

STABILITAS ENZIM LIPASE DALAM SINTESIS PRODUK TURUNAN MINYAK NABATI MONOASILGLISEROL

STABILITY OF LIPASE ENZYME IN THE SYNTHESIS OF MONOACYLGLYCEROL A DERIVATIVE VEGETABLE OIL PRODUCT

Prima Luna

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pascapanen Pertanian
Jalan Tentara Pelajar No.12 Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu, Bogor 16614
Pos-el: pemudikahfi@yahoo.co.id

ABSTRACT

Nowadays, the biotechnologically production of products using enzymes has received great consideration because the trend towards ecologically acceptable processes or environmentally safer. The employment of lipase as a biocatalyst in the synthesis of monoacylglycerol (MAG) allows mild reaction conditions and easy recovery of glycerol without purification or chemical waste production. Biocatalyst in this study was commercially immobilized lipase from *Candida antarctica*. Aim of this study was to investigate the stability of commercially lipase immobilized enzyme in the synthesis of MAG, to understand the correlation between parameters, and to estimate the half-life of enzyme activity. Immobilized lipase enzyme was employed in the synthesis of MAG, respectively. The re-use of this enzyme has given importance information for oil and fat's biotechnological industries. Based on the research results, the composition of MAG for 10 times reaction, respectively, decreased 7%, while the MAG's yield and the number of products decreased 16%. The correlation between the composition of the MAG and the yield were strong and in the same direction with $r = 0,812$. The half-life of immobilized lipase enzyme activity in this study was estimated 30 times in the MAG synthesis's cycle due to the composition of MAGs.

Keywords: Enzyme stability, Re-use immobilized enzyme, Monoasilgliserol, Yield, Half-life Enzyme

ABSTRAK

Produksi produk bioteknologi menggunakan enzim saat ini menjadi alternatif pilihan utama karena tren penerimaan proses secara ekologi atau ramah lingkungan. Penggunaan lipase sebagai biokatalis pada sintesis produk bioteknologi monoasilgliserol (MAG) menghasilkan reaksi kondisi yang lebih aman dan memudahkan recovery katalis dan gliserol tanpa purifikasi atau produksi limbah kimia. Biokatalis yang digunakan pada penelitian ini adalah lipase imobil komersial yang berasal dari *Candida antartica*. Penelitian ini bertujuan untuk menguji stabilitas enzim lipase imobil komersial dalam sintesis MAG, mengetahui korelasi antarparameter, dan menduga waktu paruh aktivitas enzim. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah penggunaan lipase imobil komersial secara berulang (re-use) dalam sintesis MAG. Informasi kestabilan enzim lipase tersebut selama proses sintesis akan memberikan informasi penting bagi industri yang menghasilkan produk bioteknologi berbasis minyak dan lemak. Berdasarkan komposisi MAG yang dihasilkan selama 10 kali reaksi terjadi penurunan 7% dari komposisi MAG awal, sedangkan rendemen dan jumlah produk MAG mengalami penurunan 16% dari rendemen dan jumlah MAG awal. Korelasi antara komposisi MAG dan rendemen kuat dan searah dengan nilai $r=0,812$. Waktu paruh aktivitas enzim lipase komersial pada penelitian ini diduga sekitar 30 kali siklus berdasarkan komposisi MAG yang dihasilkan.

Kata kunci: Stabilitas enzim, Re-use Imobil lipase, Monoasilgliserol, Rendemen, Waktu Paruh Enzim

PENDAHULUAN

Monoasilgliserol (MAG) merupakan emulsifier yang paling banyak digunakan dalam pangan,^{1,2} farmasi, dan industri kosmetik. Selain itu, MAG juga bermanfaat untuk kesehatan. MAG yang mengandung n-3-PUFA seperti EPA dan DHA positif mencegah kerusakan *cardiovascular*; MAG dari asam laurat yang berfungsi sebagai bahan pengawet pangan dan sanitizer memiliki kemampuan menghancurkan virus herpes dan HIV-1 serta menurunkan risiko penularan virus ini pada bayi dari ibu hamil yang terinfeksi HIV-1 dan efektif menghambat sel vegetatif *Bacillus cereus*; monopentadecanogliserol yang berfungsi sebagai bahan tambahan perawatan rambut.^{3,4}

Produksi produk bioteknologi menggunakan enzim lipase menjadi pilihan utama seiring dengan pesatnya kemajuan pembangunan.^{5,6,7} Hal ini disebabkan oleh proses menuju tren penerimaan secara ekologi atau ramah lingkungan. Penggunaan lipase sebagai biokatalis pada proses konversi (transesterifikasi minyak nabati) menghasilkan reaksi kondisi yang lebih aman dan memudahkan *recovery* katalis dan gliserol tanpa purifikasi atau produksi limbah kimia.⁸ Selain itu, proses enzimatik toleran terhadap kadar air minyak dan meningkatkan rendemen produk bioteknologi yang dihasilkan dengan menghindari terjadinya penyabunan.

Lipase (*triasilgliserol ester hidrolase*, EC. 3.1.1.3) merupakan kelompok enzim yang secara umum berfungsi dalam hidrolisis lemak, mono-, di-, dan triasilgliserol untuk menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol.^{9,10} Enzim lipase banyak digunakan untuk aplikasi bioteknologi di industri susu, minyak, surfaktan, dan farmasi. Salah satu permasalahan dalam industri yang memanfaatkan enzim lipase adalah harga enzim yang mahal. Oleh karena itu, kestabilan dan penggunaan kembali biokatalis dalam proses menjadi aspek penting dalam proses. Saat ini metode imobilisasi enzim telah menjadi solusi untuk memperbaiki stabilitas enzim lipase.¹¹ Imobilisasi menyebabkan enzim lebih tahan terhadap denaturasi,¹² sehingga enzim dapat digunakan secara berulang dan secara ekonomi lebih menguntungkan. Bagi industri yang memanfaatkan enzim lipase, stabilitas enzim dalam reaksi merupakan parameter penting.

