

Pembuatan Serbuk Aseton Lipase Biji-Biji Minyak Indonesia

Myra Wardati Sari
Program studi Teknik Kimia, Politeknik TEDC
Email: myrawardatisari@gmail.com

Abstrak

Serbuk aseton-lipase merupakan preparat amobil lipase yang bersumber dari biji-biji minyak di Indonesia sebagai bio-katalis. Biji-biji yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji jarak kastor; biji kapok; dan 'biji' dedak padi. Serbuk aseton-lipase dibuat dengan menyingkirkan minyak yang terkandung dalam biji melalui pengekstrakan dengan pelarut aseton. Pengekstrakan dilakukan beberapa kali sampai minyaknya benar-benar hilang. Hilangnya minyak dari filtrat diuji secara visual. Serbuk aseton-lipase biji kastor memiliki keaktifan yang baik karena asam lemak pada biji asalnya (tanpa pengecambahan) mencapai 45,5 mg KOH/gram minyak. Serbuk aseton-lipase biji kapok memiliki keaktifan yang sangat rendah yaitu berkisar pada 2,6 – 2,8 mg KOH/gram minyak. Sedangkan serbuk aseton-lipase dedak padi memiliki keaktifan mencapai 120 mg/gram minyak.

Kata kunci: lipase, serbuk aseton, dedak padi, kastor

Abstract

Acetone-lipase powder is an immobilized lipase preparation derived from the seeds of oil in Indonesia as a bio-catalyst. The seeds were used in this study were castor seed; kapok seed; and rice bran. Acetone-lipase powder made by getting rid of the oil contained in the seeds through extraction with acetone. Extraction was done several times until the oil is completely gone. The loss of oil from the filtrate tested visually. Acetone-lipase powder of native castor seed has good activity that reach up to 45.5 mg KOH /g oil. Acetone-lipase powder kapok seeds have a very low activity that revolve 2.6 to 2.8 mg KOH / g oil. While the acetone-powdered rice bran lipase has activity of up to 120 mg / g oil.

Keywords: lipase, acetone powder, rice bran, castor

I. PENDAHULUAN

Bahan bakar minyak (BBM) seperti bensin, solar, dan avtur masih merupakan bahan bakar cair utama di Indonesia. Dengan demikian kebutuhan akan bahan bakar tersebut makin meningkat seiring berjalannya waktu. Padahal, di sisi pasokan, ketersediaannya akan makin langka, atau harganya akan kian mahal, karena cadangan sumber daya alamnya makin menipis. Selain itu, penggunaan bahan bakar fosil menyebabkan terjadinya pemanasan global (*global warming*). Maka dari itu, dibutuhkan adanya bahan bakar cair yang berasal dari sumber daya terbarukan. Dalam konteks ini asam-asam lemak yang banyak terkandung di dalam aneka minyak-lemak nabati merupakan sumber terbarukan yang secara teknik paling sesuai untuk dijadikan bahan mentah pembuatan bahan bakar cair hidrokarbon terbarukan. Penelitian ini dimaksudkan untuk berkontribusi pada persiapan preparat serbuk aseton lipase biji-bijian sebagai biokatalis untuk sekisi lipolisis. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan serbuk aseton-lipase dari biji-bijian yang nantinya digunakan untuk proses lipolisis perombakan minyak biji menjadi asam lemak bebas.

II. LANDASAN TEORI

A. Biji-Biji Minyak Sebagai Sumber Lipase

Lipase [EC 3.1.1.3. *triacylglycerol hydrolase*] adalah enzim yang mengkatalisis reaksi hidrolisis trigliserida atau triasilgliserol, yaitu triester atau gliserol dengan asam-asam lemak (Schmid dan Verger, 1998). Trigliserida adalah komponen utama/terbesar dari minyak-lemak nabati atau lemak hewani, sedangkan asam lemak adalah asam karboksilat rantai panjang yang umumnya lurus tak bercabang. Minyak-minyak lemak nabati dan lemak-lemak hewani adalah sumber alami utama asam-asam lemak. Secara umum, lipase adalah enzim yang mengkatalisis hidrolisis trigliserida.

