

# PENGEMBANGAN PROSES ENZIMATIS GELOMBANG MIKRO UNTUK PRODUKSI ASAM LEMAK DARI BUAH SAWIT SECARA IN SITU

Mohamad Endy Yulianto, Zainal Abidin, F.S. Nugraheni S, dan Vita Paramita

Jurusan Teknik Kimia PSD III Teknik, UNDIP Semarang

E-mail : endy\_y@yahoo.com

## Abstract

*Vegetable oil is one of plantation commodity and used as food source and oleochemical. One of the connection between vegetable industry and oleochemical industry is the conversion of vegetable oil into fatty acid. Indonesia is one of major producer of Crude Palm Oil (CPO), Palm Kernel Oil (PKO) and Cocos Nucifera Oil (CNO), but Indonesia is also import fatty acid in the application of paint, plastics, cosmetics, detergent and soap industry. These facts show a pityfull condition of vegetable oil industry. Therefore, it is necessary to take an effort in order to fulfill our domestic demand of fatty acid. Up to now, the fatty acid is produce by converting CPO into fatty acid, which provide high cost production due to the expensive process of CPO production. An alternative process was proposed by cutting the two stages of fatty acid production into one stage. This stage covered the direct enzymatics production of fatty acid from fresh fruit of palm oil. The lipase of palm oil is inactivated in a microwave based-enzymatics hydrolysis bioeractor. The research objectives was developing the fatty acid production through microwave biochemical process by activate the lipase enzyme of the fresh fruit of palm oil. The parameters examined were including pH, ratio of water-fruit, and the milling of the palm oil as time function. The lipase activity as a result of microwave tuning up process was increasing along with the increasing of the reaction temperature. Without the addition of buffer, the acidity of the system decreased along with the production of fatty acid. Along with the increasing of the water concentration, the fatty acid produced was also increased.*

**Key Words:** *fatty acid, lipase, microwave*

## Pendahuluan

Saat ini, Indonesia merupakan negara penghasil dan pengeksport minyak sawit mentah (CPO) terbesar di dunia disamping Malaysia dengan kapasitas mencapai 22,5 juta ton. Namun demikian, Indonesia masih mengimpor asam lemak (derivat CPO) yang digunakan dalam industri cat, plastik, kosmetik, deterjen, dan sabun serta produk-produk makanan seperti industri coklat, industri es krim, industri kue-kue, dan industri permen. Hal ini sangat disayangkan, sehingga perlu dilakukan suatu langkah dalam pemenuhan asam lemak bagi kebutuhan dalam negeri. Penyebab utama kurangnya asam lemak di Indonesia adalah karena proses pembuatannya yang dinilai tidak ekonomis.

Di Indonesia produksi asam lemak komersial merupakan hidrolisis minyak sawit mentah yang dilakukan dengan menggunakan proses *colgate-emery*. Proses ini dinilai kurang efisien, karena untuk pembuatan asam lemak diperlukan terlebih dahulu satu pabrik pengolahan minyak sawit sebagai bahan bakunya. Beberapa skema proses enzimatis

produksi asam lemak secara langsung dari kelapa sawit dengan pemanasan konvensional juga telah dipatenkan, antara lain U.S. Paten No. 4.208.432; U.S. Paten No. 5.518.754; dan U.S. Paten No. 6.706.502. Akan tetapi, konversi reaksi yang dihasilkan masih dibawah proses *colgate-emery*. Kelemahan mendasar dari skema proses seperti paten diatas adalah: (i) beban pemurnian sangat tinggi karena konsentrasi asam lemak kurang dari 80%, (ii) laju hidrolisa dengan pemanasan konvensional mengalami penurunan, (iii) menurunnya fleksibilitas molekul protein, (iv) lipase mengalami instabilitas dan inaktivasi, dan (v) produktivitas rendah, karena waktu tinggal relatif lama. Namun demikian, mengingat tingginya nilai ekonomi asam lemak, untuk itu perlu dicari alternatif solusinya. Pengembangan yang dilakukan adalah produksi asam lemak secara langsung dari kelapa sawit melalui proses *tuning up* menggunakan gelombang mikro.

Proses "*tuning up*" enzim menggunakan gelombang mikro merupakan langkah terobosan penting di dalam enzimologi.

