

## HIDROLISIS ENZIMATIS STEARIN SAWIT MENJADI MONOGLISERIDA OLEH LIPASE DARI *Rhizomucor miehei* DAN PANKREAS

Enzymatic Hydrolysis of Palm Stearin to Produce Monoglyceride by Lipase from *Rhizomucor miehei* and Pancreatic

Steivie Karouw<sup>1</sup>, Suparmo<sup>2</sup>, Pudji Hastuti<sup>2</sup>, Tyas Utami<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Balai Penelitian Tanaman Palma, Jl Raya Mapanget PO Box 1004, Manado, Sulawesi Utara 95001

<sup>2</sup>Jurusan Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora No. 1, Bulaksumur, Yogyakarta 55281  
Email: steivie\_karouw@yahoo.com

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH, rasio substrat:buffer fosfat dan waktu hidrolisis terhadap produksi monogliserida 2-monopalmitin secara enzimatis menggunakan lipase dari *Rhizomucor miehei* dan lipase pankreas. Hidrolisis dilakukan pada pH (6,0; 6,5; 7,0; 7,5 dan 8,0), dengan rasio substrat:buffer fosfat (10:1, 10:2, 10:3, 10:4, 10:5 dan 10:6) dan waktu hidrolisis (6, 12, 18 dan 24 jam) menggunakan lipase dari *R. miehei* dan (6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 dan 48 jam) menggunakan lipase pankreas. Reaksi hidrolisis berlangsung dalam *shaker waterbath* 80 stroke/menit, pada suhu 40°C untuk lipase dari *R. miehei* dan 37°C untuk lipase pankreas. Hasil hidrolisis dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan larutan pengembang petroleum eter:diethyl eter:asam asetat = 60:40:1 pada pelat silica gel F254 plat aluminium 20×20 cm. Lipase *R. miehei* dan lipase pankreas memiliki pH optimum 6,5 dan aktivitasnya masing-masing 332,25 unit/g enzim amobil dan 228,04 unit/g bubuk enzim. Proporsi fraksi monogliserida tertinggi diperoleh pada penggunaan lipase dari *R. miehei* dengan rasio substrat:buffer fosfat 10:1 dalam waktu 18 jam yakni sebesar 21,59 %, sedangkan penggunaan lipase pankreas menghasilkan fraksi monogliserida tertinggi dalam waktu inkubasi 42 jam pada rasio substrat buffer fosfat 10:4 menghasilkan 40,45%.

**Kata kunci:** Hidrolisis, stearin sawit, monogliserida, lipase, *Rhizomucor miehei*, pankreas

### ABSTRACT

The objectives of the research were to evaluate the effect of the pH, ratio of substrate:phosphate buffer, and reaction time on the enzymatic hydrolysis of palm stearin to obtain monoglyceride by *R. miehei* and pancreatic lipases. Hydrolysis was evaluated at various pH (6.0; 6.5; 7.0; 7.5 dan 8.0). Enzymatic hydrolysis reactions were held at various ratio of substrate:phosphate buffer (10:1, 10:2, 10:3, 10:4, 10:5, 10:6) and duration time of 6, 12, 18, 24 hours by *R. miehei* lipase and 24, 30, 36, 42, 48 hours by pancreatic lipase. Enzymatic hydrolysis reaction was carried out in waterbath shaker 80 stroke/minute, at 40°C with *R. miehei* lipase and 37°C with pancreatic lipase. The hydrolysis products were monitored using TLC with petroleum ether:diethyl ether:acetic acid=60:40:1 as developing solvent on silica gel F254 20×20 cm plate. The results showed that optimum pH for both *R. miehei* and pancreatic lipases were 6.5 and their activities were 332.25 unit/g enzyme amobile and 228.04 unit/g enzyme, respectively. The highest monoglyceride fraction was obtained from ratio substrate:phosphate buffer 10:1 at 18 hours of incubation by *Rhizomucor miehei* lipase (21,59%) and ratio substrate:phosphate buffer 10:4 at 42 hours of incubation by pancreatic lipase (40,45%).

