ethanolysis product of CPO-PKO mixture showed a uniform distribution pattern on the the TLC plates in a row from the nearest to the farthest was the MG, DG, ALB and TG with Rf value of 0,03; 0,15; 0,43 and 0,74.

Keywords: CPO (Crude Palm Oil), ethanolysis, PKO (Palm Kernel Oil),

Diterima : 21 Agustus 2012
Disetujui : 12 September 2012

Korespondensi Penulis :
murhadi_thp@unila.ac.id

PENDAHULUAN

Penganekaragaman produk turunan dari kombinasi CPO dan PKO belum optimal dan berkelanjutan, sehingga Indonesia cenderung hanya mengeksport bahan primer olahan buah sawit baik dalam bentuk CPO dan atau PKO saja. Menurut Badan Pusat Statistik pada Tahun

2010 produksi minyak sawit mencapai angka 14.290.054 ton, sedangkan produksi inti sawit mencapai angka 3.240.061 ton (Anonim, 2012).

Salah satu bentuk modifikasi minyak yang mulai banyak diteliti adalah MG (monogliserida) yang merupakan produk hidrolisis TG (trigliserida) minyak yang digunakan secara luas sebagai bahan

pengemulsi (*emulsifier*) dalam industri makanan. Salah satu metode produksi M-DG (mono-digliserol) dari CPO yang cukup potensial adalah dengan reaksi etanolisis (Hasanuddin *et al.*, 2003). Etanolisis adalah reaksi antara minyak (TG) dengan pelarut etanol 95% yang telah mengandung katalis basa (NaOH 1%, b/b minyak) selama beberapa menit (8 menit) pada suhu ruang sampai 40°C dan diaduk secara mekanis hingga dihasilkan produk etanolisis yang mengandung MG (Murhadi, 2010a).

Menurut penelitian Murhadi *et al.* (2012) nilai rendemen produk tertinggi dari etanolisis kasar campuran PKO-CPO, terdapat pada nisbah 1,5 (b/b) dengan nilai sebesar 61,67%, relatif sama pada nisbah 1,205; 1,75 dan 2,000 (b/b) dan stabilitas emulsi tertinggi sebesar 13,39% terdapat pada nisbah 1,205 (b/b), sedangkan berdasarkan laporan Nendela *et al.* (2012) rendemen produk etanolisis campuran CPO-PKO (nisbah 0,8; b/b) tingkat 1, 2 dan 3 memiliki hasil yang relatif sama antara 32,73-45,81% dan menghasilkan rendemen total hingga 72,91%. Produk etanolisis campuran CPO-PKO pada tingkat dua memiliki daya stabilitas emulsi sebesar 9,70% dan juga memiliki net diameter zona hambat sebesar 14,31 mm terhadap *Escherichia coli* dan memiliki net diameter zona hambat sebesar 19,23 mm terhadap *Staphylococcus aureus*.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, etanolisis campuran CPO-PKO pada tingkat dua masih memiliki potensi dalam hal aktivitas antimikroba dan stabilitas emulsi. Oleh karena itu dalam penelitian ini perlu dikaji rendemen, nilai aktivitas antimikroba dan stabilitas emulsi yang tertinggi dari perlakuan konsentrasi NaOH dan nisbah etanol 96%-

NaOH terhadap berat media reaksi etanolisis kasar campuran CPO-PKO tingkat dua serta pengamatan pola sebaran komponen atau senyawa gliserida dalam produk etanolisis tersebut.

Tujuan penelitian ini adalah menentukan konsentrasi NaOH dan nisbah pelarut etanol 96% yang telah mengandung NaOH terhadap berat media reaksi etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua yang menghasilkan antimikroba dan sifat pengemulsi tertinggi serta mengetahui pola sebaran komponen atau senyawa gliserida produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah CPO segar dan inti sawit yang diperoleh dari PTPN VII (Persero) Unit Usaha Bekri Kecamatan Bekri Lampung Tengah dan bahan pangan emulsi (santan kelapa segar) untuk uji daya stabilitas emulsi (o/w) produk etanolisis CPO-PKO. Bahan kimia yang digunakan untuk reaksi etanolisis adalah etanol 96%, etanol teknis, NaOH, HCl 35%, heksan p.a., lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄, dietil eter, asam formiat, dan iodium. Kultur mikroba yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bakteri Gram positif (*Bacillus cereus*), bakteri Gram negatif (*Salmonella typhimurium*) dan kultur mikroba alami (KMA). Media yang digunakan adalah NA (*Nutrient Agar*), NB (*Nutrient Broth*), dan NaCl. Alat-alat yang digunakan terdiri dari *hotplate stirrer*, oven, Erlenmeyer, timbangan, termometer, *separating funnel* (labu pemisah), *sentrifuge*, *chamber glass*, *vorteks*, jangka sorong, cawan petri, dan alat-alat gelas penunjang.

Metode Penelitian

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian deskriptif yang terdiri dari 2 faktor dan 3 ulangan. Hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel dan atau grafik, kemudian dianalisis secara deskriptif. Pada 3 ulangan tersebut akan diambil 2 ulangan terbaik. Faktor perlakuan pertama adalah nisbah pelarut etanol 96% yang telah mengandung NaOH terhadap berat media reaksi etanolisis (N), yaitu 1,20 (N1); 1,60 (N2) dan 2,00 (N3; v/b). Faktor kedua adalah konsentrasi NaOH terhadap berat media reaksi etanolisis (K), yaitu 0,75% (K1); 1,00% (K2); dan 1,25% (K3; b/b).

Persiapan Bahan Utama

Bahan utama CPO segar disaring (kertas saring kasar), sehingga dihasilkan CPO yang jernih dan bebas kotoran, dioven 80°C sehari semalam, lalu dikemas di dalam botol berwarna dan bertutup. PKO diperoleh dari daging buah inti sawit yang masih segar. Inti sawit dihancurkan dalam ukuran yang kecil-kecil dengan cara menumbuk, diekstraksi dengan cara maserasi selama 3 x 24 jam dalam pelarut heksan p.a. (1:2; b/v), selanjutnya dilakukan proses penyaringan, sehingga dihasilkan filtrat, dihilangkan pelarutnya (heksan) menggunakan *rotavapor*, dioven 80°C hingga diperoleh berat konstan. PKO yang dihasilkan lalu dikemas di dalam botol berwarna dan bertutup (Murhadi dan Zuidar, 2009 dengan modifikasi).

