

**PENGARUH NISBAH TOTAL ETANOL – PKO DAN WAKTU REAKSI
TERHADAP RENDEMEN DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI PRODUK
ETANOLISIS MINYAK INTI SAWIT (PKO)**

[The Effects of Ethanol – PKO Ratio and Reaction Time on The Yield and
Antibacterial Activities of Palm Kernel Oil Ethanolysis Products]

Mairisa Lestari¹⁾ dan Murhadi²⁾

¹⁾ Alumni Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung
Jl. Prof. Soemantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung, Lampung 35145

²⁾ Staf Pengajar Jurusan Teknologi Industri Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Lampung
Telp. 0721-781823; email : murhadi_thp@unila.ac.id

ABSTRACT

The purposes of this work were to find the effects of ethanol-PKO ratio and reaction time on the yield and antibacterial activities of palm kernel oil ethanolysis products. The treatments were ratios of ethanolysis mediums and duration of agitation. The medium treatments were ethanol 96% (NaOH 1%; w/w of oil) solution and PKO at ratio of 0,4; 0,7; 1,0; 1,3 and 1,6 (v/w) and the duration of agitation on a shaker at 300 rpm for 4, 6, 8, and 10 minutes. Antibacterial activities were tested using *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The results showed ethanol-PKO ratio at 1,6 (v/w) effectively increased the yield of ethanolysis products for 4 up to 10 min, while the treatments at ratio of 0,4; 0,7; 1,0 (v/w) did not affect significantly, and at ratio of 1,3 (v/w) was optimum for 4 min. Ethanolysis products and their fractions for all treatments had antibacterial activities toward two bacteria (*E. coli* and *S. aureus*) with the average diameter of zone inhibition was 5,38 mm/15 mg. The optimum ethanol-PKO ratio and time of reaction were 1,3 (v/w) and 10 minutes to produce ethanolysis products, primarily for fraction 1 (upper layer after fractionation).

Keywords: Antibacterial activities, ethanolysis, Palm Kernel Oil

PENDAHULUAN

Perkembangan areal perkebunan, produksi dan industri pengolahan berbasis bahan baku buah kelapa sawit di Indonesia meningkat dari tahun ke tahun. Luas areal perkebunan sawit di Indonesia periode 2000 sampai 2006 berturut-turut adalah: 4.158.077, 4.713.435, 5.067.058, 5.283.557, 5.284.723, 5.453.817, dan 6.074.926 hektar, sedangkan total produksi minyak sawit mentah (CPO) berturut-turut adalah: 7.000.508, 8.396.472, 9.622.345, 10.440.834, 10.830.389, 11.861.615, dan 13.390.807 ton (Anonim, 2007a). Sementara produksi minyak inti sawit (PKO) juga meningkat dengan produksi

tahun 2000 sampai 2006 berturut-turut adalah: 1.400.102, 1.675.676, 1.831.069, 2.104.722, 2.267.271, 2.474.532 dan 2.792.059 ton (Anonim, 2007a). Provinsi Lampung merupakan salah satu daerah potensial untuk menunjang perkembangan industri kelapa sawit tersebut. Total luas areal sawit dari perkebunan besar swasta di Provinsi Lampung mencapai 60.467 Ha (2005) dan perkebunan besar negara mencapai 11.379 Ha (2005) terutama tersebar di Kabupaten Lampung Tengah (8.843,5 Ha; 2005) dan Lampung Utara (9.217 Ha; 2006), perkebunan besar swasta di Kabupaten Tulang Bawang (37.319 Ha; 2004) dan Way Kanan (Anonim, 2007b).

Dengan semakin berkembangnya areal perkebunan kelapa sawit (perkebunan rakyat, BUMN atau swasta) yang diikuti dengan berkembangnya agroindustri pengolahan buah sawit untuk menghasilkan CPO sebagai bahan baku produk pangan dan non pangan (biodiesel), maka diperkirakan jumlah bungkil (inti sawit) yang dihasilkan juga meningkat jumlahnya. Peningkatan jumlah bungkil ini pun akan berdampak pada peningkatan jumlah produksi minyak inti sawit (PKO). Oleh karena itu, terdapat prospek untuk memanfaatkan hasil pengolahan bungkil sawit tersebut menjadi produk fungsional yang bernilai tinggi.

Minyak inti sawit berwarna kuning, merupakan hasil dari ekstraksi daging buah biji (inti) sawit, mengandung asam lemak jenuh dalam jumlah yang tinggi yakni sekitar 82% yang didominasi oleh asam laurat (12:0) sekitar 48,2% dan asam miristat (14:0) sekitar 16,2% (Anonim, 2007c). Kandungan asam lemak dalam PKO berbeda dengan CPO karena kandungan asam lemak rantai menengah (C_{12} dan C_{14}) dalam PKO lebih tinggi, sementara kandungan asam lemak jenuh dan tidak jenuh berantai panjang (C_{16} dan C_{18}) jumlahnya jauh lebih sedikit dibandingkan dengan CPO. Salah satu produk fungsional turunan yang dapat dihasilkan dari pengolahan buah kelapa sawit terutama minyak inti sawit adalah produk mono-diglisierida atau disingkat MG-DG.