**Keywords:** Hydrolysis, palm stearin, monoglyceride, lipase, *Rhizomucor miehei*, pancreatic

## PENDAHULUAN

Air Susu Ibu (ASI) merupakan kebutuhan pokok bagi bayi, tetapi sebagian ibu setelah melahirkan tidak dapat memberikan ASI dan sebagai pengganti ASI digunakan susu formula. Perbedaan utama antara lemak ASI dan susu formula terletak pada posisi asam palmitatnya. Asam palmitat pada ASI teresterifikasi pada *sn-2* sekitar 44,8%, sedangkan pada susu formula teresterifikasi pada posisi *sn-1* dan *sn-3*. Asam lemak jenuh rantai panjang seperti asam palmitat yang teresterifikasi pada posisi *sn-2* akan diserap lebih baik, sedangkan yang teresterifikasi pada posisi *sn-1* dan *sn-3* akan membentuk kompleks asam lemak-kalsium yang tidak larut sehingga menghambat penyerapan kalsium (Carnielli dkk., 1995). Maka untuk sintesis trigliserida baru dengan profil asam lemak mirip ASI atau *Human Milk Fat analog (HMF analog)* sebaiknya menggunakan bahan yang mempunyai asam palmitat pada posisi *sn-2* atau 2-monopalmitin, sedangkan pada *sn-1* dan *sn-3* diisi asam lemak esensial atau asam lemak rantai medium.

Sintesis *HMF analog* telah dilakukan menggunakan tripalmitin dan minyak babi sebagai sumber asam palmitat. Yang dkk. (2003) dan Nielsen dkk. (2006) menggunakan minyak babi dan minyak kedelai, Maduko dkk. (2008) menginkorporasikan minyak kelapa, minyak kedelai dan minyak *safflower* pada tripalmitin. Sahin dkk. (2006) mensintesis *HMF analog* secara asidolisis tripalmitin dengan asam lemak omega 3 pada posisi *sn-1* dan *sn-3*. Pfeiffer dkk. (2007) dan Schmid dkk. (1998) mensintesis trigliserida baru tinggi palmitat secara enzimatis dengan 2 tahapan proses, yaitu sintesis 2-monopalmitin kemudian dilanjutkan esterifikasi 2-monogliserida dengan asam oleat. Permasalahannya adalah tripalmitin relatif mahal harganya, sedangkan minyak babi tidak dapat dikonsumsi sebagian masyarakat. Karena itu perlu diupayakan sumber minyak lain yang berpotensi untuk digunakan sebagai sumber 2-monopalmitin dalam proses sintesis *HMF analog*.

Stearin sawit merupakan hasil ikutan dalam proses pengolahan minyak sawit dan belum dimanfaatkan secara optimal untuk produk pangan, karena titik lelehnya yang tinggi sekitar 58°C (Ghosh dan Battacharyya, 1997). Asam lemak dominan dalam stearin sawit adalah asam palmitat sebesar 52,38% (Ibrahim dkk., 2008), sehingga stearin sawit berpotensi digunakan sebagai sumber monogliserida tinggi palmitat. Pembuatan monogliserida dari stearin sawit dapat dilakukan dengan proses hidrolisis enzimatis menggunakan lipase yang spesifik menghidrolisis posisi *sn-1* dan *sn-3*. Hidrolisis enzimatis memiliki beberapa kelebihan yaitu proses katalisis enzimatis bersifat regiospesifik, suhu yang digunakan relatif rendah, sedikit menggunakan bahan kimia

sehingga produk yang dihasilkan tidak berwarna dan aman dikonsumsi (Mer dkk., 2000).

Lipase yang spesifik *sn-1,3* antara lain lipase dari *Rhizomucor miehei* dan pankreas. Byun dkk. (2007) menggunakan lipase pankreas untuk sintesis monogliserida, sedangkan Soumanou dkk. (1997) menggunakan lipase dari *R. miehei* untuk memperoleh 2-monolein dengan substrat triolein. Sintesis 2-monopalmitin telah dilakukan oleh Pfeiffer dkk. (2007) dengan enzim lipase B dari *Candida rugosa*. Schmid dkk. (1998) menggunakan lipase dari *Rhizopus delemar*, *R. javanicus*, *R. niveus* dan *R. miehei* untuk sintesis 2-monopalmitin dari tripalmitin. Hidrolisis minyak anchovy dengan lipase dari *R. miehei* pada suhu 40°C dan 35°C setelah 5 jam diperoleh monogliserida 2,2-5,5% (Ustun dkk., 1997).

Aktivitas enzim selama proses hidrolisis antara lain dipengaruhi oleh pH, ratio substrat:buffer fosfat dan waktu reaksi. Enzim mempunyai pH optimum yang berbeda untuk aktivitasnya, tergantung dari sumber enzim dan substratnya (Whitaker, 1994). Air sangat diperlukan dalam proses katalisis enzimatis, karena berperan untuk menjaga konformasi bentuk aktif enzim (Hampson dan Foglia, 1999; Lotti dan Alberghina 2007; Klibanov, 1989). Menurut Rezaei dan Temelli (2000) dan Schmid dkk. (1998), lamanya waktu hidrolisis berpengaruh terhadap proporsi fraksi gliserida yang dihasilkan.