Produksi Produk Etanolisis Campuran CPO-PKO Tingkat Satu

Etanolisis campuran CPO-PKO tingkat satu bertujuan untuk mendapatkan bahan media reaksi yang akan digunakan pada etanolisis tingkat dua. Reaksi

etanolisis tersebut dilakukan mengikuti metode Hasanuddin *et al.* (2003); Murhadi dan Suharyono (2008); Lestari dan Murhadi (2008); Murhadi (2010b) dengan modifikasi. Sejumlah 256 mL etanol 96% yang telah mengandung NaOH 1% (b/b CPO dan PKO) ditambahkan 160 g CPO-PKO (0,8; b/b) di dalam Erlenmeyer 1000 mL dengan total volume reaksi etanolisis kurang lebih 416 mL (nisbah 1,60; v/b), lalu diletakkan di atas *hotplate stirrer* dengan kecepatan putar 1000 rpm selama 8 menit pada suhu reaksi etanolisis 40°C. Setelah etanolisis selesai, ke dalam media etanolisis tersebut ditambahkan 42 tetes larutan HCl 35%, diaduk 1 menit, lalu dipisahkan di dalam labu pemisah, diamkan selama 60 menit, sehingga telah terlihat jelas pemisahan antar lapisan. Lapisan atas dipisahkan dari lapisan bawah (media sisa), lapisan atas disebut produk etanolisis. Lapisan bawah dicuci dengan akuades dalam labu pemisah hingga lapisan bawah (pelarut) menjadi jernih, kemudian dioven 80°C hingga berat konstan, lalu ditimbang untuk mengetahui berat sisa media campuran CPO-PKO pada etanolisis tingkat satu.

Etanolisis Campuran CPO-PKO Tingkat Dua

Reaksi etanolisis tingkat dua ini mengikuti metode Nendela *et al.* (2012) dengan modifikasi. Prosedur etanolisis tingkat dua relatif sama dengan prosedur etanolisis tingkat satu. Sejumlah etanol 96% (nisbah sesuai perlakuan, v/b) yang telah mengandung NaOH (konsentrasi sesuai perlakuan; %, b/b) ditambahkan 70 g sisa media reaksi (etanolisis campuran CPO-PKO tingkat satu) di dalam Erlenmeyer 500 mL, diletakkan di atas *hotplate stirrer* dengan kecepatan putar

1000 rpm selama 8 menit pada suhu reaksi etanolisis 40°C. Setelah etanolisis selesai, ke dalam media etanolisis tersebut ditambahkan larutan HCl 35% (sesuai perlakuan konsentrasi NaOH). Hasil reaksi etanolisis tersebut dimasukkan ke dalam labu pemisah dan dibiarkan selama 30-45 menit, sehingga telah terlihat jelas pemisahan antar lapisan. Lapisan atas (produk etanolisis) dipisahkan dari lapisan bawah (sisa media reaksi etanolisis tingkat dua) untuk digunakan pada masing-masing perlakuan dan ulangan percobaan. Masing-masing lapisan atas dari semua perlakuan sebagai produk etanolisis tingkat dua, diamati daya antimikroba dan daya stabilitas emulsinya (o/w), serta analisis pola sebaran (nilai Rf) komponen atau senyawa gliserida produk etanolisis tingkat dua menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

Analisis Rendemen Produk Etanolisis Campuran CPO-PKO

Rendemen produk etanolisis yang dihasilkan, dihitung dengan cara membagi berat (g) produk etanolisis dari campuran CPO-PKO dengan berat (g) awal bahan utama campuran CPO-PKO yang direaksikan, lalu dikali 100%. Berat masing-masing produk etanolisis dari campuran CPO-PKO dihitung dengan cara total berat campuran CPO-PKO yang direaksikan dikurangi berat sisa campuran CPO-PKO hasil reaksi etanolisis.

Pengujian Aktivitas Antimikroba

Pengujian aktivitas antimikroba produk etanolisis CPO-PKO menggunakan

metode difusi agar/sumur (Gariga *et al.*, 1983 dalam Murhadi, 2010a). Zona penghambatan yang diukur adalah radius (r,mm) penghambatan berupa areal bening di sekeliling sumur uji, setelah diinkubasi selama 24 jam pada 37°C (sesuai jenis mikroba uji). Pengukuran jari-jari (r_p , mm) zona hambat di sekeliling sumur uji dilakukan dengan cara mengukur jarak dari tepi sumur uji ke batas lingkaran terluar zona hambat menggunakan jangka sorong (ketelitian 0,01 mm) pada beberapa sisi sumur uji, lalu dirata-ratakan. Nilai diameter (d_p , mm) zona hambat relatif hasil pengamatan langsung, diperoleh dengan perhitungan nilai $d_p = 2 \times r_p$ (Murhadi, 2010a).

Pengujian Daya Stabilitas Emulsi

Pengujian daya stabilitas emulsi (o/w) dengan menggunakan santan kelapa segar kemudian ditambah dengan produk etanolisis tingkat dua (2, 4 dan 6%). Sistem emulsi dimasukkan ke dalam tabung *sentrifuge* (Malik *et al.*, 1987; Mappiratu, 1999 dengan modifikasi; Murhadi dan Suharyono, 2008) sebanyak 10 mL produk pangan, kemudian seluruh tabung sampel dihomogenkan dengan menggunakan *vortex*. Seluruh tabung dimasukkan ke dalam penangas air pada suhu konstan 70°C selama 30 menit, lalu dipusingkan selama 48 detik pada kecepatan 1000 rpm (Murhadi dan Suharyono, 2008). Selanjutnya diamati fase yang terbentuk (sebagai bahan pangan (minyak) dan air) kemudian diukur volumenya untuk digunakan dalam penentuan stabilitas emulsi relatif menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Stabilitas emulsi (\%)} = \frac{10 \text{ mL - (Volume air yang terpisah (mL))}}{10 \text{ mL (Tinggi emulsi mula-mula)}} \times 100\%$$

