

Apabila hasil dilakukan maka setiap kali proses regenerasi dilakukan dapat menghemat bahan kimia NaOH dan HCl sebanyak 200 kilogram, sehingga dapat menghemat financial pabrik. Harga NaOH dari pihak ketiga untuk 1 kilogramnya sebanyak Rp. 3.847,00 dan jika dikalikan 200 kilogram adalah Rp. 767.400,00. Harga HCl dari pihak ketiga untuk 1 kilogramnya adalah Rp. 1.990,00 dan jika dikalikan 200 kilogram adalah Rp. 398.000,00. Jika ditambahkan keuntungan dari HCl dan NaOH adalah Rp. 1.165.400,00 untuk 1 kali regenerasi.

Tabel 1 Perhitungan keuntungan financial untuk sekali regenerasi

Bahan Kimia	Harga (Rp/Kg)	Total Keuntungan
NaOH	Rp. 3.847,00	Rp. 767.400,00
HCl	Rp. 1.990,00	Rp. 398.000,00
Total Keseluruhan		Rp. 1.165.400,00

Jadi, total keuntungan yang didapat untuk sekali regenerasi adalah Rp. 1.165.400,00.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1. Kesimpulan

Dari pembahasan diatas dapat ditarik beberapa kesimpulan yaitu:

1. Instruksi kerja mengenai waktu injeksi kimia sudah tidak relevan untuk diaplikasikan dan harus diganti dengan fungsi level pemakaian bahan kimia, dikarenakan peralihan peralatan pompa keejector dan perlu diberi saran yang telah ada.
2. Jumlah HCl yang terserap resin adalah 1.687,21 kg. Jumlah NaOH yang terserap resin adalah 1.318,77 kg
3. Hasil dari perhitungan bahan kimia secara manual memiliki nilai pemakaian bahan kimia yang paling efisien dari perhitungan rekomendasi NALCO dan Instruksi Kerja dengan jumlah NaOH 2000 kg dan HCL 2000 kg, dan dapat menghemat sekitar Rp. 1.165.400,00 untuk sekali regenerasi.

4.2. Saran

1. Bagi pihak perusahaan lebih bisa menempatkan buku pedoman operasional maupun pemeliharaan unit pembangkit secara teratur.

2. Lebih meningkatkan pengoperasian alat laboratorium secara maksimal.
3. Pihak operator lebih bisa mengatasi masalah pada saat regenerasi.
4. Pihak Laboratorium lebih banyak memberikan referensi kepada peneliti yang sedang melakukan ujian tahap akhir.
5. Instruksi Kerja yang baru dapat diaplikasikan untuk regenerasi kedepannya.

Daftar Pustaka:

- Anton J. Hartono, Prof. Konrad Drorfner *Iptek Penukar Ion, Edisi Pertama*. Andioffset.Yogyakarta 1995.
- Chang, Raymond. 2004.180 *Kimia Dasar*. Jakarta: Erlangga.
- Chang, Raymond. 2004. *Kimia Dasar*. Jakarta: Erlangga.
- Petrucci, Ralph H. 1987. *Kimia Dasar Prinsip Dan Terapan Modern Jilid 1*. Jakarta: Erlangga.
- Syarifuddin, Nuraini. 2002. *Ikatan Kimia*. Jakarta: Universitas Terbuka

MODIFIKASI ANALISA AKTIFITAS LIPASE DARI *MUCOR MIEHEI* DENGAN MENGGUNAKAN SURFAKTAN

Dwina Moentamaria¹, Achmad Chumaidi², Nanik Hendrawati³
^{1,2,3} Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang