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pH terhadap aktivitas hidrolisis, pengaruh ratio substrat:buffer fosfat dan waktu hidrolisis terhadap produksi monogliserida 2-monopalmitin dari stearin sawit secara enzimatis menggunakan lipase dari *R. miehei* dan pankreas.

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Stearin sawit yang digunakan diperoleh dari pabrik pengolah minyak sawit PT. Multi Nabati Sulawesi, Bitung, Sulawesi Utara. Minyak zaitun komersial diperoleh dari swalayan Mirota, Yogyakarta. *Porcine pancreatic lipase* tipe II, Lipozyme RM IM dan standar asam oleat dibeli dari Sigma. Standar 2-monopalmitin dari Larodan, Swedia. Bahan-bahan kimia isooktan, Cu-asetat, pyridin, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, petroleum eter dan dietil eter dengan tingkat kemurnian *pro analysis*.

### Uji Aktivitas Hidrolisis Enzim Lipase dari *Rhizomucor miehei* dan Lipase Pankreas pada Berbagai pH

Enzim yang digunakan adalah lipase amobil dari *R. miehei* dan lipase pankreas berbentuk bubuk enzim. Enzim sebanyak 0,1% (b/v) dari berat substrat dimasukkan dalam

erlenmeyer, kemudian ditambahkan 5 ml campuran minyak zaitun-isooktan 60% (v/v) dan 1 ml buffer fosfat dengan pH yang bervariasi (6,0; 6,5; 7,0; 7,5 dan 8,0) lalu diinkubasi dalam *waterbath shaker* kecepatan 80 stroke/menit selama 60 menit pada suhu 37°C. Setelah itu lapisan lemak diambil sebanyak 1 ml dan ditambahkan 2 mL isooktan dan 1 mL Cu asetat piridin pH 6,0. Larutan dihomogenisasi menggunakan vorteks, lalu disentrifugasi pada 2000 rpm selama 5 menit. Selanjutnya supernatan ditera absorbansinya pada panjang gelombang 715 nm (Marseno dkk., 1998). Kurva standar dibuat menggunakan asam oleat dengan konsentrasi 0, 2, 4, 6, 8 dan 10  $\mu\text{mol/ml}$ . Satu unit aktivitas (U) lipase adalah banyaknya lipase untuk membebaskan 1  $\mu\text{mol}$  asam lemak tiap menit.

#### Preparasi 2-monogliserida pada Berbagai Ratio Substrat: Buffer Fosfat

Stearin sawit sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer, selanjutnya dilakukan pencairan stearin sawit dengan pemanasan pada suhu 70°C. Setelah semua stearin sawit mencair ditambahkan 8 ml isooktan, buffer fosfat dengan pH 6,5 dan enzim lipase sebanyak 5% dari berat substrat. Rasio substrat:buffer fosfat (b/v) divariasikan yaitu 10:1 (200  $\mu\text{l}$ ), 10:2 (400  $\mu\text{l}$ ), 10:3 (600  $\mu\text{l}$ ), 10:4 (800  $\mu\text{l}$ ), 10:5 (1000  $\mu\text{l}$ ) dan 10:6 (1200  $\mu\text{l}$ ). Reaksi hidrolisis berlangsung dalam *waterbath shaker* dengan kecepatan 80 stroke/menit selama 24 jam pada suhu 40°C untuk lipase dari *Rhizomucor miehei* dan 37°C untuk lipase pankreas. Hasil reaksi dipisahkan dari enzim dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring, kemudian pelarut diuapkan dengan menghembuskan gas nitrogen. Residu yang diperoleh diidentifikasi secara kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (TLC) dan secara kuantitatif dengan *Camag TLC scanner 3*.

#### Preparasi 2-monogliserida pada Berbagai Waktu

Stearin sawit sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer, selanjutnya dilakukan pencairan stearin sawit dengan pemanasan pada suhu 70°C. Setelah semua stearin sawit mencair ditambahkan 8 ml isooktan, buffer fosfat sebanyak 200  $\mu\text{l}$  untuk lipase *Rhizomucor miehei* dan 800  $\mu\text{l}$  untuk lipase pankreas, enzim lipase sebanyak 5% dari berat substrat. Variasi waktu reaksi 6, 12, 18 dan 24 jam dengan lipase dari *Rhizomucor miehei* dan 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 dan 48 jam dengan lipase pankreas. Reaksi hidrolisis dilakukan dalam erlenmeyer 100 ml tertutup yang diletakkan dalam *waterbath shaker* dengan kecepatan 80 stroke/menit pada suhu 40°C untuk lipase dari *Rhizomucor miehei* dan 37°C untuk lipase pankreas. Hasil reaksi dipisahkan dari enzim dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring, kemudian pelarut diuapkan dengan menghembuskan gas

nitrogen. Residu yang diperoleh diidentifikasi secara kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (TLC) dan kuantitatif dengan *Camag TLC scanner*.