Berbagai tumbuhan menyimpan asam-asam lemak dalam bentuk trigliserida dalam biji-bijinya, yang merupakan cadangan makanan dan sumber energi untuk perkembang-biakan. Ketika saatnya cadangan makanan dan sumber energi itu dibutuhkan, maka enzim lipaselah yang menghidrolisis trigliserida-trigliserida simpanan tersebut kembali menjadi asam-asam lemak (dan

gliserol). Tetapi, enzim lipase yang terkandung di dalam kebanyakan biji minyak hanya berkeaktifan tinggi ketika biji berada dalam fase perkecambahan. Pengecualian terhadap jarak kastrol (*Ricinus communis*) yang lipasnya selalu aktif, walau tidak dalam fase perkecambahan.

Lipase suatu biji sumber minyak biasanya bersifat selektif terhadap tipe asam lemak yang dominan menyusun trigliserida-trigliserida yang dikandung biji tersebut, dalam arti akan lebih aktif menghidrolisis ester-ester asam lemak ini di mana pun posisinya dalam trigliserida. Sebagai contoh, lipase biji jarak kepyar akan paling aktif menghidrolisis ester-ester asam risinoleat di dalam minyak jarak kepyar (Barros dkk., 2010).

Dewasa ini, enzim lipase yang umum digunakan di dunia industri adalah yang dihasilkan dari metabolisme mikroba. Karena enzim lipase asal mikroba memiliki biaya produksi yang tinggi dan pemurnian/pembersihan yang rumit, maka orang mencari sumber lipase yang lain (Barros dkk., 2010). Lipase yang berasal dari tumbuhan, khususnya biji, sekarang ini mulai menjadi andalan sumber lipase. Hal ini karena lipase tumbuhan merupakan alternatif yang baik dalam biokonversi ester-ester asam lemak secara komersial karena berharga relatif murah, banyak tersedia dari sumber-sumber alam tanpa memerlukan teknologi genetika molekuler dalam produksinya, mudah penyiapan dan pemurnian preparatnya, serta bergantung kepada biji sumbernya, memiliki kespesifikan atau selektifitas terhadap asam-asam lemak tertentu (Villeneuve, 2003; Barros dkk., 2010). Di samping itu lipase dari biji tumbuhan ini juga tersedia luas di alam, pengambilannya juga tidak mengganggu skema hidup tumbuhan, tidak meninggalkan residu, memiliki efisiensi yang tinggi, tidak memerlukan pemurnian layaknya lipase dari mikroba (Caro, 2000) sehingga biaya produksi bisa lebih rendah.

B. Serbuk Aseton Lipase Biji Minyak

Serbuk aseton (Olney, 1968) adalah salah satu cara untuk mengimobilisasi enzim lipase yang berasal dari tanaman. Pada tahun 2013, Avelar melakukan percobaan dengan menggerus biji kastor dan dicampurkan dengan aseton, lalu diaduk rata sehingga minyak dalam biji terekstrak. Setelah disaring untuk dipisahkan residu dan filtratnya, ternyata residu tersebut menampilkan aktivitas hidrolisis lemak/minyak. Sehingga disimpulkan adanya lipase dalam residu yang kemudian disebut dengan serbuk aseton. Serbuk aseton memiliki stabilitas penyimpanan yang tinggi (Cavalcanti, 2007) dan preparasi yang relatif mudah (Naciye, 1998)

Ada 2 tipe preparat lipase biji minyak, yaitu dengan susu atau krim lipase, dan serbuk lipase (Rose, 1951; Mukherjee, 2002). Karena lebih stabil pada penyimpanan lama, dan juga merupakan

bentuk enzim teramobilisasi (*immobilized enzim*) bentuk serbuk kini lebih menjadi pilihan. Serbuk lipase, dibuat dengan menggiling biji sumber minyak di dalam pelarut organik sehingga minyak dari dalam biji terekstrak ke dalam pelarut dan menghasilkan serbuk padat bebas minyak yang masih menjebak lipasnya. Pelarut organik aseton dipilih karena serbuk lipase hasilnya memiliki aktifitas yang konstan dalam jangka waktu pemakaian cukup lama (Ramakrishnan dan Nevgi, 1950). Pengecambahan biji minyak dilakukan dengan mempertahankan biji pada kondisi basah/lembab di temperatur ruang selama beberapa hari (biasanya 3 – 5 hari). Pembuatan serbuk aseton dilakukan dengan menggiling suspensi biji di dalam aseton dingin, kemudian dikeringkan pada temperatur kamar.