Novozyme[®] 435 adalah komersial imobil lipase yang berasal dari *Candida antarctica*.¹³ Pada penelitian ini enzim komersial lipase imobil digunakan dalam sintesis MAG secara esterifikasi, tetapi sejauh mana kestabilan enzim tersebut belum diketahui. Hal ini disebabkan oleh imobilisasi akan mengubah aktivitasnya, pH, afinitas substrat, dan stabilitas.¹⁴ Penelitian ini bertujuan untuk menguji kestabilan enzim lipase imobil dalam sintesis MAG. Parameter yang diamati adalah komposisi MAG, rendemen, jumlah MAG yang dihasilkan, korelasi antarparameter, dan pendugaan waktu paruh aktivitas enzim dalam operasional sintesis MAG menggunakan reaktor *packed bed*.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan mulai bulan Juni 2010 sampai dengan Januari 2011 bertempat di Laboratorium Kimia SEAFast Center IPB dan Laboratorium Kimia Pangan Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan (ITP), IPB.

Bahan baku untuk uji stabilitas enzim dalam sintesis MAG adalah asam lemak laurat teknis komersial, gliserol, standar monolaurin dari Sigma, heksan teknis, tert-butanol p.a (Sigma), dan komersial imobil enzim Novozyme[®] 435. Berdasarkan info dari Novo Nordisk Bioindustrial A/S, Novozyme[®] 435 mempunyai aktivitas inesterifikasi 7.000 PLU/g (*Propyl Laurate Units/gram*) dan mengandung kadar air 1-2%. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah rangkaian reaktor *packed bed* yang dilengkapi dengan tangki stok, pompa peristaltik (BT 100-1 F), *waterbath* (Stephen Haake, Germany) serta wadah penampung produk, serangkaian peralatan GC (*Gas Chromatography*) (Shimadzu) dengan detektor FID (*Flame Ionization Detector*), neraca analitik, Aw-meter (Shibaura WA-360), pH meter, kertas saring, dan peralatan gelas.

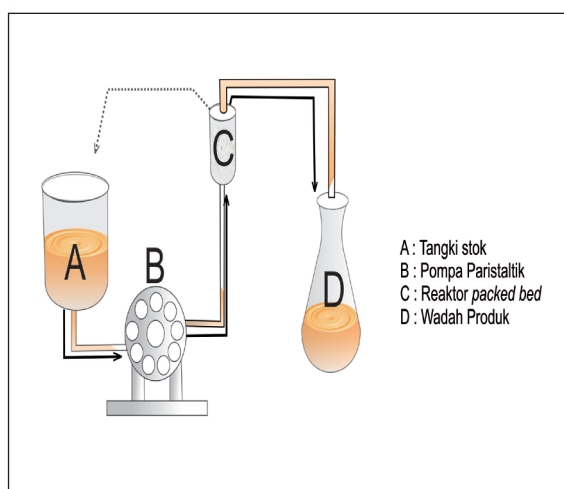
Sintesis MAG dengan Esterifikasi Enzimatis

Sintesis MAG dilakukan dengan esterifikasi dengan mereaksikan asam lemak laurat dan gliserol dengan rasio 1:5 (mol/mol substrat), ditambah campuran pelarut organik volume pelarut 50 ml, rasio substrat/ pelarut (1:8.8), kemudian diagitasi

menggunakan *orbital shaker* dengan kecepatan 200 rpm untuk menghomogenkan substrat dan pelarut. Kemudian reaktan dimasukkan ke dalam tangki stok dan reaksi dibiarkan berjalan secara sirkulasi dengan tenaga dari pompa peristaltik hingga waktu tertentu dalam reaktor *packed bed* yang terbuat dari bahan gelas dengan volume kerja 15 mililiter. Enzim lipase Novozyme® 435 sebanyak 4,6 gram dimasukkan ke dalam reaktor *packed bed*. Setelah tercapai waktu reaksi, produk dari enzim dipisahkan dengan cara disaring dan filtrat dievaporasi menggunakan *rotary vapor* untuk memisahkan dari pelarut. Setelah itu di fraksinasi 16–18 jam pada suhu 7°C.¹⁵ Pemisahan endapan yang merupakan produk hasil fraksinasi kemudian dilakukan dengan cara penyaringan. Skema sintesis MAG disajikan pada Gambar 1.

Uji Stabilitas Enzim Lipase dalam Sintesis MAG

Enzim dilakukan karakterisasi terlebih dahulu dengan dilakukan pengukuran pH dan A_w (*water activity*) enzim.¹⁶ Uji stabilitas enzim pada penelitian ini merupakan modifikasi dari penelitian Pahujani *et al.*¹⁷ Enzim dipisahkan dari substrat reaksi, setelah itu dilakukan pencucian dengan pelarut heksan ± 50 ml untuk menghilangkan sisa reaktan atau produk, dikeringkan dan disimpan dalam *refrigerator* pada kondisi tertutup rapat. Enzim kemudian digunakan kembali dalam reaksi dengan prosedur yang sama secara berulang. Reaksi dilakukan duplo dengan masing-



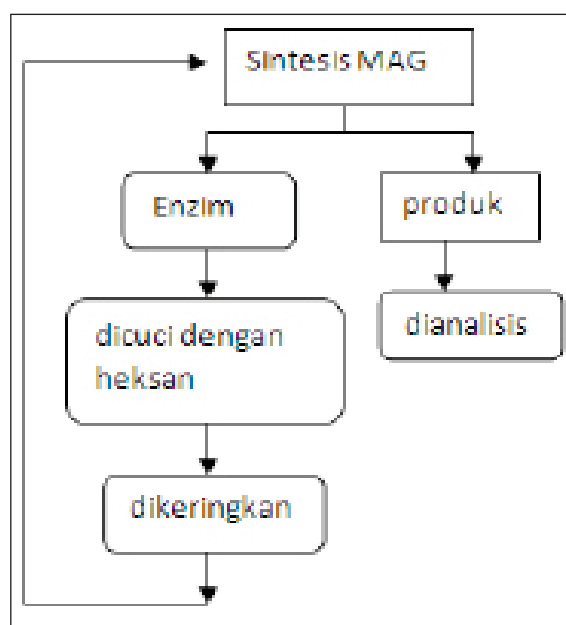
Gambar 1. Skema Alur Reaksi Esterifikasi Enzimatis Kontinu dalam Reaktor *Packed Bed*

masing pengulangan dilakukan 10 kali dengan parameter yang diamati adalah komposisi MAG, rendemen dan jumlah MAG. Diagram alir uji stabilitas enzim disajikan pada Gambar 2. Pengamatan dilakukan terhadap rendemen MAG dan komposisi MAG yang dihasilkan pada 10 kali ulangan reaksi esterifikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakterisasi Enzim

