



Sintesis Dan Uji Aktivitas Antibakteri *Fatty Acid Methyl Ester (FAME)* Dari Minyak Biji Kemiri (*Aleurites moluccana* L.) Asal Pulau Timor

Febri O. Nitbani^{1*}, Filomena G. De Carvalho¹, Antonius R. B. Ola¹

¹Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Nusa Cendana, Kupang

* Corresponding author, email: febri_nitbani@staf.undana.ac.id

ABSTRAK

Minyak biji kemiri merupakan salah satu minyak nabati yang dihasilkan dari biji kemiri melalui proses ekstraksi soxhlet. Minyak biji kemiri dapat disintesis menjadi FAME karena mengandung komposisi asam lemak yang tinggi dengan catatan dilalukan proses penetralan sebelum disintesis menjadi FAME. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui rendemen minyak biji kemiri dengan menggunakan metode ekstraksi soxhlet, mengetahui % rendemen FAME hasil sintesis melalui proses transesterifikasi setelah penetralan minyak dan uji sifat antibakteri FAME dari minyak biji kemiri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Hasil penelitian memperoleh rendemen minyak sebesar 80,2%, rendemen FAME sebesar 68,4% dan sifat antibakteri FAME minyak biji kenari yang diuji menunjukkan daya hambat terbesar terdapat pada bakteri *S. aureus* dengan diameter hambat sebesar 14,3 mm pada konsentrasi 20% sedangkan daya hambat FAME terhadap bakteri *E. coli* dengan diameter hambat sebesar 13,1 mm pada konsentrasi 20%.

Kata kunci : Minyak biji kemiri (*Aleurites moluccana* L.), *Fatty acid methyl ester*, Antibakteri.

ABSTRACT

Candlenut seed oil is a type of vegetable oil produced from candlenut seeds through the Soxhlet extraction process. Candlenut seed oil can be synthesized into FAME because it contains a high fatty acid composition provided that a neutralization process is carried out before being synthesized into FAME. The aim of this research was to determine the yield of candlenut kernel oil using the Soxhlet extraction method, to determine the % yield of FAME synthesized through the transesterification process after neutralizing the oil and to test the antibacterial properties of FAME from candlenut kernel oil against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria. The results of the research obtained an oil yield of 80.2%, a FAME yield of 68.4% and the antibacterial properties of the FAME of walnut seed oil tested showed that the greatest inhibitory power was found on *S. aureus* bacteria with an inhibitory diameter of 14.3 mm at a concentration of 20%. FAME's inhibitory power against *E. coli* bacteria with an inhibitory diameter of 13.1 mm at a concentration of 20%.

Key words: Candlenut seed oil (*Aleurites moluccana* L.), *Fatty acid methyl ester*, Antibacterial .

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara dengan hutan tropis paling besar ketiga di dunia setelah Brazil dan Zaire. Hal ini menjadikan Indonesia memiliki banyak keanekaragaman hayati, dimana terdapat kurang lebih sekitar 30.000 jenis tumbuhan yang tersebar di hutan tropis, sebagian dari tumbuhan tersebut sekitar 940 jenisnya termasuk tumbuhan berkhasiat obat¹⁵. Salah satunya adalah tumbuhan kemiri (*Aleurites moluccana* L.), yang memiliki banyak manfaat karena hampir semua bagian dari tumbuhan kemiri ini dapat digunakan, salah satunya adalah biji kemiri.

Biji kemiri mengandung kadar minyak yang tinggi yaitu sebesar 55-66%², serta mengandung kadar gizi dan energi yang cukup tinggi, yang dapat digunakan sebagai bumbu pada makanan, obat, kosmetik dan dapat juga dimanfaatkan dibidang kesehatan¹⁰. Beberapa penelitian yang melaporkan mengenai manfaat biji kemiri di antaranya, Menurut Paimi¹⁶ biji kemiri digunakan sebagai bahan

campuran dalam pembuatan gula aren. Berdasarkan penelitian Yusnita dkk²¹ biji kemiri dapat digunakan sebagai obat sakit gigi, demam, bisul, dan bengkak sendi. Biji kemiri juga digunakan sebagai obat kulit, obat pinggang, sakit kepala dan sariawan⁶.

Minyak biji kemiri dapat diperoleh dengan cara diekstrak dari biji kemiri menggunakan pelarut. Dengan proses ekstraksi ini minyak yang dihasilkan lebih murni dan rendemen minyak yang diperoleh lebih besar karena pelarut hanya akan melarutkan minyaknya saja bukan komponen lain dari biji kemiri¹⁷. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Novianto dan Ahmad¹³ dapat diketahui bahwa waktu ekstraksi dan jenis pelarut dapat mempengaruhi hasil rendemen minyak. Ekstraksi biji kemiri yang dilakukan dengan memakai pelarut n-heksana menghasilkan rendemen minyak yang tertinggi yaitu sebanyak 18,64% pada waktu 120 menit dan memiliki warna kuning bening dengan nilai densitas 0,926 g/mL. Penelitian yang dilakukan Susilowasi dan Primaswari¹⁸ mengekstrak biji kemiri (*Aleurites moluccana* L.) menggunakan soxhlet dengan pelarut n-heksana dan memperoleh rendemen minyak sebesar 38,72%. Arifin² mengekstrak biji kemiri dengan variasi suhu dan menghasilkan rendemen minyak sebesar 34%. Minyak kemiri mengandung asam lemak tak jenuh yaitu asam linoleat 48%, asam linolenat sebesar 28,5%, oleat 75% dan memiliki asam lemak jenuh yaitu asam palmitat 5,83% dan stearat 6,7% (5). Berdasarkan penelitian Aziz dkk³ reaksi transesterifikasi pada minyak kemiri adalah suatu reaksi yang terjadi dimana trigliserida (ester asam lemak dan gliserol) sebagai minyak nabati, bereaksi dengan metanol dengan penambahan katalis KOH yang akhirnya akan menghasilkan metil ester asam lemak dan hasil samping gliserol dan komponen senyawa yang diperoleh dari hasil reaksi transesterifikasi minyak kemiri adalah metil palmitat, metil oleat, metil elaidat, metil stearat dan metil linolenat. Minyak biji kemiri hasil ekstraksi mengandung lemak sebesar 63 gram, pada lemak terdapat trigliserida yang dapat disintesis dengan metanol untuk menghasilkan *Fatty Acid Methyl Ester*.

