

Produksi Asam Lemak dari Dedak Melalui Proses Hidrolisis Enzimatis Secara In Situ

Indah Hartati^{1,*}, Fahmi Arifan², Mohammad Endy Yulianto²

¹⁾Jurusan Teknik Kimia Universitas Wahid Hasyim Semarang
Jl Menoreh Tengah X no 22 Semarang

²⁾Jurusan Teknik Kimia PSD III Teknik Universitas Diponegoro Semarang
Jl Prof. Sudharto, Tembalang Semarang

Abstract

Indonesia has potential to produce fatty acid from rice bran which is abundantly available as a side product of rice field activities. Rice bran contains lipase enzyme which is a catalyst for hydrolysis of triglycerides largely found in rice bran. The present work aimed to investigate the hydrolysis process of triglyceride from rice bran by activated lipase enzyme. Effect of the presence of phosphate compounds as buffer on fatty acid production was studied. The amount of fatty acid produced during hydrolysis with the use of buffer was compared to that without buffer. The parameters studied in the present work were volume of buffer (0% to 25% of water volume), rice bran-water ratio (1:1 to 1:6 w/v) and reaction temperature (30°C – 50°C). Experimental results showed that ions in the buffer solution could increase the activity and stability of lipase enzyme. The addition of buffer was found to increase fatty acid yield up to 48%. The highest fatty acid results were obtained at the operation condition at which buffer volume of 5%, reaction temperature of 50°C and rice bran-water ratio of 1:5 where the acid number was 2.63 mg/kg NaOH/g rice bran.

Keywords: fatty acid, rice bran, lipase, hydrolysis, enzymatic

Abstrak

Indonesia berpotensi sebagai penghasil asam lemak dari dedak padi yang jumlahnya melimpah. Dedak padi mengandung enzim lipase yang dapat mengkatalisis proses hidrolisis trigliserida pada dedak padi menjadi asam lemak. Penelitian ini bertujuan mengkaji proses hidrolisis trigliserida pada dedak padi dengan mengaktifkan enzim lipase. Studi produktivitas dilakukan dengan mengkaji pengaruh penambahan *buffer* fosfat terhadap pembentukan asam lemak. Studi produktivitas dilakukan dengan membandingkan perolehan asam lemak dengan atau tanpa penggunaan *buffer* pada proses hidrolisis. Parameter yang diteliti meliputi: volume *buffer* (0–25% terhadap volume air), rasio dedak-air (1:1–1:6 b/v), dan suhu reaksi (30–50°C). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ion-ion pada larutan *buffer* mampu meningkatkan aktivitas dan stabilitas lipase. Penambahan *buffer* mampu meningkatkan perolehan asam lemak hingga 48%. Sementara perolehan asam lemak tertinggi dicapai pada hidrolisis dengan kondisi operasi volume *buffer* 5%, suhu reaksi 50°C dan rasio air dedak 1:5, dengan bilangan asamnya 2,63 mg/kg NaOH/g dedak

Kata Kunci: asam lemak, dedak padi, lipase, hidrolisis, enzimatis

Pendahuluan

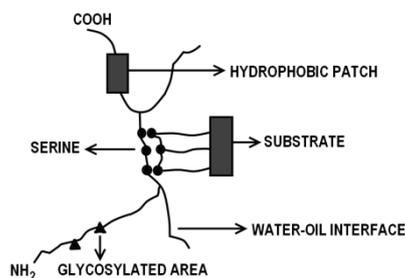
Indonesia merupakan penghasil padi terbesar ketiga di dunia setelah Cina dan India. Pada tahun 2011, produksi padi Indonesia mencapai 67,3 juta ton (BPS 2011). Bila dedak padi yang dihasilkan sebagai hasil samping penggilingan padi dapat mencapai 8-10%, maka dedak yang dihasilkan mencapai 6,73 juta ton. Dedak padi mengandung 17-23% minyak yang dapat diubah menjadi asam lemak. Proses hidrolisis minyak menjadi asam lemak dan gliserol yang telah dilakukan adalah melalui proses Colgate-Emery. Proses tersebut dilakukan pada tekanan