Enzim lipase imobil komersial yang digunakan pada penelitian ini terlebih dahulu dianalisis pH dan A_w . Perubahan karakter enzim setelah imobilisasi tergantung pada sumber enzim, bahan pendukung dan metode imobilisasi.¹² Hasil pengukuran pH dan A_w berturut-turut adalah $4,375 \pm 0,021$ dan $0,62 \pm 0,004$ pada suhu 29,5°C. A_w atau aktivitas air menjadi parameter penting dalam menjaga kestabilan enzim. Stabilitas enzim dapat diartikan sebagai kestabilan aktivitas enzim selama penyimpanan dan penggunaan enzim tersebut. Menurut Pirozzi dan Greco,¹⁸ kecepatan reaksi merupakan fungsi dari A_w . Semakin tinggi A_w maka air bebas semakin besar. Air adalah nukleofil kompetitif untuk enzim asil intermediet. Penghilangan air berpengaruh terhadap reaksi



Gambar 2. Diagram alir uji stabilitas enzim lipase dalam sintesis MAG

sintesis, namun sejumlah kecil air tetap diperlukan untuk aktivasi enzim.

Peningkatan stabilitas dapat ditempuh melalui: (a) imobilisasi enzim; (b) modifikasi kimia; dan (c) rekayasa protein.¹⁹ *Carrier* yang digunakan untuk imobilisasi enzim pada penelitian ini adalah suatu resin acrylic makroporous. Imobil lipase komersial memiliki bentuk granula dengan ukuran partikel 0,3-0,9 mm dan mempunyai *bulk density* mendekati 430 kg/m³. Imobilisasi dilakukan dengan cara adsorpsi enzim ke dalam partikel *macroporous* dengan interaksi ionik, *van der Waals* atau hidrofobik, karena protein tidak dapat larut dalam reaksi campuran. Adsorpsi dilakukan pada kondisi ringan tanpa kehilangan aktivitas yang berarti dan proses relatif mudah dan murah. Partikel *macroporous* harus memiliki area yang cukup pada permukaan dalam untuk mengadsorpsi sejumlah lipase dan area permukaan bahan sekitar 10–100 m²/g yang normal digunakan.

Enzim pada penelitian ini biasa digunakan pada katalisis minyak nabati atau minyak makan. Rendemen produk yang dihasilkan lebih dari 90% dan memiliki karakteristik yang baik pada pelarut tert-butanol.¹² Pelarut menjadi penting pula untuk mendukung kestabilan enzim, polaritas pelarut akan memengaruhi aktivitas enzim. Lipase akan mengatalis reaksi pada interfase, dan untuk menghasilkan kecepatan reaksi yang tinggi, maka area interfase antara reaktan dan fase enzim yang lebih hidrofilik dibutuhkan.

Stabilitas Enzim dalam Sintesis MAG

Stabilitas enzim menunjukkan kemungkinan enzim untuk digunakan kembali tanpa penurunan aktivitas enzim yang signifikan. Stabilitas enzim lipase pada sistem kontinu dapat diketahui dengan cara melakukan analisis terhadap produk yang dihasilkan selama reaksi. Yang *et al.*²⁰ melaporkan bahwa stabilitas enzim pada operasi reaksi gliserolisis minyak bunga matahari secara kontinu aktivitas lipase (Novozyme[®] 435) dengan kondisi reaksi, gliserol/minyak 5:1 (mol/mol), suhu 40°C, *residence time* 40 menit, dan pelarut *tert butyl alcohol*/minyak 2:1 (w/w) tampak cukup stabil selama 31 hari reaksi. Asam lemak bebas tidak terdeteksi setelah 15 hari reaksi dan tidak ada penurunan aktivitas yang signifikan. Hal ini

berarti enzim stabil dalam reaksi dan kondisi reaksi dapat mempertahankan aktivitas enzim, namun penelitian Ognjanovic *et al.*²¹ menunjukkan bahwa kestabilan enzim dalam operasional reaksi tergantung pada asil akseptor yaitu pelarut yang digunakan. Pada pelarut alkohol rantai lurus (metanol) profil produk menurun drastis 50% pada siklus kedua dan hanya menghasilkan produk 5% pada siklus ketiga, sedangkan pada pelarut alkohol bercabang (2-propanol dan n-butanol) aktivitas enzim masih bertahan hingga siklus kelima dan menghasilkan 11% produk. Penelitian penggunaan imobil lipase dari *Candida antarctica* dilakukan pula pada substrat minyak nabati dan minyak makan dengan pelarut hidrofobik, tert-butanol, dan tanpa solvent serta tanpa penambahan air. Pada kondisi tersebut rendemen produk yang dihasilkan >90% dan kestabilan mencapai 500 jam.^{22,23}