Beberapa penelitian terdahulu telah membuktikan bahwa MG dari asam lemak rantai pendek dan menengah memiliki aktivitas antimikroba, sedangkan MG dari asam lemak rantai panjang jenuh ataupun tidak jenuh relatif tidak memiliki aktivitas antimikroba (Wang *et al.*, 1993). Asam laurat dalam bentuk monolaurin dari minyak

kelapa terbukti memiliki aktivitas antimikroba dengan spektrum luas (Mappiratu, 1999). Diketahui bahwa komposisi asam laurat PKO mirip dengan komposisi asam laurat pada minyak kelapa yaitu sekitar 50% (Weiss, 1985). Hasil penelitian Rangga *et al.* (2005) menunjukkan produk mono-diglisierida yang dihasilkan dari PKO melalui reaksi gliserolisis memiliki aktivitas antibakteri terutama terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Hasil penelitian Hasanuddin *et al.*, (2003) menunjukkan bahwa reaksi etanolisis terhadap triglisierida jauh lebih mudah dan cepat untuk menghasilkan diglisierida dan etil ester pertama, dibandingkan dengan reaksi etanolisis terhadap diglisierida untuk menghasilkan monoglisierida dan etil ester kedua, khususnya pada waktu reaksi antara 1 sampai 5 menit dengan rasio etanol/CPO 0,25 (v/b). Sebaliknya pada waktu reaksi 5 sampai 8 menit diglisierida untuk menghasilkan monoglisierida dan etil ester ketiga, jauh lebih tinggi daripada etanolisis triglisierida. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, diprediksi produk MG-DG dapat diproduksi dari minyak inti sawit dengan reaksi etanolisis.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh nisbah etanol 96% - PKO dan waktu reaksi etanolisis terhadap rendemen produk etanolisis, rendemen fraksinya, daya aktivitas anti-*E. Coli*, dan daya anti-*S. aureus* dari produk etanolisis minyak inti sawit (PKO).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama dalam penelitian ini adalah minyak inti sawit (PKO) yang diperoleh dari perusahaan pengolah PKO di Metro, Lampung. Bahan kimia terdiri dari

etanol teknis 96%, etanol p.a., NaOH, HCl teknis 35% dan aquades. Kultur bakteri yang digunakan adalah *Escherichia coli* (ATCC 25922) dan *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), diperoleh dari Balai Penyidikan dan Pengujian Veteriner Regional III Provinsi Lampung. Media yang digunakan NA (*Nutrient Agar*) dan NB (*Nutrient Broth*). Alat-alat yang digunakan terdiri dari: *magnetic stirrer*, *shaker*, Erlenmeyer 250 mL, labu pemisah (*separating funnel*) 500 ml, corong Buchner, pompa vakum, timbangan analitik, kertas saring Whatman No. 42, rotavapor, lemari pendingin, sentrifuge, penangas air, otoklaf, mikropipet, inkubator 37 dan 47°C, vorteks, pemanas listrik, jangka sorong dan alat-alat gelas penunjang.

Rancangan dan Perlakuan Penelitian

Penelitian ini terdiri dari penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri (*S. aureus*) produk etanolisis PKO dan fraksi-fraksinya. Penelitian utama dilaksanakan dalam Rancangan Acak Kelompok Lengkap (RAKL) dengan tiga kali ulangan. Penelitian dilakukan dengan dua faktor perlakuan, terdiri dari perlakuan: (1) nisbah etanol 95% dan PKO yang terdiri dari 5 taraf, yaitu 0,4; 0,7; 1,0; 1,3 dan 1,6 (v/b); dan (2) waktu reaksi etanolisis, terdiri dari 4 taraf, yaitu 4, 6, 8 dan 10 menit. Data yang diperoleh selanjutnya akan diuji kesamaan ragamnya dengan Uji Bartlett. Kemenambahan data diuji dengan Uji Tukey, serta analisis ragam untuk mendapatkan pendugaan ragam galat. Data selanjutnya dianalisis menggunakan polinomial ortogonal pada taraf 1% dan 5%.

Persiapan Bahan

Minyak inti sawit (PKO) diperoleh dari PTPN VII Bekri Lampung Tengah.

PKO disaring (kertas saring Whatman No. 42) dengan bantuan corong Buchner dan pompa vakum sehingga dihasilkan PKO yang jernih. Kultur bakteri (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*) dari biakan agar miring atau stok bakteri diambil satu mata ose untuk membuat biakan agar miring baru, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian stok agar miring tersebut disimpan dalam lemari pendingin sebagai stok bakteri.

Prosedur Penelitian

Prosedur pada penelitian pendahuluan dilakukan mengikuti metode Hasanuddin *et al* (2003) dengan modifikasi. Sebanyak 50 g PKO dicampur dengan 50 mL etanol 96% yang telah mengandung NaOH (1% b/b PKO) di dalam Erlenmeyer 250 mL tertutup lalu goyang di atas *shaker* (300 rpm) selama 6 menit pada suhu ruang. Etanol sisa dipisahkan dalam labu pemisah, dicuci dengan akuades sampai lapisan air (bawah) relatif jernih, sehingga dihasilkan lapisan atas yang merupakan produk etanolisis kasar dari PKO. Selanjutnya dilakukan fraksinasi terhadap produk etanolisis PKO dengan cara pemusingan (sentrifuge) di dalam pelarut etanol p.a. (3 : 1; v/v) selama 30 menit pada kecepatan putar 4.000 rpm (Mappiratu, 1999 modifikasi; Rangga *et al.*, 2005). Produk etanolisis dan fraksi-fraksi yang dihasilkan diuji aktivitas antibakterinya dengan bakteri *S. aureus*.

Prosedur pada penelitian utama dilakukan sebagai berikut. Sejumlah (g) PKO dicampur dengan etanol 96% (mL) yang telah mengandung NaOH 1% (b/b basis berat PKO) dengan nisbah 0,4; 0,7; 1,0; 1,3; 1,6 (b/v) sehingga total campuran 100 mL di dalam Erlenmeyer 250 mL tertutup dengan total volume reaksi etanolisis adalah 100 mL, lalu diletakkan di

atas *shaker* dengan kecepatan putar 300 rpm selama 4, 6, 8 dan 10 menit pada suhu ruang ($28 \pm 1^\circ\text{C}$). Reaksi dihentikan menggunakan larutan HCL 35% secara stokiometri (indikator pp). Etanol sisa dipisahkan dalam labu pemisah dengan cara mencucinya dengan aquades sebanyak tiga kali atau sampai lapisan air (bawah) jernih. Lapisan atas (produk etanolisis) dipisahkan, kemudian diletakkan dalam wadah yang telah dibersihkan untuk selanjutnya diamati. Nisbah etanol 96% (NaOH 1%) dengan PKO secara lengkap disajikan pada Tabel 1. Fraksinasi produk etanolisis dilakukan dengan metode relatif sama dengan penelitian pendahuluan. Produk etanolisis didinginkan lebih dahulu selama 30 menit di

dalam lemari pendingin, lalu dilakukan pemusingan selama 15 menit pada kecepatan 4000 rpm (Mappiratu, 1999 modifikasi; Pitutur, 2005 modifikasi).