50-60 bar dan suhu 240-260°C. Metode ini dinilai konvensional dari segi teknologi, karena memiliki beberapa kelemahan proses antara lain: konsumsi energi tinggi, material peralatan proses spesifik, sistem pengendalian proses dan keselamatan kerja sangat kompleks, serta dapat terjadi polimerisasi asam lemak tak jenuh. Metode lain yang digunakan adalah dengan menghidrolisis minyak nabati secara enzimatis dengan enzim *lipase*. Akan tetapi, proses enzimatis memiliki kelemahan, yakni tingginya harga enzim komersial dan enzim tidak dapat digunakan berulang.

Malekian dkk (2000) menyatakan bahwa dedak padi mengandung beberapa tipe lipase, seperti fosfolipase, glikolipase dan esterase.

* Alamat korespondensi: email: hartatiprasetyo@gmail.com

Malekian dkk (2000) juga menyebutkan bahwa lipase dedak padi bekerja optimal pada pH 7,5-8 dan suhu 37°C. Phospholipase termasuk phospholipase A1, A2 dan B, yang masing masing bereaksi pada bagian ester asam lemak, serta phospholipase C dan D yang bereaksi pada bagian phosphate. Tahapan proses dekomposisi lemak dedak padi oleh enzim lipase mengikuti mekanisme berikut: phosphatidylcholine, yang merupakan komponen utama dari membran spherosome terdekomposisi menjadi asam phosphatidic oleh phospholipase. Hal tersebut akan mengakibatkan spherosome terdisintegrasi. Setelah membran spherosome terpecah, trigliserid yang ada di dalamnya akan berkontak dengan enzim lipase dan proses dekomposisi akan menghasilkan asam lemak bebas. Lipase memecah ikatan ester asam lemak pada posisi 1 dan 3 dari molekul trigliserid. Enzim lipase mengkatalisis reaksi hidrolisis di *interface* antara fasa *substrat* dan fasa *aqueous*, seperti dilukiskan pada Gambar 1 (Sharma dkk, 2009).



Gambar 1. Skema katalisis enzim lipase

Konversi minyak dedak menjadi asam lemak selama proses hidrolisis akan menurunkan pH reaksi (Goffman dan Bergman, 2003). Di lain pihak, lipase dedak padi bekerja optimum pada pH 7,5-8 (Pahaja dan Sethar, 2002). Oleh karena itu, dengan semakin turunnya pH reaksi selama proses hidrolisis, aktivitas enzim lipase akan menurun. Guna menghindari hal tersebut, salah satu usaha yang dilakukan adalah dengan menambahkan *buffer* ke dalam sistem reaksi sehingga pH sistem tetap.

Mengingat dedak padi mengandung lipase yang dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis minyak dedak menjadi asam lemak, maka penelitian ini dilakukan untuk mengkaji proses hidrolisis minyak dedak menjadi asam lemak dengan memanfaatkan lipase yang terdapat dalam dedak padi.

Metode Penelitian

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini berupa dedak yang diperoleh dari penggilingan padi lokal di Semarang. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain *buffer* fosfat pH 8, serta bahan kimia untuk keperluan analisis seperti NaOH, dan indikator PP. Penelitian ini dibagi menjadi dua tahap, yakni studi produktivitas dan dilanjutkan dengan studi pengaruh parameter proses. Studi produktivitas dilakukan dengan membandingkan proses hidrolisis dengan dan tanpa penambahan *buffer*. Sementara pada studi pengaruh parameter proses, variabel yang dikaji meliputi: volume *buffer* (0–25% terhadap air yang ditambahkan), rasio dedak-air (1:1–1:6 b/v), dan suhu reaksi (30–50°C).

Proses hidrolisis dilakukan di dalam sebuah tangki berpengaduk. Umpan berupa dedak ditambah dengan air dengan perbandingan berat tertentu dimasukkan ke dalam tangki yang sudah dikondisikan pada suhu reaksi tertentu kemudian larutan *buffer* ditambahkan. Proses hidrolisis dilakukan selama 2 jam. Setelah proses hidrolisis selesai, campuran reaksi diambil, disaring dan filtrat diambil sebagai sampel untuk dianalisis bilangan asamnya.