Sintesis MAG pada penelitian ini merupakan hasil penelitian sebelumnya dan dilakukan secara esterifikasi enzimatis dengan substrat asam lemak laurat dan gliserol 1:5 (mol/mol). Pelarut yang digunakan adalah campuran tert butanol dan heksan. Rasio substrat dan pelarut adalah 1:8,8 (w/v). Enzim yang digunakan sebanyak 4.6 g dan *residence time* adalah 23,57 menit. Berdasarkan pada volume reaktan 50 ml dan kecepatan alir 0,7 ml/ menit, maka reaktan yang kontak dengan enzim adalah 71,43 menit. Berdasarkan hasil optimasi reaksi esterifikasi menggunakan permukaan respon tanggap menunjukkan persamaan kuadratik optimasi MAG adalah $Y = -61,700 + 6,088 X_1 + 3,259 X_2 - 0,065 X_1^2 + 0,017 X_1 X_2 - 1,792 X_2^2$ dengan suhu (X_1) dan waktu reaksi (X_2) optimum adalah 46,92°C (47±0,5 °C) dan 1,1 jam. Rendemen produk MAG hasil validasi sebesar 81,09±2,99% dengan komposisi MAG 83,15±3,51%.¹⁵ Komposisi MAG dihitung berdasarkan hasil kromatogram GC (*Gas chromatography*). Kromatogram bahan baku asam laurat, komposisi MAG, standar MAG dari asam laurat, dan komposisi MAG hasil esterifikasi secara semi kontinu dalam reaktor *packed bed* dianalisis dapat dilihat pada Gambar 3. Berdasarkan data pada Gambar 3, MAG akan muncul pada waktu retensi 10–11 menit. Puncak yang muncul pada rentang waktu retensi tersebut adalah isomer-isomer MAG dan komposisi MAG dihitung dari puncak

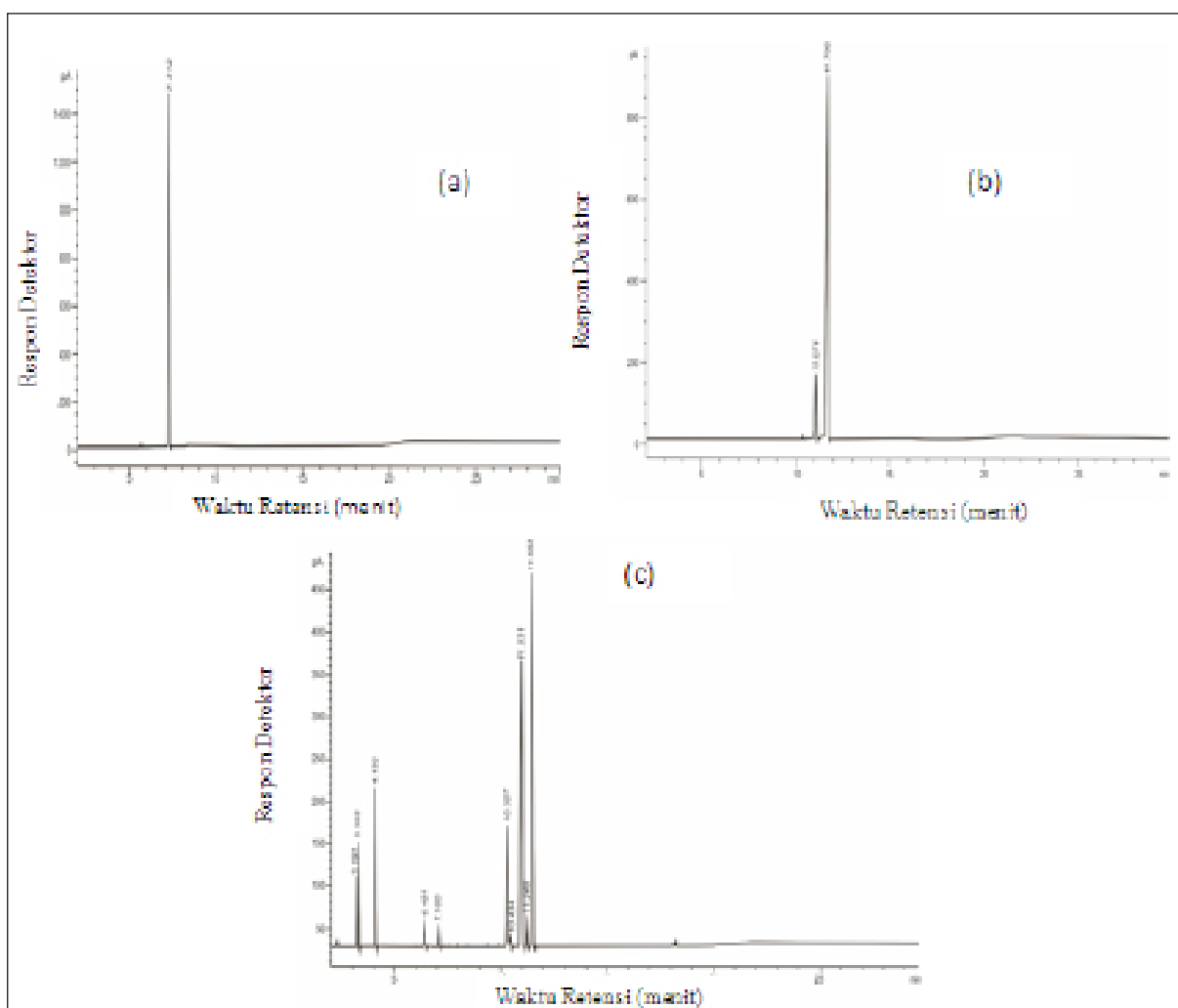
yang muncul pada waktu retensi yang sesuai standar 1-monolaurin, yaitu 11,07 menit (Luas Area 9,32%) dan 11,71 (Luas Area 90,67%).

Uji Stabilitas enzim pada penelitian ini dilakukan dengan cara menggunakan enzim dalam siklus reaksi esterifikasi pada kondisi optimum dalam reaktor *packed bed*. Setiap akan memulai reaksi pada siklus yang baru, enzim dicuci dengan heksan untuk menghilangkan inhibitor yang dapat menghambat kinerja enzim. Kerja enzim dapat dihambat sementara atau tetap oleh inhibitor berupa zat kimia tertentu. Zat kimia tersebut merupakan senyawa selain substrat yang biasa terikat pada sisi aktif enzim sehingga antara substrat dan inhibitor terjadi persaingan untuk mendapatkan sisi aktif.