Rendemen Produk Etanolisis dan Fraksinya

Rendemen produk etanolisis PKO dihitung dengan cara membagi berat (g) masing-masing produk etanolisis dengan berat (g) PKO awal yang direaksikan, lalu dikali seratus persen. Rendemen fraksi yang dihasilkan dari produk etanolisis PKO dihitung dengan cara yang sama yaitu membagi berat (g) masing-masing fraksi hasil fraksinasi dengan berat (g) produk etanolisis, lalu dikali seratus persen.

Tabel 1. Nisbah etanol 96% (NaOH 1%) dengan PKO

Perlakuan	PKO (g)	Etanol 96% (mL)	NaOH (g)
Nisbah 0,4	71,4	28,6	0,714
Nisbah 0,7	58,8	41,2	0,588
Nisbah 1,0	50,0	50,0	0,500
Nisbah 1,3	43,5	56,5	0,435
Nisbah 1,6	38,5	61,5	0,385

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Setiap stok bakteri yang akan digunakan selalu disegarkan kembali di dalam medium NB steril selama 24 jam pada 37°C , dihomogenkan dengan alat vorteks, lalu diinokulasikan sebanyak 20 μL ke dalam Erlenmeyer yang berisi 20 mL medium agar cair (NA, $44-45^\circ\text{C}$) steril, dikocok merata, kemudian dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan sampai membeku. Selanjutnya dibuat 5 lubang (sumur) secara aseptis dengan diameter sumur 6.0 mm (seragam). Ke dalam tiap lubang, diinokulasi dengan 60 μL produk etanolisis PKO atau fraksinya yang telah

diencerkan dengan etanol teknis (1: 3; b/v). Sebagai kontrol, diinokulasi sebanyak 60 μL pelarut pengencer (etanol 96%).

Zona penghambatan yang diukur adalah radius (r, mm) penghambatan berupa areal bening di sekeliling sumur uji, setelah diinkubasi selama 24 jam pada 37°C . Pengukuran jari-jari (r, mm) zona hambat di sekeliling sumur uji dilakukan dengan cara mengukur jarak dari tepi sumur uji ke batas lingkaran zona hambat menggunakan jangka sorong (ketelitian 0.01 mm) pada beberapa sisi sumur uji, lalu dirata-

ratakan. Selanjutnya nilai diameter (d , mm) zona hambat hasil pengamatan langsung, diperoleh dengan perhitungan sebagai berikut, $d = 2 \times r$ (Gariga *et al.*, 1983). Jika diperlukan untuk memperoleh nilai diameter zona hambat hasil konversi (d') digunakan rumus $d' = 2.r'$ (Murhadi, 2002) dengan persamaan berikut.

$$r' = \left[\sqrt{(r_p^2 + 2.r_p.r_s) \times F_k + r_s^2} \right] - r_s$$

$$d' = 2(r')$$

Dimana,

r' = jari-jari (mm) zona hambat hasil konversi

r_p = jari-jari (mm) zona hambat hasil pengujian (pengukuran langsung)

r_s = jari-jari sumur uji (3.0 mm) + jari-jari

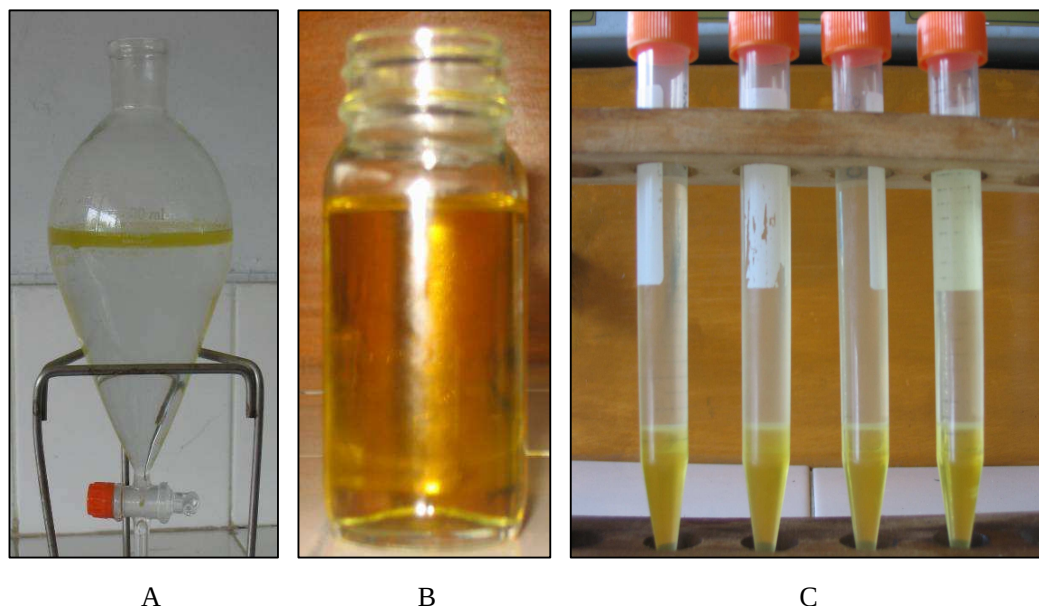
zona hambat pengencer (r_{pk})

F_k = adalah faktor koreksi pengenceran atau pemekatan

d' = diameter (mm) zona hambat hasil konversi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses pemisahan produk etanolisis PKO menggunakan labu pemisah (*separating chanel*; Gambar 1A) menghasilkan produk etanolisis PKO dengan warna kuning seperti disajikan pada Gambar 1B. Selanjutnya produk etanolisis PKO difraksinasi sehingga dihasilkan Fraksi 1 (lapisan atas, putih kekuningan) dan Fraksi 2 (lapisan bawah, kuning cerah), seperti disajikan pada Gambar 1C.



