

Pengembangan Sintesis Enzimatis Sukrosa Ester Menggunakan Substrat Metil Ester Dan Potensinya Sebagai Senyawa Anti Bakteri

Eka Kurniasih¹, Rahmi^{2*}, Muhammad Dani Supardan³, Darusman⁴

¹Program Studi Doktor Ilmu Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111

¹Program Studi Teknologi Rekayasa Kimia Industri, Politeknik Negeri Lhokseumawe, Lhokseumawe 24301

²Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Alam, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111

³Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111

⁴Departemen Ilmu Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh 23111

*Corresponding Author : rahmi@usk.ac.id

Abstrak

Sintesis sukrosa ester (SEs) melalui reaksi enzimatis menggunakan substrat metil ester dan sukrosa. Kondisi reaksi adalah konsentrasi substrat 0,6 g/ml, waktu reaksi 600 menit, dan kecepatan pengadukan 400 rpm. Penelitian bertujuan untuk meningkatkan bilangan ester (BE) melalui pengaruh rasio *Novozyme*[®]435 pada 0,1-1,0% (b/b) dan temperatur reaksi pada 30-75°C. Selanjutnya mengetahui karakteristik fisika-kimia serta potensinya sebagai senyawa anti bakteri. Data pengamatan mengikuti rancangan faktorial 1 faktor (2 kali ulangan). Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa temperatur reaksi memberikan pengaruh lebih signifikan dibandingkan *Novozyme*[®]435 (*p-value* ≤ 0,05) terhadap peningkatan BE, pada temperature 40°C sebesar 82,94%. Karakteristik SEs optimal adalah bilangan asam 2,446 mg KOH/g, titik leleh 32°C, densitas 0,285 g/ml, kadar air 0,046%, kadar abu 0,292%, larut dalam H₂O dan tidak larut dalam C₂H₅OH. SEs memiliki sifat anti bakteri dan dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* dengan zona hambat terbesar 12,5 mm selama 3 hari inkubasi.

Kata kunci: Anti Bakteri, *Escherichia coli*, Lipase, Metil Ester, Sukrosa Ester

Abstract

The sucrose esters (SEs) were synthesized through an enzymatic reaction using methyl ester and sucrose as substrates. The reaction conditions were substrate concentration of 0.6 g/ml, reaction time of 600 min, and 400 rpm stirring speed. The study aimed to increase the ester number (EN) through the influence of *Novozyme*[®]435 ratio at 0.1-1.0% (w/w) and reaction temperature at 30-75°C. Furthermore, to determine the physico-chemical characteristics and its potential as an anti-bacterial compound. The observation data followed a 1-factor factorial design (2 replicates). Based on the results of the study, it is known that reaction temperature has a more significant effect than *Novozyme*[®]435 (*p-value* ≤ 0.05) on the increase in BE, at a temperature of 40°C by 82.94%. The optimal SEs characteristics are acid number 2.446 mg KOH.g⁻¹, melting point 32°C, density 0.285 g.ml⁻¹, moisture content 0.046%, ash content 0.292%, soluble in H₂O, and insoluble in C₂H₅OH. SEs has anti-bacterial properties and can inhibit the growth of *Escherichia coli* with the largest inhibition zone of 12.5 mm for 3 days of incubation.

Keywords: Anti Bacteria, *Escherichia coli*, Lipase, Methyl Ester, Sucrose Ester

PENDAHULUAN

Sukrosa ester (SEs) adalah salah satu senyawa gula ester yang disintesis dari disakarida dengan asam lemak atau alkil ester. SEs tergolong emulsifier non ionik dengan banyak keunggulan, diantaranya HLB yang lebar (1-16), toksisitas rendah, biodegradabilitas yang baik karena dapat disintesis dari bahan nabati (Zeng et al., 2021). Menurut FDA (*Food and Drug Administration*), SEs aman digunakan sebagai bahan tambahan pangan (BTP). SEs dapat digunakan sebagai BTP golongan pengemulsi tunggal atau dalam bentuk BTP campuran (Sari et al., 2019). SEs digunakan dalam berbagai industri pangan antara lain produk berbasis gandum, permen, susu, es krim, coklat dan lainnya. SEs mampu meningkatkan kekuatan adonan pada saat pengadukan, meningkatkan volume kue dan roti, mengurangi pelengketan adonan pada mesin, menjaga stabilitas emulsi, meningkatkan elastisitas (kalis) adonan, hingga meningkatkan rasa di mulut (*mouthfeel*) (Mitsubishi-Kagaku Food Corporation, 2022).

Produksi SEs skala industri dilakukan melalui reaksi esterifikasi antara asam lemak dengan sukrosa menggunakan katalis basa, pada temperatur 120-185°C dan tekanan vakum. Katalis basa menyebabkan munculnya produk antara, yaitu sabun yang dapat menurunkan kualitas produk akhir. Metode kimia dinilai tidak selektif dan sangat tidak dianjurkan dalam industri pangan. Penggunaan katalis basa berpeluang meninggalkan residu bahan kimia yang bersifat toksik meskipun telah dipurifikasi (Ferrer et al., 2000; Habulin et al., 2008; Pérez et al., 2017). Beberapa penelitian melaporkan bahwa metode kimia sering menghasilkan produk dengan sifat fungsional yang rendah. Hal ini semakin mendorong pengembangan metode enzimatik, yang terbukti berhasil meningkatkan sifat fungsional produk (Abdulmalek et al., 2016; Bidjou-Haiour & Klai, 2013; Bouzaouit & Bidjou-Haiour, 2016; Jia et al., 2010).

Produksi SEs melalui metode enzimatik menggunakan enzim lipase sebagai biokatalis menunjukkan selektivitas reaksi yang lebih tinggi dibandingkan metode kimia. Enzim lipase bekerja spesifik pada substrat tertentu saja, sehingga menghasilkan produk yang spesifik pula. Reaksi yang melibatkan enzim lipase

adalah proses yang mudah terdegradasi karena disintesis dari bahan organik dan bahan kimia dengan toksisitas rendah. Metode enzimatik dapat berlangsung pada temperatur moderat, sehingga karakteristik alami produk terjaga dan mencegah terjadinya karamelisasi sukrosa (*browning*) yang menyebabkan warna produk menjadi lebih gelap (Habulin et al., 2008; Teng et al., 2021). Mayoritas industri menambahkan zat pewarna untuk memperbaiki warna akhir SEs (Lioe & Fadhilah, 2020).