¹dwina_mnt@yahoo.com, ²achmad.chumaidi@yahoo.com, ³hannike_71@yahoo.com

Abstrak

Metoda analisa aktifitas lipase sangat penting untuk menentukan keakuratan hasil suatu produk. *Crude* lipase yang diproduksi dari *Mucor miehei* melalui fermentasi padat menggunakan campuran media air dan minyak, membentuk dua lapisan yang tidak saling larut. Maka diperlukan suatu bahan yang dapat menstabilkan emulsi kedua lapisan air minyak sehingga dapat dianalisa. Pada penelitian ini, digunakan Tween 80 dan Tween 20 sebagai surfaktan yang bekerja pada daerah antarmuka air - minyak pada *crude* lipase agar menjadi stabil sehingga lebih mudah dianalisa dengan kecepatan pengadukan saat inkubasi 100 rpm dan 200 rpm. Digunakan Tween 80 dan Tween 20 untuk analisa dengan penambahan 0,5% , 0,75%, 1%, 1,25%, 1,5%, 1,75% (wt/wt). Hasil penelitian menunjukkan penambahan 1% Tween 80, memberikan aktifitas lipase terbaiknya 5U/ml, karena kestabilannya pada fase air – minyak. Aktifitas lipase dengan penambahan Tween 80 lebih besar dibandingkan dengan Tween 20 , dengan kecepatan pengadukan 200 rpm pada analisa menggunakan menggunakan metode titrimetri dengan NaOH untuk mengetahui μmol asam lemak bebasnya per menit.

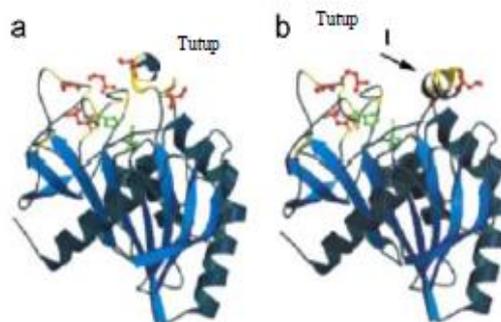
Kata kata kunci : surfaktan, Tween 80, Tween 20, aktifitas lipase.

1. Pendahuluan

Lipase(triacylglycerolacylhydrolase, EC3.1.1.3) dengan berat molekul antara 19-60 kDa,banyak ditemukan pada binatang, tanaman, fungi dan bakteri cukup signifikan secara fisiologis dan berpotensi di industri . Penggunaan lipase komersial hasil produksi ekstraselulernya dapat digunakan diantaranya, pada sintesa kimia organik, formulasi deterjen, biosurfaktan, industri oleokimia, industri susu,agrokimia, industri kertas, makanan, kosmetik, dan farmasi serta lingkungan (Sharma dkk., 2001, Aravindandkk.,2007; Balaji dkk., 2008; Gupta dkk., 2013; Bayramamoglu dkk., 2015).

Susunan struktur lipase secara berurutan G - X1 - S - X2 - G dimana G - glisin, S-serin, X1-histidin dan X2 asam glutamat atau aspartat (Aravindan dkk. ,2007). Sedang Gupta dkk (2013) memberikan susunan berurutan dari lipase yang terdiri dari His-X-Y- Gli - Z- ser- W - Gli atau Y - Gli - His - ser - W-Gli (dimana X,Y,Z dan W menunjukkan asam amino). Enzim mempunyai struktur tiga dimensi berlipat dari protein dan interaksi akan terjadi di antara asam amino. Perubahan konfigurasi terjadi karena adanya kontak dengan antar muka menyebabkan yang hidrofobik tertarik ke luar sedang hidrofilik masuk ke dalam (bentuk terbuka). Seperti yang ditunjukkan pada Gambar1, rantai-rantai sisi karboksilat Asp-96, Asp-201,Asp- 254, Glu-87, Glu 210 (merah) berada pada batas luar dari daerah luar hidrofobik. 3 jenis katalitik yang ada

(hijau) menjadi akses setelah terbukanya tutup (Gupta dkk, 2013).



Gambar.1. Struktur tiga dimensi lipase (a) bentuk tertutup,(b) bentuk terbuka (Gupta dkk., 2013)

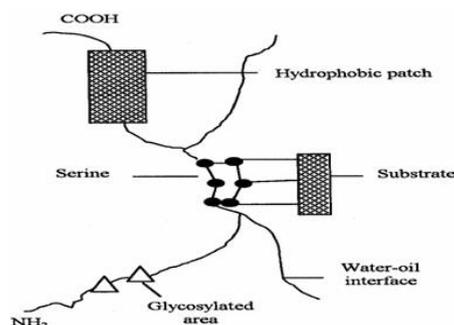
Sifat- sifat fisik lipase sebagian besar tergantung pada beberapa faktor seperti posisi asam lemak pada rangkaian gliserolnya, panjangnya rantai asam lemak dan derajat ketidakteraturannya. Kemampuan lipase sebagai biokatalis mampu menghidrolisis trigliserida (minyak) menjadi gliserol dan asam lemak bebas. Lipase bekerja pada daerah antar muka fase air dan minyak (organik). Lipase mensintesa ester dari gliserol dan asam lemak berantai panjang seperti trioleat dan tripalmitat pada aktivitas air yang rendah (Aravindan dkk ,2007).