C. Keperluan Pengembangan Serbuk Aseton-Lipase Biji-Biji Minyak Indonesia

Mengingat bahwa Indonesia kaya akan aneka pohon sumber biji minyak, maka prosedur pembuatan serbuk aseton yang sesuai untuk aneka biji minyak Indonesia tersebut perlu dikembangkan, yaitu dengan mencobakan prosedur tanpa atau dengan pembasahan oleh eter di tahap akhir (Katoch, 2011). Pengujian sesuai tidaknya prosedur yang dicobakan dilakukan dengan menggunakan langsung serbuk aseton dalam proses lipolisis minyak-lemak yang banyak terdapat di Indonesia, yaitu minyak goreng sawit. Selanjutnya, beberapa serbuk aseton yang berkeaktifan baik atau istimewa dapat diuji apakah dapat digunakan berulang-ulang atau tidak di dalam proses lipolisis.

III. METODE PENELITIAN

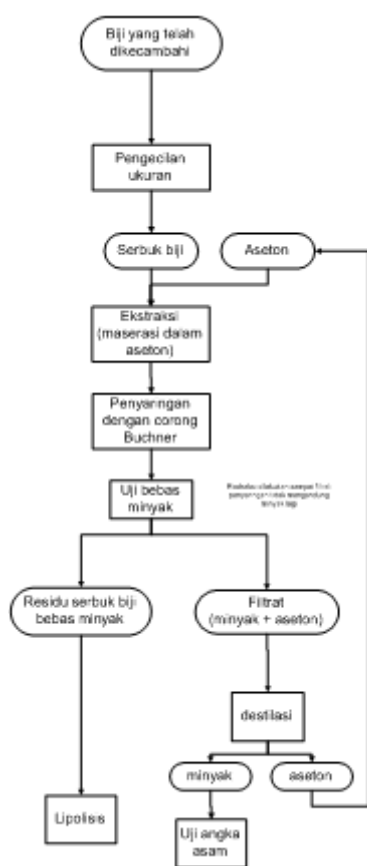
Persiapan lipase biji mengacu pada Avelar (2013), Afolabi (1991), Olney (1968), dan Rose (1951) yaitu dengan menyingkirkan minyak yang terkandung dalam biji melalui pengestrakan dengan pelarut aseton. Pengestrakan dilakukan beberapa kali sampai minyaknya benar-benar hilang. Hilangnya minyak dari filtrat diuji secara visual.

Minyak biji yang terlarut dalam aseton dapat dipisahkan melalui proses distilasi minyak dan aseton. Selanjutnya, aseton yang telah terpisah dari minyak dapat digunakan kembali untuk proses ekstraksi maserasi. Hal ini dapat menghemat aseton yang digunakan dalam jumlah besar dan meminimalisir terbuangnya limbah aseton sisa proses ekstraksi. Berikut adalah rumus %FFA (*Free Fatty Acid*) persamaan (1) dan rumus angka asam persamaan (2).

$$\%FFA = \frac{V \times 10^{-3} \times M \times MM}{Wt \times f} \times 100 \tag{1}$$

$$\text{Angka Asam} = \frac{V \times M \times MM}{Wt} \tag{2}$$

Pengujian angka asam yang dilakukan pada minyak yang telah dipisahkan dari aseton bertujuan untuk mengetahui jumlah lemak yang telah dirombak menjadi asam lemak oleh enzim lipase di dalam biji (lipolisis *in situ*). Diharapkan kinerja di dalam biji mewakili kinerja serbuk aseton saat digunakan dalam lipolisis. Angka asam dan %FFA dihitung dengan menggunakan persamaan pada persamaan 1 dan 2.