Selain sebagai BTP pengemulsi, SEs yang disintesis dari asam lemak rantai pendek hingga menengah dilaporkan memiliki aktivitas biologis dan digunakan sebagai antimikroba, antitumor (Adnani et al., 2011), antibakterial dan micidal (Gumel et al., 2011), dan agen insektisida (Šabeder et al., 2006). Sehingga aplikasi dari SEs atau gula ester lainnya sangat bergantung pada jenis asam lemak yang berikatan dengan struktur gula tersebut. Asam lemak yang umum digunakan adalah asam kaprat (C₁₀) asam laurat (C₁₂), asam miristat (C₁₄), asam palmitat (C₁₆), dan asam stearat (C₁₈) (Pérez et al., 2017).

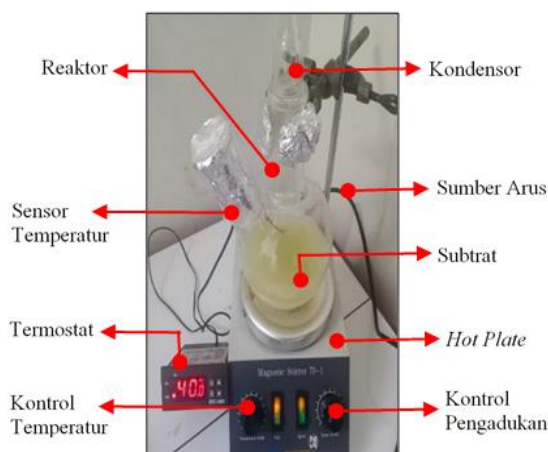
Pada penelitian ini dilakukan sintesis SEs menggunakan metil ester sebagai substrat menggunakan enzim lipase *Novozyme*[®]435. Metil ester disintesis dari minyak inti sawit mentah (MISM) pada penelitian sebelumnya (Kurniasih et al., 2023). Beberapa penelitian melaporkan penggunaan ester dari turunan asam lemak seperti vinyl kaprat (Inprakhon et al., 2017), etil linolenat (Shin et al., 2019), vinyl laurat (He et al., 2017) sebagai substrat. Belum ada laporan mengenai penggunaan metil ester turunan MISM sebagai substrat. Penggunaan metil ester mencegah terbentuknya produk samping H₂O. Reaksi yang menggunakan substrat asam lemak selalu menghasilkan H₂O sebagai produk samping yang harus dipisahkan melalui proses penguapan pada temperatur $\geq 110^{\circ}\text{C}$ (Kurniasih et al., 2023). Selain itu, metil ester yang disintesis dari MISM mengandung metil laurat yang tinggi. Komposisi MISM terdiri atas 59,83% asam laurat, dan diketahui memiliki karakteristik alami sebagai anti bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk meningkatkan konversi substrat yang diukur secara kuantitatif melalui peningkatan bilangan ester, dan menganalisis karakteristik fisika-kimia dan biologi dari SEs sebagai senyawa anti bakteri.

METODE**Bahan**

Metil ester disintesis dari MISM melalui reaksi esterifikasi dan transesterifikasi. Metil ester mengandung *ester content* 96,6%. Bahan kimia lain yang digunakan adalah sukrosa, KOH, HCl, C₂H₅OH dengan kualitas *analytical grade*. Biokatalis adalah *Novozyme*[®]435 (enzim lipase *Candida antarctica immobilis*).

Sintesis Sukrosa Ester

Sebanyak 50 g metil ester dan sukrosa dihomogenkan pada temperatur ruang selama 24 jam dengan pengadukan konstan 400 rpm. Campuran substrat dipanaskan hingga temperatur reaksi tercapai (sesuai rancangan data). Selanjutnya dimasukkan *Novozyme*[®]435 (sesuai rancangan data) kedalam campuran substrat. Reaksi berlangsung selama 600 menit dan kecepatan pengadukan konstan 250 rpm. Waktu reaksi dimulai saat *Novozyme*[®]435 telah dimasukkan ke dalam campuran substrat. Pembentukan SEs ditandai dengan peningkatan bilangan ester. Pada akhir reaksi *Novozyme*[®]435 dipisahkan dari campuran reaksi dengan metode filtrasi. SEs dikeringkan dalam oven selama 6 jam pada temperatur 40°C. Konversi substrat disetarakan dengan peningkatan bilangan ester diakhir reaksi.



Gambar 1. Rangkaian Reaktor Sintesis Sukrosa Ester Secara Enzimatis

Rancangan Data Pengamatan

Data pengamatan disusun mengikuti rancangan faktorial 1 faktor, 2 kali ulangan yang diamati melalui analisis varian (ANAVA) menggunakan *software Minitab 16*.

- a. Variabel Tetap
 - Konsentrasi substrat : 0,6 g/ml
 - Waktu reaksi : 600 menit
 - Kecapatan pengadukan : 250 rpm
 - Massa metil ester : 50 g
- b. Variabel Bebas
 - Rasio *Novozyme*[®]435 : 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1,0 (% b/b)
 - Temperatur reaksi : 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 (°C)
- c. Variabel Terikat
 - Bilangan ester
- d. Karakteristik Fisika dan Kimia : bilangan asam, titik leleh, kelarutan, densitas, kadar air, kadar abu
- d. Karakteristik Biologi : aktivitas anti bakteri pada *Eschericia coli*

Bilangan Ester

Bilangan ester adalah metode volumetri yang dapat digunakan untuk mengetahui kuantitas asam lemak yang membentuk senyawa ester. Bilangan ester dihitung berdasarkan selisih antara bilangan penyabunan dengan bilangan asam (PPKS, 2004).

Perhitungan :

$$BE = BP - BA \quad (1)$$

Keterangan :

BE = Bilangan Ester
BP = Bilangan Penyabunan
BA = Bilangan Asam

Bilangan Asam

Menimbang 2 g sampel SEs yang akan dianalisa dan memasukkan ke dalam erlenmeyer 250 ml. Mencairkan SEs pada temperatur 40°C. Menambahkan C₂H₅OH yang telah dinetralisasi dengan NaOH 0, N. Menambahkan ± 2 ml indikator phenolftaelin dan kocok perlahan. Mentitrasi dengan KOH 0,1 N (standarisasi) sampai terbentuk warna merah muda yang bertahan selama ± 30 detik (AOCS, 1998).

Perhitungan :

$$\text{Bilangan Asam} = \frac{V \times N \times 56,1}{W} \quad (2)$$

Keterangan :

V = Volume NaOH (ml)
N = Normalitas NaOH (N)
W = Berat sampel (g)

Bilangan Penyabunan

Menimbang 2 g sampel SEs, dan memasukkan ke dalam erlenmeyer. Mencairkan pada temperatur 40°C. Menambahkan 50 ml larutan KOH etanolik 0,5 N. Memasang pendingin balik dan panaskan 60 menit sambil diaduk agar campuran homogen. Mentrirasi sampel dengan HCl 0,1 N sampai warna merah rosa hilang (AOCS, 1998).

$$\text{Bilangan Penyabunan} = \frac{(B - S) \times N}{W} \times 56,1 \quad (3)$$

Keterangan :

B = Volume HCl untuk titrasi blanko (ml)

S = Volume HCl untuk titrasi sampel (ml)

N = Normalitas KOH (N)

W = Berat sampel (g)

Analisa Karakteristik Fisika dan Kimia

Karakteristik fisika dan kimia yang dilakukan adalah titik leleh, kelarutan, densitas (PPKS, 2004), kadar air, dan kadar abu (AOCS, 1998).