Gambar 1. Proses pencucian produk etanolisis PKO menggunakan labu pemisah (*separating funnel*) 500 mL (A), Produk etanolisis PKO (B) dan hasil fraksinasi dingin dengan sentrifuge (C)

Penelitian Pendahuluan

Hasil pengujian daya anti-*S. aureus* terhadap produk etanolisis PKO dan fraksi-fraksinya disajikan pada Tabel 2. Aktivitas

anti-*S. aureus* Fraksi 1 lebih tinggi ($d = 10,90$ mm) dibandingkan dengan aktivitas anti-*S. aureu* produk etanolisis PKO asal (8,40 mm), Fraksi 2 (6,60 mm) dan kontrol

(etanol 96%; 4,20 mm). Oleh karena itu pada penelitian utama, khususnya untuk uji antibakteri digunakan Fraksi 1 dari hasil

fraksinasi produk etanolisis PKO untuk semua perlakuan.

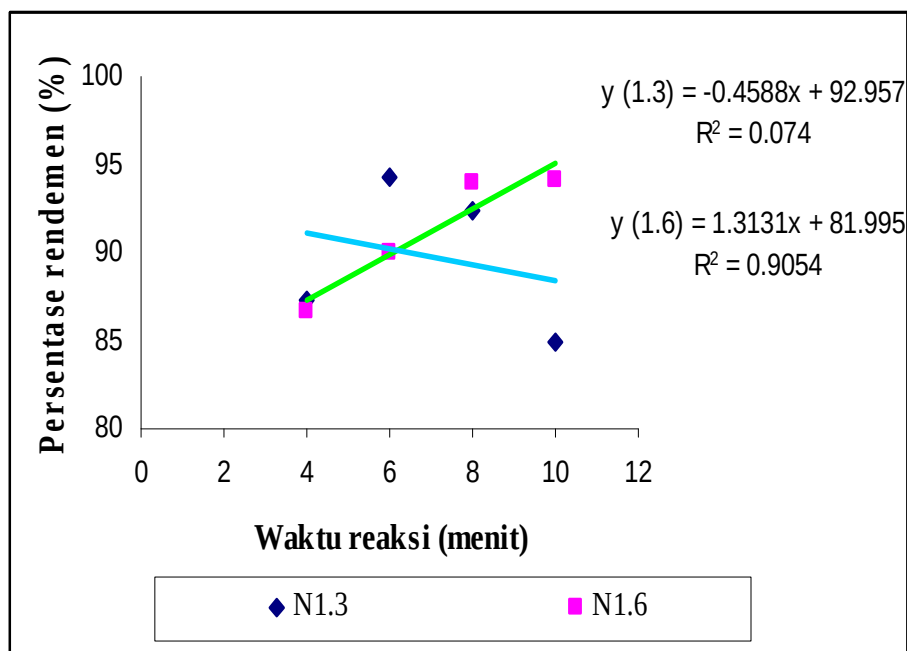
Tabel 2. Diameter zona hambat (d, mm) produk etanolisis PKO, Fraksi 1 dan Fraksi 2 serta kontrol (etanol 96%) terhadap *S. aureus*

No.	Sampel	Nilai d (mm)
1	Kontrol pengencer (etanol 96%)	4,2
2	Produk etanolisis PKO	8,4
3	Fraksi 1 atau lapisan atas	10,9
4	Fraksi 2 atau lapisan bawah	6,6

Rendemen Produk Etanolisis

Nisbah etanol 96% - PKO dan waktu reaksi serta interaksi antara keduanya berpengaruh nyata terhadap rendemen produk etanolisis PKO. Hasil uji lanjut polinomial ortogonal menunjukkan

hubungan antara nisbah etanol 96% - PKO terhadap persentase rendemen produk etanolisis bersifat gemaris. Hubungan antara nisbah etanol 96% - PKO dan waktu reaksi terhadap persentase rendemen produk etanolisis disajikan pada Gambar 2.