Gambar 1. Skema penelitian

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

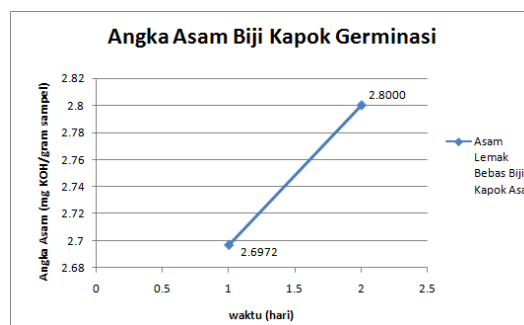
A. Lipase Kastor

Pada biji kastor tidak dilakukan pengecambahan karena lipase yang terkandung di dalamnya telah aktif walaupun dalam keadaan dorman (Rose, 1951; Huang,1978). Namun dilakukan pengukuran angka asam pada minyak kastor yang diekstrak, untuk memastikan bahwa kondisi hidrolisis *in situ* dalam biji kastor telah terjadi pada masa dorman. Terjadinya hidrolisis *in*

situ merepresentasikan keaktifan lipase di dalam biji. Angka asam yang tercatat pada minyak kastor adalah 45,5 mg KOH/gram minyak. Lipase yang berasal dari biji kastor dorman memberikan jumlah asam lemak yang tinggi walaupun tanpa melewati masa perkecambahan (Cavalcanti, 2007).

B. Lipase Kapok

Kapok termasuk dalam biji yang mengandung minyak, sehingga pasti memiliki enzim lipase yang digunakan untuk merombak minyak lemak menjadi asam lemak dan gliserol terutama pada masa pengecambahan. Asam lemak merupakan sumber energi bagi tumbuhan pada masa pengecambahan (Huang, 1978).



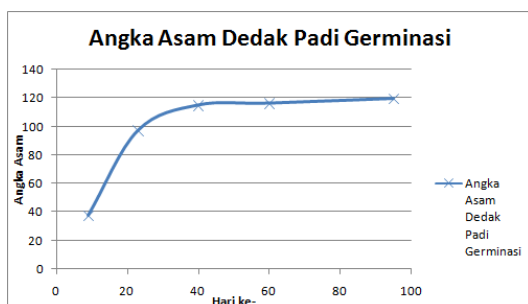
Gambar 2. Angka asam minyak biji kapok selama germinasi

Biji kapok yang digerminasi telah mulai berkecambah sebanyak 10% pada hari kedua dan mencapai 80% pada hari ketiga. akumulasi asam lemak bebas minyak biji kapok asal sangat kecil, hanya berkisar pada angka asam 2,6 – 2,8 mg KOH/gram minyak.

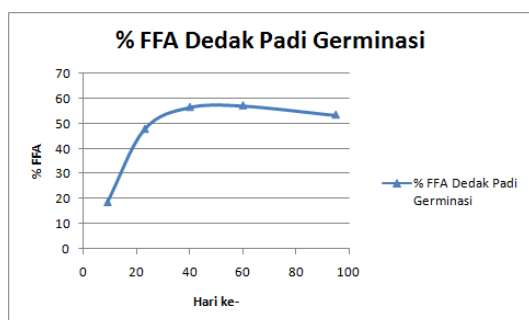
Akumulasi asam lemak bebas yang kecil menunjukkan rendahnya kinerja pada lipase biji kapok asal. Hal ini mungkin disebabkan oleh tidak adanya pemicu keaktifan lipase, seperti panas atau keberadaan ion-ion pengaktivasi lipase dalam biji.

C. Lipase Dedak Padi

Dedak padi yang digunakan sebagai bahan pembuatan serbuk aseton-lipase dedak padi memiliki kadar air 12,27% dan kadar minyak 18,59%, sesuai dengan yang diutarakan Loeb (1949) bahwa dalam dedak padi terdapat kadar air 12,6% dan kadar minyak 14 – 18%. Kadar air yang sesuai menandakan bahwa agen menghidrolisis (dalam hal ini adalah air) sudah cukup dan proses dapat dilakukan pada suhu kamar.



Gambar 3. Angka asam minyak dedak padi selama germinasi



Gambar 4. %FFA (*Free Fatty Acid*) minyak dedak padi selama germinasi

Akumulasi asam lemak pada dedak padi pada 95 hari penyimpanan mencapai 53,34% asam lemak bebas atau sekitar 120 mg/gram minyak. Gambar 3 dan 4 memperlihatkan kenaikan jumlah asam lemak minyak dalam dedak padi seiring lamanya waktu penyimpanan. Kenaikan tajam pada 30 hari pertama menunjukkan adanya lipase aktif yang berfungsi untuk menghidrolisis minyak yang terkandung dalam dedak padi dan membebaskannya menjadi asam lemak.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah:

1. Serbuk aseton-lipase biji kastor memiliki keaktifan yang baik karena asam lemak pada biji asalnya dapat mencapai 45,5 mg KOH/gram minyak.
2. Serbuk aseton-lipase biji kapok memiliki keaktifan yang sangat rendah yaitu berkisar pada 2,6 – 2,8 mg KOH/gram minyak.
3. Serbuk aseton-lipase dedak padi memiliki keaktifan mencapai 120 mg/gram minyak.