Aktivitas lipase secara umum tergantung pada besarnya luas permukaan dan kondisi yang moderat. Beberapa penelitian menyebutkan keterkaitannya terhadap aktivitas hidrolitik, aktivasi antar muka dan stereo selektivitasnya. Sebagian besar lipase komersial yang diperoleh dari *Aspergillus* mempunyai selektivitas tinggi untuk rantai pendek asam-asam dan alkoholnya; lipase dari *C. rugosa* untuk asam propionat, asam butirat, butanol, pentanol dan heksanol ; *M. miehei* dan *R. arrhizus* untuk asam-asam berantai panjang dan acetat. Lipase mempunyai kemampuan mengkatalisis substrat untuk menghasilkan perisa-perisa ester (Arivindandkk., 2007)

Pusat aktif enzim merupakan bagian kecil dari luas permukaannya yang tersusun dari *binding site* dan *catalytic site*. Pengikatan substrat terjadi pada *binding site* dan *catalytic site* merupakan tempat terjadinya reaksi katalitiknya. Ikatan yang terjadi dengan substrat dengan gaya elektrostatik yang lemah dan mudah terjadinya ikatan untuk bereaksi (Gupta,2013)

Aktifasi antar muka meningkat secara nyata dari aktivitas katalitiknya yang tergantung pada kondisi substratnya. Terjadinya reaksi lipase pada antar muka antara substrat dan fase cair disebabkan adanya reaksi enzim yang *reversible*. Enzim bekerja pada substrat, menghasilkan reaksi hidrolisis trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Interaksi yang kuat dengan substrat yang hidrofobik pada antar muka disebabkan adanya bagian hidrofobik pada permukaan lipase yang lain. Gambar.2. menunjukkan interaksi molekul lipase dengan substrat (Aravindandkk.,2007).

Lipase merupakan enzim yang aktif pada antar muka minyak air pada sistem dua fase. Pada mekanisme ini ditunjukkan adanya grup asil (RCOO^-) pada rantai sisi positif (NH_3^+) dan ion hidrogen (H^+) pada rantai sisi negatif (COO^-). Hal inilah yang menyebabkan terbentuknya asam lemak bebas (RCOOH) pada sistem pelarut dua fase (Sharma, 2013)

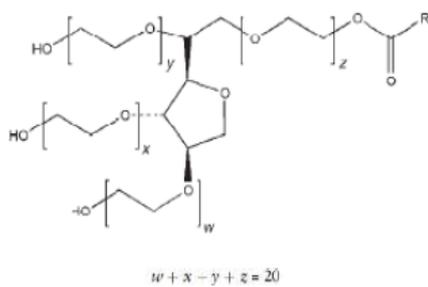


Gambar.2. Diagram interaksi molekul lipase-substrat trigliserida (Aravindandkk.,2007).

Maka untuk mengaktifkan antar muka air minyak pada produk *crude* lipase, diperlukan surfaktan yang mempunyai kemampuan bekerja pada daerah tersebut. Wang (2012), telah melakukan karakterisasi lipase yang dihasilkan dari *Acinetobacter calcoaceticus* untuk deterjen dengan penambahan berbagai surfaktan. Digunakan surfaktan Triton X-100, Tween 20, Tween 80, Sodium cholate, Sodium taurocholate. Hasilnya menunjukkan adanya pengaruh penambahan surfaktan mempengaruhi kinerja lipase yang ditambahkan pada pembuatan deterjen.

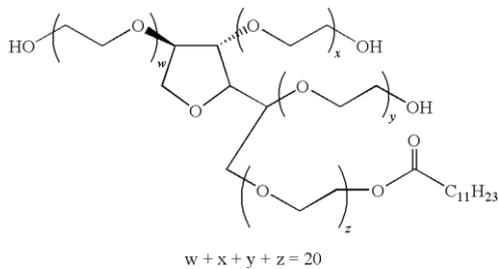
Penelitian ini mengadopsi kinerja lipase di atas untuk memodifikasi analisa aktifitas agar lebih stabil kelarutan antara air-minyak pada media lipase. Emulsi yang terjadi pada air – minyak akan menjadi stabil dengan penambahan surfaktan yang mempunyai molekul gugus polar suka air (hidrofilik) dan gugus non polar suka minyak (lipofilik). Sehingga campuran yang terdiri dari minyak dan air dapat disatukan. Surfaktan adalah bahan aktif permukaan, yang bekerja menurunkan tegangan permukaan cairan, sifat aktif ini diperoleh dari sifat ganda molekulnya. Bagian polar molekulnya dapat bermuatan positif, negatif ataupun netral, bagian polar mempunyai gugus hidroksil semetara bagian non polar biasanya merupakan rantai alkil yang panjang.