Berdasarkan hasil penelitian ini, kestabilan parameter komposisi MAG pada uji stabilitas

enzim selama 10 kali siklus reaksi tampak pada Gambar 4. Terjadi kenaikan yang signifikan pada siklus kedua dimana komposisi MAG naik 20%. Hal ini kemungkinan enzim baru dapat bekerja optimum atau mencapai kondisi *steady state* setelah satu siklus.²⁴ Kondisi *steady state* tercapai setelah enzim bekerja secara optimum. Namun terjadi pula penurunan komposisi MAG sebesar 18% ke siklus ketiga. Kecepatan reaksi meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi substrat, kemudian menjadi jenuh pada konsentrasi substrat yang tinggi. Demikian yang terjadi pada penurunan komposisi MAG. Komposisi siklus ketiga hingga kesepuluh relatif stabil dan cenderung membentuk pola linearitas penurunan.

Komposisi MAG setelah 10 kali siklus reaksi adalah 70,48%. Komposisi MAG yang dihasilkan (y) merupakan fungsi dari siklus reaksi (x) dan



Gambar 3. Hasil Pengukuran Gas Kromatografi untuk: Asam Laurat (a); Standar MAG dari Asam Laurat (Sigma) (b); Produk MAG pada Reaksi *Packed Bed Reactor* (c)

dapat dinyatakan dengan persamaan linear, yaitu $Y = -1,769x + 86,02$ dengan nilai R^2 adalah 0,569. Nilai tersebut menunjukkan bahwa sebesar 56,9% data komposisi MAG dapat dinyatakan oleh persamaan tersebut. Analisis ANOVA menunjukkan nilai $p = 0,012$. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan bahwa persamaan tersebut signifikan dan dapat digunakan untuk menggambarkan model siklus reaksi dalam sintesis MAG.

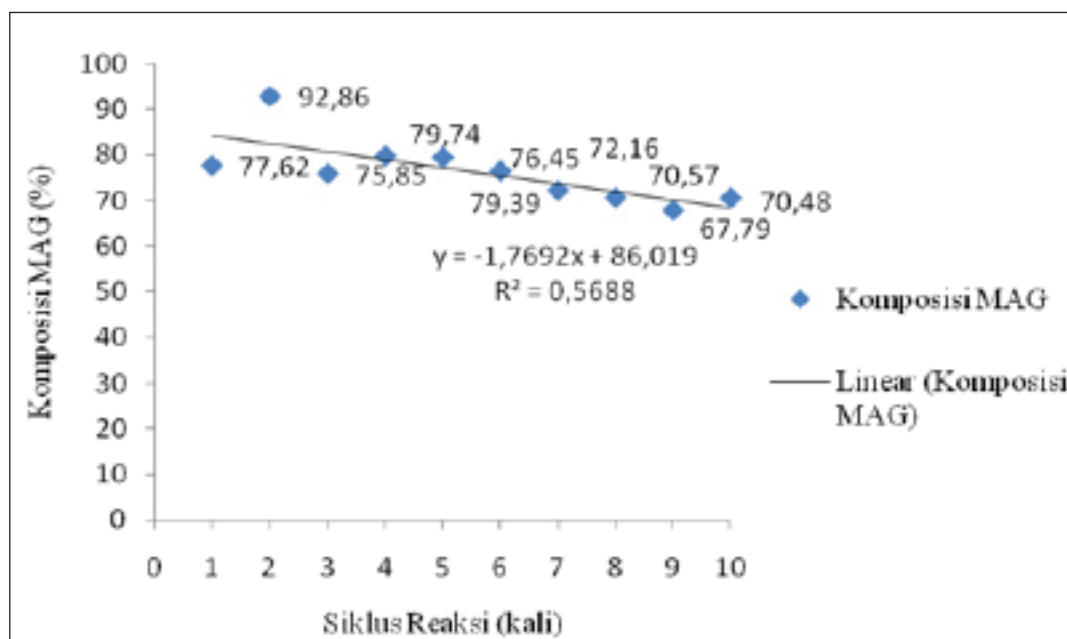
Menurut penelitian Fernandez-Lorente *et al.*,²⁵ Lipase imobil yang berikatan hidrofobik dapat digunakan dalam 10 kali reaksi esterifikasi tanpa penurunan yang signifikan sebagai biokatalis. Yang *et al.*,²⁶ melakukan penelitian penggunaan ulang enzim lipase komersial dari *C. antartica* dengan *recovery* lipase pada reaksi esterifikasi dan menggunakan kembali enzim hasil *recovery* pada percobaan selanjutnya. Tidak ada penurunan yang signifikan pada aktivitas enzim setelah beberapa reaksi *batch*. Sekitar 90% dari aktivitas enzim (selama pembentukan MAG) dipertahankan setelah 14 kali reaksi (reaktor dioperasikan dengan *space time* 30 menit dan laju aliran substrat 0,7 ml/ menit). Hasil-hasil penelitian tersebut sesuai dengan uji stabilitas lipase imobil dari *C. antartica* pada penelitian ini meskipun dengan kondisi reaksi dan pelarut yang digunakan berbeda.

Namun, karena reaksi esterifikasi berjalan *reversible*, hal ini menyebabkan perbedaan

komposisi MAG. Perbedaan komposisi MAG akibat migrasi asil. Migrasi asil terjadi karena enzim lipase komersial yang digunakan yaitu Novozyme® 435 kinerjanya bersifat *random* (tidak selektif posisi sn-1,3) sehingga memungkinkan terjadi transesterifikasi. Transesterifikasi terjadi karena asam lemak terpotong-potong kemudian bereaksi kembali dengan gliserol. Migrasi asil juga terjadi kemungkinan karena pemanasan yang terlalu tinggi pada saat rotavapor. Chabanov, *et al.*²⁷ melaporkan bahwa inesterifikasi langsung terjadi dimulai pada suhu 70–80°C. Penghilangan pelarut dari produk mencapai suhu 80°C, hal ini disebabkan pelarut yang digunakan yaitu tert-butanol memiliki titik didih yang tinggi sekitar 83°C.

