

EKSTRAKSI CAMPURAN KOMPONEN ESTER DALAM LARUTAN MODEL DENGAN MENGUNAKAN ALAT LIKENS NICKERSON

(EXTRACTION OF ESTER COMPONENT IN MODEL
SOLUTION USING LIKENS NICKERSON APPARATUS)

C. Hanny Wijaya¹⁾, Anton Apriyantono¹⁾, Winiati Pudji Rahayu¹⁾
dan Han Han Haryanto²⁾

ABSTRAK

Penelitian di bidang flavor dengan bioteknologi (penggunaan mikroba) mulai sering dilakukan dan memperoleh hasil yang menggembirakan. Perkembangan ini perlu diimbangi dengan perkembangan di bidang proses ekstraksi. Proses ekstraksi flavor yang baik akan menghasilkan jumlah flavor terekstrak yang maksimum.

Ekstraksi larutan yang merupakan model campuran etil asetat, isoamil asetat dan etil laurat dengan alat Likens Nickerson menunjukkan bahwa perlakuan dengan pelarut dietil eter sebanyak 100 ml dan waktu ekstraksi tiga jam memberikan hasil yang optimum. Dengan metode ini diperoleh hasil ekstraksi etil asetat, isoamil asetat dan etil laurat masing-masing sebesar 47.0%, 92.0% dan 78.0% dari jumlah bahan yang ada dalam larutan model.

PENDAHULUAN

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa pembuatan komponen ester dengan bantuan *Hansenula anomala* sangat potensial untuk dikembangkan (Sudiati, 1993; Amahorseya, 1994; Faridal, 1995). Salah satu masalah utama yang dihadapi yaitu pada ekstraksi komponen ester dari media pertumbuhan mikroba yang digunakan. Beberapa cara ekstraksi yang telah dikembangkan orang diantaranya kromatografi adsorpsi, pemisahan menggunakan membran (membrane separation), ekstraksi solvent dan ekstraksi dengan CO₂ superkritik (Fabre et al. 1996). Pada penelitian ini dicoba mengekstraksi komponen ester utama yang dihasilkan oleh *Hansenula anomala* yaitu etil asetat, isoamil asetat dan etil laurat dengan menggunakan salah satu cara ekstraksi lainnya yaitu distilasi dan ekstraksi secara simultan dengan menggunakan alat Likens Nickerson.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan kondisi optimum ekstraksi campuran ester dengan menggunakan alat Likens Nickerson. Untuk itu digunakan larutan model yang berisikan 0,50 gram etil asetat 5,00 gram isoamil asetat dan

0,60 gram etil laurat dalam 100 ml air. Komposisi ester ini sesuai dengan komposisi ekstrak ester yang dihasilkan dari perlakuan terbaik kondisi pertumbuhan *Hansenula anomala* (Farida, 1995). Optimasi ekstraksi dengan alat Likens Nickerson ini dilakukan dengan variasi perlakuan jenis pelarut, jumlah pelarut dan waktu ekstraksi.

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah natrium sulfat anhidrat, etil asetat, isoamil asetat, 1,4-diklorobenzen, dikloromentana, pentana dan dietil eter, kesemuanya berasal dari Merck (Jerman Barat) dengan grade p.a. yang diperoleh dari PT. Sumber Karya (Jakarta) dan etil laurat yang diperoleh dari PT IFF (Jakarta).

Alat-alat yang digunakan adalah alat ekstraksi Likens Nickerson, rotary evaporator, pompa vakum, labu erlenmeyer, labu takar, gelas ukur, pipet volumetrik, corong, jaket pemanas, pipet Mohr, tabung vial dan alat kromatografi gas merk Shimadzu model 9AM.

¹⁾ Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta-IPB,
Kotak Pos 220, Kampus Darmaga, Bogor 16002

²⁾ Alumni Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta IPB

Metode Penelitian

1. Penelitian Tahap Pertama

Penelitian tahap pertama bertujuan untuk mengetahui jenis pelarut terbaik. Pelarut yang dicobakan adalah pentana, diklorometana dan dietil eter.

2. Penelitian Tahap Kedua

Pada tahap ini diamati pengaruh waktu ekstraksi dan jumlah pelarut terhadap hasil ekstraksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut terbaik dari hasil penelitian tahap pertama. Jumlah sampel yang digunakan adalah 100 ml.

Perlakuan

Perlakuan yang diamati pada penelitian tahap kedua ialah waktu ekstraksi (A) dan jumlah pelarut (B). Perlakuan A terdiri dari empat taraf yaitu satu jam (A1), dua jam (A2), tiga jam (A3) dan empat jam (A4). Perlakuan B terdiri tiga taraf yaitu 50 ml (B1), 75 ml (B2) dan 100 ml (B3).