Kondisi protonasi termokimia gelombang mikro terhadap rantai asam amino, menyebabkan enzim akan mengingat kondisi ionisasi dari larutan akuatik (*enzyme's pH memory*). Oleh karenanya, “*tuning*” terhadap pH akan menghasilkan laju hidrolisa yang lebih cepat. Proses termokimia gelombang mikro juga akan meningkatkan “*interfacial activation*” (aktivasi pada permukaan). Aktivitas lipase meningkat cepat ketika substrat berada pada *interface* minyak-air. Sedangkan partisi tiga fasa dengan gelombang mikro terhadap lipase menyebabkan naiknya kekuatan katalitik di dalam buffer akuatik. Proses tersebut dilakukan dengan menambahkan amonium sulfat dan t-butanol ke dalam larutan enzim guna meningkatkan fleksibilitas molekul protein. Proses partisi tiga fasa berpotensi menghasilkan enzim dengan kekuatan katalitik yang lebih baik.

Meskipun demikian, masalah yang terjadi pada produksi asam lemak secara enzimatik melalui proses termokimia gelombang mikro adalah hidrolisis secara langsung dari kelapa sawit melibatkan tambahan fasa padat (mesokarp). Oleh karena itu, pengaruh komposisi air terhadap pengeluaran minyak dari mesokarp juga menentukan kecepatan hidrolisis. Minyak akan lebih mudah keluar dari fasa padat bila disekelilingnya adalah fasa akuatik (air), terlebih lagi bila fasa disekelilingnya adalah fasa organik, maka pengeluaran minyak dari fasa padat menjadi lebih mudah. Makin banyak minyak yang berhasil dikeluarkan, maka semakin banyak substrat yang tersedia untuk reaksi. Jadi, konsentrasi air juga berpengaruh terhadap pengeluaran minyak disamping meningkatkan luas *interface* antara kedua fasa melalui pembentukan emulsi. Emulsi harus sedemikian rupa sehingga menghasilkan luas permukaan yang besar.

Oleh karenanya, kajian penelitian ini diarahkan pada pengembangan bioreaktor enzimatik gelombang mikro untuk meningkatkan konversi reaksi hidrolisa menjadi asam lemak dan menela'ah fenomena *interfacial activation* lipase dalam kelapa sawit melalui gelombang mikro dalam mengkonversi trigliserida menjadi asam lemak.

## Metode Penelitian

Penelitian tentang produksi asam lemak melalui hidrolisa trigliserida enzimatik dari buah kelapa sawit diinvestigasi secara eksperimen. Penelitian dilakukan pada skala laboratorium meliputi: perancangan dan pabrikan bioreaktor hidrolisis enzimatik gelombang mikro serta studi pengaruh pH dan konsentrasi air terhadap peningkatan jumlah asam.

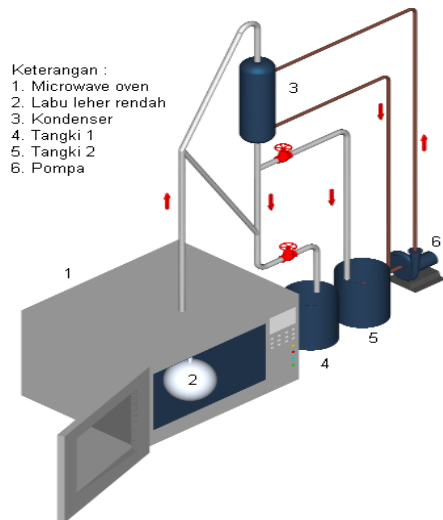
## Bahan Penelitian

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah buah kelapa sawit yang baru dipanen, karena pada saat itu aktifitas enzim sudah mulai beraksi, dan aktifitas ini semakin lama akan semakin besar. Aktifitas ini akan menurun setelah terjadi pembusukan pada substrat.

Bahan lain yang diperlukan adalah bahan untuk melakukan titrasi dalam penentuan bilangan asam untuk menguji kadar asam lemak bebas, bilangan iod untuk menguji kejenuhan, bilangan penyabunan untuk menguji berat molekul dan panjang rantai karbon serta penentuan bilangan peroksida.

## Alat Penelitian

Desain dan pabrikan bioreaktor enzimatik gelombang mikro skala laboratorium dikerjakan di Workshop Glass dan Blower Yogyakarta, dengan data-data teknis perancangan diperoleh dari hasil penelitian pendahuluan. Rangkaian alat bioreaktor gelombang mikro yang digunakan untuk proses hidrolisis enzimatik tersaji pada Gambar 1. Rangkaian alat ini terdiri dari reaktor enzimatik, motor pengaduk, pemanas gelombang mikro, pengendali temperatur, pengendali pH, jaket pendingin dan pengendali putaran pengaduk. Alat lain yang diperlukan adalah *screw press* dan alat untuk titrasi dalam penentuan kadar asam, bilangan iod, bilangan penyabunan dan bilangan peroksida, sedangkan untuk menentukan komposisi asam lemak dapat dilakukan dengan menggunakan gas kromatografi (GC).