Fatty Acid Methyl Ester (FAME) merupakan hasil dari proses transesterifikasi trigliserida dengan alkohol menggunakan katalis basa dengan produk samping berupa gliserol. Beberapa penelitian mengenai sintesis FAME yang telah dilakukan yaitu Joelianingsih dkk¹⁴ tentang sintesis FAME dari minyak biji kemiri menggunakan reaksi transesterifikasi tanpa melalui netralisasi dan diperoleh FAME dengan rendemen sebesar 37%. Penelitian Hendra (2014) tentang transesterifikasi minyak biji kemiri menggunakan katalis basa KOH tanpa melalui penetralan minyak dan dihasilkan rendemen FAME sebesar 47%.

Ekstrak tumbuhan yang mengandung FAME diketahui dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri gram-positif dan gram-negatif¹. FAME yang dihasilkan oleh tanaman mangrove *Excoecaria agallocha* dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* dengan diameter hambat 16 mm²⁰. FAME pada buah *Q. leuco trichophorum* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 15,9 mm (7). FAME yang dihasilkan oleh bonggol pisang mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus cereus* dengan zona hambat 5,88 mm, 9,13 mm, 13,86 mm, dan 14,66 mm pada konsentrasi 5%⁸.

Penelitian yang dilakukan oleh Joelianingsih dkk.¹¹ dan Hendra⁹ ditemukan bahwa rendahnya rendemen FAME dari minyak biji kemiri disebabkan oleh tidak adanya proses penetralan hal ini memungkinkan masih adanya kadungan pengotor yaitu kandungan asam. Berdasarkan referensi yang diperoleh belum ditemukan penelitian yang mengkaji tentang sintesis *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME) dari minyak biji kemiri setelah penetralan dan uji antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Sintesis dan Uji Aktivitas Antibakteri *Fatty Acid Methyl Ester* (FAME) dari Minyak Biji Kemiri (*Aleurites moluccana* L.)”.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Persiapan sampel

Persiapan sampel merupakan salah satu proses yang sangat penting dalam memulai suatu tahap penelitian atau analisis suatu bahan alam. Dengan tujuan untuk meminimalkan adanya pengotor yang akan mengganggu proses analisis dengan menghilangkan komponen-komponen lain dari analit (20). Berat biji kemiri sebelum dioven 615 gram dan setelah dioven berat biji kemiri menjadi 435 gram. Tekstur biji kemiri setelah dioven yaitu serbuk dan berwarna putih kekuningan (Gambar 1).



Gambar 1. Sampel biji kemiri setelah dioven

Ekstraksi minyak biji kemiri

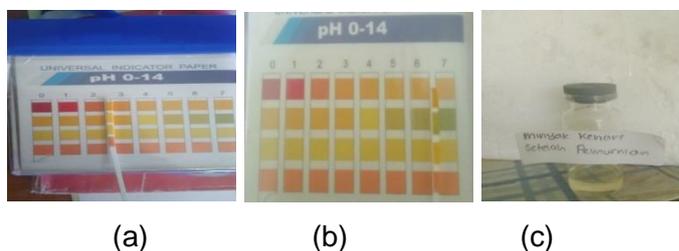
Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Proses ekstraksi dilakukan untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam dengan menggunakan pelarut organik yang cocok agar kandungan kimia yang dapat larut terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair (11). Metode yang digunakan dalam proses ekstraksi ini adalah metode soxhlet dengan prinsip yaitu sirkulasi uap pelarut yang secara berulang sehingga hasil yang diperoleh sempurna dengan menggunakan pelarut yang sedikit. Proses ekstraksi dilakukan selama 4-6 jam dengan suhu sesuai dengan titik didih pelarut yang digunakan. Dalam penelitian ini rendemen minyak biji kemiri Asal Kabupaten Belu yang diperoleh sebesar 80,2% dalam 100 gram biji kemiri. Minyak yang diperoleh berwarna kuning seperti minyak pada umumnya (Gambar 2) dengan aroma khas biji kemiri.



Gambar 2. Minyak biji kemiri hasil ekstraksi soxhlet

Netralisasi minyak biji kemiri

Netralisasi merupakan proses untuk menurunkan nilai asam lemak bebas dari minyak/lemak dengan mereaksikan asam lemak tersebut dengan larutan basa. Tujuan proses netralisasi minyak yaitu untuk menghilangkan kandungan asam lemak bebas yang terkandung dalam sampel. Dimana minyak pada umumnya mengandung trigliserida dan kandungan asam (13). Pada penelitian ini sampel minyak biji kemiri mengandung asam lemak bebas yang ditandai dengan pH 3 (Gambar 3a), artinya bahwa jika nilai pH kurang dari 7 maka nilai keasaman semakin tinggi (19). Oleh karena itu perlu untuk menghilangkan kandungan asam melalui reaksi dengan basa lemah Na_2CO_3 reaksi ini akan menghasilkan produk garam yang larut dalam air yang dapat dibuang. Setelah ditambahkan Na_2CO_3 nilai pH minyak biji kemiri menjadi 7 (Gambar 3b), artinya bahwa jika nilai pH 7 maka suatu larutan bersifat netral (19). Terjadi perubahan warna minyak biji kemiri setelah netralisasi yaitu dari warna kuning menjadi warna bening (Gambar 3c).