Rancangan percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah percobaan faktorial dengan rancangan acak lengkap dan dua kali ulangan.

Model linier rancangannya sebagai berikut :

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \epsilon_{k(ij)}$$

dimana :

Y_{ijk} = variabel respon karena pengaruh bersama taraf ke-i dari faktor lama ekstraksi dan taraf ke-j dari faktor jumlah pelarut

μ = pengaruh rata-rata

A_i = pengaruh taraf ke-i faktor lama ekstraksi (i=1, 2,3 dan 4)

B_j = pengaruh taraf ke-j faktor jumlah pelarut (j=1, 2 dan 3)

AB_{ij} = pengaruh interaksi taraf ke-i faktor lama ekstraksi dengan taraf ke-j faktor jumlah pelarut

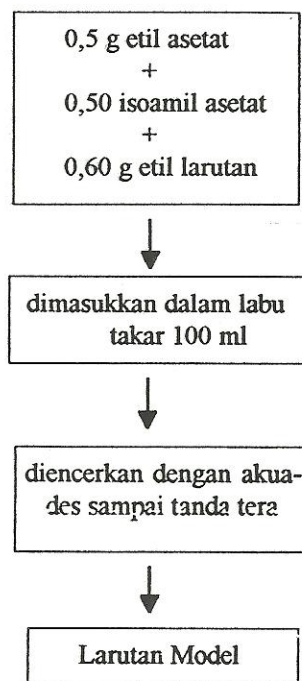
$\epsilon_{k(ij)}$ = pengaruh galat percobaan

Larutan Model

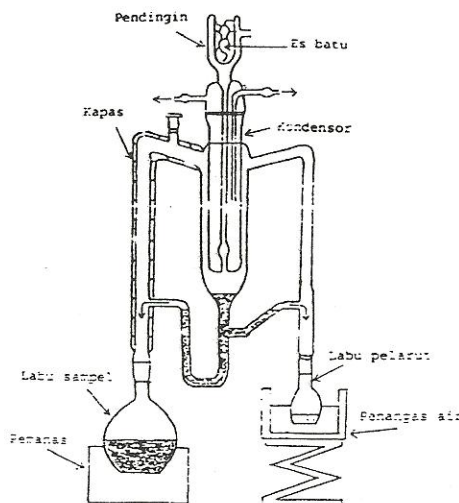
Sampel yang digunakan dalam penelitian merupakan suatu model yang mengandung campuran komponen ester yaitu etil asetat, isoamil asetat dan etil laurat. Pembuatan larutan model dapat dilihat pada Gambar 1.

Ekstraksi Larutan Model

Sebanyak 100 ml larutan model dimasukkan ke dalam labu sampel (Gambar 2). Pada kondensor



Gambar 1. Pembuatan larutan model



Gambar 2. Alat Likens Nickerson

pemanasan sampel atas dimasukkan es batu. Suhu pemanasan sampel dijaga 100°C dan suhu pemanasan pelarut dijaga 40°C untuk solven dietil eter. Distilasi dan ekstraksi dilakukan sesuai dengan perlakuan yang diterapkan.

Setelah proses distilasi dan ekstraksi selesai, seluruh pelarut ditampung dalam labu pelarut. Pada labu pelarut ditambahkan natrium sulfat anhidrat untuk menghilangkan sisa-sisa air yang terbawa. Setelah itu hasil ekstraksi tadi dipisahkan dengan menggunakan rotavapor. Hasil pekatan tadi disimpan dalam tabung vial, lalu ditambah

dengan larutan 1,4-diklorobenzen 60% (w/v) dalam dietil eter sebagai standar internal sebanyak 0,5 ml, kemudian diencerkan sepuluh kali dengan dietil eter. Hasil pengenceran ini dianalisa dengan kromatograf gas.

Analisa Kuantitatif dengan Gas Kromatografi

Penentuan kuantitas komponen volatil dilakukan dengan alat kromatografi gas. Jumlah sampel yang diinjeksikan sebanyak satu mikroliter. Analisa pada penelitian tahap pertama dilakukan dengan menggunakan kolom kapiler DBwax, dengan panjang kolom 15 m, diameter dalam kolom 0,22 mm. Sebagai fase bergerak digunakan gas helium dengan tekanan sebesar 0,5 kg/cm². Untuk penelitian tahap kedua digunakan *fused silica capillary colum* Carbowax 20 M, dengan panjang kolom 30 m, diameter dalam kolom 0,25 mm dan ketebalan lapisan 0,25 mikrometer. Sebagai fase bergerak digunakan gas helium dengan tekanan sebesar 0,5 kg/cm². Program alat yang digunakan untuk penelitian tahap pertama sama dengan yang digunakan untuk tahap kedua.