Gambar 1. Alat bioreaktor hidrolisis enzimatis berbasis gelombang mikro.

### Variabel Penelitian

Variabel proses hidrolisis enzimatis berbasis gelombang mikro berupa variabel tetap, meliputi: dimensi peralatan D/H konstan, tekanan operasi 1 atm, dan daya 150 W. Sedangkan variabel berubah: rasio buah kelapa sawit-air pada rentang 40 – 60% w/w, dan pH pada 4,5 – 5,0 (fasa akuatik air dan buffer).

### Prosedur Penelitian

Pada percobaan ini, buah sawit yang mempunyai ukuran beragam dipotong-potong/dirajang  $\pm 1$  cm, kemudian digiling secara halus, lalu dikempa. Penggilingan secara halus ini dilakukan untuk mengetahui pengaruhnya terhadap kenaikan kadar asam lemak, sedangkan pengempaan dilakukan untuk memperoleh cairan dari serat. Pada pengempaan ini, serat (ampas) yang telah selesai dikempa dikeluarkan secara manual untuk diganti dengan serat yang baru digiling, karena ampas ini akan mengurangi efektifitas proses pengempaan. Hidrolisa enzimatis ini, dilakukan dalam bioreaktor enzimatis berbasis gelombang mikro pada berbagai variabel proses yang telah ditentukan.

Prosedur percobaan dilakukan dengan cara mengamati kandungan asam lemak setiap 30 menit. Pengamatan ini dilakukan selama beberapa hari sampai kemampuan enzim lipase menurun untuk menghidrolisa trigliserida. Data-data yang diperoleh pada penelitian berupa data kadar trigliserida dan kadar asam lemak sisa versus waktu pada berbagai variabel

proses. Pengukuran kualitas produk meliputi: kadar asam lemak bebas diukur dengan bilangan asam, kejenuhan diukur dengan bilangan iod, derajat kerusakan lemak diukur dengan bilangan peroksida dan kadar air diukur dengan penentuan kadar air manual. Sedangkan pengukuran sifat produk seperti: berat jenis diukur dengan piknometer, indeks bias diukur dengan refraktometer dan titik memadat diukur dengan dengan metoda menggunakan pipa kapiler.

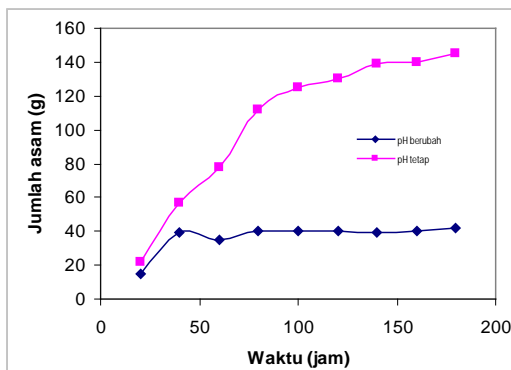
### Hasil dan Pembahasan

Pabrikasi bioreaktor enzimatis gelombang mikro skala laboratorium telah berhasil dikembangkan. Bioreaktor ini berupa seperangkat alat oven jenis *microwave* yang dilengkapi dengan seperangkat reaktor terdiri dari labu leher rendah dan kondensor. *Microwave* yang digunakan memiliki daya 800 W dengan frekuensi iradiasi sebesar 2450 Mhz. Alat proses ini telah diuji coba untuk menstabilkan setting kondisi operasi, konsistensi proses dan stabilitas proses, sehingga dapat digunakan untuk mengukur data percobaan di laboratorium.

### Pengaruh pH

Untuk mengetahui pengaruh perubahan pH terhadap reaksi hidrolisis trigliserida kelapa sawit berbantu gelombang mikro, eksperimen dilakukan menggunakan dua fasa aquatik yang berbeda yaitu menggunakan air dan menggunakan buffer fosfat pH 8,2. Studi