Karakteristik Biologi

Analisis Anti Bakteri Metode Difusi Cakram

SEs diujikan pada bakteri gram negative *Escherichia coli* ATCC 25922. Analisis diawali dengan pembuatan media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan sterilisasi media pada 121°C selama 15 menit. Menuang 20 ml media MHA yang telah steril ke dalam cawan petri ukuran 10 cm x 9 cm x 2 cm dan biarkan memadat. SEs dilarutkan dalam aquadest steril (1 g/ml) dan dihomogenkan dengan vortex selama 5 menit. Rendam kertas cakram dalam larutan SEs selama 30 menit. Mengambil suspensi bakteri *Escherichia coli* yang tingkat kekeruhannya telah disamakan dengan Standar *Mc Farland* 0.5 ($\pm 1.5 \times 10^8$ CFU/ml), kemudian diswab di atas seluruh permukaan media MHA menggunakan *cotton swab steril*. Meletakkan kertas cakram yang telah direndam dan dikeringkan pada cawan petri. Selanjutnya diinkubasi pada temperatur 37°C selama 72 jam. Sebagai kontrol positif digunakan gentamicin dan kontrol negatif adalah aquadest steril. Pengamatan dilakukan secara duplo. Aktivitas anti bakteri diukur melalui zona hambat yang bentuk oleh SEs. Pengukuran daya hambat SEs dilakukan setiap 24 jam selama 3 hari pengamatan. Zona hambat

yang merupakan aktivitas antibakteri adalah area sekitar *cakram disk* yang tidak ditemukan pertumbuhan bakteri. Daya hambat diukur secara kuantitatif menggunakan jangka sorong.



Gambar 2. Pengukuran Zona Hambat Bakteri Metode Difusi Cakram

HASIL DAN PEMBAHASAN

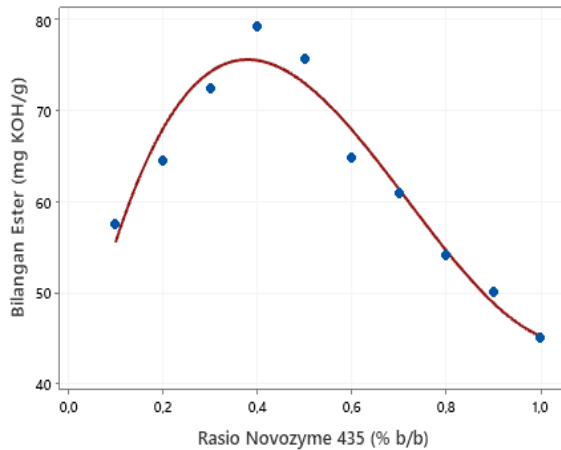
Pengaruh Rasio *Novozyme*®435 Terhadap Peningkatan Bilangan Ester

Penggunaan asam lemak atau alkil ester sebagai substrat berlebih dapat meningkatkan peluang terbentuknya ikatan ester yang bereaksi dengan gugus hidroksil (O-H) dari sukrosa (Inprakhon et al., 2017; Jia et al., 2010; Marathe et al., 2020). Penggunaan sukrosa sebagai substrat berlebih terbukti menurunkan konversi SEs karena peningkatan konsentrasi sukrosa dapat menurunkan homogenitas campuran reaksi (Ren & Lamsal, 2017).

Pada penelitian ini digunakan metil ester sebagai substrat berlebih sehingga sukrosa bertindak sebagai substrat pembatas. Untuk menganalisis pengaruh rasio *Novozyme*®435 terhadap peningkatan bilangan ester dilakukan percobaan pada berbagai rasio *Novozyme*®435 dari 0,1-1,0% (b/b). Variabel penelitian lain berada dalam keadaan tetap. Meskipun *Novozyme*®435 diketahui mampu mengkatalisis reaksi transesterifikasi, tetapi aktivitasnya pada substrat metil ester terutama yang disintesis dari MISM dan sukrosa belum diketahui.

Mekanisme *Novozyme*®435 sebagai biokatalis dalam merombak substrat menjadi produk utama diawali dengan pembentukan kompleks enzim-substrat (ES) yang terjadi pada bagian aktif enzim. Saat kompleks ES telah terombak menjadi produk utama, bagian aktif akan melepaskan produk dan mengikat kembali substrat membentuk ES. Aktivitas ini terus berlanjut hingga substrat habis, atau kinerja enzim lipase mengalami penurunan karena

faktor eksternal ataupun internal. Berikut pengaruh peningkatan rasio *Novozyme*[®]435 terhadap konversi substrat.



Gambar 3. Bilangan Ester Pada Berbagai Rasio Enzim Lipase *Novozyme*[®]435

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa penggunaan *Novozyme*[®]435 sebagai biokatalis terbukti dapat meningkatkan kecepatan reaksi. Kondisi ini menunjukkan bahwa enzim lipase golongan *Novozyme*[®]435 memiliki selektivitas yang tinggi untuk mengkatalisis reaksi dalam sintesis SEs. Penggunaan rasio *Novozyme*[®]435 pada 0,1-0,4% (b/b) dapat meningkatkan bilangan ester. Bilangan ester optimal diperoleh pada rasio *Novozyme*[®]435 0,4% (b/b) sebesar 79,25%. Sementara peningkatan *Novozyme*[®]435 diatas 0,4% (b/b) menunjukkan adanya penurunan bilangan ester. Beberapa hal yang dapat menyebabkan penurunan bilangan ester antara lain :

1. Pembentukan kompleks ES terhambat karena kuantitas enzim lipase *Novozyme*[®]435 telah melebihi ketersediaan substrat yang akan dikatalisis. Kompleks ES terbentuk apabila bagian aktif enzim lipase telah seluruhnya berikatan dengan substrat yang akan dikatalisis. Sementara pada tahap ini konsentrasi substrat yang digunakan adalah tetap yaitu 0,6 g/ml agar pengaruh tunggal dari peningkatan rasio *Novozyme*[®]435 dapat diamati (Susanti & Febriana, 2017).
2. Peningkatan rasio enzim *Novozyme*[®]435 menyebabkan peningkatan viskositas sistem reaksi. Viskositas yang tinggi menurunkan kecepatan perpindahan massa antara substrat

ke dalam bagian aktif *Novozyme*[®]435 (Abdulmalek et al., 2016).