Alat diprogram sebagai berikut : suhu awal kolom 45°C ditahan selama 5 menit, kemudian suhu kolom ditingkatkan dengan peningkatan 2°/menit. Suhu akhir kolom diprogram 180°C. Suhu injektor dan detektor adalah 230°C. Detektor yang digunakan adalah detektor pengionan nyala (FID).

Perhitungan Kuantitas Komponen

Untuk mencari kuantitas dari komponen tersebut digunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Jumlah ester} = \frac{A \times B \times \text{RF}}{C}$$

Di mana :

- A = Luas area sampel
- B = Jumlah standar internal (g)
- C = Luas area standar internal
- RF= Respon faktor sampel

Perhitungan Respon Faktor

Untuk mencar respon faktor sampel digunakan rumus sebagai berikut :

$$\text{Respon Faktor} = \frac{A \times B}{C \times D}$$

di mana :

- A = luas area standar internal
- B = jumlah sampel (g)
- C = luas area sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemilihan Pelarut

Pada penelitian tahap pertama dilakukan penentuan jenis pelarut terbaik untuk mengekstraksi komponen ester. Pelarut yang dicobakan adalah diklorometana, pentana dan dietil eter. Pelarut yang digunakan sebanyak 100 ml dan waktu ekstraksi selama satu jam. Pemilihan ketiga jenis pelarut tersebut didasarkan atas titik didih ketiga pelarut yang rendah (Brieger, 1969), sehingga kerusakan komonen ester akibat panas dapat dikurangi. Alasan lain ketiga jenis pelarut ini sering digunakan untuk ekstraksi komponen flavor (Weurman, 1969).

Dari hasil penentuan pelarut terbaik terhadap ekstraksi sampel, untuk pelarut diklorometana diperoleh persentase ekstraksi etil asetat sebesar 40,8 %, isoamil asetat sebesar 53,8 % dan etil laurat 17,6 %. Dengan pelarut pentana didapatkan persen ekstraksi etil asetat sebesar 42,5 %, isoamil asetat etil sebesar 57,2 % dan etil laurat sebesar 14,8 %, sedangkan untuk pelarut dietil eter didapatkan persen ekstraksi etil asetat sebesar 48,8 %, isoamil asetat sebesar 49,3 % dan etil laurat sebesar 19,4 %.

Dari hasil penelitian tahap pertama ini terlihat bahwa diklorometana merupakan pelarut yang kurang cocok untuk mengekstraksi komponen dalam larutan model karena hasil yang didapatkan lebih sedikit dibandingkan dengan yang lain. Pentana merupakan pelarut yang cukup baik digunakan walaupun tidak sebaik pelarut dietil eter. Untuk dietil eter didapatkan hasil yang cukup besar terutama untuk isoamil asetat yang merupakan komponen utama di dalam sampel.

Konsep *like dissolve likes* sangat penting untuk diperhatikan dalam suatu proses ekstraksi. Konsep ini adalah suatu konsep bahwa dalam suatu proses ekstraksi, pelarut dengan sampel sebaiknya memiliki nilai kepolaran yang saling mendekati. Dengan demikian hasil ekstraksi yang diperoleh juga akan besar. Dietil eter merupakan pelarut yang bersifat semi polar, dalam hal ini kepolaran dietil eter mendekati kepolaran sampel dibandingkan pelarut pentana (Brieger 1969). Oleh karena itu hasil ekstraksi yang diperoleh lebih besar jumlahnya.

Dietil eter memiliki titik didih sebesar 35°C, sedangkan pentana dan diklorometana masing-masing sebesar 33,5°C dan 40,5°C. Untuk pelarut diklorometana dengan titik didih yang lebih tinggi mempunyai kelemahan dalam pemekatan sampel kembali. Pelarut diklorometana memerlukan waktu yang relatif lebih lama dan suhu yang lebih tinggi untuk dihilangkan dari sampel

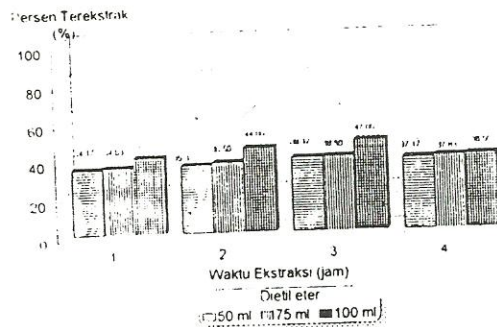
dibandingkan dengan dietil eter. Akibatnya jumlah sampel akan berkurang karena dengan semakin lamanya proses pemekatan, sampel akan ikut hilang bersama pelarut atau rusak karena panas (Cronin, 1982).