Gambar 1. Nilai pH sebelum netralisasi (a). Nilai pH setelah netralisasi (b). Warna minyak biji kemiri setelah netralisasi (c)

Uji kualitas minyak

Uji kualitas minyak kemiri diuji secara fisika dan kimia. Untuk uji kualitas minyak secara fisika diuji kadar air, viskositas dan massa jenis minyak. Sedangkan untuk uji kualitas minyak secara kimia diuji bilangan asam dan bilangan iod. Untuk hasil penelitian dapat dilihat pada (Tabel 1)

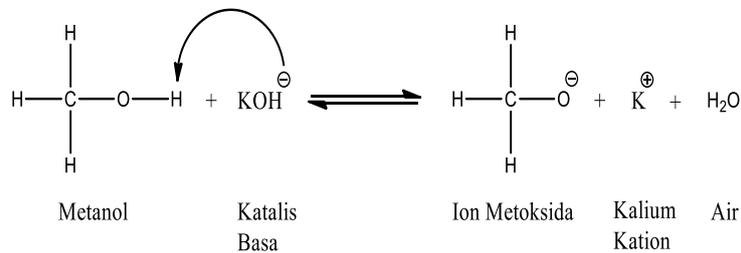
Tabel 1. Sifat fisika-kimia minyak biji kemiri

Sifat Fisika Kimia	Tanpa Penetralan	Dengan Penetralan
Sifat Fisika		
Kadar air (%)	2,9	
Massa jenis (g/mL)	1,3889	
Viskositas (Poise)	44,414	
Sifat Kimia		
Bilangan asam (mg KOH/ g sampel)	3,58	0,67
Bilangan Iod (mg)	0,63	

Sintesis FAME minyak biji kemiri

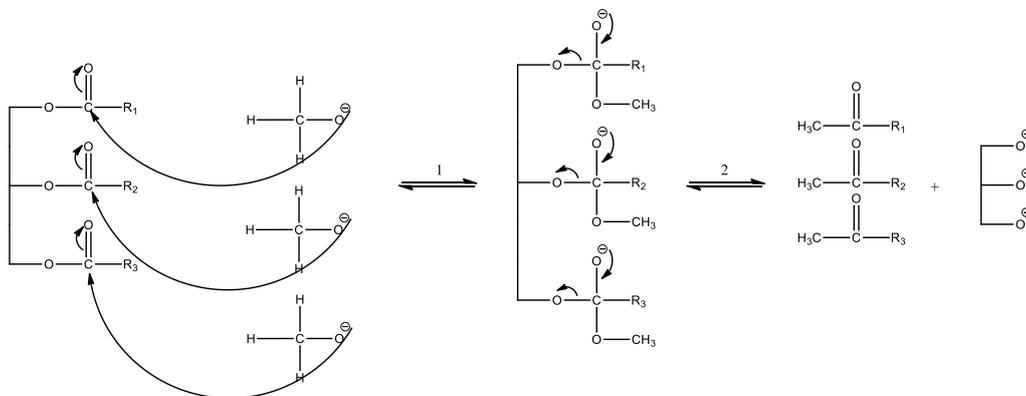
Fatty acid methyl ester (FAME) dari minyak biji kemiri merupakan senyawa hasil dari transesterifikasi. Transesterifikasi merupakan reaksi alkoholisis dari ester karena reaksi tersebut disertai dengan pertukaran bagian alkohol dari suatu ester. Reaksi transesterifikasi dapat mengkonversi minyak biji kenari yang telah dinetralisasi menjadi trigliserida. Sehingga reaksi yang terjadi yaitu trigliserida akan bereaksi dengan metanol, menghasilkan gliserol dan terjadi pemutusan ester. Proses sintesis FAME dilakukan dalam 2 tahap yaitu proses refluks dan isolasi.

Proses refluks merupakan proses dimana reaksi transesterifikasi trigliserida minyak biji kemiri dengan metanol terjadi. Mula-mula direaksikan metanol dan KOH untuk membentuk ion metoksida yang akan berperan sebagai nukleofilik kuat dan nantinya akan menyerang gugus karbonil pada molekul trigliserida untuk membentuk metil ester dan gliserol. Untuk lebih jelas mengenai mekanisme reaksi transesterifikasi metanol dan kalium hidroksida dapat dilihat pada (Gambar 4).

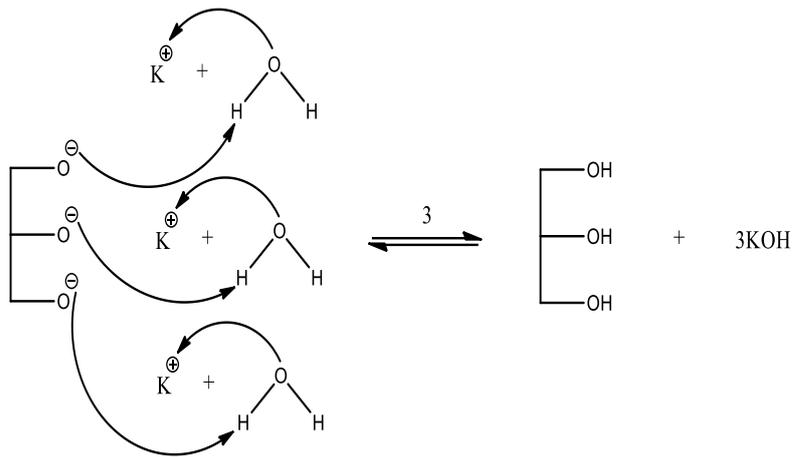


Gambar 4. Reaksi pembentukan ion metoksida

Selanjutnya perubahan struktur trigliserida menjadi ester asam lemak terjadi dalam 3 tahap (Gambar 5). Pada step 1 terjadi penyerangan ikatan karbonil oleh ion metoksida pada trigliserida dan membentuk zat antara tetrahedral. Kemudian terjadi pemutusan dan penataan ulang membentuk metil ester dan ion digliserida (step 2). Lalu ion digliserida akan bereaksi dengan basa kalium hidroksida terprotonasi dan membentuk gliserol dan katalis basa (step 3). Tahapan reaksi ini berulang dua kali hingga membentuk gliserol dan metil ester asam lemak. Untuk Mekanisme reaksinya dapat dilihat pada (Gambar 5 dan Gambar 6).