Rendemen merupakan faktor pertimbangan yang sangat penting pula pada aplikasi bioproses kontinu, karena menunjukkan kemampuan enzim untuk tetap menghasilkan jumlah produk yang stabil. Rendemen dihitung berdasarkan perbandingan berat produk MAG yang diperoleh terhadap berat teoritis MAG dikalikan 100%. Kestabilan rendemen yang dihasilkan selama 10 kali siklus reaksi sintesis MAG disajikan pada Gambar 5.

Rendemen MAG setelah 10 kali siklus reaksi adalah 64,25%. Rendemen produk MAG yang dihasilkan (y) merupakan fungsi dari siklus reaksi (x) dan dapat dinyatakan dengan pola persamaan



Gambar 4. Komposisi MAG pada uji stabilitas enzim dalam sistesis MAG

linear: $Y = 83,62 - 1,630 X$ dengan nilai R^2 adalah 0,658. Hal ini berarti sebesar 65,8% data rendemen dapat digambarkan oleh persamaan tersebut. Hasil analisis ANOVA menunjukkan nilai $p = 0,004$. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan bahwa persamaan tersebut signifikan dan dapat digunakan untuk menggambarkan model siklus reaksi dalam sintesis MAG.

Jumlah MAG merupakan hasil dari rendemen dikalikan dengan berat hasil reaksi. Jumlah MAG menunjukkan kadar MAG sebenarnya yang terdapat pada hasil reaksi. Kestabilan jumlah MAG selama 10 kali siklus reaksi sintesis MAG disajikan pada Gambar 6. Berdasarkan jumlah produk MAG yang dihasilkan pada siklus ke-10 adalah 1,16 g. Jumlah MAG yang dihasilkan (Y) merupakan fungsi dari siklus reaksi (X) membentuk suatu pola dan dapat dinyatakan dengan persamaan linear:

$Y = 1,669 - 0,05648 X$ dengan nilai R^2 adalah 0,581. Nilai tersebut menunjukkan bahwa sebesar 58,1% data terwakili oleh persamaan tersebut. Hasil analisis ANOVA menunjukkan nilai $p = 0,01$. Nilai $p < 0,05$ menunjukkan bahwa persamaan tersebut signifikan dan dapat digunakan untuk menggambarkan model siklus reaksi dalam sintesis MAG.

Berdasarkan komposisi MAG, rendemen, dan jumlah MAG pada uji stabilitas enzim, enzim

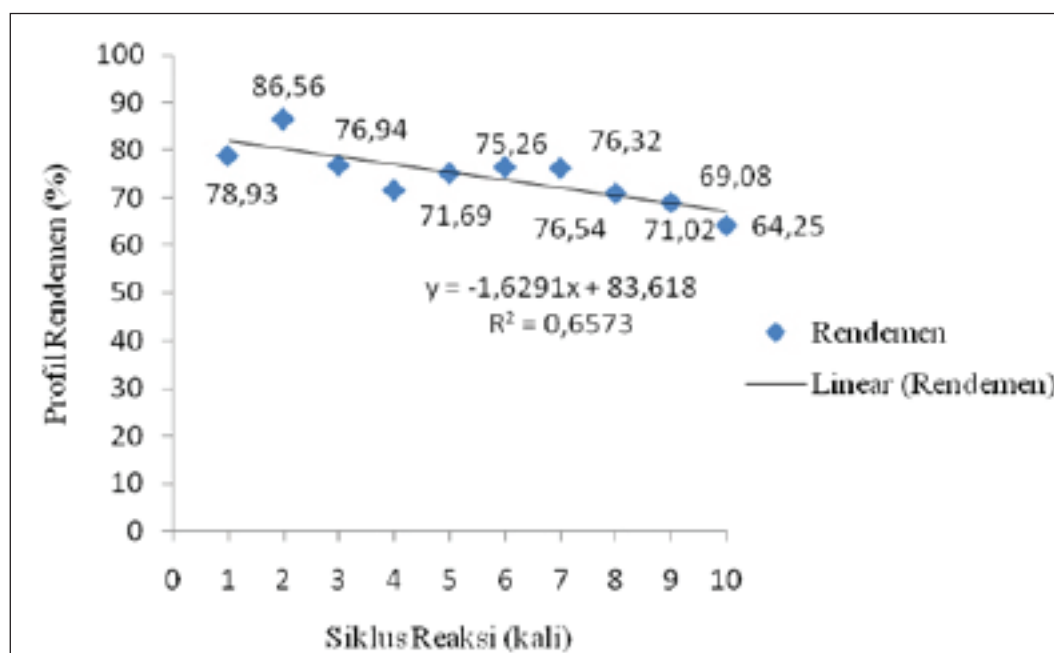
imobil Novozyme® 435 dapat dikategorikan cukup stabil terhadap pelarut organik pada konsentrasi cukup tinggi. Hal ini dibuktikan pada penelitian ini dan penelitian terdahulu tidak ada penurunan yang signifikan terhadap komposisi produk hasil sintesis, rendemen, dan jumlah produk yang dihasilkan. Hal ini berarti konformasi katalitik tidak berubah disebabkan suhu dan waktu reaksi serta pelarut kimia yang digunakan dalam reaksi. Stabilitas enzim aktual pada proses bergantung pada faktor suhu, kadar air, pelarut organik, dan konsentrasi substrat.²⁸