3. Terjadinya proses aglomerasi pada sistem reaksi. Aglomerasi adalah pengumpulan partikel atau zat menjadi satu bentuk yang lebih *compact*. Aglomerasi menyebabkan penurunan luas permukaan kontak antara enzim lipase dengan substrat, sehingga menyebabkan penurunan konversi substrat secara keseluruhan (Marathe et al., 2020). Dalam penelitian ini, aglomerasi dapat diamati dengan terbentuknya gumpalan menyerupai bola, dimana substrat terpusat pada *Novozyme*[®]435 sehingga mengganggu aktivitas katalisis.

Untuk mengetahui pengaruh rasio *Novozyme*[®]435 terhadap bilangan ester dilakukan analisis menggunakan ANAVA.

Hipotesis

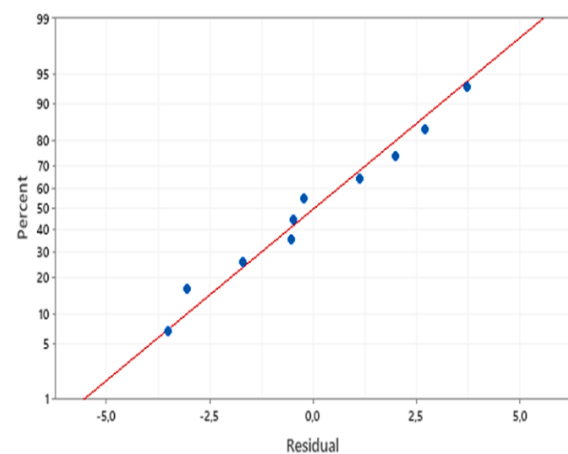
$H_0 : \beta_i = 0$ (Bilangan ester tidak dipengaruhi oleh peningkatan rasio *Novozyme*[®]435)

$H_1 : \beta_i \neq 0$ (Bilangan ester dipengaruhi oleh peningkatan rasio *Novozyme*[®]435)

Tabel 1. Hasil Analisis Regresi Non Linier

Ragam	DF	SS	MS	F	P
Regresi	3	1.072,5	357,5	41,7	0,0
Error	6	51,4	8,6		
Total	9	1.123,9			

Dari ANAVA menunjukkan bahwa peningkatan rasio enzim lipase *Novozyme*[®]435 berpengaruh signifikan terhadap peningkatan bilangan ester ($p\text{-value} \leq 0,05$).



Gambar 4. Plot Distribusi Normalitas Residual Model Regresi Non Linier

Model regresi non linier (kubik) adalah model yang paling memenuhi hubungan antara rasio enzim *Novozyme*[®]435 sebagai prediktor (x) dengan bilangan ester sebagai respon (y). Nilai standar deviasi (S) yang diperoleh dari *fitted line plot* data (Gambar 3) adalah 2,93 dan koefisien determinasi (R^2) = 95,43%. Sebaran data residual pada model non linier terlihat merata, dan *p-value* uji kenormalan model adalah 0,024 (Gambar 4). Sehingga uji normalitas untuk model regresi non linier telah memenuhi distribusi normal. Model regresi non linier yang dapat digunakan adalah :

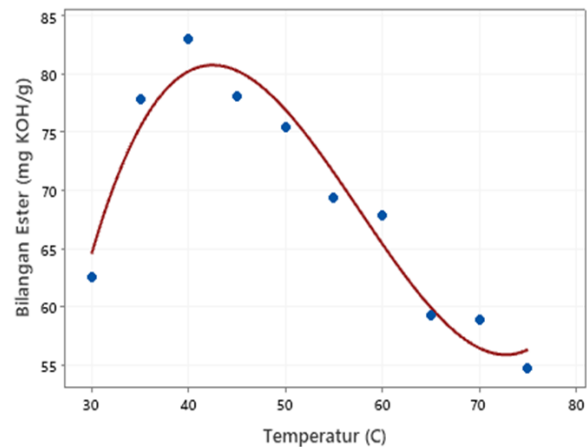
$$y = 35,7 + 238,8x - 427,4x^2 + 198,1x^3 \quad (4)$$

Pengaruh Temperatur Reaksi Terhadap Peningkatan Bilangan Ester

Penelitian dilakukan pada 10 level temperatur reaksi berbeda, yaitu 30-75°C dengan interval kenaikan temperatur 5°C. Diketahui bahwa peningkatan temperatur setiap 10°C dapat meningkatkan kecepatan reaksi sebesar dua kali, sehingga dijustifikasi dengan adanya kenaikan temperatur, maka dapat terjadi peningkatan bilangan ester. Pada penelitian ini, kenaikan temperatur dibuat dalam interval <10°C untuk mengamati aktifitas *Novozyme*[®]435 terhadap temperatur. Pemilihan range temperatur ini didasarkan pada keaktifan dari *Novozyme*[®]435 yang bekerja dengan baik pada temperatur 30-70°C (Ortiz et al., 2019).

Meskipun terdapat penelitian mengenai sintesis fruktosa ester yang dilakukan pada temperatur reaksi 90°C. Tetapi kondisi ini berhubungan dengan penambahan pelarut organik dalam campuran reaksi, sehingga membutuhkan temperatur reaksi yang lebih tinggi (Šabeder et al., 2006). Sementara dalam penelitian ini, sintesis SEs dilakukan tanpa pelarut organik. Penggunaan substrat metil ester juga dapat membantu menurunkan viskositas sistem reaksi, sehingga proses transfer massa antara substrat dan enzim *Novozyme*[®]435 lebih mudah terjadi dibandingkan substrat asam lemak. Sintesis SEs tanpa pelarut telah dilakukan pada penelitian sebelumnya menggunakan katalis kimia (basa) dengan substrat asam oleat (Smidrkal et al., 2004; Reddy et al., 2015), *palm* metil ester (Claverie, 2004), metil palmitat (Fitremann et al., 2007), tetapi konversi substrat yang dihasilkan masih sangat rendah.

Hubungan antara temperatur reaksi dengan bilangan ester ditampilkan dalam grafik berikut ini.