Gambar 5. Mekanisme reaksi pembentukan metil ester



Gambar 6. Mekanisme reaksi pembentukan gliserol

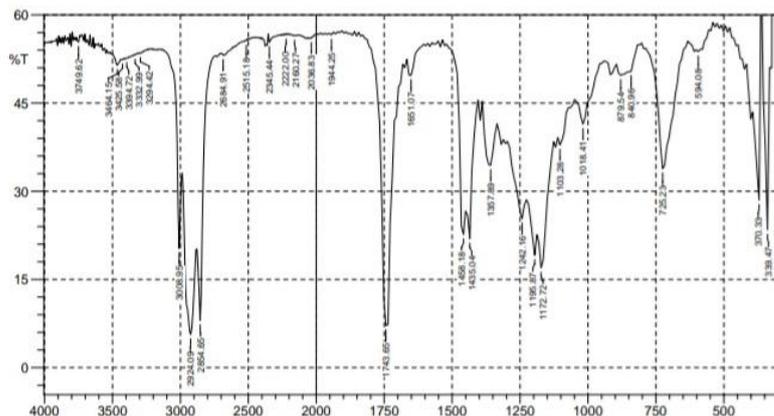
Tahap yang kedua merupakan isolasi FAME dari trigliserida. Proses isolasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair. ekstraksi cair-cair didasarkan pada prinsip *like dissolve like*. Dalam penelitian ini diperoleh FAME yang berwujud cair agak kental, berwarna kuning (bening), dengan rendemen sebesar 68,4% (Gambar 7).



Gambar 7.. FAME minyak biji kemiri

Analisis FAME Menggunakan FT-IR

Karakterisasi menggunakan FT-IR dilakukan untuk mengidentifikasi gugus- gugus fungsi yang dimiliki oleh FAME hasil sintesis. Dari hasil analisis menunjukkan gugus fungsi memiliki spektrum serapan inframerah yang berbeda. Data analisis FT-IR FAME hasil sintesis berupa spektra dapat dilihat pada (Gambar 8). Spektra FAME dalam bilangan gelombang disajikan dalam (Tabel 2).



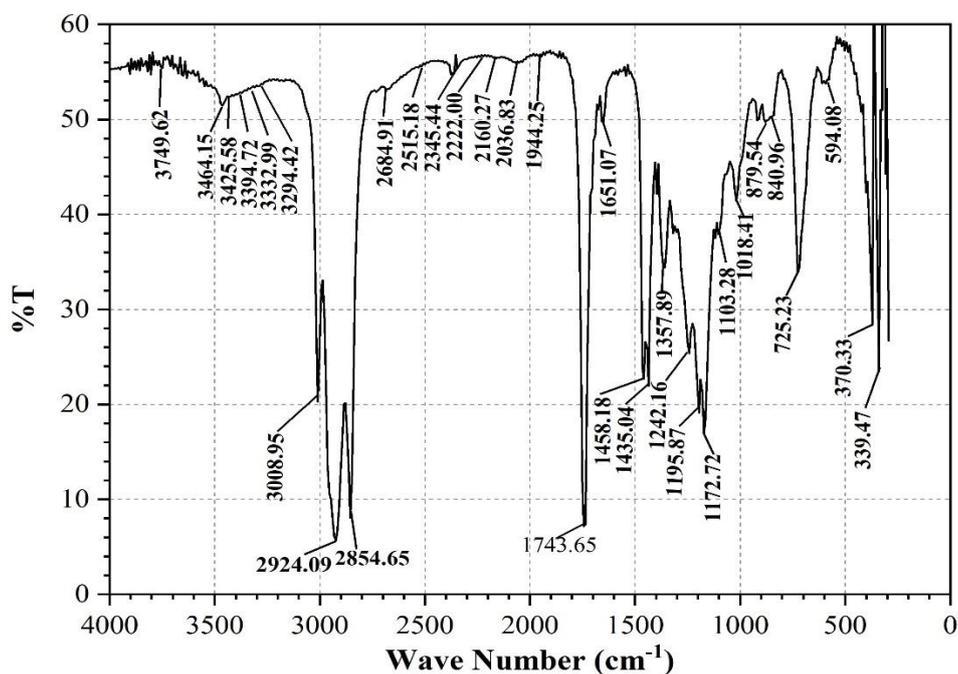
Gambar 8. Spektra FTIR FAME

Tabel 2. Data serapan IR FAME

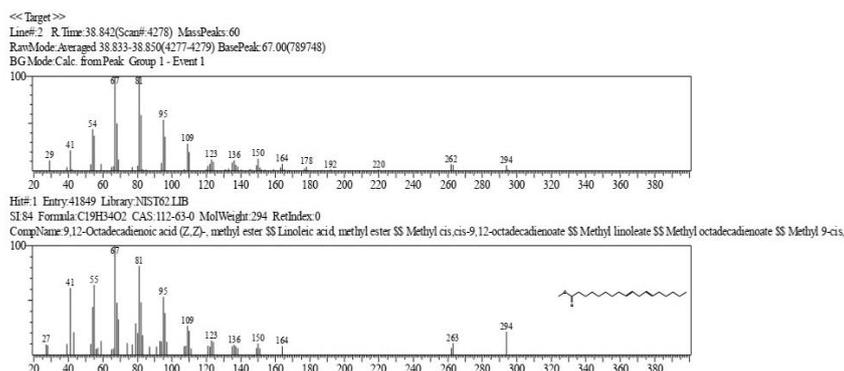
Daerah Serapan (cm ⁻¹)	Jenis Vibrasi Molekul	Nama Gugus Fungsi	Bilangan Terukur	Gelombang (cm ⁻¹) FAME
3700-3200	O-H	Alkohol	3425,58-3464,15	
3000-2800	C _{SP} ³ -H	Metil	2854,65-2924,09	
1740-1760	C=O	Ester	1743,65	
1600-1700	C=C	Alkena	1651,07	
1445-1475	C-H	Metil	1435,04-1458,18	
1110-1300	C-O	Ester	1242,16	
1050-1260	C-O	Eter	1103,28	
675-1000	-CH=CH-	Alkena	725,23	

Analisis FAME Menggunakan KGSM

Instrumen KG-MS digunakan untuk menganalisis komponen-komponen, berat molekul, dan kemurnian produk. Untuk data hasil kromatografi dapat dilihat pada (Gambar 9).