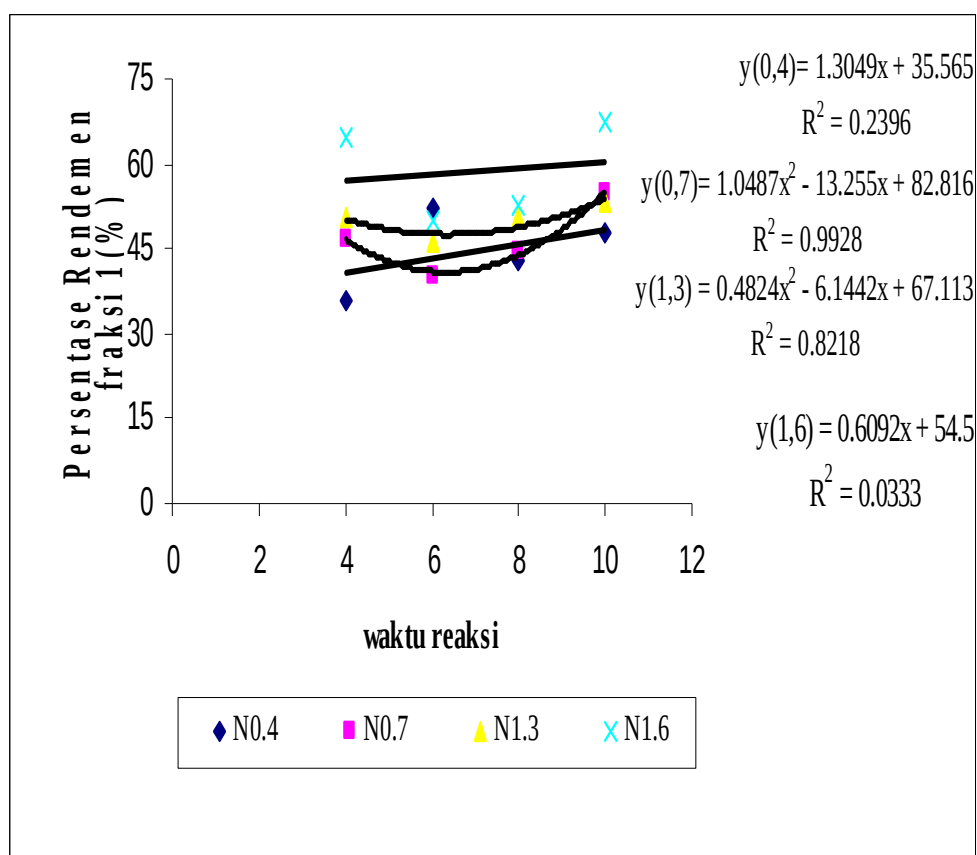
Gambar 2. Hubungan antara nisbah etanol 96% (1,3 dan 1,6) dengan PKO dan waktu reaksi terhadap rendemen produk etanolisis

Peningkatan waktu reaksi etanolisis PKO mempengaruhi persentase rendemen produk etanolisis yang dihasilkan. Pada nisbah etanol 96% - PKO = 1,3 (v/b) peningkatan waktu reaksi menurunkan rendemen produk etanolisis, sedangkan pada nisbah 1,6 terjadi peningkatan rendemen etanolisis. Hal ini mengindikasikan bahwa peningkatan jumlah etanol 96% yang direaksikan dengan PKO khususnya pada nisbah 1,6 efektif meningkatkan rendemen produk etanolisis sampai waktu reaksi selama 10 menit, sedangkan untuk nisbah 0,4; 0,7 dan 1,0 tidak berbeda nyata dan pada nisbah 1,3

waktu reaksi etanolisis justru optimal selama 4 menit.

Rendemen Fraksi Produk Etanolisis

Hasil analisis ragam Fraksi 1 menunjukkan bahwa nisbah etanol 96% dengan PKO dan waktu reaksi etanolisis serta interaksi antara keduanya berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen fraksi produk etanolisis dan hasil uji lanjut polinomial ortogonalnya menunjukkan hubungan antara nisbah etanol 96% dengan PKO terhadap rendemen Fraksi 1 bersifat gemaris dan kuadratik (Gambar 3).



Gambar 3. Hubungan antara nisbah etanol 96% dengan PKO dan waktu reaksi etanolisis terhadap rendemen Fraksi 1

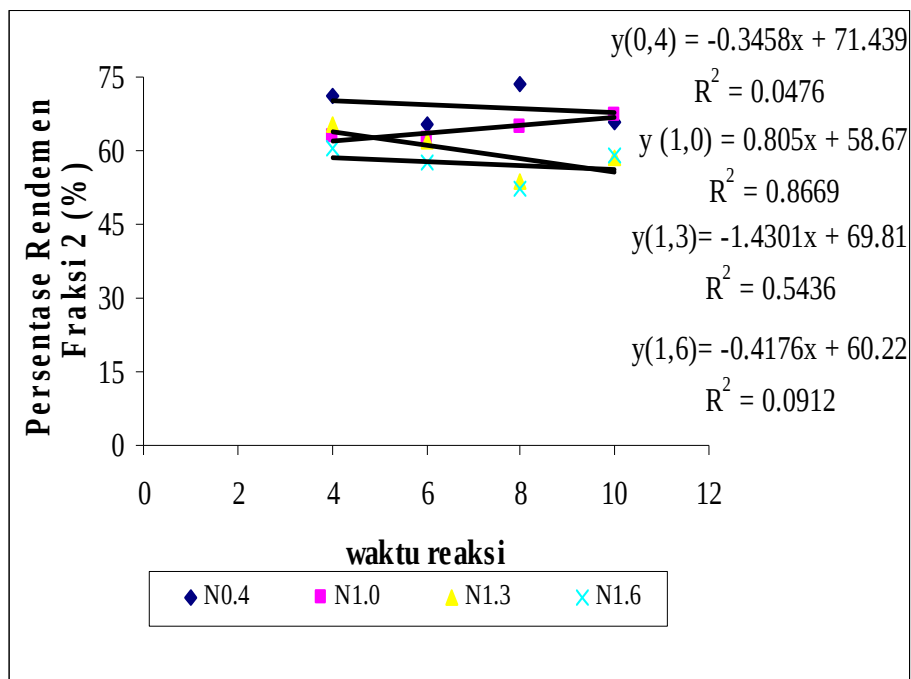
Waktu reaksi etanolisis mempengaruhi persentase rendemen Fraksi 1 produk etanolisis. Persentase rendemen Fraksi 1 yang dihasilkan pada perlakuan nisbah 0,4 dan nisbah 1,6 meningkat seiring dengan peningkatan waktu reaksi. Pada nisbah 0,7 dan nisbah 1,3 terjadi perubahan arah selama waktu reaksi sampai 10 menit. Pada waktu reaksi 4 menit persentase rendemen meningkat kemudian mengalami penurunan pada waktu reaksi 6 menit, selanjutnya persentase rendemen terus meningkat hingga waktu reaksi 10 menit. Perbedaan persentase rendemen Fraksi 1 pada tiap perlakuan nisbah etanol 96% dan PKO, diduga disebabkan oleh persentase komponen MG yang terkandung dalam produk etanolisis dan kemampuan komponen MG yang bersifat relatif polar untuk larut dalam etanol.