dilakukan pada temperatur 35 °C dengan konsentrasi fasa akuatik 40%. Gambar 2 menunjukkan pengaruh pH terhadap peningkatan jumlah asam. Pengaruh pH pada sistem reaksi hidrolisis akan menurun seiring dengan terbentuknya asam lemak jika tidak menggunakan buffer. Pernyataan ini sesuai kajian Ramezanzadeh dkk., 1999; Goffman dan Bergman, (2003), yaitu konversi minyak menjadi asam lemak selama proses hidrolisis akan menurunkan pH reaksi. Penggunaan buffer bermanfaat untuk menjaga pH larutan sehingga lebih stabil dibandingkan dengan menggunakan air. Pernyataan ini didukung dengan data eksperimen bahwa fasa akuatik menggunakan buffer memberikan derajat hidrolisis yang lebih besar dibandingkan dengan menggunakan air. Konversi maksimal yang dicapai bila menggunakan fasa akuatik air adalah 78,2 % sedangkan dengan menggunakan buffer mencapai derajat hidrolisis 89,7%. Hal ini berarti bahwa aktivitas lipase sangat sensitif terhadap pH. Akan tetapi, penelitian Hiol, dkk., (1999) dan Holtman, (2003) menyatakan bahwa lipase ekstraseluler sawit dihasilkan pada fermentasi *batch* dengan aktivitas tertinggi dicapai pada waktu inkubasi 6 hari dengan pH optimum 7 dan temperatur optimum 40 °C. Sedangkan Pahoja dan Sethar (2002), menegaskan bahwa enzim lipase optimum pada rentang pH 7,5 - 8.



Gambar 2. Pengaruh pH terhadap peningkatan jumlah asam.

Proses “*tuning up*” enzim menggunakan gelombang mikro merupakan langkah terobosan penting di dalam enzimologi. Kondisi protonasi biokimia gelombang mikro terhadap rantai asam amino, menyebabkan

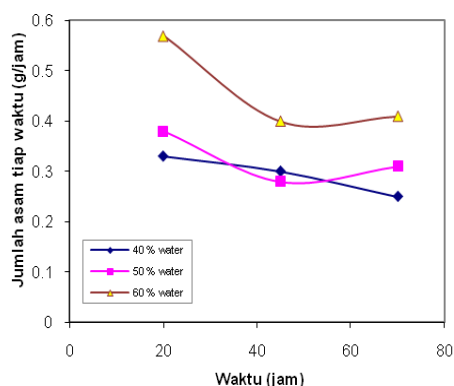
enzim akan mengingat kondisi ionisasi dari larutan akuatik (*enzyme’s pH memory*). Oleh karenanya, “*tuning*” terhadap pH akan menghasilkan laju hidrolisa yang lebih cepat, sehingga akan meningkatkan konversi reaksi. Proses biokimia gelombang mikro melalui partisi tiga fasa terhadap lipase dapat meningkatkan fleksibilitas molekul protein dan naiknya kekuatan katalitik di dalam buffer akuatik.

### Pengaruh Konsentrasi Air

Hidrolisis trigliserida kelapa sawit merupakan suatu proses yang melibatkan dua fasa yaitu akuatik (air) dan fasa organik (minyak). Lipase memiliki keunikan karena mengkatalisis reaksi pada batas fasa antara fasa air dan minyak (*interfacial activation*). Kemampuan enzim berada di daerah *interface* ini akan sangat mempengaruhi kecepatan reaksi. Semakin luas daerah *interface* yang terbentuk maka kecepatan reaksi akan semakin besar. Untuk meningkatkan luas *interface* antara kedua fasa ini, maka pembentukan emulsi melalui gelombang mikro sehingga akan menghasilkan emulsi dengan luas permukaan yang besar. Jadi dalam hal ini, penentuan konsentrasi air yang optimum untuk pembentukan emulsi yang menghasilkan luas permukaan besar sangat penting.

Perlu juga diperhatikan bahwa lipase memiliki karakteristik lebih cenderung larut dalam fasa akuatik dibanding fasa minyak. Jadi apabila konsentrasi air berlebih, lipase akan cenderung berada pada fasa air. Akibatnya lipase yang berada di *interface* antara fasa air dan minyak akan berkurang. Hal ini menyebabkan konversi minyak menjadi lebih lama. Selain itu proses hidrolisis secara langsung dari trigliserida kelapa sawit melibatkan tambahan fasa padat. Oleh karena itu, pengaruh komposisi air terhadap pengeluaran minyak dari kelapa sawit juga menentukan kecepatan hidrolisis. Minyak akan lebih mudah keluar dari fasa padat bila disekelilingnya adalah fasa akuatik (air), terlebih lagi bila fasa disekelilingnya adalah fasa organik, maka pengeluaran minyak dari fasa padat akan menjadi lebih mudah. Makin banyak minyak yang berhasil dikeluarkan, maka semakin banyak pula substrat yang

tersedia untuk reaksi. Jadi dalam hal ini, konsentrasi air juga berpengaruh terhadap pengeluaran minyak dari kelapa sawit.