**Gambar 9.** Kromatogram FAME minyak biji kemiri

Hasil analisis kromatogram pada FAME minyak biji kemiri (Gambar 9) menunjukkan terdapatnya sembilan puncak, dimana setiap puncak terdiri atas senyawa yang berbeda-beda. Dari kromatogram terlihat jelas bahwa puncak nomor 3 adalah puncak tertinggi dengan persentasi kelimpahan sebesar 27,68% dengan waktu retensi 38,996 menit. Berikut ini merupakan spektra massa dari puncak nomor 3 (Gambar 10).



Gambar 10. Spektra massa senyawa metil linoleat

Hasil spektra pada puncak nomor 3 (Gambar 10) menunjukkan bahwa senyawa tersebut adalah metil linoleat dengan massa molekul sebesar 294 gram per mol dan indeks kemiripan sebesar 84%. Sehingga dapat dikatakan bahwa minyak biji kemiri asal Kabupaten Belu memiliki komponen asam lemak utama yaitu asam linoleat. Untuk masing-masing puncak lebih detailnya dapat dilihat pada (Tabel 3) sedangkan komponen-komponen FAME minyak biji kemiri dapat dilihat pada (Tabel 4).

Tabel 3. Waktu retensi dan presentase area dalam tiap komponen

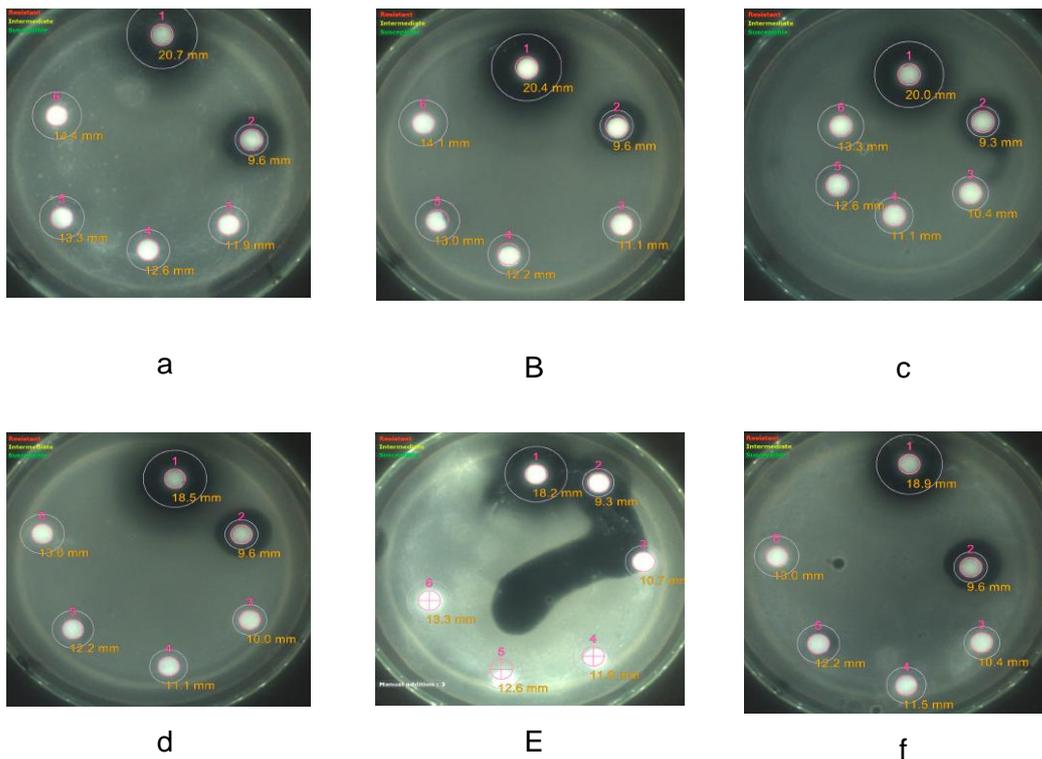
Nama Senyawa	No. Puncak	Waktu Retensi (min)	Presentase Area (%)	Formula
Metil plamitat	1	35,151	10,53	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
Metil linoleat	2	38,841	55,51	C ₁₉ H ₃₄ O ₂
Metil oleat	3	38,996	27,68	C ₁₉ H ₃₆ O ₂
Asam arakidat	4	39,252	4,42	C ₁₉ H ₃₆ O ₂
Asam palmitoleat	5	39,430	0,68	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
Asam linoleat	6	39,837	0,16	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
Asam oktadecatrienoik	7	39,956	0,12	C ₂₁ H ₃₆ O ₄
Metil oleat	8	42,422	0,71	C ₁₉ H ₃₆ O ₂
Metil arakidat	9	42,879	0,20	C ₂₁ H ₄₂ O ₂

Tabel 4. Komponen-komponen FAME minyak biji kemiri

Nama Senyawa	Presentase area (%)
Metil plamitat	10,53
Metil linoleate	56,22
Metil oleat	27,68
Metil Arakidat	0,20
Rata—rata	94,63

Antibakteri *Fatty Acid Methyl Ester*

Uji antibakteri senyawa *fatty acid methyl ester* dilakukan untuk melihat kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan bakteri *E. coli* menggunakan metode difusi agar. Aktivitas antibakteri *fatty acid methyl ester* dapat diketahui dengan adanya perbedaan warna pada zona di sekitar *paper disk* dengan daerah lain yang ditumbuhi bakteri pada *muler hiton agar*. Perbedaan warna yang terbentuk dapat diukur untuk melihat tingkat aktivitas antibakteri *fatty acid methyl ester*. Variasi konsentrasi dari *fatty acid methyl ester* dilakukan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi pada aktivitas antibakteri *fatty acid methyl ester*.