Hasil dan Pembahasan

Studi produktivitas

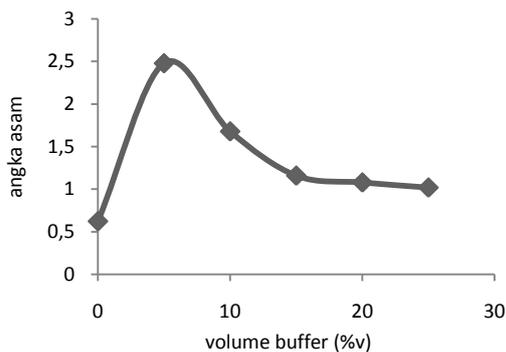
Dalam penelitian ini studi produktivitas dilakukan dengan membandingkan hasil proses hidrolisis *in situ* dedak padi dengan penambahan *buffer* fosfat dan tanpa penambahan *buffer*. Bilangan asam yang diperoleh pada proses hidrolisis *in situ* dedak padi tanpa penambahan *buffer* mencapai 0,624 mek NaOH/g dedak, sementara bilangan asam yang dihasilkan pada proses *in situ* dedak padi dengan penambahan *buffer* meningkat hingga 48%, yakni mencapai 0,925 mek NaOH/g dedak.

Hasil senada mengenai peningkatan aktivitas lipase pada sistem dengan penambahan *buffer* juga dilaporkan oleh Lee (2010). Mereka menyatakan bahwa penggunaan *buffer* mampu meningkatkan aktivitas lipase hingga 4 kali dari aktivitas awal lipase. Ugwu dan Apte (2004) juga menyatakan bahwa penggunaan *buffer* asetat maupun fosfat hingga 50 mM mampu meningkatkan stabilitas enzim glukooksidase hingga 3 kali lipat.

Pengaruh volume *buffer*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan *buffer* sebanyak 5% dari volume air total mampu meningkatkan perolehan asam lemak. Peningkatan perolehan asam lemak tersebut merupakan akibat dari naiknya aktivitas dan stabilitas enzim lipase. Aktivitas enzim lipase dilaporkan meningkat dengan adanya beberapa jenis logam. *Buffer* fosfat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *buffer* kalium fosfat. Sehingga ion yang ada di dalam sistem adalah ion kalium dan ion fosfat. Sharma dkk. (2009) menyatakan bahwa aktivitas enzim lipase dari *Arthrobacter sp* dapat meningkat dengan adanya ion-ion logam diantaranya K^+ , Ca^{2+} dan Mg^{2+} , serta terhambat dengan adanya ion logam Hg^{2+} . Sementara itu lipase dari *Cirrhinus reba* meningkat aktivitasnya dengan adanya ion logam Ca^{2+} dan terhambat aktivitasnya dengan adanya ion logam Hg^{2+} dan Zn^{2+} . Pogori dkk (2008) juga melaporkan bahwa lipase dari *Rhizopus cinensis* meningkat aktivitasnya dalam sistem yang mengandung ion Ca^{2+} dan Mg^{2+} serta terhambat aktivitasnya dalam sistem yang mengandung ion Cu^{2+} dan Zn^{2+} .

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa pada penambahan *buffer* lebih dari 5%, asam lemak yang terbentuk semakin kecil (Gambar 2). Hal ini disebabkan aktivitas dan stabilitas enzim lipase semakin turun.



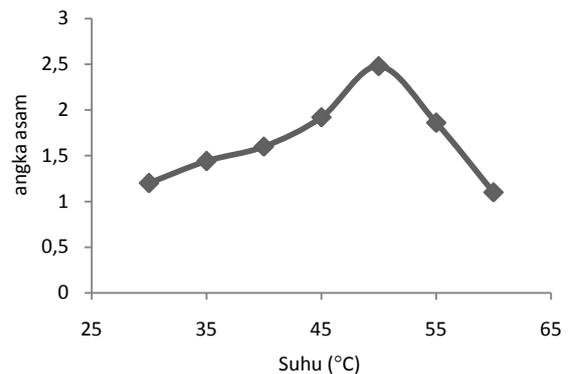
Gambar 2. Pengaruh volume *buffer* terhadap bilangan asam