Analisis Pola Sebaran**Komponen/Senyawa Gliserida**

Analisis produk etanolisis dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (Mappiratu, 1999 dengan modifikasi). Seluruh produk (9) hasil etanolisis tingkat dua ditotolkan pada lempeng KLT silika gel 60 F₂₅₄ (20x20 cm) menggunakan tip kecil. Jarak masing-masing garis batas atas dan bawah dari tepi lempeng KLT adalah 1 cm dan 2 cm. Lempeng KLT kemudian dielusi dalam chamber yang berisi eluen berupa

campuran heksana/dietil eter/asam formiat, 80:20:0,5 (v/v/v) hingga sampai ke garis batas atas KLT. Spot yang terpisah pada KLT ditampakkan dengan penampak uap iodium. Setiap spot diidentifikasi dengan membandingkan pada standar yang telah diketahui dan ditentukan secara kualitatif dengan mengukur Rf masing-masing spot. Posisi spot pada KLT diukur dari batas garis bawah. Nilai Rf dapat dicari dengan menggunakan rumus sebagai berikut.

$$R_f = \frac{\text{Jarak X}}{\text{Jarak total l}}$$

Keterangan :

Jarak X : Jarak antara garis batas bawah KLT dengan titik tengah spot

Jarak total: Jarak antara garis batas bawah KLT dengan garis batas atas KLT

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses etanolisis campuran CPO dan PKO tingkat satu menghasilkan 2 lapisan, yaitu lapisan atas (produk) yang berwarna kuning dan lapisan bawah (sisa media reaksi) yang berwarna oranye. Etanolisis tingkat dua menggunakan bahan utama berupa sisa media reaksi etanolisis campuran CPO-PKO tingkat satu (lapisan bawah). Produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua berwarna lebih muda dibandingkan etanolisis campuran CPO-PKO tingkat satu.

Rendemen

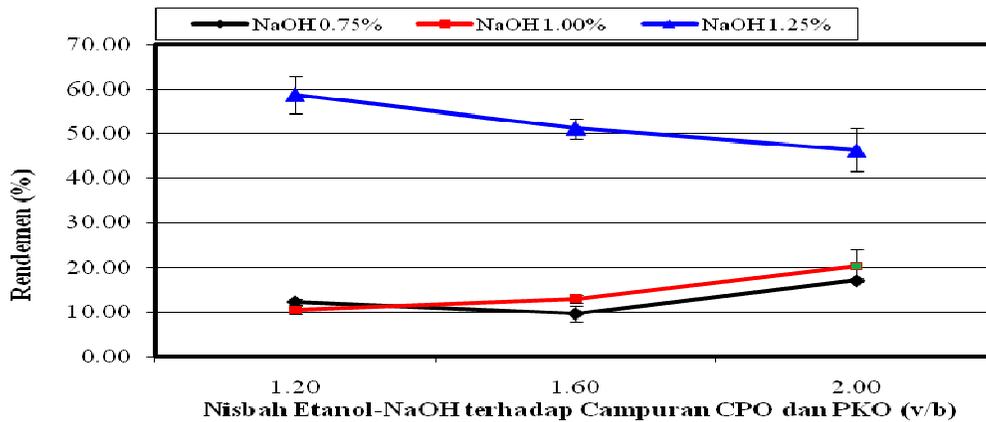
Rendemen yang dihasilkan produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua dapat dilihat pada Gambar 1. Terdapat kecenderungan rendemen yang meningkat seiring meningkatnya konsentrasi NaOH

yang digunakan. Perubahan rendemen pada tiap konsentrasi NaOH ditentukan oleh rasio etanol-NaOH yang berarti terdapat pada perbedaan jumlah etanol dan NaOH. Etanol berfungsi sebagai pelarut didasarkan atas sifat polaritas komponen MG yang lebih tinggi dibandingkan dengan komponen TG, DG, dan ALB, sedangkan katalis NaOH umumnya reaksi berlangsung lebih cepat dibandingkan dengan katalis asam dikarenakan reaksi berlangsung searah, namun pemakaian katalis basa hanya berlangsung sempurna bila minyak atau lemak dalam kondisi netral dan tanpa air (Freedman, *et al.*, 1986 dalam Manurung 2006)

Rendemen rata-rata terbesar terdapat pada sampel dengan nisbah etanol-NaOH terhadap campuran CPO-PKO sebesar 1,20 (v/b) dan konsentrasi NaOH 1,25% (b/b), yaitu sebesar 58,75%.

Berdasarkan nilai standar deviasi masing-masing, penambahan konsentrasi NaOH 1,25 % memiliki nilai yang berbeda (lebih tinggi) dibandingkan dengan konsentrasi NaOH 0,75% dan 1,00% (relatif sama), hal tersebut dikarenakan kemampuan katalis NaOH yang dapat memperbesar rendemen. Pada konsentrasi NaOH 1,25% rendemen mengalami penurunan pada

nisbah etanol-NaOH 1,60 dan 2,00 (v/b) dibandingkan pada nisbah etanol-NaOH 1,20, rata-rata rendemen yang dihasilkan pada konsentrasi NaOH 1,25% lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi NaOH 0,75% dan 1,00%. Perbedaan persentase rendemen tersebut diduga disebabkan oleh persentase komponen MG yang bersifat relatif polar untuk larut dalam etanol.



Gambar 1. Rendemen yang dihasilkan produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua

Rendemen produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat satu (tanpa perlakuan) adalah 19,98%, lebih rendah jika dibandingkan dengan rendemen etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua dengan beberapa perlakuan. Nilai rendemen yang masih cukup tinggi pada etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua ini diduga karena ketersediaan asam-asam lemak yang terkandung pada CPO dan PKO sisa masih memiliki jumlah yang tinggi, sehingga proses etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua masih dapat berlangsung secara optimal. Asam lemak dalam bentuk TG tidak habis terurai, karena selama rentang waktu 8 menit hanya 5 menit pertama yang terjadi

penguraian TG menjadi MG dan DG, sehingga semakin besar kemungkinan ketersediaan asam lemak masih ada (Hasanuddin *et al.*, 2003). Dalam hal ini, rendemen produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua tidak dianalisis rendemen fraksi MG, DG, ALB, dan TG.