Tween 80 adalah ester asam lemak polioksietilen sorbitan, dengan nama kimia polioksietilen 20 sorbitan monooleat. Rumus molekulnya adalah $\text{C}_{64}\text{H}_{124}\text{O}_{26}$ dan rumus strukturnya ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur Kimia Tween 80

Polioksietilen 20 sorbitan monolaurat dikenal sebagai Tween 20, mempunyai rumus molekul $C_{58}H_{114}O_{26}$ juga digunakan sebagai surfaktan nonionik seperti Tween 80 surfaktan yang bagian alkilnya tidak bermuatan. Gambar 4. Menunjukkan struktur Kimia Tween 20



Gambar 4. Struktur Kimia Tween 20

2. Metode

Produksi crude lipase

Biakan *Mucor miehei* dalam tabung reaksi diencerkan dengan aquadest sejumlah 10 ml, selanjutnya dimasukkan dalam erlenmeyer yang berisi media padat ampas kelapa steril. Media ini terdiri dari pepton 5%, KH_2PO_4 1%, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,001%, minyak zaitun 10%, minyak kelapa sawit 10%, ampas kelapa kering 20% dan sisanya aquadest. Dilakukan inkubasi selama 5 hari pada suhu 37°C (Moentamaria, 2015). *Supernatant* yang diperoleh merupakan *crude* lipase yang akan dianalisa.

Analisa aktifitas lipase

Crude lipase dianalisa dengan metode titrimetri. Aktifitas crudelipase ditentukan dengan menggunakan minyak zaitun sebagai substrat. 25 ml minyak zaitun dan 75 ml dari 7% larutan gum arabic diemulsikan selama 2 menit. Selanjutnya, 5 ml minyak zaitun yang teremulsi dicampurkan dengan 2 ml 0,1 M buffer fospat (pH 7) dan 1 ml suspensi enzim. Campuran diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit dengan *orbital shaker*. Setelah diinkubasi, reaksi dihentikan dengan

penambahan 15 ml aseton-etanol (1:1 v/v) dan asam lemak bebasnya dititrasi dengan 0.05 M NaOH. Satu unit aktifitas lipase didefinisikan sebagai sejumlah enzim yang mampu membebaskan 1µmol asam-asam lemak per menit (Lopes dkk., 2011, Ferraz dkk.,2015).Aktifitas lipase dapat dihitung dengan rumus (1).

$$\text{Aktifitas lipase(U/ml)} = \frac{\{(A-B) \times NaOH \times 1.000\}}{60} \tag{1}$$

dimana,

A = Jumlah NaOH yang dibutuhkan untuk menitrasi sampel (ml).

B = Jumlah NaOH yang dibutuhkan untuk menitrasi blankol (ml).

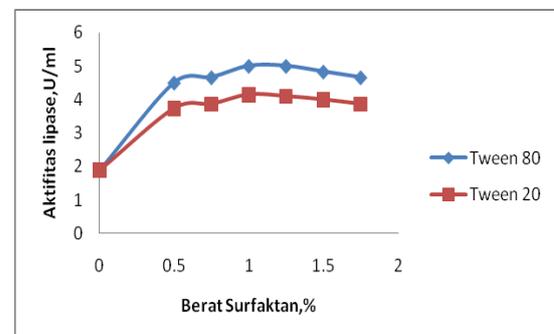
Sebelum dilakukan analisa, sampel uji ditambahkan masing-masing surfaktan Tween 80, dan Tween 20 pada berbagai komposisi 0,5% , 0,75%, 1%, 1,25%, ,5%, 1,5%, 1,75% (wt/wt), dengan kecepatan *orbital shaker* 100 rpm dan 200 rpm.