B. Saran

Berikut adalah saran yang perlu dipertimbangkan demi kelancaran penelitian-penelitian lanjutan:

1. Pembuatan serbuk aseton lipase yang telah dilakukan sebaiknya diikuti dengan proses pemurnian dengan pengondisian pH agar lipase stabil pada proses penyimpanan.
2. Selain pengujian kadar asam lemak yang terdapat dalam biji, diperlukan Analisis terhadap kandungan protein di dalam serbuk aseton lipase dan endosperma biji dibutuhkan untuk mengetahui komposisi lipase sebelum dan sesudah biji dibuat 'serbuk aseton' lipasnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Afolabi, O.A.; M.O. Ologunde; Winston A. Ander; John S. Read; Michelle D. Dacosta; Flavia A. Epps; Folahan A. Ayorinde (1991) : The Use of Lipase (Acetone Powder) from *Vernon galamensis* in the Fatty Acid Analysis of Seed Oil, *Journal of Chemical Technological Biotechnology*, **51**, 41-46.
- Avelar, Matheus H.M.; Debora M.J. Cassimiro; Kadima C. Santos; Rui C.C. Domingues; Heizir F. de Castro; Adriano A. Mendes (2013) : Hydrolysis of Vegetable Oils Catalyzed by Lipase Extract Powder from Dormant Castor Bean Seeds, *Industrial Crops and Product*, **44**, 452-458.
- Barros, M.; L.F. Fleuri; G.A. Macedo (2010) : Seed Lipases: Sources, Applications, and Properties-A Review, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, **27**,01, 15-29.
- Cavalcanti, Elisa D.C. (2007) : Acetone Powder from Dormant Seeds of *Ricinus communis* L., *Applied Biochemistry and Biotechnology Journal*, 136-140, 57 – 65.
- Caro, Yanis; Pierre Villeneuve; Michel Pina; Max Reynes; Jean Graille (2000) : Lipase Activity and fatty Acid Typoselectivities of Plant Extracts in Hydrolysis and Interesterification, *Journal of American Oil Chemistry Society*, **77**, 4, 349-354.
- Huang, Anthony dan Robert A. Moreau (1978) : Lipase in the Storage Tissues of Peanut and Other Oil Seeds During Germination, *Planta*, **141**, 111 – 116.
- Katoch, R., 2011. Analytical Techniques in Biochemistry and Molecular Biology, 1st Ed., Springer-Verlag, New York, 2011.
- Loeb J.R.; N.J. Morris; F.G. Dollear. (1949) : Rice Bran Oil IV Storage of the Bran as It Affects Hydrolysis of the Oil,

- The Journal of The American Oil Chemists Society*, 738-743.
- Naciye El; Levent Dandik; H.Ayşe Aksoy (1998) : Solvent Free Glycerolysis Catalyzed by Acetone Powder of *Nigella Sativa* Seed Lipase, *Journal of American Oil Chemistry Society*, **75**, 9, 1207-1211.
- Olney, C.E.; R.G. Jensen; J. Sampugna; J.G. Quinn. (1968) : The Purification and Specificity of Lipase From *Vernonia anthelmintica* Seed, *Lipids*, **3**, 6, 498-502.
- Ramakrishnan C.V.; G.V. Nevgi (1950) : Studies on Enzyme Lipase.
- Rose, William Gordon (1951) : Plant Lipase in Emulsions of Water in Oil, *The Journal of the American Oil Chemists' Society*, 47 – 51.
- Schmid, Rolf D.; Robert Verger (1998) : Lipase: Interfacial Enzymes with Attractive Applications, *Angewandte Chemie International Edition*, **37**, 1608-1633.
- Villeneuve, P. 2003. Plant lipases and their applications in oils and fats modification. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 105. 308-317.