Aktivitas Anti-Bacillus cereus

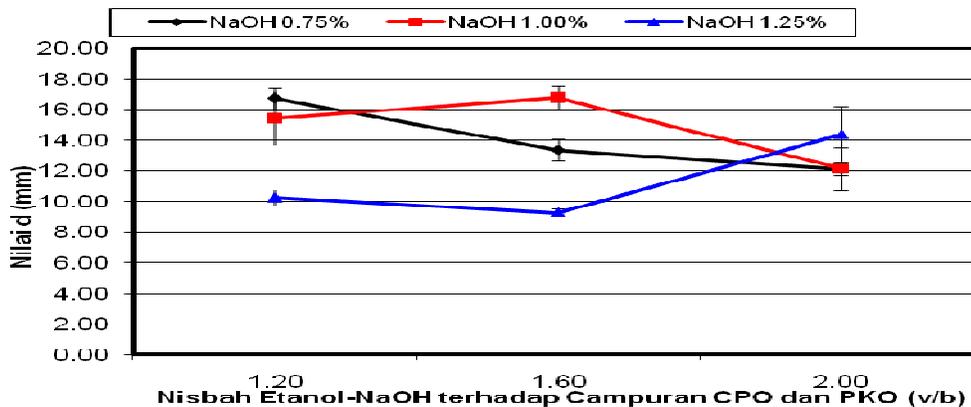
Aktivitas anti-*Bacillus cereus* ditunjukkan dengan adanya zona bening disekeliling sumur uji, seperti yang terlihat pada Gambar 2 dan nilai diameter zona hambat produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua terhadap *Bacillus cereus* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Zona bening anti-*Bacillus cereus* pada produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua

Secara umum produk etanolisis tingkat dua memiliki senyawa anti-*Bacillus cereus* dengan rentang nilai diameter rata-rata 9,27-16,76 mm. Nilai tertinggi terdapat pada produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua dengan perlakuan nisbah etanol-NaOH 1,60 dan konsentrasi NaOH 1,00%, yaitu sebesar 16,76 mm dan relatif sama dengan perlakuan 1,20/0,75; 1,20/1,00; dan 2,00/1,25 (rasio etanol/konsentrasi NaOH), sedangkan pada etanolisis campuran CPO-PKO tingkat satu memiliki senyawa anti-*Bacillus cereus* dengan nilai diameter rata-rata 15,78 mm.

Gambar 4 menunjukkan bahwa produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua dengan konsentrasi NaOH sebesar 1,25% nilai zona hambat memiliki kecenderungan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya juga nisbah etanol-NaOH. Namun, pada konsentrasi NaOH sebesar 0,75% dan 1,00% nilai zona hambat semakin menurun seiring bertambahnya nisbah etanol-NaOH. Jika dibandingkan dengan Gambar 3 (rendemen), keduanya terlihat berbeda, hal tersebut dikarenakan rendemen yang tinggi belum tentu memiliki aktivitas antimikroba (M-DG) yang tinggi juga.



Gambar 4. Nilai diameter zona hambat produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua terhadap *Bacillus cereus*

Berdasarkan penelitian Murhadi *et al.* (2012), menyatakan bahwa nilai diameter zona hambat produk etanolisis campuran PKO-CPO dengan nisbah etanol terhadap nisbah PKO-CPO (1,60; v/b) dan konsentrasi NaOH 1 % terhadap *Bacillus cereus*, yaitu sebesar 21,88 mm. Nilai diameter zona hambat tertinggi pada penelitian ini jika dibandingkan dengan penelitian Murhadi *et al.* (2012), memiliki aktivitas anti-*Bacillus cereus* yang lebih rendah, akan tetapi aktivitas anti-*Bacillus cereus* pada seluruh perlakuan terhadap *Bacillus cereus* yang dihasilkan pada penelitian ini tergolong dalam kategori aktivitas anti-*Bacillus cereus* tinggi karena memiliki nilai diameter zona hambat lebih dari 12 mm.

El-Masry *et al.* (2000), menyebutkan bahwa senyawa antibakteri dikatakan memiliki aktivitas antibakteri tinggi apabila diameter zona hambatnya lebih dari 12 mm, tergolong sedang jika memiliki nilai diameter zona hambat berkisar antara 9-12 mm, tergolong kurang aktif jika berkisar antara 6-9 mm dan tergolong sangat lemah jika kurang dari 6. Berdasarkan nilai diameter zona hambat terhadap *Bacillus cereus* pada penelitian ini seluruh perlakuan yang diberikan pada etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua memiliki nilai aktivitas anti-*Bacillus cereus* yang termasuk dalam golongan kuat.

Aktivitas antibakteri yang cukup tinggi pada produk etanolisis tingkat dua dalam penelitian ini disebabkan kontribusi PKO dominan dibandingkan CPO, diketahui bahwa PKO memiliki asam lemak rantai sedang (laurat dan miristat) yang tinggi ($\pm 65\%$) dalam bentuk monolaurin dan monomiristin yang

memiliki kemampuan sebagai anti sel-sel tumor dan HIV (Murhadi, 2010a).