Dietil eter merupakan pelarut yang umum digunakan dalam proses ekstraksi komponen volatil. Dalam proses ekstraksi dengan menggunakan alat Likens Nickerson pelarut ini tidak memerlukan suhu yang tinggi karena memiliki titik didih yang cukup rendah, juga positif dalam pemekatan sampel karena digunakan suhu yang tidak terlalu tinggi (Parliment, 1986).

Optimasi Jumlah Pelarut dan Lama Ekstraksi Etil asetat

Persentase hasil ekstraksi etil asetat terbesar yaitu 47,0 % diperoleh pada perlakuan waktu ekstraksi selama tiga jam dengan jumlah pelarut 100 ml, sedangkan persen ekstraksi terkecil yaitu 34,2 % diperoleh pada perlakuan waktu ekstraksi selama satu jam dengan jumlah pelarut 50 ml. Daya ekstraksi yang masih rendah (kurang dari 50 %) disebabkan sifat etil asetat yang sangat volatil (titik didih 77,1 °C, sehingga kemungkinan ikut hilang pada waktu pemekatan sampel.

Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa waktu ekstraksi dan jumlah pelarut tidak berpengaruh nyata terhadap persentase hasil ekstraksi etil asetat. Demikian juga dengan interaksi antara waktu ekstraksi dengan jumlah pelarut tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap persentase



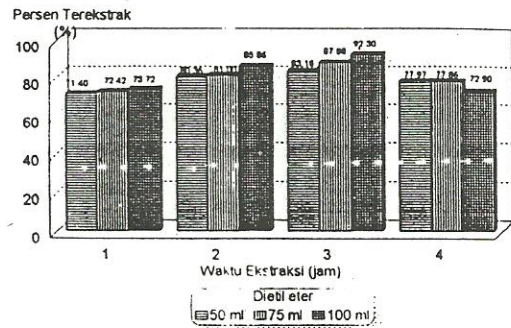
Gambar 3. Histogram rata-rata persen hasil ekstraksi etil asetat

hasil ekstraksi etil asetat (Gambar 3).

Mengingat jumlah yang terekstrak kurang dari 50 persen maka masih perlu dicari kondisi atau cara ekstraksi yang lebih tepat untuk mengekstraksi etil asetat.

Isoamil asetat

Persentase hasil ekstrak isoamil asetat adalah antara 71,4 % sampai dengan 92,3 %. Persentase hasil ekstraksi terbesar diperoleh dengan waktu ekstraksi tiga jam dan volume pelarut sebesar 100 ml, sedangkan persentase hasil ekstraksi selama satu jam dengan menggunakan pelarut sebesar 50 ml (Gambar 4).



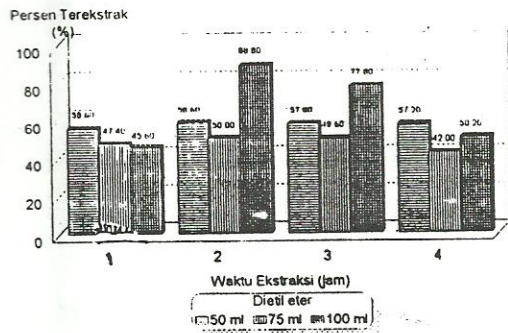
Gambar 4. Histogram rata-rata persen hasil ekstraksi isoamil asetat

Waktu ekstraksi berpengaruh nyata terhadap persen hasil ekstraksi isoamil asetat, sedangkan perlakuan jumlah pelarut tidak berpengaruh nyata. Interaksi antara waktu ekstraksi dengan jumlah pelarut tidak berpengaruh nyata.