Gambar 11. Aktivitas antibakteri FAME terhadap *S. aureus* perlakuan 1(a), perlakuan 2 (b) dan perlakuan 3 (c) dan Aktivitas antibakteri FAME terhadap *E. coli* perlakuan 1 (d), perlakuan 2 (e) dan perlakuan 3 (f)

Tabel 5. Zona Inhibisi *Fatty Acid Methyl Ester*

Sampel	Konsentrasi Sampel	Zona inhibisi (mm)	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
FAME minyak	5%	11,5	10,66
biji kemiri	10%	12,46	11,5
	15%	13,33	12,33
	20%	14,3	13,1
	Kontrol Positif	20,6	18,53
	Kontrol Negatif	9,6	9,5

*zona inhibisi rata-rata dari tiga kali pengulangan

FAME minyak biji kemiri memiliki aktivitas antibakteri yang sedikit lebih baik terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan bakteri *E. coli* (Tabel 5). FAME memberikan zona inhibisi paling tinggi pada konsentrasi 20% hal ini dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel yang digunakan maka semakin besar zona inhibisinya. FAME menghasilkan zona inhibisi 14,3 mm terhadap bakteri *S. aureus* dan 13,1 mm terhadap bakteri *E. coli*. Senyawa asam organik dan ester bekerja dengan menghambat dinding sel dari bakteri (12). Dinding sel bakteri *E.coli* tersusun atas tiga lapisan utama yakni fosfolipid, lipopolisakarida dan peptidoglikan. Sedangkan dinding sel bakteri *S.aureus* hanya satu lapisan utama yaitu lipopolisakarida (7). Hal ini yang mungkin menyebabkan zona inhibisi FAME terhadap *S.aureus* lebih besar dari zona inhibisi FAME terhadap *E.coli*.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam penelitian ini maka dapat disimpulkan bahwa rendemen minyak biji kemiri yang diperoleh sebesar 80,2%, Senyawa *fatty acid methyl ester* dapat disintesis dari minyak biji kemiri dengan redemen sebesar 68,4% dan kemurnian sebesar 94,63%. Serta senyawa *fatty acid methyl ester* memiliki aktivitas antibakteri yang lebih baik terhadap bakteri *S. aureus* dibandingkan *E.coli* dengan diameter hambatan sebesar 14,3 mm dan 13,1 mm pada konsentrasi 20%. Disarankan perlu dilakukan optimasi bahan, waktu, suhu, dan jumlah katalis untuk mendapatkan rendemen *fatty acid methyl ester* yang lebih tinggi. Dan perlu dilakukan studi lebih lanjut mengenai aktifitas antibakteri dari *fatty acid methyl ester* minyak biji kemiri.

DAFTAR PUSTAKA

1. Agoramoorthy, G., Chandrasekaran, M., Venkatesalu, V., Hsu, M. J. 2007. Antibacterial and antifungal activities of *fatty acid methyl esters* of the blind- your-eye mangrove from India. *Brazilian Journal of Microbiology*. 38(4): 739–742.
2. Arlene, A. Suharto, I. dan Jessica N. R. 2010. Pengaruh Temperatur dan Ukuan Biji Terhadap Perolehan Minyak Kemiri pada Ekstrak Biji Kemiri dengan Penekanan Mekanis. (4): 1-6.
3. Aziz, R., Aisyah., Asriani, L. 2016. Sintesis Metil Ester Dari Minyak Biji Kemiri (*Aleurites molluccana*) Menggunakan metode Ultrasonokimia. *Alaudin-Kimia*. 4(1): 21-29.
4. Fajrih, N., Levi, F. A. P., Muhamad, R. P., Nur, A., Yoga, P. dan N, C. A. S. 2022. Potensi Batang Pisang (*Musaparadisiaca*) Sebagai Bioreduksi Dalam Green Sintesis Ag Nanopartikel. *Jurnal Penelitian Sains*. 24(1): 33-37.
5. Fajrih, N., Wiryawan, K. G., Sumiati, Syahpura, S. K. dan Winarsih, W. 2021. Identification of bioactive compounds of banana corm (*Musa paradisiaca*) using GC-MS and its inhibitory effect against pathogenic bacteria. *Biodiversitas*, 13(1): 195–204.
6. Hadad, E. A. M. dan Sunarya, O. U. 1995. Pengembangan Penelitian Plasama Nutfah Tanaman Rempeh dan Obat. *Tanaman Obat dan Rempeh*. 9(1): 33-43.
7. Helmiyati, A. F. dan Nurrahman. 2010 Pengaruh Konsentrasi Tawas Terhadap Pertumbuhan Bakteri Gram Positif dan Negatif. *Jurnal Pangan dan Gizi* 1(1): 1-6.
8. Hendra, D. 2014. Pembuatan *Fatty Acid Methyl Ester* dari Biji Kemiri. *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*. 32(1): 37-45.