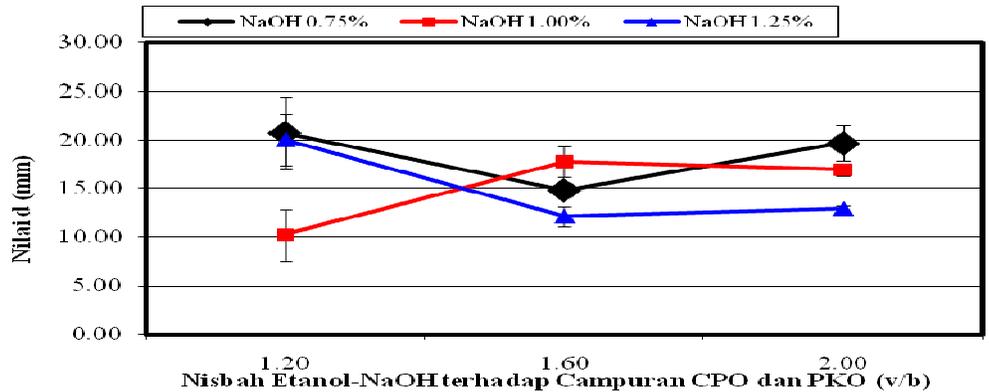
Aktivitas Anti-*Salmonella typhimurium*

Nilai diameter zona hambat produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua terhadap *Salmonella typhimurium* dapat dilihat pada Gambar 5. Berbeda dengan *Bacillus cereus*, aktivitas anti-*Salmonella typhimurium* secara umum memiliki rentang nilai diameter zona hambat antara 10,19-20,75 mm. Nilai diameter zona hambat tertinggi terdapat pada perlakuan nisbah etanol-NaOH 1,20 (v/b) dengan konsentrasi NaOH 0,75%, yaitu sebesar 20,75 mm, sedangkan pada etanolisis campuran CPO-PKO tingkat satu memiliki senyawa anti-*Salmonella typhimurium* dengan nilai diameter rata-rata 17,86 mm dan relatif sama dengan perlakuan 1,2/1,25; 1,6/1,00; 2,00/0,75; dan 2,00/1,00 (rasio etanol/konsentrasi NaOH). Secara umum nilai zona hambat *Salmonella typhimurium* dibandingkan dengan *Bacillus cereus*, penghambatan produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua terhadap *Salmonella typhimurium* lebih efektif (>20 mm). Hal tersebut diduga disebabkan *Salmonella typhimurium* merupakan jenis bakteri yang tidak menghasilkan spora, sedangkan *Bacillus cereus* merupakan bakteri penghasil spora.

Berdasarkan Gambar 5, pada konsentrasi NaOH 0,75% dan 1,25% nilai diameter zona hambat mengalami penurunan pada nisbah etanol-NaOH 1,60. Hal ini diakibatkan karena kontribusi laurat dan miristat dalam bentuk monolaurin dan monomiristin pada nisbah etanol-NaOH 1,60 tidak cukup untuk menghambat *Salmonella typhimurium*. Seperti dilihat pada penjelasan rendemen sebelumnya, rendemen mengalami

penurunan pada nisbah etanol-NaOH 1,60, sehingga dimungkinkan monolaurin dan monomiristin yang terbentuk pun tidak

cukup untuk menghambat *Salmonella typhimurium*.



Gambar 5. Nilai diameter zona hambat produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua terhadap *Salmonella typhimurium*

Martiasari (2010) melaporkan bahwa aktivitas anti-*Salmonella typhimurium* memiliki nilai diameter zona hambat produk etanolisis PKO sebesar 15,12 mm dengan waktu etanolisis 9 menit, nisbah etanol 1,60 dan konsentrasi NaOH 1 %. Zona hambat yang dihasilkan pada penelitian ini lebih besar dari yang dilaporkan oleh Martiasari (2010), diduga karena kontribusi laurat dan miristat dari PKO tinggi, sehingga monolaurat dan monomiristin dapat terbentuk lebih banyak. Produk dengan nisbah etanol-NaOH terhadap CPO-PKO 1,20 (v/b) dengan konsentrasi NaOH 1% tergolong dalam aktivitas anti-*Salmonella typhimurium* lemah, sedangkan 8 perlakuan lainnya tergolong dalam aktivitas anti-*Salmonella typhimurium* kuat.

Aktivitas Anti-Kultur Mikroba Alami

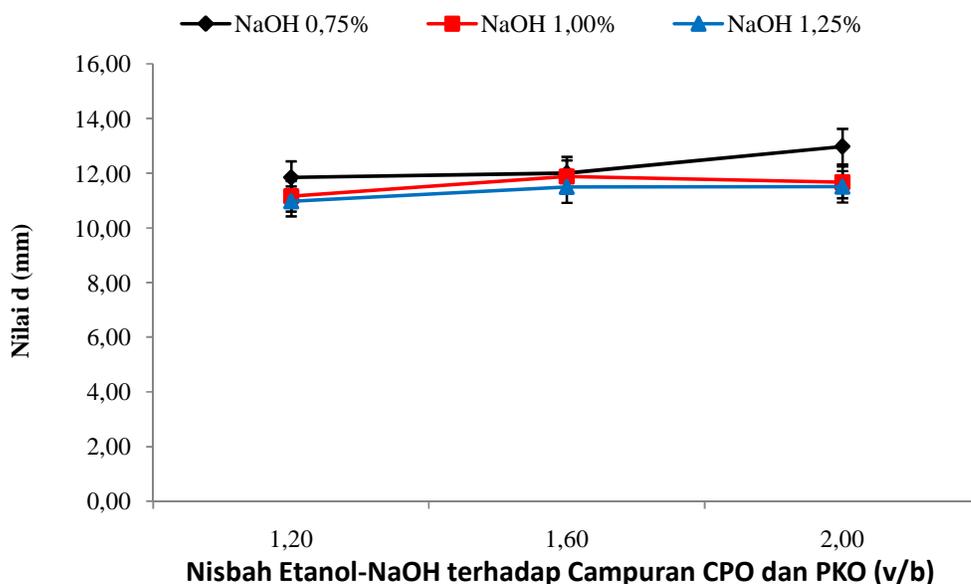
Nilai diameter zona hambat produk etanolisis campuran CPO-PKO

tingkat dua terhadap kultur mikroba alami dapat dilihat pada Gambar 6. Kultur mikroba alami berasal dari got yang terdapat di belakang kantin Cindo Fakultas Pertanian UNILA yang terdiri dari berbagai jenis mikroba. Rata-rata nilai diameter zona hambat terhadap kultur mikroba alami berkisar antara 10,98-12,98 mm. Nilai diameter zona hambat tertinggi terdapat pada sampel dengan nisbah etanol-NaOH 2,00 dan konsentrasi NaOH 0,75%, yaitu sebesar 12,98 mm, sedangkan pada etanolisis campuran CPO-PKO tingkat satu nilai diameter zona hambatnya sebesar 11,22 mm.