#### Identifikasi Profil Gliserida

Identifikasi profil gliserida yang dihasilkan dilakukan secara kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (TLC) menggunakan fase stasioner plat silika gel F254 berukuran 20x20 cm dan fase mobil campuran pelarut petroleum eter:dietil eter:asam asetat = (60:40:1). Plat diaktifkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 60 menit. Plat diberi tanda 3 cm pada bagian bawah dan 2 cm pada bagian atas. Sampel ditetes menggunakan mikropipet pada bagian bawah plat yang telah ditandai kemudian dikering angin. Plat dimasukkan di dalam tabung pengembang TLC sampai pelarut mencapai bagian atas kemudian plat diangkat dan dikering angin. Band atau noda yang terbentuk divisualisasi dengan uap iodin. Hasil pengembangan dilanjutkan dengan analisis secara kuantitatif menggunakan *Camag TLC scanner*.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

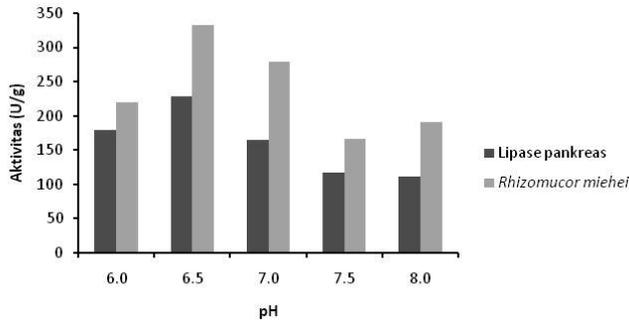
#### Pengaruh pH terhadap Aktivitas Hidrolisis Lipase dari *Rhizomucor miehei* dan Pankreas

Enzim lipase dari *R. miehei* dan pankreas memiliki pola aktivitas hidrolisis yang serupa terhadap variasi pH, yaitu menunjukkan kenaikan aktivitas hidrolisis dari pH 6,0 sampai 6,5 dan mengalami penurunan pada pH yang lebih tinggi dari 6,5 (Gambar 1).

Aktivitas tertinggi diperoleh pada pH 6,5 baik pada lipase dari *R. miehei* dan pankreas dengan aktivitasnya masing-masing 332,25 unit/g enzim amobil dan 228,04 unit/g bubuk enzim. Whitaker (1994) mengemukakan bahwa enzim mempunyai pH optimum untuk aktivitasnya, tergantung pada sumber enzim dan substratnya. Enzim lipase pankreas pada suhu 40°C dengan substrat poliester menunjukkan aktivitas hidrolisis tertinggi pada pH 7,0-7,5 (Kim dan Song, 2008). Lipase A”Amano” 6 dari *Aspergillus niger* pada suhu 45°C memiliki pH optimum 6,5. Lipase A”Amano” 10 dari *Mucor javanicus*, lipase F-AP15 dari *Rhizopus oryzae* dan lipase Newlase F dari *Rhizopus niveus* pada suhu 40°C pH optimumnya 7,0 (Murty dkk., 2002). Lipase dari *Rhodotorula mucilaginosa* L10-2 pada suhu 35°C pH optimumnya 6,0 (Wang dkk., 2007).

Aktivitas lipase dari *R. miehei* dan lipase pankreas pada variasi pH 6,0 sampai 8,0 masing-masing berkisar 166,03-332,25 unit/g enzim amobil dan 110,81-228,04 unit/g bubuk enzim. Freitas dkk. (2007) melaporkan lipase kasar

dari *Candida rugosa* memiliki kemampuan hidrolisis yang lebih tinggi daripada lipase pankreas dengan substrat minyak kedelai.