3.Hasil dan pembahasan

Analisa menggunakan titrimetri memerlukan ketelitian untuk menentukan titik akhirnya. Adanya antarmuka air – minyak pada *crude* lipase menyebabkan kesulitan mendapatkan kestabilan perubahan warna titik akhir. Maka dengan penambahan surfaktan Tween 80 dan 20, maka antarmuka air - minyak menjadi lebih stabil kelarutannya sehingga memudahkan dalam pengukuran aktifitas. Begitu juga kecepatan pengadukan yang direpresentasikan pada kecepatan putaran *orbital shaker* pada saat inkubasi sampel, mempengaruhi antarmuka air - minyak, terhadap kestabilan emulsinya.

Pengaruh penambahan surfaktan

Penggunaan surfaktan pada berbagai % berat Tween 80 dan Tween 20 dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hubungan penambahan Surfaktan Tween 80 dan Tween 20 (% berat) pada hasil analisa Aktifitas lipase (U/ml)

Molekul surfaktan yang mempunyai gugus hidrofilik dan gugus lipofilik mampu mempersatukan campuran minyak dan air menjadi larutan yang stabil. Hal ini terlihat pada Gambar 5, pada saat tidak ada penambahan surfaktan (0%), aktifitasnya untuk Tween 80 dan Tween 20 masing-masing 1,89 U/ml dan 1,78 U/ml. Namun dengan penambahan surfaktan 0,5% hingga 1%, aktifitas lipase meningkat. Hal ini disebabkan karena surfaktan merupakan bahan aktif permukaan, yang bekerja karena adanya sifat ganda dari molekulnya. Molekul surfaktan memiliki bagian polar yang suka akan air (hidrofilik) dan bagian non polar yang suka akan minyak/lemak (lipofilik). Molekul surfaktan yang bersifat polar dapat bermuatan positif, negatif atau netral. Adanya sifat rangkap ini, menyebabkan surfaktan dapat diadsorpsi pada antar muka berbagai lapisan udara-air, minyak-air dan zat padat-air, membentuk lapisan tunggal. Gugus hidrofilik akan kontak pada fase air dan rantai hidrokarbon ke udara, dalam kontak dengan zat padat ataupun terendam dalam fase minyak.

Gugus hidrofilik pada surfaktan bersifat polar, mudah bersenyawa dengan air. Gugus lipofilik bersifat non polar, mudah bersenyawa dengan minyak. Di dalam molekul surfaktan, salah satu gugus harus lebih dominan jumlahnya. Bila gugus polarnya yang lebih dominan, maka molekul-molekul surfaktan tersebut akan diadsorpsi lebih kuat oleh air dibandingkan dengan minyak. Akibatnya tegangan permukaan air menjadi lebih rendah sehingga mudah menyebar dan menjadi fase kontinyu. Sebaliknya, jika gugus non polarnya lebih dominan, maka molekul-molekul surfaktan tersebut akan diadsorpsi lebih kuat oleh minyak dibandingkan dengan air. Akibatnya tegangan permukaan minyak menjadi lebih rendah sehingga mudah menyebar dan menjadi fase kontinyu.

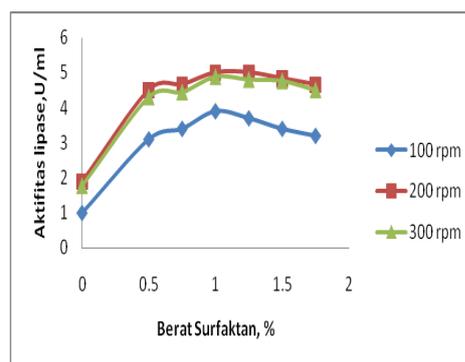
Penambahan Tween 80 dan Tween 20 akan menyebabkan turunnya tegangan permukaan dan naiknya laju kelarutan. Setelah mencapai konsentrasi 1%, tegangan permukaan relatif konstan walaupun konsentrasi surfaktan ditingkatkan. Penambahan Tween 80 dan Tween 20 di atas 1% - 1,25% surfaktan mengagregasi membentuk misel. Konsentrasi terbentuknya misel ini disebut *Critical Micelle Concentration* (CMC). Tegangan permukaan akan menurun hingga CMC tercapai. Tercapainya CMC menyebabkan tegangan permukaan konstan sehingga antar muka menjadi jenuh dan terbentuk misel yang berada dalam keseimbangan.