Gambar 6 menunjukkan bahwa berdasarkan nilai standar deviasi pada masing-masing perlakuan relatif sama. Rata-rata nilai zona hambat kultur mikroba alami (12,98 mm) lebih rendah dibandingkan dengan *Bacillus cereus* (16,76 mm) dan *Salmonella typhimurium* (20,75 mm). Hal tersebut diduga dipengaruhi oleh faktor kemampuan

mikroba dalam menahan efek senyawa antimikroba yang diberikan (resistensi mikroba), mikroba berubah sedemikian rupa, sehingga mengurangi atau menghilangkan efektivitas senyawa antimikroba. Resistensi mikroba terhadap kondisi lingkungan (got) yang ekstrim,

seperti adanya deterjen, sabun pencuci piring, garam, dan bahan-bahan lainnya yang kurang menguntungkan bagi mikroba. Namun produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua tergolong dalam aktivitas anti-kultur mikroba alami yang tinggi (>12 mm).



Gambar 6. Nilai diameter zona hambat produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua terhadap kultur mikroba alami

Daya Stabilitas Emulsi

Melalui metode etanolisis campuran CPO-PKO, diduga dapat menghasilkan produk yang memiliki daya stabilitas emulsi. Uji daya stabilitas emulsi diaplikasikan pada santan kelapa segar (o/w) dengan menggunakan konsentrasi produk pengujian sebesar 2, 4 dan 6%.

Penambahan produk pengujian sebesar 2% menyebabkan hampir seluruh daya stabilitas emulsi memiliki nilai negatif yang berarti stabilitas emulsi santan mengalami penurunan, dengan nilai rata-rata daya stabilitas emulsi antara -10,38 hingga -1,45%. Penurunan daya

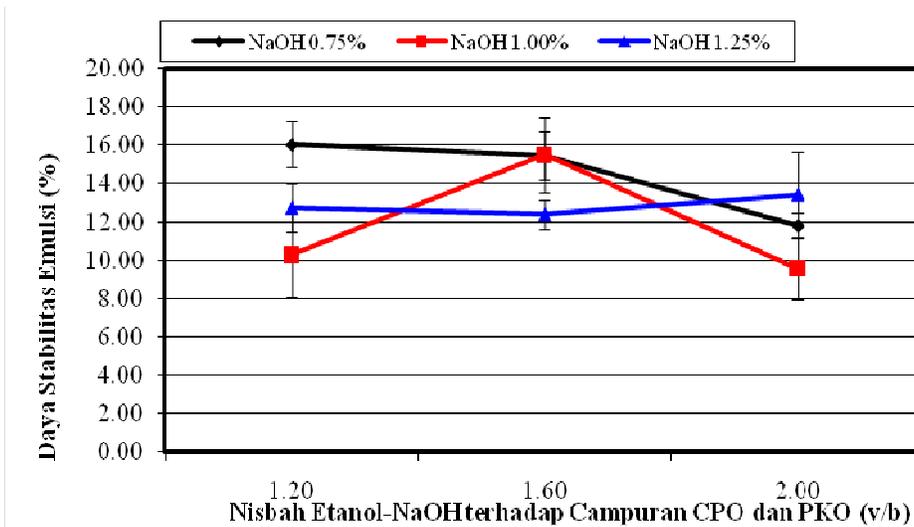
stabilitas pada reaksi etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua pada penambahan produk sebesar 2% diduga karena adanya sisa pelarut etanol pada produk etanolisis tingkat dua (produk kasar), sehingga mempengaruhi daya stabilitas emulsi santan tersebut. Menurut Nawir (1987) dalam Nendela (2012) senyawa organik yang larut dalam air, misalnya eter, etanol, etil asetat akan memberikan pengaruh yang tidak baik terhadap emulsi.

Nilai rata-rata perubahan stabilitas emulsi santan untuk perlakuan konsentrasi 4% berkisar antara -2,11% hingga 5,30%, sedikit terjadi peningkatan dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi 2%.

Selanjutnya, nilai rata-rata stabilitas emulsi santan yang ditambahkan produk etanolisis dengan konsentrasi 6%, berkisar antara 9,57-16,04% (Gambar 5). Daya stabilitas emulsi tertinggi dihasilkan oleh sampel dengan nisbah etanol-NaOH terhadap CPO-PKO 1,20 (v/b) dan konsentrasi NaOH 0,75%, yaitu sebesar 16,04%. Jika dilihat dari standar deviasi, perlakuan yang menghasilkan daya stabilitas emulsi tertinggi tersebut sama dengan perlakuan 1,6/1,00; 1,6/0,75; dan 2,00/1,25 (etanol/NaOH). Nilai daya stabilitas emulsi pada produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat satu sebesar 9,19%. Rata-rata penambahan produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua sebesar 6% (v/v) dapat meningkatkan daya stabilitas emulsi santan segar. Hasil penelitian (Murhadi dan Zuidar, 2010b) menyatakan bahwa daya stabilitas emulsi

sebesar 13,39% diperoleh dari etanolisis campuran CPO-PKO pada suhu 40°C selama 8 menit dengan nisbah CPO terhadap PKO sebesar 1,25 (b/b) dan konsentrasi penambahan produk etanolisis terhadap santan sebesar 5% (v/v). Nendela *et al.* (2012) melaporkan daya stabilitas emulsi santan yang dihasilkan dari produk etanolisis CPO-PKO reaksi tingkat satu hingga tingkat tiga berkisar antara 9,70-14,40%.

Berdasarkan penambahan produk etanolisis tingkat dua campuran CPO-PKO terhadap daya stabilitas emulsi santan segar mengalami kenaikan seiring dengan bertambahnya konsentrasi produk etanolisis yang diberikan, yaitu sebesar 2, 4 dan 6%. Hal ini berarti kandungan M-DG pada produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua cukup berkontribusi dalam meningkatkan sifat pengemulsi yang baik.