Penurunan aktivitas enzim lipase akibat kenaikan konsentrasi *buffer* juga dilaporkan oleh beberapa peneliti, diantaranya Kumar dan Sana (2004) yang menyatakan bahwa kenaikan konsentrasi *buffer* natrium fosfat menyebabkan turunnya aktivitas lipase pada biji *Bassica napus L.* Penurunan ini disebabkan oleh pengaruh langsung ion-ion yang berasal dari *buffer* natrium fosfat yang mereka gunakan yakni ion Na^+ , ion PO_4^- , serta ion Cl^- yang ditambahkan pada proses germinasi biji *Bassica*

napus L. Selain itu, penurunan aktivitas enzim disebabkan juga proses inaktivasi dan denaturasi enzim yang disebabkan tingginya konsentrasi *buffer*. Hal ini dilaporkan oleh beberapa peneliti, diantaranya kenaikan laju inaktivasi enzim *galaktosidase* seiring dengan naiknya konsentrasi *buffer* hingga 500 nM, dan entalpi denaturasi sebanding dengan konsentrasi *buffer* dan suhu denaturasi (Lyubarev dan Korganov, 2000 ; Ugwu dan Apte , 2004).

Pengaruh suhu

Gambar 3 menyajikan hubungan antara bilangan asam dan suhu. Kenaikan suhu hingga suhu 50°C dapat menyebabkan kenaikan aktivitas katalitik lipase sehingga meningkatkan perolehan bilangan asam.

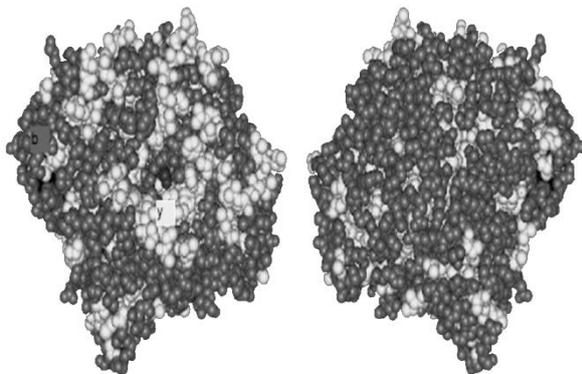


Gambar 3. Hubungan antara suhu dengan jumlah asam yang terbentuk

Pada suhu yang terlalu rendah minyak dedak yang merupakan reaktan akan berada dalam bentuk padat sehingga reaksi hidrolisis menjadi sulit. Hal tersebut disebabkan sisi aktif enzim kurang terekspos sehingga akses substrat terhadap sisi aktif akan lebih sempit. Selain itu, lipase memiliki keunikan karena mengkatalisis reaksi pada *interface* antara fasa minyak dan air.

Suhu optimum yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi daripada suhu optimum lipase dedak padi yang dilaporkan oleh beberapa peneliti. Beberapa peneliti menyatakan bahwa lipase dedak padi bekerja optimum pada suhu 37°C (Malekian dkk., 2000; Orthofer, 2005). Namun demikian, menurut Barros dkk (2010), lipase pada beras bekerja optimum pada pH 11 dan suhu 80°C saat digunakan sebagai katalisator reaksi hidrolisis triolein. Hiol dkk. (1999) menegaskan bahwa pada produksi, pemurnian dan karakterisasi lipase dari *Mucor hiemalis f. Hiemalis*, aktivitas tertinggi dicapai pada suhu 40°C. Pogori dkk. (2000) menyatakan bahwa lipase dari *R. Chinensis* bekerja optimum pada