9. Joelianingsih., Armansyah, H., Tambunan., Hiroshi. N., Yasuyuki. S., & Kamaruddin. A. 2006. Perkembangan Proses Pembuatan Biodisel Sebagai Bahan Bakar Dari Beberapa Minyak Nabati. *Jurnal Keteknik Pertanian*. 20(2): 205-216.
10. Ketaren, S. 1986. *Minyak dan Lemak Pangan, Edisi 1*. Jakarta: UI Press.
11. Kresnanugraha, Y. 2012. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Xantin Oksidase Dari Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Dan Identifikasi Senyawa Dari Fraksi Aktif. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia.
12. Narasihan, B. dan Dhake, A. S. 2006. Antibacterial principles from *Myristica Fragrans* Seed. *Journal of Medicinal Food*. 9(3): 395-140.
13. Nitbani, F. O., Siswanta, D. dan Solikhah, E. N. 2016. Isolation and antibacterial activity test of lauric acid from crude coconut oil (*Cocos nucifera* L.). *Procedia Chemistry*, 18, 132-140.
14. Novianto, L. dan Ahmad, M. F. 2023. Pengaruh Jenis Pelarut dan Waktu Ekstraksi Dengan Metode Soxhletasi Pada Pengambilan Minyak Kemiri (*Aleurites moluccanus*). *Jurnal Teknik Kimia Vokasional*. 1(3): 22-27.
15. Nugroho, K. M. D. 2010. Isolasi Senyawa Bioaktif Batang Pisang Ambon (*Musa Paradisiaca* Var. *Sapientum*) Sebagai Bahan Baku Antibakteri. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 5(3).
16. Paimin, F. R. 1994. *Kemiri*. Jakarta: Penebar Swadaya.
17. Pamata, N. 2008. Sintesis Metil Ester Dari Minyak Biji Kemiri (*Aleurites moluccana*) Hasil Ekstraksi Melalui Metode Ultrasonokimia. *Skripsi*. Depok: Universitas Indonesia.
18. Sati, A., Sati, S. C., Sati, N., Sati, O. P. (2016). Chemical composition and antimicrobial activity of fatty acid methyl ester of *Quercus leucotrichophora* fruits. *Natural Products Research*. 66(19):1-5.
19. Wibowo, S. R. & Ali, M. 2019. Alat Pengukur Warna Dari Tabel Indikator Universal pH Yang Diperbesar Berbasis Mikrkontroler Arduino. *Jurnal Edukasi Elektro*. 3(2): 99-109.
20. Widiyanti, D. F. 2020. Kajian Metode Preparasi Sampel Dan Deteksi Karbamazepin Dan Karbamazepin-10,11-Epoksida Dalam Cairan Hayati Menggunakan KCKT. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
21. Yusnita, E., Wiyono, B. dan Hartoyo. 2001. Pengaruh Pemasakan Biji Terhadap Rendemen dan Sifat Fisko-Kimia Minyak Kemiri. *Buletin Penelitian Hasil Hutan*. 19(1): 1-8

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah instrumen GC-SM, FTIR, labu alas bulat, labu leher tiga, gelas beker, gelas ukur, pipet tetes, erlenmeyer, neraca analitik, oven, peralatan refluks dan sokhlet, termometer, corong pisah, hot plate, stirrer, blender, klem, statif, botol semprot, pipet tetes, rak tabung reaksi, labu ukur, viskometer ostwald, piknometer, stopwatch, autoclave, cawan petri, tisu, sarung tangan, dan masker. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah biji kemiri (*Aleurites moluccana* L.) yang diperoleh dari Kabupaten Belu, bakteri *S. aureus*, bakteri *E. coli*, aquades, n-Heksana, Metanol 100%, Na₂SO₄ anhidrat, Na₂CO₃, KOH, kertas saring, *muler hiton agar* (MHA), *paper disk* dan aluminium foil, kertas pH, indikator PP, etanol 70%, sikloheksana, asam asetat, iodin, starc, McFarland, antibiotic ciprofloxacin dan dimetil sulfoksida.

Prosedur Kerja

Persiapan Sampel

Diambil buah kemiri asal Kabupaten Belu, dipisahkan kulit kemiri dengan biji kemiri dengan cara dikupas, lalu dikeringkan dibawah sinar matahari, dihaluskan dengan blender dan dioven pada suhu 100°C selama 1 jam dan diperoleh serbuk biji kemiri.

Ekstraksi Biji Kemiri

Ditimbang 300 gram sampel biji kemiri dibungkus dengan kertas saring, dimasukkan pada alat sokhlet lalu ditambahkan n-heksan sebanyak 900 mL, diekstraksi selama 6 jam. Kemudian hasil ekstraksi didinginkan lalu dipindahkan ke gelas beker dan dikeringkan dengan Na_2SO_4 kemudian dievaporasi. Minyak kemiri yang dihasilkan dihitung rendemennya dalam bentuk persen dengan rumus:

$$\text{Rendemen}(\%) = \frac{\text{Minyak yang diperoleh (gram)}}{\text{Total sampel digunakan (gram)}} \times 100\%$$

Netralisasi minyak biji kemiri

Diambil minyak biji kemiri 20 mL dilarutkan dalam n-heksana 20 mL dan dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan 8 mL larutan Na_2CO_3 10% ke dalam corong pisah secara perlahan-lahan, lalu diguncang dan terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah dikeluarkan dan lapisan atasnya diukur pH kemudian dicuci dengan aquades hingga pH netral. Cairan kuning bening yang diperoleh dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat dan diuapkan n-heksan pada suhu ruangan. Produk netralisasi dapat digunakan lebih lanjut untuk sintesis *fatty acid methyl ester* jika jumlah asamnya dibawah 1 (Nitbani dkk., 2016).