Pengaruh waktu ekstraksi terhadap persen hasil ekstraksi isoamil asetat untuk penggunaan jumlah pelarut 50 ml, 75 ml dan 100 ml (Gambar 4) meningkat dengan bertambahnya waktu ekstraksi, kecuali pada jam keempat persen hasil ekstraksi kembali menurun. Hal ini mungkin dikarenakan pada awal ekstraksi masih terdapat komponen isoamil asetat pada sampel yang belum terekstrak sehingga dengan penambahan waktu maka jumlah yang terekstrak juga akan semakin besar. Tetapi efisiensi ekstraksi sudah memasuki nilai maksimum pada jam ketiga sehingga bila dilanjutkan maka persentase isoamil asetat terekstrak akan menurun disebabkan oleh rusaknya komponen isoamil asetat atau terkonversinya isoamil asetat menjadi senyawa lain sehingga jumlah isoamil asetat dalam sampel berkurang (Reineccius, 1984). Dengan demikian dalam menentukan lamanya ekstraksi juga harus dilihat jumlah sampel yang ada, apabila waktu yang ditentukan terlalu lama dengan sampel yang ada hanya berjumlah sedikit maka akan terjadi kehilangan sampel akibat lamanya proses ekstraksi.

Etil laurat

Persen hasil ekstraksi etil laurat terbesar yaitu 88,8 % diperoleh dari perlakuan waktu ekstraksi dua jam dengan jumlah pelarut 100 ml, sedangkan persen hasil ekstraksi etil laurat terkecil sebesar 42,0 % diperoleh dari perlakuan waktu ekstraksi empat jam dengan jumlah pelarut 75 ml (Gambar 5).



Gambar 5. Histogram rata-rata persen hasil ekstraksi etil laurat

Waktu ekstraksi berpengaruh sangat nyata terhadap persentase hasil ekstraksi etil laurat, juga diketahui bahwa jumlah pelarut berpengaruh nyata terhadap persentase hasil ekstraksi etil laurat, sedangkan interaksi antara waktu ekstraksi dengan jumlah pelarut tidak berpengaruh nyata.

Dari Gambar 5 terlihat bahwa pelarut dengan jumlah 100 ml terlihat paling tinggi peningkatannya selama ekstraksi dibandingkan dengan pelarut yang berjumlah 50 ml dan 75 ml, sedang untuk waktu ekstraksi diperoleh persentase hasil ekstraksi maksimum pada dua jam.

KESIMPULAN

Pemilihan pelarut yang tepat pada ekstraksi dengan menggunakan alat Likens Nickerson memberikan hasil ekstraksi yang maksimum. Selain pelarut yang tepat, pada ekstraksi isoamil asetat dan etil laurat, waktu ekstraksi dan ratio pelarut dengan sampel juga berpengaruh pada hasil ekstraksi.

Hasil penelitian dengan larutan model campuran etil asetat, isoamil asetat dan etil laurat menunjukkan bahwa perlakuan waktu ekstraksi tiga jam dan jumlah pelarut dietil eter 100 ml memberikan hasil yang optimum. Persen hasil ekstraksi yang didapat pada perlakuan ini untuk etil asetat, isoamil asetat dan etil laurat masing-masing sebesar 47,0%, 92,3% dan 77,8%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat yang telah membiayai penelitian ini melalui proyek Hibah Bersaing III/2 tahun 1995-1996.

DAFTAR PUSTAKA

- Amahorseya, V. 1994. Analisis Komponen Flavor yang Dihasilkan oleh *Hansenula anomala* pada Substrat Air Kelapa. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Briger, G. 1969. A Laboratory Manual for Modern Organics Chemistry. Harper and Row Publisher. New York.
- Cronin, D.A. 1982. Techniques for Analysis of Flavour. Di dalam : Food Flavours Part A : Introductions. I.D. Morton dan A.J. Macleod (eds). Elsevier, Amsterdam.
- Fabre, C.E, P.J. Blanc, A. Marty, G. Goma, I. Souchon dan A. Voilley. 1996. Extraction of 2-Phenylethyl alcohol by Technuque such as Adsorption, Inclusion, Supercritical CO₂, Liquid-liquid and Membrane Separation. *Perfume Flav.*, 21 (5) : 27-40.
- Faridah. 1995. Produksi Komponen Aroma oleh Beberapa Jenis Fungsi Dengan Memanfaatkan Limbah Pengolahan Hasil Buah-buahan. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Parliment, T.H. 1986. Sampel Preparation Techniques for Gas Liquid Chromatographic Analysis of Biologically Derived Aromas. American Chemical Society. USA.
- Reineccus, G.A. 1984. Determination of Flavor Components. Di dalam Modern Methods of Food Analysis. K.K. Stewart dan J.R. Whittaker (eds). The AVI Publ. Co. Inc. Westport. Connecticut.
- Sudiati, S. 1993. Penggunaan Mikroorganisme (*Hansenula anomala* dan *Candida utilis*). Dalam Produksi Komponen Citarasa. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Bogor.
- Weurman, C. 1969. Isolation and concentration of volatiles in food odor research. *J. Agric. Food Chem.* 17(2):370-383.