kisaran suhu antara 30-50°C serta tidak aktif pada suhu di atas 60°C. Eunijiogha (2008) melaporkan bahwa aktivitas lipase kacang *conophur* menurun secara bertahap dari suhu 30-80°C, meskipun pada suhu 80°C, aktivitas lipase masih dapat dideteksi. Mohankumar dkk. (2009) juga menyatakan bahwa suhu optimum lipase dari *Vibrio fischeri* adalah 30°C, meskipun pada suhu 5°C lipase masih menunjukkan aktivitasnya. Tingginya suhu optimum proses hidrolisis merupakan pengaruh dari penambahan *buffer*. Stabilitas enzim ditentukan oleh konfigurasi tiga dimensinya. Lipase memiliki unit helik yang sering disebut dengan "lid" atau payung yang melindungi atau menutupi sisi aktif enzim. Biasanya lipase memiliki sisi permukaan yang bersifat hidrofobik dan seringkali memiliki daerah payung yang digambarkan dengan keberadaan sisi aktif (Gambar 4). Daerah yang berwarna hitam mengindikasikan asam amino yang bersifat hidrofobik, kuning mengindikasikan asam amino lain dan merah mengindikasikan sisi aktif enzim lipase (Saifudin dan Raziah, 2008).



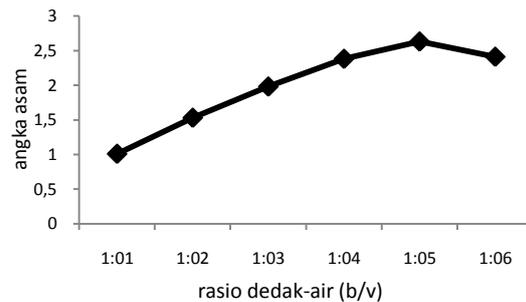
Gambar 4. Struktur lipase (Saifudin dan Raziah, 2008)

Aktivasi antarfasa lipase akan menghasilkan perubahan primer pada daerah payung berupa membukanya daerah yang mengitari sisi aktif enzim sebagai bentuk respon terhadap kondisi sekeliling. Akibatnya sisi aktif akan terekspos dan menyediakan sisi permukaan yang bersifat hidrofobik yang berguna bagi interaksi antara substrat dengan sisi aktif enzim.

Pengaruh rasio berat dedak-volume air

Lipase merupakan enzim yang dikarakterisasikan sebagai enzim dengan fenomena aktivasi antarfasa. Aktivitas lipase meningkat dengan tajam ketika substrat ada antar fasa minyak-air. Fenomena tersebut disebabkan oleh karakteristik struktur lipase yang unik (Saifudin dan Raziah, 2008; Jutila dkk., 2004; Ghosh dkk, 2006).

Keberadaan air sangat berpengaruh dalam proses hidrolisis minyak dedak oleh lipase.



Gambar 5. Pengaruh rasio dedak air (b/v) terhadap bilangan asam

Gambar 5. menunjukkan pada rasio air-dedak yang rendah, perolehan bilangan asam kecil, sedang pada rasio yang lebih tinggi, bilangan asam cenderung meningkat dan mencapai maksimum pada rasio air-dedak 1:5. Hal ini menunjukkan aktivitas enzim lipase dipengaruhi oleh jumlah minyak yang ada di dalam *interface* minyak-air. Semakin besar rasio dedak-air, maka jumlah minyak yang terdapat di dalam *interface* minyak-air semakin besar pula. Akibatnya perolehan asam semakin besar. Semakin besar rasio dedak-air yang digunakan juga berakibat pada semakin banyaknya enzim lipase yang berada di dalam sistem. Pengaruh positif jumlah enzim terhadap terhadap peningkatan derajat hidrolisis minyak juga disampaikan oleh Hermansyah dkk (2007).

Kesimpulan

Dari uraian di atas dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Penambahan *buffer* mampu meningkatkan perolehan asam lemak pada proses hidrolisis enzimatis dedak padi secara *in situ*.
2. Ion-ion seperti K^+ pada larutan *buffer* mampu meningkatkan aktivitas dan stabilitas lipase dedak padi.
3. Penambahan *buffer* mampu meningkatkan perolehan asam lemak hingga 48%.
4. Perolehan asam lemak tertinggi dicapai pada hidrolisis dengan penambahan volume *buffer* 5% terhadap air yang ditambahkan, suhu reaksi 50°C dan rasio air dedak 1:5 b/v. Bilangan asam yang diperoleh mencapai 2,63 meq NaOH/g dedak.