Gambar 5. Bilangan Ester Pada Berbagai Level Temperatur Reaksi

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, diketahui bahwa peningkatan temperatur reaksi berpengaruh terhadap peningkatan bilangan ester. Pada temperatur 30-40°C terjadi peningkatan bilangan ester yang signifikan hingga 82,94%. Tetapi penggunaan temperatur di atas 40°C menyebabkan penurunan bilangan ester. Hal ini disebabkan oleh *Novozyme*[®]435 bekerja optimal pada 40°C untuk mengkatalisis reaksi enzimatis. Hasil penelitian yang sama ditunjukkan oleh (Gumel et al., 2011; Yu et al., 2008), yang melakukan sintesis glukosa ester secara enzimatis menggunakan *Novozyme*[®]435, dimana diperoleh temperatur reaksi optimal pada 35-45°C. Dilaporkan bahwa pada temperatur reaksi di bawah 30°C, kelarutan dari sistem substrat sangat rendah, dan berakibat pada rendahnya konversi produk yang dihasilkan. Sementara penggunaan temperatur reaksi $\geq 70^\circ\text{C}$ mengakibatkan penurunan aktivitas enzim lipase *Novozyme*[®]435 dan berakhir dengan rendahnya konversi produk yang dihasilkan (Gumel et al., 2011). Karakteristik dasar dari enzim lipase adalah makro molekul protein yang tersusun atas asam-asam amino, sehingga enzim lipase memiliki sifat yang bersesuaian dengan protein. Salah satunya adalah mudah terdenaturasi pada temperatur $\geq 60^\circ\text{C}$. Hal ini menyebabkan *Novozyme*[®]435 atau sebagian besar golongan enzim lipase lainnya mengalami penurunan

aktivitas biokatalitiknya ketika terjadi peningkatan temperatur reaksi (Godtfredsen, 1993; Susanti & Febriana, 2017; Wahyuni, 2017).

Pengaruh temperatur reaksi terhadap peningkatan bilangan ester dianalisis menggunakan ANAVA.

Hipotesis

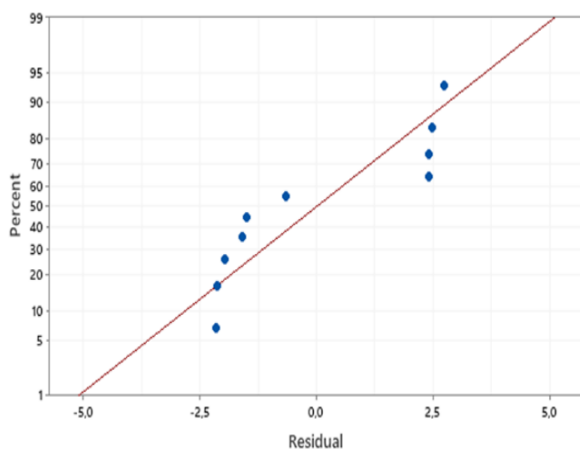
$H_0 : \beta_i = 0$ (Bilangan ester tidak dipengaruhi oleh temperatur reaksi)

$H_1 : \beta_i \neq 0$ (Bilangan ester dipengaruhi oleh temperatur reaksi)

Tabel 2. Hasil Analisis Regresi Non Linier

Ragam	DF	SS	MS	F	P
Regresi	3	793,2	264,4	36,4	0,0
Error	6	43,5	7,2		
Total	9	836,6			

Analisis ANAVA menunjukkan bahwa temperatur reaksi berpengaruh signifikan terhadap peningkatan bilangan ester.



Gambar 6. Plot Distribusi Normalitas Residual Model Regresi Non Linier

Berdasarkan analisis regresi, model regresi non linier kubik adalah model yang paling sesuai untuk menyatakan hubungan antara temperatur reaksi (x) sebagai prediktor dan bilangan ester (y) sebagai respon dibandingkan regresi linier dan kuadrat. Nilai standar deviasi (S) yang diperoleh dari *fitted line plot data* (Gambar 5) adalah 2,69 dan koefisien determinasi (R^2) = 94,80%. Sementara regresi linier dan kuadrat memiliki nilai S dan R^2 yang lebih besar. Data residual pada model non linier

tertumpu pada beberapa titik tertentu yang menunjukkan bahwa terdapat data pengamatan berada pada titik yang berdekatan atau berada pada sebaran data yang sama. Nilai *p-value* untuk uji kenormalan model adalah 0,035 (Gambar 6).

Kondisi tersebut menunjukkan bahwa uji normalitas untuk model regresi non linier telah mengikuti distribusi normal (Iriawan & Astuti, 2006). Uji kenormalan model bertujuan untuk mempertegas kesesuaian model yang diperoleh dengan data. Model regresi non linier yang dapat digunakan adalah :

$$y = 203,8 + 16,6x - 0,31x^2 + 0,0018x^3 \quad (5)$$

Karakteristik Sukrosa Ester

a. Karakteristik Fisika dan Kimia

Untuk mengidentifikasi kualitas SEs yang dihasilkan dari sintesis enzimatis, dilakukan analisa karakteristik.

Tabel 3. Karakteristik Sukrosa Ester

Parameter	SEs ⁽¹⁾	SEs ⁽²⁾	SEs ⁽³⁾	FAO
Bilangan Asam (mg KOH/g)	2,349	2,446	3,181	Maks 6
Titik leleh (°C)	33	32	30	-
Densitas (g/ml)	0,284	0,285	0,289	-
Kadar air (%)	0,048	0,046	0,037	-
Kadar abu (%)	0,292	0,290	2,897	-
Kelarutan				
a. H ₂ O	L	L	L	-
b. C ₂ H ₅ OH	TL	TL	TL	-

Keterangan :

(1) : Perlakuan 0,4% (b/b) *Novozyme*[®]435

(2) : Perlakuan Temperatur 40°C

(3) : SEs Komersial

T : Larut, TL = Tidak Larut

FAO : *Food Agricultural Organization*

Berdasarkan hasil analisis, SEs yang dihasilkan dari sintesis enzimatis memiliki karakteristik yang mendekati standar FAO dan komersial. FAO menetapkan bilangan asam tidak melebihi 6 mg KOH/g, dan SEs hasil sintesis memenuhi standar sebab MISM telah dikonversi menjadi metil ester sebelum digunakan sebagai substrat sehingga asam lemak bebas telah turun. Titik leleh SEs enzimatis lebih tinggi dibandingkan komersial, yang disebabkan oleh masih terdapat sukrosa bebas yang terkandung pada produk akhir sehingga titik leleh lebih mendekati titik didih sukrosa.

Sedangkan kadar air dari SEs telah memenuhi standar karena selama proses sintesis tidak dihasilkan H₂O dan substrat lainnya telah dihilangkan melalui proses pengeringan. Begitupula dengan kadar abu, telah memenuhi standar yang menunjukkan bahwa dalam SEs enzimatis tidak terkandung material anorganik yang dapat menurunkan kualitas produk akhir.