Rendemen fraksi produk etanolisis adalah perbandingan antara berat fraksi terhadap berat produk etanolisis PKO dikali 100%. Produk etanolisis didinginkan selama 30 menit di dalam freezer kemudian dilakukan pemusingan dalam sentrifuge selama 30 menit pada kecepatan 4000 rpm. Penggunaan suhu dingin pada proses fraksinasi dilakukan untuk memperoleh fraksi dengan kandungan MG yang tinggi. Sedangkan penggunaan etanol sebagai pelarut didasarkan atas sifat polaritas komponen MG yang lebih tinggi dibandingkan dengan komponen TG, DG dan ALB. Polaritas pelarut yang digunakan harus disesuaikan dengan komponen target, sesuai dengan prinsip kelarutan *like dissolve like* yaitu pelarut polar akan melarutkan senyawa polar dan pelarut non polar akan melarutkan senyawa non polar (Houghton dan Raman, 1998). Dengan demikian

diharapkan komponen MG akan terlarut dalam etanol, sedangkan komponen lainnya tidak terlarut atau paling tidak kelarutannya relatif terbatas (Mappiratu, 1999).

Hasil analisis ragam Fraksi 2 menunjukkan bahwa nisbah etanol 96% dengan PKO dan waktu reaksi etanolisis serta interaksi antara keduanya berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen fraksi produk etanolisis dan uji lanjut polinomial ortogonalnya menunjukkan hubungan antara nisbah etanol 96% dengan PKO terhadap rendemen Fraksi 2 produk etanolisis bersifat gemaris (Gambar 4).

Nisbah etanol 96% dengan PKO dan waktu reaksi etanolisis memberikan pengaruh terhadap persentase Fraksi 2 produk etanolisis. Fraksi 2 merupakan fraksi lapisan bawah hasil fraksinasi produk etanolisis PKO. Hasil pengujian menunjukkan bahwa nisbah etanol 96% dengan PKO pada nisbah 0,4; 1,0 dan 1,6 menyebabkan terjadinya penurunan rendemen Fraksi 2 yang berbanding lurus dengan waktu reaksi etanolisis, sedangkan pada nisbah 1,3 peningkatan waktu reaksi menyebabkan peningkatan rendemen Fraksi 2. Perbedaan rendemen fraksi tiap perlakuan disebabkan oleh perbedaan komponen asam lemak jenuh terutama asam laurat yang terkandung dalam produk etanolisis PKO. Semakin banyak kandungan asam lemak jenuh yang mengendap maka semakin tinggi persentase rendemen Fraksi 2 yang dihasilkan. Menurut Stevenson *et al.* (1993) pada suhu rendah MG dapat membentuk endapan sehingga MG dapat diisolasi dari pelarut.



Gambar 4. Hubungan antara nisbah etanol 96% dengan PKO dan waktu reaksi etanolisis terhadap rendemen Fraksi 2

Aktivitas anti-*Escherichia coli*

Hasil analisis ragamnya menunjukkan bahwa rasio etanol 96% dengan PKO dan waktu reaksi etanolisis serta interaksi antara keduanya berpengaruh nyata terhadap aktivitas anti-*E. coli*. Uji Homogenitas Ragam diameter zona hambat Fraksi 1 terhadap *S. aureus* dan hasil uji lanjut polinomial ortogonal menunjukkan hubungan antara rasio etanol 96% dengan PKO terhadap aktivitas anti-*E. coli* selama waktu etanolisis 4 sampai 10 menit, bersifat gemaris (N0,7 dan N1,3) dan kuadratik (N1,6; Gambar 5).

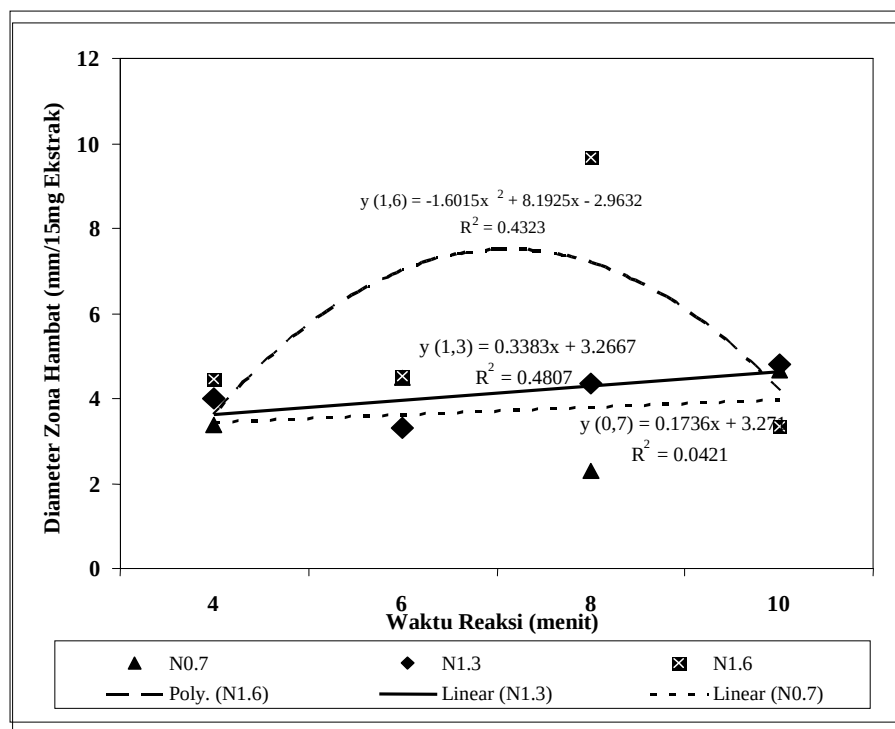
Nilai diameter zona hambat produk etanolisis (Fraksi 1) PKO dipengaruhi oleh rasio khususnya pada nisbah 0,7; 1,3 dan 1,6 dan waktu reaksi etanolisis selama 4 samai 10 menit menyebabkan peningkatan nilai diameter zona hambat Fraksi 1 terhadap *E.*