Gambar 6. Nilai perubahan daya stabilitas emulsi produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua pada penambahan konsentrasi 6%

Pola Sebaran Komponen/Senyawa Gliserida

Hasil pemisahan 9 produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua menunjukkan spot-spot yang beraturan pada lempeng KLT yang memiliki nilai Rf dari yang terdekat hingga terjauh, yaitu MG, DG, ALB, dan

TG. Keempat kelompok komponen/senyawa gliserida hasil etanolisis dari 9 sampel tidak menunjukkan perbedaan Rf yang begitu jauh. Pola kromatografi masing-masing produk hasil etanolisis campuran CPO-PKO dapat dilihat pada Gambar 7 sedangkan Rf produk hasil etanolisis dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 7. Pola sebaran senyawa/komponen produk etanolisis CPO-PKO untuk ulangan 1 (kiri), ulangan 2 (tengah) dan ulangan 3 (kanan), perlakuan dari kiri ke kanan adalah N1K1,N2K1,N3K1,N1K2,N2K2,N3K2,N1K3,N2K3,N3K3

Keterangan : N1, N2, N3, adalah nisbah etanol 96%-NaOH terhadap campuran CPO dan PKO, masing- masing = 1,20; 1,60 dan 2,00 (v/b)

K1, K2, dan K3 adalah konsentrasi NaOH, masing-masing = 0,75; 1,00. dan 1,25% (b/b minyak)

Pada Gambar 7, dalam perhitungan Rf, nilai komponen DG 1 dan DG 2 dijadikan satu. DG yang terbagi menjadi dua tersebut diduga karena perbedaan asam lemak yang terkandung pada CPO dan PKO, seperti palmitat, oleat, laurat, miristat, dan lain-lain yang tergabung pada molekul DG. TG adalah fraksi yang bersifat lebih non polar dibandingkan

dengan fraksi lainnya (ALB, DG, MG), sehingga pada saat pengembangan, TG akan terelusi lebih dulu pada bagian atas lempeng KLT dan disusul oleh ALB dan fraksi yang lebih polar, berturut-turut DG dan MG. KLT yang bersifat polar dapat menahan produk yang bersifat polar, sehingga produk yang non polar akan

terelusi oleh pelarut dan bergerak cepat, sehingga letaknya di atas.

Spot TG dan ALB yang masih ada menunjukkan bahwa etanolisis campuran CPO dan PKO berjalan parsial atau

mungkin karena rendahnya selektivitas katalis NaOH pada berbagai konsentrasi pada derajat esterifikasi tertentu, sehingga pada umumnya produk hasil etanolisis terdiri dari campuran MG, DG dan TG.

Tabel 2. Rf rata-rata produk etanolisis CPO-PKO dari seluruh perlakuan

Kode sampel	MG	DG	ALB	TG
N1K1	0.04	0.15	0.46	0.75
N1K2	0.03	0.15	0.45	0.74
N1K3	0.02	0.14	0.4	0.75
N2K1	0.03	0.16	0.44	0.72
N2K2	0.02	0.15	0.42	0.73
N2K3	0.03	0.15	0.42	0.73
N3K1	0.03	0.16	0.42	0.74
N3K2	0.03	0.16	0.41	0.75
N3K3	0.04	0.16	0.43	0.75
Rata-rata	0,03	0,15	0,43	0,74

Keterangan : N1, N2, N3, adalah nisbah etanol 96%-NaOH terhadap campuran CPO dan PKO, masing- masing = 1,20; 1,60 dan 2,00 (v/b)
 K1, K2, dan K3 adalah konsentrasi NaOH, masing-masing = 0,75; 1,00. dan 1,25% (b/b minyak)

Rekapitulasi Data Pengamatan

Dalam penelitian ini dilakukan pembobotan nilai dengan sistem uji ranking yang bertujuan untuk mengetahui perlakuan tertinggi. Masing-masing parameter (rendemen, aktivitas antimikroba dan daya stabilitas emulsi) diberi bobot nilai sebesar 9. Rekapitulasi data hasil pengamatan dan pembobotan nilai dapat dilihat pada Tabel 3.

Bobot nilai tertinggi terdapat pada perlakuan nisbah etanol-NaOH campuran CPO-PKO 1,20 (v/b) dengan konsentrasi NaOH sebesar 0,75% (N1K1). Pada perlakuan yang menghasilkan nilai tertinggi tersebut terdapat anti-*Bacillus*

cereus sebesar 16,71 mm, anti-*Salmonella typhimurium* sebesar 20,75 mm dan daya stabilitas emulsi sebesar 16,04%. Rendemen dan anti-kultur mikroba alami pada perlakuan N1K1 tidak termasuk dalam nilai tertinggi pada perlakuan tersebut, namun nilai aktivitas antimikroba tersebut tergolong dalam senyawa antimikroba sedang dengan nilai 11,85 mm. Nilai rendemen yang tinggi belum tentu menghasilkan MG dan DG yang tinggi juga, hal ini dikarenakan pada produk diduga masih terkandung pelarut (etanol) yang tersisa pada saat pemisahan produk dengan sisa media reaksi, sehingga mempengaruhi nilai rendemen.