Densitas adalah salah satu karakteristik fisika-kimia yang paling sering digunakan karena memiliki keakuratan yang tinggi sebagai indikator pembeda suatu senyawa. Dari hasil analisis diketahui bahwa densitas SEs sintesis memiliki kesesuaian dengan densitas SEs komersial. Densitas SEs sintesis adalah 0,284-0,285 g/ml, sementara densitas SEs komersial adalah 0,289 g/ml. Densitas sukrosa adalah 1,580 g/ml dan densitas metil ester adalah 0,860 g/ml. Hal ini menunjukkan bahwa campuran substrat telah terkonversi menjadi SEs karena terjadi perubahan densitas mendekati densitas senyawa SEs. Karakteristik lain yang penting adalah kelarutan. SEs memiliki kelarutan yang sangat tinggi dalam air melebihi sukrosa, dan tidak larut dalam C₂H₅OH (etanol). Meskipun air dan etanol adalah senyawa polar, tetapi karena SEs telah mengikat gugus ester sehingga karakteristiknya menjadi tidak dapat larut dalam alkohol menyerupai karakteristik senyawa ester.

b. Karakteristik Anti Bakteri

Aktivitas anti bakteri dari SEs diujikan pada bakteri *Escherichia coli*. Bakteri jenis ini sering mengkontaminasi produk minuman dan makanan. Morfologi *Escherichia coli* berbentuk basil pendek $\pm 2 \mu\text{m}$, dengan garis tengah $0,7 \mu\text{m}$, lebar $0,4-0,7 \mu\text{m}$ dan bersifat anaerob fakultatif yang dapat hidup dengan atau tanpa O₂. Koloni *Escherichia coli* berbentuk bulat, permukaan cembung, dan halus dengan batas tepi koloni yang jelas (Khairunnida et al., 2020).

Pemilihan *Escherichia coli* sebagai bakteri uji didasarkan pada sifat patogeniknya yang dapat menimbulkan berbagai penyakit yang berkaitan dengan saluran pencernaan, *pneumonia* pernafasan, dan saluran uretra. Ditambah dengan kemampuan multiplikasinya yang sangat cepat, sehingga proses penyebarannya menjadi lebih cepat untuk menyerang sistem kekebalan tubuh manusia. *Escherichia coli* adalah salah satu bakteri gram

negatif. Golongan bakteri ini memiliki struktur membran luar dan dalam, serta peptidoglikan. Membran luarnya terdiri dari lipid, liposakarida dan protein. Bakteri negatif memiliki struktur peptidoglikan yang lebih kompleks dan rumit dibandingkan bakteri gram positif (Hidayat, 2015). Peptidoglikan mencegah terjadinya lisis sel, menyangga sel agar rigiditasnya tinggi dan membentuk morfologi pada sel. Struktur ini menyebabkan bakteri gram negatif lebih sulit ditembus oleh senyawa anti bakteri (Zhao et al., 2015).

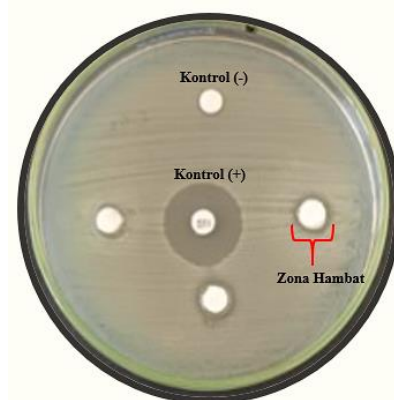
Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa SEs memiliki sifat anti bakteri. SEs mampu menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* (Shin et al., 2019; Wulandari & Kurniasih, 2020). Berikut data zona hambat SEs selama 3 hari inkubasi.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Zona Hambat SEs

Sampel	Kontrol		Zona Hambat (mm)		
	(-)	(+)	1	2	3
A ₁	0	19,5	8,4	10,3	11,6
A ₂	0	20,5	9,6	10,9	11,8
Rerata	0	20,0	9,0	10,6	11,7
B ₁	0	21,3	11,6	12,1	12,4
B ₂	0	21,6	12,2	12,5	12,6
Rerata	0	21,5	11,9	12,3	12,5

Keterangan :

A_i (SEs perlakuan 0,4% b/b *Novozyme*[®]435, ulangan ke-i), B_i (SEs perlakuan 40°C, ulangan ke-i)



Gambar 7. Penampilan Zona Hambat SEs Pada Bakteri *Escherichia Coli*

Zona hambat tertinggi diperoleh pada sampel kode B (perlakuan temperatur 40°C). Pada B₁ (ulangan 1) diperoleh rata-rata zona hambat hari

ke-3 sebesar 12,4 mm. Pada B₂ (ulangan 2) diperoleh rata-rata zona hambar sebesar 12,5 mm. Sementara pada sampel kode A (perlakuan *Novozyme*[®]435 0,4% b/b), diperoleh rata-rata zona hambat tertinggi pada A₂ (ulangan 2) hari ke-3 sebesar 11,7 mm. Zona hambat SEs meningkat seiring dengan meningkatnya waktu inkubasi. Zona hambat SEs pada sampel A dan B, tergolong pada zona hambat yang kuat, karena memiliki diameter 11-20 mm (Sudrajat et al., 2012). Adanya perbedaan besarnya zona hambat dari sampel kode A dan B, disebabkan oleh perbedaan kemurnian produk. Sampel kode A memiliki bilangan ester yang lebih tinggi dibandingkan kode B. Hal ini menyebabkan konsentrasi sampel SEs lebih tinggi pada sampel B dibandingkan A.

Zona hambat ditunjukkan oleh daerah bening yang diciptakan oleh SEs yang menunjukkan area yang tidak terkontaminasi oleh bakteri *Escherichia coli*. SEs masuk ke dalam sel bakteri dan menghambat terjadinya sintesis protein sehingga menekan laju pertumbuhan bakteri (Andrés et al., 2020). Zona hambat atau area bening terbentuk karena adanya aktivitas metabolit sekunder dari SEs yang mengandung metil laurat yang berikatan dengan sukrosa (Marciello et al., 2011). Metil laurat yang merupakan turunan asam laurat (asam lemak terbesar dalam MISM) diketahui memiliki karakteristik alami sebagai anti bakteri. Karakteristik alami ini terbukti tidak mengalami kerusakan selama sintesis antara sukrosa dan metil ester pada temperatur reaksi 40°C. Salah satu faktor yang dapat menyebabkan kerusakan struktur asam lemak adalah temperatur tinggi (Godtfredsen, 1993b; Manley & Mayer, 2012).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Sintesis SEs menggunakan substrat metil ester yang disintesis dari MISM memiliki peluang yang besar untuk dikembangkan menuju skala pilot plant. Penggunaan substrat metil ester mencegah munculnya H₂O sebagai produk samping. Hal ini merupakan suatu keuntungan dari metil ester, karena tidak lagi dibutuhkan proses penguapan. Kontak antara SEs dengan temperatur tinggi saat penguapan yang menyebabkan *browning reaction* (karamelisasi sukrosa) dapat dihindari. Selain