Korelasi Parameter Komposisi MAG dan Rendemen

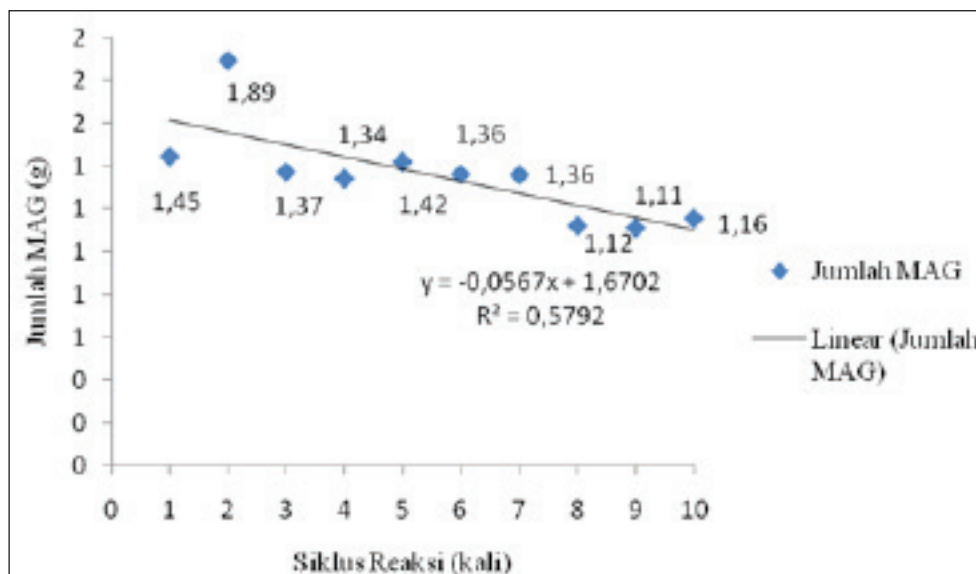
Hubungan antara komposisi MAG dan rendemen pada penelitian ini dilihat keeratannya. Berdasarkan uji korelasi pearson antara komposisi MAG dan rendemen memiliki $p\text{-value} = 0,004$ dan $r = 0,812$. Hal ini berarti hubungan tersebut signifikan dan menunjukkan adanya hubungan sangat erat dan searah antara komposisi MAG dan rendemen.

Pendugaan Waktu Paruh Aktivitas Enzim dalam Operasional Reaksi

Pada penelitian ini, persamaan komposisi MAG sebagai parameter utama digunakan untuk



Gambar 5. Rendemen pada uji stabilitas enzim dalam sistesis MAG



Gambar 6. Jumlah MAG pada uji stabilitas enzim dalam sistesis MAG

Tabel 1. Dugaan Jumlah Siklus Operasi Reaktor Berdasarkan Persentase Komposisi MAG yang Dihasilkan

Komposisi MAG ^{a)} (%)	Jumlah Siklus Operasi Reaktor
96	7
50	30
40	35
30	40
20	45
10	50

^{a)}Komposisi MAG yang dihasilkan adalah presentase dari komponen MAG pada awal reaksi dan diasumsikan setara dengan persentase aktivitas lipase yang tersisa

menentukan waktu operasi reaktor untuk uji stabilitas enzim. Dugaan waktu operasi reaktor berdasarkan persamaan komposisi MAG dapat dilihat pada Tabel 1. Pada saat komposisi MAG mencapai 50%, diasumsikan bahwa aktivitas lipase juga tinggal 50%. Hal ini didentikkan dengan waktu paruh aktivitas lipase.

Berdasarkan data pada Tabel 1 waktu paruh aktivitas lipase pada penelitian ini diduga sekitar 30 kali siklus berdasarkan komposisi MAG yang dihasilkan. Produk MAG yang dihasilkan pada penelitian ini dapat dikelompokkan sebagai *high cost low volume products*, karena perlu biaya tinggi dalam proses produksinya serta produk yang dihasilkan biasanya jumlahnya sedikit. Pada produk jenis ini, umur pakai enzim lipase menjadi pertimbangan utama dan biasanya digunakan secara terus-menerus sampai aktivitasnya tinggal 10%.²⁶

KESIMPULAN

Enzim lipase imobil komersial memiliki kestabilan yang baik dalam sintesis MAG setelah 10 kali siklus menghasilkan 70,48% MAG, rendemen 64,25%, dan jumlah MAG 1,16 g. Berdasarkan uji korelasi pearson antara komposisi MAG dan rendemen terdapat hubungan sangat erat dan searah yang ditunjukkan dengan nilai $r=0,812$. Parameter utama dalam pendugaan waktu operasi reaktor pada uji stabilitas enzim adalah persamaan linear komposisi MAG, yaitu $Y = -1,769x + 86,02$. Berdasarkan persamaan tersebut, estimasi waktu paruh aktivitas enzim pada penelitian ini adalah 30 kali siklus.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Nuri Andarwulan, M.Si. dan Dr. Tri Haryati,

M.S. atas ilmu, saran dan bimbingannya dalam penelitian serta Prof. Dr. Subyakto atas bimbingan penulisan karya tulis ilmiah.