Wang (2012) pada pembuatan formulasi deterjen, menunjukkan % relatif aktivitas lipase dengan Tween 80 adalah 61,2%, sedang Tween 20 adalah 51,7%. Hal ini juga ditunjukkan pola yang

sama pada penelitian ini, penambahan Tween 80 memberikan hasil analisa aktifitas lipase yang lebih tinggi dibandingkan Tween 20.

Pengaruh kecepatan pengadukan pada antarmuka minyak-air

Kecepatan *orbital shaker* pada saat inkubasi untuk mereaksikan substrat minyak zaitun, minyak kelapa sawit yang terkandung dalam media *crude* lipase dapat dilihat pengaruhnya pada Gambar 6.



Gambar 6. Hubungan penambahan Surfaktan Tween 80 (% berat) pada berbagai kecepatan pengadukan saat inkubasi *crude* lipase pada pengadukan 100 rpm, 200 rpm, 300 rpm terhadap hasil analisa Aktifitas lipase (U/ml).

Gambar 6 menunjukkan pengaruh kenaikan aktifitas lipase pada kecepatan pengadukan yang berbeda. Hal ini menunjukkan naiknya kecepatan reaksi substrat minyak zaitun, minyak kelapa sawit terhadap *crude* lipase yang dianalisa. Fenomena tersebut sebagian besar disebabkan karena makin mengecilnya luasan antar muka karena makin stabilnya emulsi yang ada, seperti yang ditunjukkan Zuhair (2008) dalam penelitiannya. Zuhair(2008) mengkaitkan pengaruh molekul- molekul lipase yang berada pada antarmuka minyak-air untuk diketahui kinetiknya.

Ucapan terima kasih

Terima kasih kepada KeMenRistek yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Fundamental tahun 2016.

Daftar Pustaka

Aravindan, R, Anbumathi and Viruthagiri.(2007)," Lipase applications in food industry", Indian Journal of Biotechnology, Vol 6, April 2007,hal 141-158.

Balaji, V. and Ebenezer, P. (2008), "Optimization of extracellular lipase production in *Colletotrichum gloeosporioides* by solid state fermentation", *Indian Journal of Science and Technology*, Vol. 1 No. 7, hal. 1–8.

Bayramoglu, G., Akbulut, A., Ozalp, V., Arica, M., "Immobilized lipase on micro-porous biosilica for enzymatic transesterification of alga oil," *chemical Engineering Research and design*, vol 95, hal 12-21

Moentamaria, D, Udjiana, Zakijah Irfan (2015), "Teknologi Amobilisasi lipase dari *Mucor miehei* dengan penyangga Polyurethane foam pada sintesa perisa ester berbasis minyak," *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia*, ISBN 978-602-70-8

Sharma, R., Chisti, Y. and Banerjee, U.C. (2001), "Production, purification, characterization, and applications of lipases", *Biotechnology advances*, Vol. 19 No. 8, hal. 627–662.

Sharma, A., Chaurasia, S.P. and Dalai, A.K. (2013), "Enzymatic hydrolysis of cod liver oil for the fatty acids production", *Catalysis Today*, Vol. 207, hal. 93–100.

Ferraz, L.I.R., Possebom, G., Valandro Alvez, E., Luiz Cansian, R., Paroul, N., de Oliveira, D. and Treichel, H. (2015), "Application of home-made lipase in the production of geranyl propionate by esterification of geraniol and propionic acid in solvent-free system", *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, Vol. 4 No. 1, hal. 44–48.

Gupta, S, Bhattacharya, A, Murty, C.N (2013), "Tune to immobilize lipases on polymer membranes: Techniques, factors and prospects", *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol 2, hal 171-190

Wang, H., Zong, S., Ma, H., Zhang, J. and Qi, W. (2012), "Screening and Characterization A Novel Alkaline Lipase From *Acinetobacter Calcoaceticus* 1-7 Isolated From Bohai Bay in China for detergent Formulation," *Brazilian Journal of Microbiology* :148-156, ISSN 1517-8382

Zuhair, S, Ramachandran, K.B, Hasan, M, (2008), "Effect of enzyme molecules covering of oil-water interfacial area on kinetic of oil hydrolysis," *Chemical Engineering Journal* 139, 540- 5488.

Lopes, B., Fraga, L. (2011), "Lipase and esterase to what extent can this classification be applied accurately," *Cien Tecnol Aliment*, Vol 31 no 3