Gambar 3. Pengaruh konsentrasi air terhadap peningkatan jumlah asam.

Studi pengaruh konsentrasi air pada proses hidrolisis berbasis gelombang mikro terhadap kecepatan hidrolisis dilakukan dengan tetap mempertimbangkan proses hilirnya. Gambar 3, menyajikan pengaruh konsentrasi air terhadap peningkatan jumlah asam. Semakin besar konsentrasi air, maka peningkatan jumlah asam yang terbentuk juga akan semakin besar. Kandungan air dalam reaktan adalah sekitar 19,64% sehingga secara teoritis reaksi akan berjalan sempurna apabila konsentrasi air lebih dari 30,61%. Meningkatnya perolehan asam lemak berbantu gelombang mikro disebabkan oleh aktivitas molekul-molekul air yang memicu terjadinya pembengkakan pada material sawit akibat adanya pemanasan dielektrik (Pan dkk., 2001; Wang dkk., 2010). Kecepatan hidrolisis yang sangat lambat pada konsentrasi air 40 – 60% diduga akibat dari lambatnya minyak keluar dari kelapa sawit. Oleh karena itu, konsentrasi air harus berlebih untuk memperoleh tingkat konversi yang tinggi.

Reaksi hidrolisa gelombang mikro juga menyebabkan terjadinya kerusakan (*disruption*) dan terjadi perubahan struktur internal pada material sawit dengan bantuan gelombang mikro. Adanya air yang berlebih mengakibatkan terjadinya pembengkakan berlebih (*excessive swelling*) pada material reaktan yang berakibat timbulnya *thermal*

*stress* yang berlebih yang disebabkan oleh timbulnya panas yang cepat pada larutan akibat dari penyerapan gelombang mikro oleh air. *Thermal stress* yang berlebih akan berakibat negatif terhadap senyawa-senyawa fitokimia (Chen dkk., 2007; Wang dkk., 2010).

### Kesimpulan

Aktivitas lipase dengan *tuning up* gelombang mikro meningkat dengan penambahan buffer, dan pH sistem reaksi akan menurun seiring dengan terbentuknya asam lemak jika tidak menggunakan buffer. Semakin besar konsentrasi air, maka peningkatan jumlah asam lemak yang terbentuk juga akan semakin besar.

### Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan syukur Alhamdulillah kepada Allah SWT dan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada DP2M-DIKTI atas dukungan dana dalam kegiatan Penelitian Hibah Strategis Nasional 2010.

### Daftar Pustaka

- Chen, Y., Xie, M.Y., Gong, X.F., 2007, "Microwave Assisted Extraction Used for the Isolation of Total Triterpenoid Saponins from *Ganoderma atrum*", Journal of Food Engineering, 81: 172-170.
- Goffman, F.D., Bergman, C., 2003, "Relationship Between Hydrolytic Rancidity, Oil Concentration, and Esterase Activity in Rice Bran", Cereal Chem. 80(6):689-692.
- Hiol, A., Jonzo, M.D., Druet, D., and Comeau, L., 1999, "Production, Purification, and Characterization of an Extrasellular Lipase from *Mucor hiemalis f. Hiemalis*", Enzym and Microbial Technology, 25, hal. 80 – 87.
- Holtman, A., Under supervisor of Ganzelveld, K.J., and Manurung, R., 2003, "In situ Direct Hydrolysis of Palm Oil", Rug-ITB-Agricinal.
- <http://www.freepatentsonlinePatent4.208.432.htm>
- <http://www.freepatentsonlinePatent5.518.754.htm>

- <http://www.freepatentsonlinePatent6.706.502.htm>
- Pahoja, V., Sethar, M, 2002, "A Review in Enzymatic Properties of Lipase in Plants", A Pakistan Journal Of Applied Science, (2) 4.
- Pan, X., Niu, G., Liu, H., 2001, Microwave Assisted Extraction of Tanshiones from *Salvia miltiorrhiza* with Analysis by HPLC, Journal of Chromatography A, 922:371-375.
- Ramezanzadeh, F, F., Ramu, R., Marshall, W.,1999, "Prevention of Hydrolytic Rancidity in Rice Bran during Storage", J.Agric.FoodChem., Vol.47, No.8.
- Wang, Y.L., Xi, G.S., Zheng, Y.C., Miao, F.S., 2010, "Microwave Assisted Extraction from Chinese herb *Radix puerariae*", Journal of Medicinal Plant Research, 4(4):304-308.