meminimalisasi proses pemurnian, juga mencegah kerusakan karakteristik fisika, kimia dan biologi dari produk akhir. Berdasarkan hasil penelitian, terdapat dua faktor eksternal yang dapat dikontrol untuk meningkatkan bilangan ester, yaitu rasio enzim lipase *Novozyme*[®]435 dan temperatur reaksi. Bilangan ester digunakan sebagai indikator terhadap kuantitas sukrosa yang berikatan dengan metil ester membentuk senyawa ester. Sehingga semakin tinggi bilangan ester, maka secara linier semakin banyak substrat yang telah terkonversi menjadi SEs. Melalui analisis ANAVA diketahui bahwa rasio *Novozyme*[®]435 dan temperatur reaksi menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap peningkatan bilangan ester. Tetapi temperatur reaksi memberikan peningkatan bilangan ester yang lebih tinggi dibandingkan rasio *Novozyme*[®]435 sebesar 82,94% ($p\text{-value} \leq 0,05$). Karakteristik fisika dan kimia SEs telah memenuhi standar FAO dan bersesuaian dengan SEs komersial. SEs juga memiliki potensi sebagai senyawa anti bakteri. SEs bersifat bakteriostatik yaitu mampu menghambat multiplikasi bakteri gram negatif *Escherichia coli*. Zona hambat tertinggi diperoleh pada produk SEs dengan perlakuan temperatur 40°C sebesar 12,5 mm selama 3 hari inkubasi.

Saran

Penelitian ini belum mengkaji pengaruh konsentrasi metil ester sebagai substrat terhadap peningkatan bilangan ester. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, konsentrasi substrat tetap (0,6 g/ml) pada temperatur 40°C menghasilkan bilangan ester sebesar 82,94%. Penggunaan metil ester memegang peranan penting dalam sintesis SEs secara enzimatik. Selanjutnya penelitian ini belum membahas mengenai pengaruh berbagai konsentrasi SEs terhadap aktivitas biologis dalam menghambat bakteri gram negatif *Escherichia coli*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti menyampaikan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, dan Kementerian Keuangan Republik Indonesia melalui Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti sebagai salah satu penerima bantuan penelitian.

Penelitian ini adalah salah satu penelitian yang mendapatkan Beasiswa Pendidikan Indonesia (BPI) skema Bantuan Penyelesaian Studi. Peneliti juga mengucapkan terima kasih pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Medan atas bantuan dan kerjasama yang telah diterima selama penelitian berlangsung. Begitupula pada Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas MIFA, Universitas Syiah Kuala atas pelayanan analisis.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdulmalek, E., Hamidon, N. F., & Abdul Rahman, M. B. (2016). *Optimization and characterization of lipase-catalyzed synthesis of xylose caproate ester in organic solvents*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 132, 1–4. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2016.06.010>
- Adnani, A., Basri, M., Chaibakhsh, N., Ahangar, H. A., Salleh, A. B., Rahman, R. N. Z. R. A., & Abdul Rahman, M. B. (2011). *Chemometric analysis of lipase-catalyzed synthesis of xylitol esters in a solvent-free system*. Carbohydrate Research, 346 (4), 472-479. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2010.12.023>
- Andrés, J., Vargas, M., Orduña, J., Metzker, G., Eliecer, J., & Boscolo, M. (2020). *Phytochemistry Natural Sucrose Esters : Perspectives on The Chemical And Physiological Use Of An Under Investigated Chemical Class Of Compounds*. Phytochemistry, 177, 112433. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2020.112433>
- AOCS. (1998). *Official Methods And Recommended Practices of The AOCS* (6th ed.). American Oil Chemist Society.
- Bidjou-Haiour, C., & Klai, N. (2013). *Lipase catalyzed the synthesis of fatty acid xylose esters and their surfactant properties*. Asian Journal of Chemistry, 25(8), 4347-4350. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2013.13973>
- Bouzaouit, N., & Bidjou-Haiour, C. (2016). *Response Surface Methodological Study of Glucose Laurate Synthesis Catalyzed by Immobilized Lipase from Candida cylindracea*. Biological Forum-An International Journal, Vo.8(1), 420–427. www.researchtrend.net
- Claverie, V. et. al. (2004). *United States Patent About Method For Producing Carbohydrate Partial Ester* (Patent US 6.706.877.81).
- Ferrer, M., Cruces, M. A., Plou, F. J., Pastor, E., Fuentes, G., Bernabé, M., Parra, J. L., & Ballesteros, A. (2000). *Chemical Versus Enzymatic Catalysis for The Regioselective Synthesis of Sucrose Esters of Fatty Acids*. Studies in Surface Science and Catalysis 130. Elsevier Science B.V. All Rights Reserved., 509–514.
- Fitremann, J., Queneau, Y., Maître, J. P., & Bouchu, A. (2007). *Co-melting of Solid Sucrose and Multivalent Cation Soaps for Solvent-free Synthesis of Sucrose Esters*. Tetrahedron Letters, 48(23), 4111-4114. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.04.015>
- Godtfredsen, S. E. (1993a). *Lipases*. In *Enzymes in Food Processing* (3th, pp. 205-219). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-057145-4.50015-3>
- Gumel, A. M., Annuar, M. S. M., Heidelberg, T., & Chisti, Y. (2011). *Lipase mediated synthesis of sugar fatty acid esters*. In *Process Biochemistry* (Vol. 46, Issue 11, pp. 2079–2090). <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.07.021>
- Habulin, M., Šabeder, S., & Knez, Ž. (2008). *Enzymatic synthesis of sugar fatty acid esters in organic solvent and in supercritical carbon dioxide and their antimicrobial activity*. Journal of Supercritical Fluids, 45(3), 338–345. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2008.01.002>
- He, W. Sen, Cui, D. D., Zhang, Y. L., Liu, Y., Yin, J., Chen, G., Jia, C. S., & Feng, B. (2017). *Highly efficient synthesis of phytosterol linoleate catalyzed by Candida rugosa lipase through transesterification*. Food Science and Technology Research, 23(4), 525–533. <https://doi.org/10.3136/fstr.23.525>