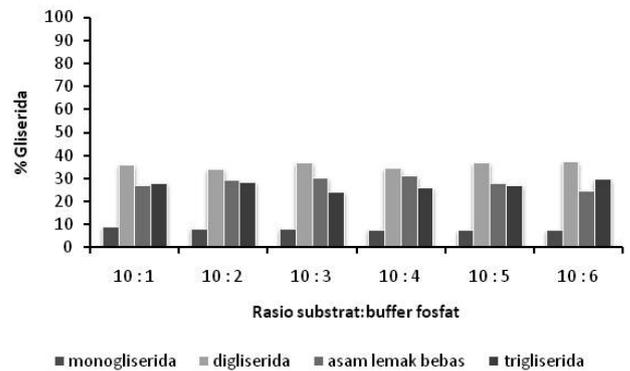
Gambar 1. Aktivitas hidrolisis enzim lipase dari *R. miehei* dan pankreas pada beberapa variasi pH dalam *shaker waterbath* 80 stroke/menit, pada suhu 37°C selama 1 jam

### Pengaruh Rasio Substrat:Buffer Fosfat terhadap Kadar 2-monogliserida yang Dihasilkan

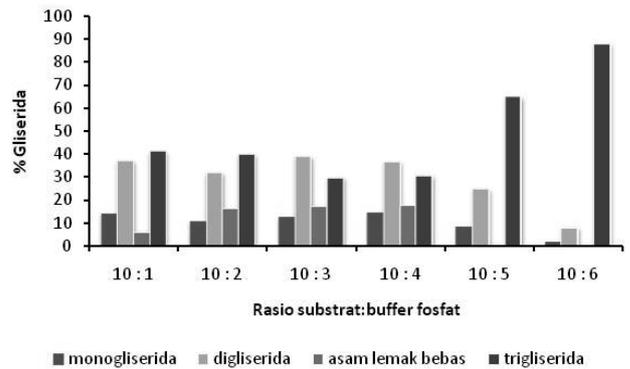
Profil gliserida hasil hidrolisis stearin sawit dengan lipase dari *R. Miehei* dan pankreas pada beberapa rasio substrat dan buffer fosfat disajikan pada Gambar 2 dan Gambar 3.

Komponen monogliserida yang dihidrolisis dengan lipase dari *R. miehei* semakin rendah seiring dengan meningkatnya rasio substrat:buffer fosfat, tetapi fraksi asam lemak bebas cenderung menjadi lebih tinggi sampai pada rasio substrat:buffer fosfat 10:4, sedangkan komponen digliserida meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa lipase *R. miehei* menghidrolisis trigliserida dengan melepaskan asam lemak bebas satu demi satu. Rasio substrat:buffer fosfat 10:1 sudah cukup memberikan kondisi untuk aktivitas lipase *R. miehei* dan justru rasio yang lebih tinggi menghasilkan monogliserida yang lebih kecil. Hidrolisis enzimatis erat kaitannya dengan air dan minyak/lamak yang ada dalam sistem reaksi serta enzim yang ada pada fase aqueous (Utami dkk., 1999). Pada penelitian ini substrat stearin sawit berada pada fase nonpolar yaitu isooktan, sedangkan enzim berada pada lapisan interfase. Air yang terlalu banyak menyebabkan konsentrasi enzim dalam sistem reaksi menurun, sehingga akan mengurangi peluang kontak antara lipase dengan substrat.

Fraksi monogliserida yang diperoleh dengan lipase pankreas mulai rasio substrat:buffer fosfat 10:2 meningkat seiring dengan meningkatnya rasio substrat:buffer fosfat sampai rasio 10:4 dan akan menurun pada rasio yang lebih tinggi. Menurut Klibanov dkk., (1989) bahwa air sangat diperlukan oleh enzim dalam melakukan proses katalisis. Air yang terlalu banyak menyebabkan konsentrasi enzim dalam



Gambar 2. Profil gliserida hasil hidrolisis stearin sawit dengan lipase dari *R. miehei* pada variasi rasio substrat:buffer fosfat. Hidrolisis dilakukan dalam *shaker waterbath* 80 stroke/menit, pada suhu 40°C selama 24 jam, enzim sebanyak 5% dari berat substrat



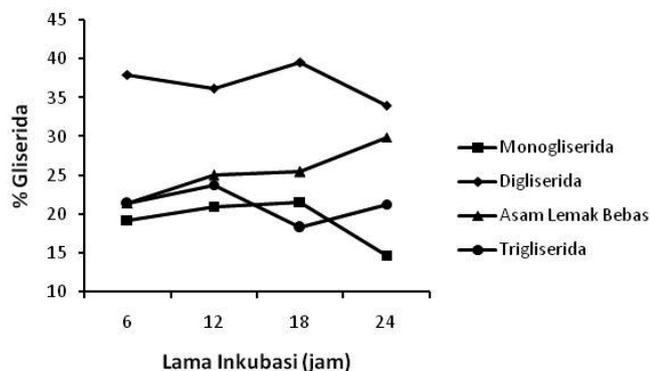
Gambar 3. Profil gliserida hasil hidrolisis stearin sawit dengan lipase pankreas pada variasi rasio substrat:buffer fosfat. Hidrolisis dilakukan dalam *shaker waterbath* 80 stroke/menit, pada suhu 37°C selama 24 jam, enzim sebanyak 5% dari berat substrat

sistem reaksi berkurang, sehingga mengurangi kontak antara enzim dengan substrat. Hal ini terlihat jelas pada rasio 10:6 menghasilkan monogliserida sangat rendah.