coli. *Escherichia coli* merupakan bakteri Gram Negatif. Branden dan Davidson (1983) menyatakan bahwa bakteri Gram negatif mempunyai ketahanan yang lebih baik terhadap senyawa antimikroba dibandingkan bakteri Gram positif karena memiliki sistem seleksi terhadap zat-zat asing yaitu lapisan lipopolisakarida. Bakteri Gram negatif, cenderung lebih tahan terhadap komponen antibakteri karena struktur dinding sel bakteri Gram negatif relatif lebih kompleks bersifat nonpolar dan berlapis tiga yaitu: lapisan luar yang berupa lipoprotein, lapisan tengah yang berupa lipopolisakarida dan lapisan dalam berupa peptidoglikan (Pelczar dan Chan, 1986).

Menurut El-Masry *et al.* (2000) senyawa antibakteri dikatakan memiliki aktivitas antibakteri tinggi jika diameter penghambatan zona bening lebih dari 12

mm, dikatakan sedang jika diameter zona bening berkisar antara 6 - 12 mm dan sangat lemah atau tidak aktif jika diameter penghambatnya < 6 m. Berdasarkan hasil

tersebut maka dapat dikatakan bahwa produk etanolisis PKO memiliki aktivitas antibakteri yang relatif lemah.



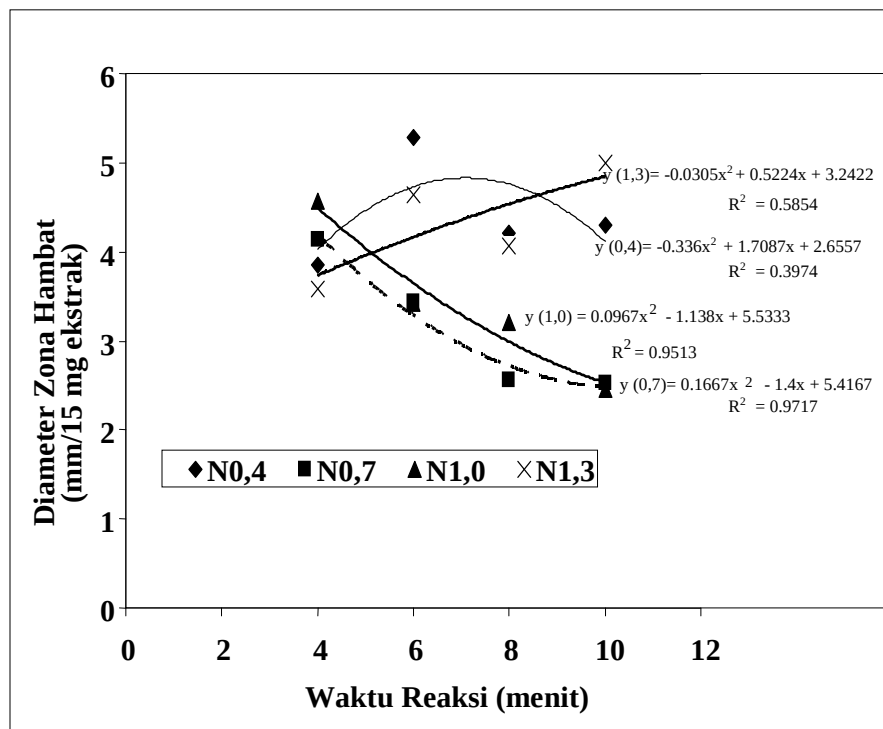
Gambar 5. Hubungan antara rasio etanol 96% dengan PKO terhadap aktivitas anti-*E. coli* dari Fraksi 1 produk etanolisis PKO

Aktivitas anti-*Staphylococcus aureus*

Hasil analisis ragamnya menunjukkan bahwa waktu reaksi etanolisis PKO berpengaruh nyata terhadap aktivitas anti-*S. aureus*. Uji Homogenitas Ragam diameter zona hambat Fraksi 1 terhadap *S. aureus* dan hasil uji lanjut polinomial ortogonal menunjukkan hubungan antara rasio etanol 96% dengan PKO terhadap aktivitas anti-*S. aureus* bersifat kuadratik (Gambar 6).

Peningkatan waktu reaksi memberikan pengaruh yang beragam

(semua dengan fungsi kuadratik) terhadap nilai diameter zona hambat *Staphylococcus aureus*. Pada nisbah 1,3 peningkatan waktu reaksi etanolisis dari 4 hingga 10 menit diikuti peningkatan nilai diameter zona hambat secara konsisten, sedangkan pada nisbah 0,4 peningkatan optimum antara waktu reaksi etanolisis 6 sampai 8 menit. Sementara pada nisbah 0,7 dan 1,0 peningkatan waktu reaksi etanolisis diikuti dengan penurunan nilai diameter zona hambat *Staphylococcus aureus*.