DAFTAR PUSTAKA

- ¹Mappiratu, D. Fardiaz, dan A. Hasanuddin. 2003. Produksi dan Aplikasi Produk Monoasilgliserol dari Minyak Kelapa dalam Pengolahan Santan Awet. *J Teknol dan Industri Pangan*, 14(3): 223–240.
- ²Damstrup, M.L. *et al.*, 2005. Solvent Optimization for Efficient Enzymatic Monoacylglycerol Production Based on A Glycerolysis Reaction. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 82: 559–664.
- ³Kovacs A., M. Schlucter, and K. Easley. 1999. Cytomegalovirus Infection and HIV-1 Disease Progression in Infants Born to HIV-1 Infected Woman. *New England Journal of Medicine*, 341:77–84.
- ⁴Mansour, M. and J.B. Milliere. 2001. An Inhibitory Synergistic Effect of A Nisin-Monolaurin Combination on *Bacillus* Sp. Vegetative Cells In Milk. *Food Micro.*, 18: 87–84.
- ⁵Lu J, K. Nie, F. Wang, and T. Tan. 2008. Immobilized Lipase *Candida Sp* 99-125 Catalyzed Methanolysis of Glycerol Trioleate: Solvent Effect. *Bioresour. Technol.*, 83: 125-129.
- ⁶Ranganathan S.V, S.L. Narasimhan, and K. Muthukumar. 2008. An Overview of Enzymatic Production of Biodiesel. *Bioresour. Technol.*, 96: 3975–3.981.
- ⁷Shimada Y, Y. Watanabe, A. Sugihara, and Y. Tominaga. 2002. Enzymatic Alcoholysis for Biodiesel Using Immobilized *Candida antarctica* Lipase. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76:789–793.
- ⁸Tan T, J. Lu, K. Nie, Li Deng, and F. Wang. 2010. Biodiesel Production With Immobilized Lipase: A Review. *Biotech. Advances*, 28: 628–634.
- ⁹Falony, G., J.C. Armas, J. C. D. Mendoza, and J. L. M. Hernández. 2006. Production of Extracellular Lipase from *Aspergillus niger* by Solid-State Fermentation. *Food Technol. Biotechnol.*, 44 (2) 235–240.
- ¹⁰Putranto, R. A., D. Santoso, T. P. Suharyanto, dan A. Budiani. 2006. Karakterisasi Gen Penyandi Lipase dari Kapang *Rhizopus oryzae* dan *Absidia corymbifera*. *Menara Perkebunan.*, 74(1): 23–32.
- ¹¹Salis A, M. Pinna, M. Monduzzi, and V. Solinas. 2008. Comparison Among Immobilized Lipases on Macroporous Polypropylene Toward Biodiesel Synthesis. *J. Mol. Catal. B. Enzyme*, 54: 19–26.
- ¹²Bayramoglu G, Y. Kacar, A. Denizli, and M.Y. Arica. 2002. Covalent Immobilization of Lipase into Hydrophobic Group Incorporated Poly (2-Hydroxyethyl Methacrylate) Based Hydrophilic Membran Matrix. *J. of Food Eng.*, 52: 367–374.
- ¹³Royon D, M. Daz, G. Ellenrieder, and S. Locatelli. 2007. Enzymatic Production of Biodiesel from Cotton Seed Oil Using t-Butanol As a Solvent. *Bioresour. Technol.*, 98: 648–653.
- ¹⁴Arica M.Y, Y. Kacar, A. Ergene, and A. Denizli. 2001. Reversible Immobilization of Lipase on Phenylalanine Containing Hydrogel Membranes. *Process Biochemistry*, 36: 847–854.
- ¹⁵Luna P, N. Andarwulan, dan T. Haryati. 2011. Optimasi Pembuatan Produk Turunan Minyak Nabati Monoasilgliserol Secara Esterifikasi Enzimatis. *Jurnal Penelitian Pascapanen Pertanian*, 8(1): 24–31.
- ¹⁶Agustini T.W, Y.S Darmanto, dan E. Susanto 2009. Pshycocemical Properties of Some Dried Fish Product in Indonesia. *Journal Of Coastal Development*, 12(2):73–80.
- ¹⁷Pahujani S, S.S Kanwar, G. Chauhan, and R. Gupta. 2008. Glutaraldehyde Activation of Polymer Nylon-6 for Lipase Immobilization: Enzyme Characteristics and Stability. *Bioresour. Tech.* 99: 2.566–2.570.
- ¹⁸Pirozzi D and Greco. 2004. Activity and Stability in The Synthesis Of Butyl Lactate. *J. Enzyme and microb. Tech.* 34:94–100.
- ¹⁹Janecek S. 1993. Strategies for Obtaining Stable Enzymes. *Process Biochem.* 28: 435–445.
- ²⁰Yang T, M. Rebsdorf, U. Engelrud, X. Xu. 2005. Enzymatic Production of Monoacylglycerols Containing Polyunsaturated Fatty Acids Trough an Efficient Glycerolysis System. *J. Agric and Food Chem.* 53: 1.475–1.481.
- ²¹Ognjanovic E, D. Bezbradica, and Z.K Jugovic. 2009. Enzymatic Conversion of Sunflower Oil to Biodiesel In A Solvent-Free System: Process Optimization and The Immobilized System Stability. *Bioresour. Tech.* 100: 5.146–5.154.
- ²²Du W, Y. Xu, D. Liu, and J. Zeng. 2004. Comparative Study on Lipase-Catalyzed Transformation of Soybean Oil for Biodiesel Production with Different Acyl Acceptors. *J Mol. Catal. B Enzyme* 30: 125–129.
- ²³Wang J-X *et al.*, 2007. Lipase-Catalyzed Production of Biodiesel From High Acid Value Waste Oil Using Ultrasonic Assistant. *Chin J Biotechnol.* 23: 1.121–1.128.

- ²⁴Soekopitojo S. 2003. *Produksi MAG Kaya DHA dari Minyak Ikan Tuna secara Alkoholisasi Enzimatis dalam Reaktor Packed Bed Kontinu*. Tesis. Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- ²⁵Lorente GF *et al.*,. 2001. Modulation of Lipase Properties In Macro-Aqueous Systems by Controlled Enzyme Immobilization: Enantioselective Hydrolysis of A Chiral Ester by Immobilized *Pseudomonas* lipase. *Enzyme and Microbial Tech.* 28:389–396.
- ²⁶Yang Y, S.R. Vali, and Y Ju. 2003. A Process for Synthesizing High Purity Monoglyceride. *J. Chin. Inst. Chem. Eng.* 34(6):617–623.
- ²⁷Chabanov dan Topalova. 1998. *Modification of Fats and Oils*. Di dalam: Bockisch, M, editor. *Fats and Oils Handbook*. Illinois: AOCS Press. Champaign.
- ²⁸Suan CL. 2005. *Chiral Resolution Of (R,S)-1-Phenylethanol Using Immobilized Lipases in Batch Stirred Tank and Recirculated Packed Bed Reactor*. Tesis. Universiti Teknologi Malaysia.