Rasio substrat:buffer fosfat optimal untuk menghasilkan fraksi monogliserida yang tertinggi terlihat berbeda antara lipase dari *R. miehei* dan pankreas. Proporsi fraksi monogliserida tertinggi diperoleh pada rasio substrat:buffer fosfat = 10:1 sebesar 9,14% dengan lipase dari *R. miehei*, sedangkan dengan lipase pankreas pada 10:4 sebesar 15,36%. Pada rasio substrat:buffer fosfat 10:1 terlihat fraksi monogliserida yang dihasilkan dengan lipase pankreas yaitu 13,12%, lebih tinggi daripada lipase dari *R. miehei* hanya sebesar 9,14%. Menurut Formoso dan Akoh (1998) setiap enzim memiliki sifat yang spesifik terhadap substrat, sehingga air yang diperlukan dalam reaksi yang dikatalisis oleh enzim berbeda sesuai dengan substrat dan jenis enzim.

### Pengaruh Waktu Hidrolisis terhadap Kadar 2-mono-gliserida yang Dihasilkan

Profil gliserida hasil hidrolisis stearin sawit dengan lipase dari *R. Miehei* dan pankreas pada variasi lama reaksi disajikan pada Gambar 4 dan Gambar 5.



Gambar 4. Pengaruh lama reaksi terhadap profil gliserida hasil hidrolisis stearin sawit dengan lipase dari *R. miehei*. Hidrolisis dilakukan dalam *shaker waterbath* 80 stroke/menit, pada suhu 40°C, enzim sebanyak 5% dari berat substrat

Pada tahap awal reaksi (0 jam) sebagian besar komponennya adalah trigliserida dan asam lemak bebasnya dari hasil titrasi sangat rendah yaitu 0,16%, bahkan hasil analisis dengan TLC *Scanner* menunjukkan asam lemak bebas tidak terdeteksi. Kondisi ini dapat dianggap bahwa stearin sawit mengandung 100% trigliserida. Hasil yang diperoleh hampir sama dengan yang dilaporkan oleh Martati dkk. (1999) pada analisis minyak hati ikan cod menggunakan kromatografi lapis tipis. Asam lemak bebasnya tidak terdeteksi, meskipun pengukuran dengan titrasi asam lemak bebasnya sebesar 0,12%.

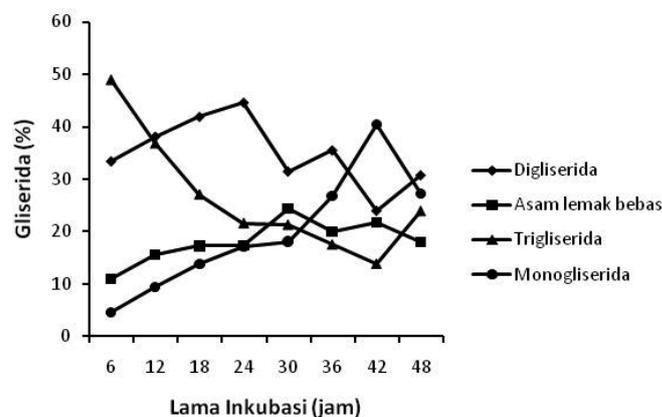
Pada hidrolisis selama 6 jam trigliserida menurun secara tajam, lalu cenderung menurun sedikit demi sedikit sampai hidrolisis selama 42 jam pada lipase pankreas dan 18 jam pada *R. miehei*. Monogliserida cenderung meningkat kemudian menurun, sedangkan digliserida menurun sejalan dengan meningkatnya asam lemak bebas baik pada lipase pankreas maupun *R. miehei*. Hal ini menunjukkan telah terjadi hidrolisis trigliserida menjadi digliserida, monogliserida dan asam lemak.

Pada 6 jam pertama lipase dari *R. miehei* menunjukkan kecepatan pemotongan trigliserida yang tinggi. Hal ini bisa dilihat dari penurunan fraksi trigliserida yang tajam dari 100% menjadi 21,36% (*R. miehei*) dan 49,08% (lipase pankreas) atau penurunannya masing-masing 78,64% dan 50,92%. Ustun dkk. (1997) melaporkan hidrolisis minyak anchovy dengan lipase amobil dari *R. miehei* dengan waktu hidrolisis 5 jam dan suhu 40°C, menunjukkan jumlah

trigliserida tersisa 66,2%. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini dengan lipase dari *R. miehei* dan pankreas menunjukkan penurunan trigliserida yang lebih tinggi dibandingkan dengan yang dilakukan oleh Ustun dkk. (1997). Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan substrat, Ustun dkk. (1997) menggunakan minyak anchovy yang komponen asam lemaknya adalah asam oleat yang merupakan asam lemak tak jenuh, sedangkan stearin sawit asam lemak dominannya adalah asam lemak jenuh yaitu asam palmitat.