Ucapan Terimakasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ditjen DIKTI atas pembiayaan penelitian ini melalui program Hibah Pekerti th 2010.

Daftar Pustaka

- Barros, M., Fleuri, L. F., dan Macedo, G.A., 2010. Seed Lipases: Source, Application and Properties, Brazilian Journal of Chemical Engineering Vol 27 No 01:15-29.
- BPS, 2011. Data Produksi Padi di Indonesia Menurut Provinsi Tahun 1992 – 2011.
- Eunjiogha, V., 2008. Isolation and Preliminary Characterization Of Conophor Nut (*Tetradicarpidium Conophorum*) Lipase, African Journal of Biochemistry Research Vol. 3(2), pp. 009-012.
- Goffman, F. D. dan Bergman, C., 2003. Relationship Between Hydrolytic Rancidity, Oil Concentration, and Esterase Activity in Rice Bran, Cereal Chem. 80(6):689-692.
- Gosh, P. K., Saxena, R. K., Gupta, R., Yadav, R. P. dan Davidson, S., 1996, Microbial Lipases: Production and Application, Science Progress (79) 2:119-157.
- Hermansyah, H., Wijanarko, A., dan Gozan, M., 2007. Consecutive Models for Triglyceride Hydrolysis Using Lipase, Jurnal Teknologi, Edisi No. 2.
- Hiol, A., Jonzo, M. D., Druet, D., dan Comeau, L., 1999. Production, Purification, and Characterization of an Extracellular Lipase from *Mucor Hiemalis* F. *Hiemalis*, Enzym and Microbial Technology, 25, hal. 80-87.
- Jutila, A., Zhu, K., dan Kinnunen, P., 2004. Fluorescence Spectroscopic Characterization of Humicola Lanuginosa Lipase Dissolved in Its Substrate, Biochimica et Biophysica Acta 1702, 181-189.
- Kumar, S. dan Sana, N. K., 2004. Ionic Effect on Mobilization of Seed Storage and Lipase Activity, Pakistan Journal of Biological Science Vol 7.
- Lee, S., 2006. Microscopic Analysis of Ester Hydrolysis Reaction Catalyzed by Candidarugosa Lipase, Colloids and Surfaces B:Biointerfaces 47.
- Lyubarev, A. E. dan Korganov, B. I., 2000. Analysis of DSC Data Relating to Proteins Undergoing Irreversible Thermal Denaturation, Journal of Thermal Analysis and Calorimetry Vol 62, 49-60.
- Malekian, F., Ramu, R., dan Marshall, W., 2000. Lipase and Lipoxygenase Activity, Functionality, And Nutrient Losses in Rice Bran During Storage, LSU Bulletin 870.
- Mohankumar, A., Karthy, E. S., dan Ranjhitapon, P., 2009. Purification and Characterization of the Lipase From Marine *Vibrio Fischeri*, International Journal of Biology 1(2).
- Orthofer, F., 2005. Rice Bran Oil Bailey's Industrial Oil and Fat Products, Sixth Edition, Six Volume Set.
- Pahoja, V. dan Sethar, M., 2002. A Review in Enzymatic Properties of Lipase in Plants, Pakistan Journal of Applied Science 2(2), 474-484.
- Pogori, N., Cheikhoussef, A., Yan, X., dan Dong, W., 2008. Production and Biochemical Characterization of Lipase From *Rhizopus Chinensis* CCTCC M201021, Biotechnology 7(4), 710-717.
- Saifuddin, N. dan Raziah, A. Z., 2008. Enhancement of Lipase Enzyme Activity in Non-aqueous Media Through a Rapid Three Phase Partitioning and Microwave Irradiation, E-Journal of Chemistry 5(4), 864-871.
- Sharma, A., Bardhan, D., dan Rashmi, P., 2009. Optimization of Physical Parameters for Lipase Production from *Arthrobacter* sp. BGCC#490, Indian Journal of Biochemistry & Biophysic 46(2), 178-183.
- Ugwu, S. dan Apte, S. P., 2004. The Effect of Buffer on Protein Conformational Stability, Pharmaceutical Technology 28(3), 86-109.