Uji kualitas minyak biji kemiri

Kadar Air

Cawan kosong dipanaskan dalam oven selama 30 menit pada suhu 105°C lalu didinginkan dan ditimbang. Selanjutnya ditimbang minyak biji kemiri hasil ekstraksi sebanyak 5 gram dalam cawan kosong setelah dioven lalu dioven selama 6 jam pada suhu 100°C , lalu didinginkan dan ditimbang kemudian dihitung persen kadar air dengan rumus:

$$\% \text{ kadar air} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W_0} \times 100$$

Massa Jenis

Ditimbang piknometer dalam keadaan kosong, lalu masukan minyak biji kemiri hasil ekstraksi, kemudian piknometernya ditutup lalu ditimbang massa piknometer yang telah terisi minyak. Kemudian dihitung massa jenis dengan menggunakan rumus berikut:

$$\rho = \frac{m}{v}$$

Viskositas

Dimasukan minyak biji kemiri ke dalam viskometer ostwald menggunakan pipet tetes. Lalu dihisap minyak dengan menggunakan pushball sampai melewati dua batas, dinyalakan stopwatch untuk menghitung waktu yang diperlukan minyak melewati tanda batas pertama. Dicatat waktunya. Perlakuan yang sama juga untuk air sebagai pembandingnya. Lalu dihitung nilai viskositas menggunakan rumus berikut:

$$\eta = \frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{t_1 \rho_1}{t_2 \rho_2}$$

Uji kimia

Bilangan Asam

Uji bilangan asam dilakukan untuk minyak kemiri hasil ekstraksi dan minyak biji kemiri setelah netralisasi. Ditimbang 2,5 gram minyak hasil ekstraksi dalam erlenmeyer ditambahkan 15 etanol 70% kemudian dipanaskan pada hotplate hingga mendidih lalu diukur suhu minyak saat mendidih menggunakan termometer dan dicatat suhunya. Kemudian didinginkan, digojok lalu ditambahkan 3 tetes indikator PP kemudian dititrasi dengan KOH 0,1 N sampai berubah warna menjadi merah muda. Langkah yang sama dilakukan untuk minyak biji kemiri setelah netralisasi. Dicatat volume KOH sebelum dititrasi dan setelah dititrasi. Dihitung % bilangan asam dengan rumus:

$$\% \text{ Bilangan Asam} = \% \text{ Asam Lemak Bebas} \times \frac{\text{BM KOH}}{\text{BM Asam Lemak}/10}$$

Bilangan Iod

Ditimbang 1 gram minyak biji kemiri hasil ekstraksi dalam erlenmeyer ditambahkan sikloheksana: asam asetat 1:1 lalu diaduk sampai terlarut sempurna ditambahkan 10 mL iodin lalu ditutup dengan aluminium foil dan disimpan dalam ruangan bebas cahaya selama 30 menit. Selanjutnya ditambahkan 100 mL aquades lalu dititrasi secara perlahan dengan Na_2SO_4 0,1 N sampai terjadi perubahan warna kuning hampir hilang, dicatat volume Na_2SO_4 sebelum dititrasi dan setelah dititrasi lalu ditambahkan starc 1 mL kemudian kembali dititrasi sampai berwarna biru pekat. Dicatat volume Na_2SO_4 sebelum dititrasi dan setelah dititrasi.

Dihitung bilangan asam dengan rumus:

$$\% \text{ Bilangan Asam} = \% \text{ Asam Lemak Bebas} \times \frac{V \text{ KOH} \times N \text{ KOH} \times Mr \text{ KOH}}{\text{Berat Sampel}}$$

Sintesis FAME dari minyak biji kemiri

Ditimbang sebanyak 5,76 gram metanol dimasukan ke dalam labu leher tiga, ditambahkan KOH 0,15 gram, dimasukan magnet stirer lalu direfluks dalam penangas selama 20 menit. Selanjutnya ditambahkan minyak biji kemiri 10 gram, campuran ini kemudian direfluks kembali selama 2 jam pada suhu 60°C sampai diperoleh hasil. Hasil refluks kemudian didinginkan, selanjutnya dilakukan proses ekstraksi *fatty acid methyl ester* menggunakan n-heksana dan dicuci dengan aquades sampai pH netral dalam corong pisah. Selanjutnya diambil lapisan atas (minyak), dipindahkan ke dalam gelas beker kemudian dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat lalu difiltrasi. Filtrat yang diperoleh diuapkan pada suhu ruangan. Hasilnya dihitung rendemen, dianalisis GCMS dan FTIR.

$$\text{Rendemen}(\%) = \frac{\text{FAME yang diperoleh (gram)}}{\text{Total minyak digunakan (gram)}} \times 100\%$$

Analisis FT-IR

Disiapkan alat FT-IR, dibersihkan kristal ATR dengan menggunakan kertas lensa yang ditetesi dengan alkohol 70%. Kemudian ditetaskan sampel FAME minyak biji kemiri dibagian tengah diamond ATR. Lalu alat akan membaca spektrum dari sampel FAME minyak biji kemiri dan diperoleh hasil.

Analisis GC-SM

Analisis GC-SM Diambil 1 mL FAME minyak biji kemiri dilarutkan dalam 5 mL n-heksana dan dimasukan dalam botol vial, kemudian dimasukan pelarut ke dalam botol vial pelarut, lalu botol vial yang berisi sampel dan botol vial pelarut dimasukan ke dalam rak dan rak tersebut dimasukan ke dalam auto injektor dan diperoleh hasil spektrum GC-MS.

Uji Antibakteri

Uji antibakteri senyawa *fatty acid methyl ester* pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Disterilisasi semua alat yang digunakan dalam uji bakteri menggunakan autoclave pada suhu 120°C selama 30 menit. Kemudian dibuat Media *muller hinton agar* (MHA) dengan melarutkan 20 gram MHA dalam 400 mL aquades dan dipanaskan sampai MHA terlarut sempurna. Lalu 10 mL Medium MHA dituangkan pada cawan petri dan didiamkan hingga memadat. Suspensi bakteri uji diencerkan menggunakan aquades 10 ml dan dibandingkan kekeruhannya dengan larutan McFarland 0,5 (H_2SO_4 1% dan BaCl 1%). Selanjutnya, paper disk berdiameter 6 mm diisi ekstrak FAME biji kemiri dengan konsentrasi 5%, 10%, 15%, dan 20% dan diletakan diatas media MHA yang telah diolesi bakteri uji. Kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Selanjutnya diukur diameter hambatan yang tampak bening di sekitar paper disk. Kontrol positif yang di gunakan adalah *antibiotic Ciprofloxacin* dan kontrol negatif menggunakan dimetil sulfoksida (DMSO) (Nitbani dkk., 2016)..