- Hidayat, H. (2015). *Identifikasi Morfologi Dan Uji Aktivitas Antimikroba Terhadap Bakteri Escherichia Coli Dari Fermentasi Buah Markisa (Passiflora Sp.)*. Jurnal Eksakta, 15(1–2), 75–84. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol14.iss1-2.art8>
- Inprakhon, P., Wongthongdee, N., Amornsakchai, T., Pongtharankul, T., Sunintaboon, P., Wiemann, L. O., Durand, A., & Sieber, V. (2017). *Lipase-catalyzed synthesis of sucrose monoester: Increased productivity by combining enzyme pretreatment and non-aqueous biphasic medium*. Journal of Biotechnology, 259, 182–190. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2017.07.021>
- Iriawan, Nur dan Astuti, P. S. (2006). *Mengolah Data Statistik Dengan Mudah Menggunakan Minitab 14* (O. H. Sudyarto, Ed.; Edisi 1). Andi Offsheet.
- Jia, C., Zhao, J., Feng, B., Zhang, X., & Xia, W. (2010). *A simple approach for the selective enzymatic synthesis of dilauroyl maltose in organic media*. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 62(3–4), 265–269. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.11.003>
- Khairunnida, G. R., Rusmini, H., Maharyuni, E., & Warganegara, E. (2020). *Identifikasi Escherichia coli Penyebab Waterborne Disease pada Air Minum Kemasan dan Air Minum Isi Ulang*. Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada, 12(2), 634–639. <https://doi.org/10.35816/jiskh.v12i2.370>
- Kurniasih, E., Rahmi, R., Darusman, D., & Supardan, M. D. (2023). *Synthesis of sucrose ester through enzymatic esterification and stability analysis as a food emulsifier*. E3S Web of Conferences, 373, 1–9. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202337304014>
- Lioe, H. N., & Fadhilah, A. (2020). *Formulasi Campuran Bahan Pengemulsi untuk Bolu Sponge Mixed Emulsifier Formula in Sponge Cake*. 7(1), 7–13. <https://doi.org/10.29244/jmpi.2020.7.1.7>
- Manley, C., & Mayer, J. (2012). *Lipase*. Clinical Veterinary Advisor: Birds and Exotic Pets, 624–625. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3969-3.00364-4>
- Marathe, S. J., Shah, N. N., & Singhal, R. S. (2020). *Enzymatic synthesis of fatty acid esters of trehalose: Process optimization, characterization of the esters and evaluation of their bioactivities*. Bioorganic Chemistry, 94. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103460>
- Marciello, M., Mateo, C., & Guisan, J. M. (2011). *Full enzymatic hydrolysis of commercial sucrose laurate by immobilized-stabilized derivatives of lipase from Thermomyces lanuginosa*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 84(2), 556–560. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.02.017>
- Mitsubishi-Kagaku Food Corporation. (2022, August 25). *Various Applications Of Sugar Esters To Foods*. <https://Www.Mfc.Co.Jp/English/Infor.Html>
- Ortiz, C., Ferreira, M. L., Barbosa, O., Dos Santos, J. C. S., Rodrigues, R. C., Berenguer-Murcia, Á., Briand, L. E., & Fernandez-Lafuente, R. (2019). *Novozym 435: The “perfect” lipase immobilized biocatalyst*. Catalysis Science and Technology, 9 (10), 2380–2420. <https://doi.org/10.1039/c9cy00415g>
- Pérez, B., Anankanbil, S., & Guo, Z. (2017). *Synthesis of Sugar Fatty Acid Esters and Their Industrial Utilizations*. In Fatty Acids (pp. 329–354). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-809521-8.00010-6>
- Ren, K., & Lamsal, B. P. (2017). *Synthesis of some glucose-fatty acid esters by lipase from Candida antarctica and their emulsion functions*. Food Chemistry, 214, 556–563. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.031>
- Šabeder, S., Habulin, M., & Knez, Ž. (2006). *Lipase-catalyzed synthesis of fatty acid fructose esters*. Journal of Food Engineering, 77(4), 880–886. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2005.08.016>

- Sari, D. M., Andarwulan, N., & Fardiaz, D. (2019). *Profil Komposisi BTP Campuran, Pelabelan, dan Penggunaannya pada Industri Rumah Tangga Pangan (IRTP) di DKI Jakarta*. *Jurnal Mutu Pangan: Indonesian Journal of Food Quality*, 6(1), 38–45.
<https://doi.org/10.29244/jmpi.2019.6.38>
- PPKS. (2004). *Intruksi Kerja Pengujian Fisika Kimia Minyak*. Pusat Penelitian Kelapa Sawit, Medan
- Shin, D. W., Mai, N. L., Bae, S. W., & Koo, Y. M. (2019). *Enhanced lipase-catalyzed synthesis of sugar fatty acid esters using supersaturated sugar solution in ionic liquids*. *Enzyme and Microbial Technology*, 126, 18–23.
<https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2019.03.004>
- Smidrkal, J., Cervenkova, R., & Filip, V. (2004). *Two-Stage Synthesis of Sorbitan Esters, and Physical Properties of the Products*. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 106(12), 851–855.
<https://doi.org/10.1002/ejlt.200401003>
- Sudrajat, S., Sadani, S., & Sudiastuti, S. (2012). *Analisis Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Kasar Etanol Daun Meranti Merah (Shorea leprosula Miq.) dan Sifat Antibakterinya terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. *Journal of Tropical Pharmacy and Chemistry*, 1(4), 303–311.
<https://doi.org/10.25026/jtpc.v1i4.41>
- Susanti, R., & Febriana, F. (2017). *Buku Enzim Lengkap*. Penerbit Andi Offsheet
- Teng, Y., Stewart, S. G., Hai, Y. W., Li, X., Banwell, M. G., & Lan, P. (2021). *Sucrose fatty acid esters: synthesis, emulsifying capacities, biological activities, and structure-property profiles*. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 61, Issue 19, pp. 3297–3317). Taylor and Francis Ltd.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1798346>
- Vijai Kumar Reddy, T., Sandhya Rani, G., Prasad, R. B. N., & Prabhavathi Devi, B. L. A. (2015). *Green recyclable SO₃H-Carbon Catalyst for The Selective Synthesis of Isomannide-based Fatty Acid Monoesters as Non-Ionic Bio-surfactants*. *RSC Advances*, 5(51), 40997–41005.
<https://doi.org/10.1039/c5ra03605d>
- Wahyuni, S. (2017). *Biokimia Enzim Dan Karbohidrat*. Universitas Malikul Saleh Press.
- Wulandari, A, dan Kurniasih, E. (2020). *Potensi Sukrosa Ester Nabati (SENA) Sebagai Anti Mikroba Staphylococcus aureus dan Escherichia Coli*. *Jurnal Teknik Dan Teknologi Baristand*, 15 (30).
- Yu, J., Zhang, J., Zhao, A., & Ma, X. (2008). *Study of Glucose Ester Synthesis by Immobilized Lipase From Candida sp*. *Catalysis Communications*, 9(6), 1369–1374.
<https://doi.org/10.1016/j.catcom.2007.11.036>
- Zeng, D., Cai, Y., Liu, T., Huang, L., Liu, P., Zhao, M., & Zhao, Q. (2021). *Effect of sucrose ester S370 on interfacial layers and fat crystals network of whipped cream*. *Food Hydrocolloids*, 106541.
<https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106541>
- Zhao, L., Zhang, H., Hao, T., & Li, S. (2015). *In vitro antibacterial activities and mechanism of sugar fatty acid esters against five food-related bacteria*. *Food Chemistry*, 187, 370–377.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.108>