Fraksi monogliserida yang terbentuk setelah 6 jam reaksi dengan lipase dari *R. miehei* mencapai 19,24%, sedangkan dengan lipase pankreas sebesar 4,67%. Sampai 18 jam reaksi terlihat fraksi monogliserida yang dihasilkan dengan lipase dari *R. miehei* yaitu 21,59%, sedangkan lipase pankreas sebesar 13,94%. Pada umumnya aktivitas hidrolisis lipase dari mikrobial lebih tinggi dibandingkan dengan lipase lain, seperti penelitian Freitas dkk. (2007) memperlihatkan aktivitas lipase *Candida rugosa* dan *Thermomyces lanuginosa* lebih tinggi dibandingkan lipase pankreas. Schmid dkk. (1998) melaporkan dengan substrat tripalmitin yang dikatalisis oleh lipase dari *Rhizopus delemar*, fraksi monogliserida tertinggi dihasilkan setelah 8 jam reaksi. Hasil penelitian Soumanou dkk. (1998) menunjukkan sintesis 2-monoolein dari triolein dengan lipase dari *R. miehei* selama 24 jam diperoleh jumlah monogliserida 13,6%.

Hidrolisis dengan lipase dari *R. miehei* setelah 18 jam terjadi kecenderungan penurunan fraksi monogliserida, sehingga hidrolisis dengan *R. miehei* hanya dilakukan sampai 24 jam. Hidrolisis dengan lipase pankreas selama reaksi fraksi monogliserida cenderung naik dan tertinggi pada 42 jam (40,45%) sehingga proses hidrolisis terus dilakukan sampai 48 jam.



Gambar 5. Pengaruh lama reaksi terhadap profil gliserida hasil hidrolisis stearin sawit dengan lipase pankreas. Hidrolisis dilakukan dalam *shaker waterbath* 80 stroke/menit, pada suhu 37°C, enzim sebanyak 5% dari berat substrat

## KESIMPULAN

Enzim lipase dari *R. miehei* dan lipase pankreas memiliki pH optimum 6,5 dengan aktivitas hidrolisis masing-masing 332,25 unit/g enzim amobil dan 228,04 unit/g bubuk enzim. Proporsi fraksi monogliserida tertinggi dengan lipase *R. miehei* diperoleh pada rasio substrat:buffer fosfat 10:1 dalam waktu 18 jam sebesar 21,59 %, sedangkan lipase pankreas menghasilkan fraksi monogliserida tertinggi dalam waktu inkubasi 42 jam pada rasio substrat:buffer fosfat 10:4 sebesar 40,45%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian yang telah mendanai penelitian ini melalui Proyek Kerja Sama Kemitraan Penelitian Pertanian dengan Perguruan Tinggi (KKP3T) Tahun Anggaran 2010.