Gambar 6. Hubungan antara rasio etanol 96% dengan PKO terhadap aktivitas anti-*S.aureus* dari Fraksi 1 produk etanolisis PKO

Hasil penelitian Hasanuddin *et al* (2003) menunjukkan bahwa reaksi etanolisis terhadap trigliserida (TG) jauh lebih mudah dan cepat untuk menghasilkan DG dan etil ester pertama, dibandingkan dengan reaksi etanolisis terhadap DG untuk menghasilkan MG dan etil ester kedua, khususnya antara 1 sampai 5 menit dengan rasio etanol/CPO 0,25. Pada waktu reaksi 10 menit kandungan MG dan atau DG yang bersifat antibakteri lebih banyak dibandingkan pada waktu reaksi 4, 6 dan 8 menit. Pada waktu reaksi 4, 6 dan 8 menit kemungkinan reaksi etanolisis hanya mampu mengubah TG menghasilkan DG dan etil ester pertama. MG dan etil ester kedua diperoleh secara optimum pada waktu reaksi 10 menit. Besarnya nilai diameter zona hambat produk etanolisis ini juga dipengaruhi oleh

struktur dinding sel. *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif (Jay, 1996). Bakteri Gram positif cenderung lebih sensitif terhadap komponen antibakteri karena struktur dinding sel bakteri yang relatif lebih sederhana sehingga memudahkan senyawa antibakteri untuk masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk menghambat pertumbuhannya (Pelezar dan Chan, 1986). Adanya monolaurin dalam produk etanolisis minyak inti sawit menyebabkan terjadinya kerusakan pada membran dengan cara merusak protein ekstraseluler, asam nukleat dan atau menurunkan aktivitas enzim tertentu.

KESIMPULAN

Jumlah etanol 96%(NaOH 1%) yang direaksikan dengan PKO khususnya pada nisbah 1,6 (v/b) efektif meningkatkan rendemen produk etanolisis sampai waktu reaksi selama 10 menit, sedangkan untuk nisbah 0,4; 0,7 dan 1,0 (v/b) tidak berbeda nyata dan pada nisbah 1,3 waktu reaksi etanolisis justru optimal selama 4 menit. Persentase rendemen Fraksi 1 yang dihasilkan pada perlakuan nisbah 0,4 dan 1,6 (v/b) meningkat seiring dengan peningkatan waktu reaksi. Pada waktu reaksi 4 menit persentase rendemen meningkat kemudian mengalami penurunan pada waktu reaksi 6 menit, selanjutnya persentase rendemen terus meningkat hingga waktu reaksi 10 menit untuk nisbah 0,7 dan 1,3 (v/b).

Nisbah etanol 96% dengan PKO (0,4; 0,7; 1,0; 1,3 dan 1,6; v/b) dan waktu reaksi etanolisis (4, 6, 8 dan 10 menit) PKO berpengaruh nyata terhadap aktivitas anti-*Staphylococcus aureus* dan aktivitas anti-*Escherichia coli*. Kondisi optimum produksi produk etanolisis PKO khususnya Fraksi 1 melalui reaksi etanolisis yakni pada waktu reaksi 10 menit dan pada nisbah etanol 96% terhadap PKO adalah 1,3 (v/b). Rata-rata daya antibakteri produk etanolisis PKO terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* relatif masih rendah dengan kekuatan diameter zona hambat < 6 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2007a. Tanaman Perkebunan Seluruh Indonesia Menurut Pengusahaan. Ditjenbun. Departemen pertanian RI. Jakarta.
- _____. 2007b. Road Map Pengembangan Komoditas Kelapa Sawit Provinsi Lampung. Dinas Perkebunan Provinsi Lampung. Bandar Lampung.
- _____. 2007c. Palm Oil. www.google.com/wikipedia/chemical/composition. Diakses pada Tanggal 22 Februari 2007.
- Branen, A. L. and P.M. Davidson. 1983. Antimicrobials in Foods. Marcel Dekker, Inc. New York.
- 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.
- Gariga, M., M. Hugas, T. Aymerich, and J.M. Monfort. 1983. Bacteriogenic activity of lactobacilli from fermented sausage. App. Bacteriol. 75:142-148.
- Hasanuddin, A., Mappiratu, dan G.S. Hutomo. 2003. Pola perubahan mono dan diasilgliserol dalam reaksi etanolisis minyak sawit mentah. J. Teknol. dan Industri Pangan. XIV(3):241-246.
- Houghton, P.J. and A. Raman. 1998. Laboratory Handbook For the Fractionation of Natural Extract. Chapman and Hall. London.
- Jay, M.J. 1996. Modern Food Microbiology. 5Th ed. Chapman and Hall Book. New York.
- Mappiratu. 1999. Penggunaan Biokatalis Dedak Padi dalam Biosintesis Antimikroba Monoasilgliserol dari Minyak Kelapa. Disertasi. Program Pascasarjana IPB. Bogor.

- Murhadi. 2002. Isolasi dan Karakterisasi Komponen Antibakteri dari Biji Atung (*Parinarium glaberrimum* Hassk). Disertasi. Program Pascasarjana IPB. Bogor.
- Pitutur. 2005. Kajian Aktivitas Antibakteri Produk Gliserolisis Minyak Inti Sawit Menggunakan Dedak Padi Kasar. Skripsi. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian. Fakultas Pertanian. Unila. Bandar Lampung.
- Pelezar, M.J. and E.C.S. Chan. 1986. Microbiology. McGraw Hill Co. New York.
- Rangga, A., Murhadi, F. Nuraeni, dan Pitutur. 2005. Produksi dan Kajian Aktivitas Antibakteri Produk Gliserolisis dari Minyak Inti Sawit (PKO). Makalah Seminar Nasional Research and Studies TPSDP Dikti Depdiknas. Mei 2005. Yogyakarta.
- Stevenson, D.E., A.S. Roger and H.F. Richard. 1993. Glycerolysis of Tallow with Immobilized Lipase. J. Biotechnology. 15(10):1043-1048.
- Wang, L.L., B.K. Yang, K.L. Parkin, and E.A. Johnson. 1993. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by monoacylglycerols synthesized from coconut oil and milk fat by lipase-catalyzed glycerolysis. J. Agric. Food Chem. 41:1000-1005.
- Weiss, T.J. 1985. Food Oils and Their Uses. AVI Publ. Co., Inc. Westport, Connecticut.