Tabel 3. Rekapitulasi data hasil pengamatan dan pembobotan nilai pada tiap perlakuan

Perlakuan	Rendemen (%)	Aktivitas antimikroba (nilai d; mm)			Daya stabilitas emulsi 6%	Nilai Total
		BC	ST	KMA		
N1K1	12,36	16,71²⁾	20,75¹⁾	11,85	16,04¹⁾	14,00
N1K2	10,43	15,42³⁾	10,19	11,16³⁾	10,29	2,00
N1K3	58,75¹⁾	10,25	20,04²⁾	10,98	12,76	11,00
N2K1	9,64	13,37	14,83	12,001	15,47³⁾	3,00
N2K2	13,00	16,76¹⁾	17,76	11,88	15,50²⁾	7,00
N2K3	51,20²⁾	9,27	12,10	11,50	12,40	6,00
N3K1	17,06	12,10	19,67³⁾	12,98¹⁾	11,80	4,00
N3K2	20,33	12,15	16,92	11,67²⁾	9,57	2,00
N3K3	46,41³⁾	14,38	12,90	11,51	13,43	3,00

Keterangan : N1, N2, N3, adalah nisbah etanol 96%-NaOH terhadap campuran CPO dan PKO, masing- masing = 1,20; 1,60 dan 2,00 (v/b)
 K1, K2, dan K3 adalah konsentrasi NaOH, masing- masing = 0,75; 1,00. dan 1,25% (b/b minyak)

- ¹⁾ Nilai tertinggi : Rendemen = 9
 Aktivitas antimikroba = 3
 Daya stabilitas emulsi = 9
- ²⁾ Nilai tertinggi dua : Rendemen = 6
 Aktivitas antimikroba = 2
 Daya stabilitas emulsi = 6
- ³⁾ Nilai tertinggi tiga : Rendemen = 3
 Aktivitas antimikroba = 1
 Daya stabilitas emulsi = 3

KESIMPULAN

1. Perlakuan tertinggi terhadap aktivitas antimikroba dan daya stabilitas emulsi pada produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua adalah perlakuan dengan nisbah etanol campuran CPO-PKO 1,20 (v/b) dan konsentrasi NaOH sebesar 0,75% (N1K1), dengan nilai diameter zona hambat pada masing-masing bakteri *Bacillus cereus*, *Salmonella typhimurium* dan kultur mikroba alami berturut-turut adalah 16,71; 20,75 dan 11,85 mm, sedangkan pada daya stabilitas emulsi yaitu konsentrasi sebesar 6% dengan nilai daya stabilitas emulsi sebesar 16,04%.
2. Produk etanolisis campuran CPO-PKO tingkat dua menunjukkan pola sebaran yang beraturan pada lempeng KLT

berturut-turut dari yang terdekat hingga yang terjauh adalah MG, DG, ALB, dan TG dengan nilai Rf rata-rata berturut-turut 0,03; 0,15; 0,43; dan 0,74.

DAFTAR PUSTAKA

Anonim. 2012. Produksi Perkebunan Besar menurut Jenis Tanaman, Indonesia (Ton), 1995 - 2010. Diakses Pada Tanggal 20 Juni 2012. www.bps.go.id. 1 hlm.

Damstrup, T, F.V.S. Jensen, S.Z. Parso, A.D. Kill, Jensen, and X. Xu. 2005. Solvent optimization for efficient enzymatic monoglyceride production based on a glycerolysis reaction. J. Am. Oil Chem. Soc. 82(8):559-564.

- El-Masry, A.H., H.H. Fahmy, and S.H.A. Abdelwahed. 2000. Synthesis and antimicrobial activity of some new benzimidazole derivatives. *J. of Molecules*. 5: 1429-1438.
- Hasanuddin, A., Mappiratu, dan G.S. Hutomo. 2003. Pola Perubahan Mono dan Diasilgliserol dalam Reaksi Etanolisis Minyak Sawit Mentah. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. XIV(3):241-246.
- Lestari dan Murhadi. 2008. Pengaruh nisbah etanol- PKO dan waktu reaksi terhadap rendemen dan aktivitas antibakteri produk etanolisis minyak inti sawit (PKO). *Jurnal Teknologi dan Industri Hasil Pertanian*. 13(2):95-107.
- Malik, D.D., D. Fardiaz, dan B.S.L Jenie. 1987. Pengaruh karboksimetil selulosa terhadap kestabilan emulsi dan mutu krim kelapa. *Media Teknologi Pangan*. 3(1-2): 62.
- Mappiratu. 1999. Penggunaan Katalis Dedak Padi dalam Biosintesis Anti-mikroba Monoasilgliserol dari Minyak Kelapa. Disertasi S3. PPs IPB. Bogor. 193 hlm.
- Martiasari, D. P. 2010. Pengaruh Waktu Reaksi Terhadap Karakteristik Produk Etanolisis Minyak Inti Sawit (PKO). Skripsi. Universitas Lampung. Bandar Lampung. 69 hlm.
- Murhadi. 2010a. *Antimikroba dari Tanaman; Golongan Senyawa, Sumber dan Aktivasnya*. Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Universitas Lampung. 98 hlm.
- Murhadi. 2010b. The Emulsion Stability of Coconut (*Cocos nucifera* L.) Milk Added with Ethanolysis Product from Palm Kernel Oil. *International Proceeding Seminar on Horticulture to Support Food Security*, June 22-23, 2010. Department of Agro-industry Technology. Bandar Lampung. Hlm B-223 – B-229.
- Murhadi dan Suharyono A.S. 2008. Kajian aktivitas antibakteri produk etanolisis dari campuran minyak inti sawit (*Elaeis queneensis* Jack) dan minyak biji mengkudu (*Morinda citrifolia* L). *J. Teknologi dan Industri Hasil Pertanian*. 13(2): 47-58.
- Murhadi dan A.S. Zuidar. 2009. Diversification of Food Additive Based of Palm Kernel Oil Substance. Final Report Competitive Research Grand (Year 1). DP2M Ditjen Dikti Depdiknas. Lembaga Penelitian Universitas Lampung. Bandar Lampung.
- Murhadi, A.S. Zuidar, dan R.L. Fanny. 2012. Rendemen dan Karakteristik Fungsional Produk Etanolisis Kasar dari Campuran PKO dan CPO. *Prosiding Seminar Nasional SMAIP III di Fakultas MIPA Unila, Bandar Lampung*, 28 – 29 Juni 2012. ISSN 2086-2342. Vol 3. 7 hlm.
- Nendela, C.S., Murhadi, dan S. Hidayati. 2012. Kajian nilai rendemen, aktivitas antibakteri dan stabilitas emulsi produk etanolisis dari campuran PKO dan CPO melalui reaksi bertingkat. *Majalah TEGI (Majalah Ilmiah Teknologi Agroindustri; ISSN 2085 – 6067)*, 4(1): 28 – 39.