## DAFTAR PUSTAKA

- Byun, H.G., Eom, T.K., Jung, W.K. dan Kim, S.K. (2007). Lipase catalyzed production of monoacylglycerols by esterification of fish oil fatty acids with glycerol. *Biotechnology and Bioprocess Engineering* **12**: 491-496.
- Carnielli, V.P., Luijendijk, I.H.T, Johannes, V.G. dan Eric, J. (1998). Feeding premature newborn infants palmitic acid in amounts and stereoisomeric position similar to that of human milk : effects on fat and mineral balance. *The American Journal of Clinical Nutrition* **61**(5): 1037-1044.
- Formoso, L.B. dan Akoh, C.C. (1998). Structured lipids: lipase-catalyzed interesterification of triacproin and triolein. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **75**(3): 405-410.
- Freitas, L., Bueno, T., Perez, V.H., Santos, J.C. dan de Castro, H.F. (2007). Enzymatic hydrolysis of soybean oil using lipase from different sources to yield concentrated of polyunsaturated fatty acids. *World Journal Microbiol Biotechnol* **23**: 1725-1731.
- Ghosh, S. dan Bhattacharyya, D.K. (1997). Utilization of high-melting palm stearin in lipase-catalyzed interesterification with liquid oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **74**(5): 589-592.
- Hampson, J.W. dan Foglia, T.A. (1999). Effect of moisture content on immobilized lipase-catalyzed triacylglycerol hydrolysis under supercritical carbon dioxide flow in a tubular fixed-bed reactor. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **76**(7): 777-781.
- Ibrahim, N.A., Guo, Z. dan Xu, X. (2008). Enzymatic interesterification of palm stearin and coconut oil by a dual lipase system. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **85**: 37-45.
- Kim, H.R. dan Song, W.S. (2008). Optimization of enzymatic treatment of polyester fabrics by lipase from *Porcine Pancreas*. *Fibers and Polymers* **9**(4): 423-430.
- Klibanov, A.M. (1989). Enzymatic catalysis in anhydrous organic solvents. *Trends Biochemistry Science* **14**: 141-144.
- Lotti, M. dan Alberghina, L. (2007). Lipases: molecular structure and function. Dalam: Polania, J. dan Mac Cabe, A.P. (ed.). *Industrial Enzymes Structure, Function and Applications*, hal: 263-281. Springer, Netherland.
- Maduko, C.O., Park, Y.W. dan Akoh, C.C. (2008). Characterization and oxidative stability of structured lipid: infant milk fat analog. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **85**: 197-204.
- Marseno, D.W., Indrati, R. dan Ohta, Y. (1998). A simplified method for determination of free fatty acids for soluble and immobilized lipase assay. *Indonesian Food and Nutrition Progress* **5**(2): 79-83.
- Martati, E., Utami, T. dan Hastuti, P. (1999). Profil gliserida dan kandungan EPA (eicosapentaenoat) dan DHA (docosaheksaenoat) hasil hidrolisis minyak hati ikan cod oleh lipase teramobil dari *Mucor miehei*. *Agritech* **19**(1): 5-10.
- Mer, F., Sant Anna Jr, G.L. dan Nobrega, R. (2000). Enzyme hydrolysis of babassu oil in a membrane bioreactor. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **77**(10): 1043-1048.
- Murty, V.R., Bhat, J. dan Muniswaran, P.K.A. (2002). Hydrolysis of oils by using immobilized lipase enzyme: a review. *Biotechnology Bioprocess Engineering* **7**: 57-66.
- Nielsen, N.S., Yang, T., Xu, X. dan Jacobsen, C. (2006). Production and oxidative stability of a human milk fat substitute produce from lard by enzyme technology in a pilot packed-bed reactor. *Food Chemistry* **94**: 53-60.
- Pfeffer, J., Freund, A., Bel-Rholid, R., Hansen, C.E., Reuss, M., Schmid, R.D. dan Maurer, S.C. (2007). Highly efficient enzymatic synthesis of 2-monoacylglycerides and structured lipids and production on a technical scale. *Lipid* **42**: 947-953.

- Rezaei, K. dan Temelli, F. (2000). Lipase-catalyzed hydrolysis of canola oil in supercritical carbon dioxide. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **77**(8): 903-909.
- Sahin, N., Akoh, C.C. dan Karaali, A. (2006). Human milk fat substitute containing omega 3 fatty acids. *Journal of Agric. Food Chemistry* **54**: 3717-3722.
- Schmid, U., Bornscheuer, U.T., Soumanou, M.M., McNeill, G.P. dan Schmid, R.D. (1998). Optimization of the reaction conditions in the lipase-catalyzed synthesis of structured triglycerides. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **75**(11): 1527-1531.
- Soumanou, M.M., Bornscheuer, U.T. dan Schmid, R.D. (1998). Two-step enzymatic reaction for synthesis of pure structured triglycerides. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **75**(6): 703-710.
- Ustun, G., Guner, S., Arer, G., Turkay, S. dan Erciyes, T. (1997). Enzymatic hydrolysis of anchovy oil: production of glycerides enriched in polyunsaturated fatty acids. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **68**: 171-186.
- Utami, T., Martati, E., Hastuti, P. dan Harmayani, E. (1999). Immobilized lipase-catalyzed fish oil hydrolysis in organic solvent. *Indonesian Food and Nutrition Progress* **6**(1): 3-8.
- Wang, L., Chi, Z., Wang, X., Liu, Z. dan Li, J. (2007). Diversity of lipase-producing yeasts from marine environments and oil hydrolysis by their crude enzymes. *Annals of Microbiology* **57**(4): 495-501.
- Whitaker, J.R. (1994). *Principles of Enzymology for The Food Science*. Marcel Dekker Inc, New York. 625p.
- Yang, T., Xu, X., He, C. dan Li, L. (2003). Lipase catalyzed modification of lard to produce human milk fat substitute. *Food Chemistry* **80**: 473-481.