

PENGARUH KONSENTRASI SUBSTRAT TERHADAP KADAR GLISEROL DAN KONSTANTA MICHAELIS (K_m) PADA HIDROLISA CPO SECARA ENZIMATIS

Ageng Priyatni *)

ABSTRACT

The aim of this research is to know the effect of substrate concentration on enzymatic hydrolysis reaction of CPO. CPO was hydrolyzed by water and catalized by lipase enzymes. Amount of water was varied of 50 grams; 100 grams; 150 grams and 200 grams. The result showed that substrate concentration had effect on glycerol content and Michaelis Constant (K_m). 13,28 % glycerol content and $2,04 \times 10^{-2}$ M (gmol/ml) Michaelis Constancy (K_m) were produced at 625,86 mg/ml substrate concentration.

Keywords : substrate , hydrolyze , glycerol , Michaelis Constant (K_m).

PENDAHULUAN

Di Propinsi Kalimantan Timur, kelapa sawit merupakan salah satu komoditas unggulan non migas dimana produksinya selalu mengalami peningkatan. Pada tahun 2003, Kaltim memiliki 159.079 Ha luas areal perkebunan dengan jumlah produksi 791.064 ton/th dan pada tahun 2007 luas areal menjadi 235.307 Ha dengan jumlah produksi 1.285.013 ton/th (Lamrie, 2008). Namun, para produsen minyak sawit yang ada di Kaltim menjual produknya dalam bentuk minyak sawit mentah (CPO) dengan harga pasaran sekitar Rp. 7.323,96- /kg atau langsung menjualnya dalam bentuk tandan buah segar (TBS) dengan harga Rp. 1.331,62 ,-/kg (<http://riaubisnis.com>). Harga-harga ini jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan harga gliserol yang merupakan salah satu produk hilir dari CPO yaitu Rp. 600.000,-/kg. Melihat hal ini, perlu kiranya dilakukan penelitian terhadap peningkatan nilai tambah minyak sawit dengan merubahnya menjadi produk hilir (oleopangan dan oleokimia). Salah satu produk oleokimia yang dapat diperoleh dari minyak sawit adalah gliserol.

Gliserol dapat diperoleh dari minyak sawit mentah (CPO) melalui beberapa proses. Pertama yaitu proses saponifikasi minyak/lemak dengan basa (NaOH) (Winarno, 1997), namun proses ini memiliki kekurangan yaitu reaksinya sangat lambat sehingga tidak pernah digunakan. Kedua yaitu proses transesterifikasi minyak/lemak dengan alkohol (Priyanto, 2007), pada proses ini hasil utamanya adalah metil ester (biodiesel) sedangkan gliserol merupakan hasil samping. Menurut Mescha, dkk., 2007, kadar gliserol merupakan parameter yang menunjukkan keberhasilan pembuatan biodiesel. Semakin kecil kadar gliserol terikat, semakin besar pula konversi dari biodiesel, maka proses ini bukan merupakan proses yang baik untuk memproduksi gliserol. Ketiga yaitu proses hidrolisa trigliserida dengan H_2O (air) (Ketaren, 1986).

Secara alami, hidrolisa minyak sawit terjadi karena dipicu oleh enzim lipase yang dibantu oleh sinar matahari pada kondisi atmosfer. Adapun reaksi hidrolisa yang terjadi adalah sebagai berikut :



Reaksi hidrolisa di atas berlangsung sangat lambat. Oleh karena itu diperlukan katalis guna mempercepat reaksi. Muhammad Y.R, 2004, telah melakukan hidrolisa minyak sawit dengan kondisi suhu 250-260 °C dan tekanan 54-56 BAR, untuk menggantikan fungsi enzim pada hidrolisa alami agar reaksi dapat berlangsung cepat. Dari kondisi tersebut diperoleh gliserin dengan kadar sekitar 12 %. Melihat kondisi hidrolisa yang berlangsung pada suhu dan tekanan tinggi, maka dilakukanlah penelitian ini dengan tujuan untuk mencari faktor yang mempengaruhi agar reaksi dapat berjalan cepat pada suhu dan tekanan rendah dengan cara menambahkan enzim lipase sebagai katalisator.

Pengembangan gliserol sebagai produk oleokimia sangat menjanjikan. Ini dikarenakan luasnya penggunaan gliserol pada berbagai industri. Beberapa penggunaan gliserol dalam industri antara lain, yaitu sebagai emulsifier, agen pelembut, *plasticizer*, dan *stabilizer* es krim; sebagai pelembab kulit, pasta gigi, obat batuk; sebagai media pencegahan pada reaksi pembekuan sel darah merah, sperma, kornea dan jaringan lainnya; sebagai tinta printing dan bahan aditif pada industri pelapis dan cat; sebagai bahan anti beku, sumber nutrisi dalam proses fermentasi, dan bahan baku untuk nitro gliserol (<http://agribisnis.deptan.go.id>).

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat

Bahan-bahan yang digunakan, yaitu : Aquadest yang diolah sendiri di laboratorium Baristand Industri Samarinda, CPO yang diperoleh dari Perusahaan Pengolahan Minyak Sawit yang ada di Long Pinang Kabupaten Tanah Grogot, Jarak Pagar yang diperoleh disekitar daerah Samarinda Seberang, NaCl, MnSO₄, Indikator PP, Asam Asetat, Sodium Periodat dan NaOH yang diperoleh dari Distributor Bahan Kimia di Samarinda. Alat-alat yang digunakan yaitu; Kertas saring Whatman, Kertas lakmus, Beaker glass, Timbangan, Pipet tetes, Labu pemisah, Heater, Gelas ukur, Shaker, Buret, Pipet volume, Botol Sampel dan Corong pemisah.

Metode

Tahap pertama yaitu mengekstraksi enzim lipase dari biji jarak. Buah jarak dikupas dan diambil bijinya. Kulit biji jarak dipecah untuk kemudian diambil dagingnya. Daging biji jarak digiling bersama air hingga halus dan selanjutnya disaring, ampasnya dibuang sementara filtratnya disentrifuse untuk memisahkan material padat tersisa yang tidak tersaring. Setelah disentrifuse akan terbentuk 2 lapisan yaitu lapisan atas yang merupakan fase minyak dan lapisan bawah yang merupakan fase air. Lapisan atas diambil karena enzim lipase terdapat dalam fase minyak. Selanjutnya fase minyak difermentasikan pada temperatur ruang selama kurang lebih 48 jam untuk selanjutnya digunakan pada reaksi hidrolisa (Reed, G., 1975).

Tahap kedua yaitu menghidrolisa CPO dengan air secara enzimatik. 100 gram CPO ditimbang dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 500 ml. Selanjutnya ditambahkan 50 gram air, 8 gram NaCl, 10 gram fase minyak (hasil fermentasi) dan 0,3 gram MnSO₄. Campuran ini selanjutnya dikocok kuat hingga terbentuk emulsi (dengan menggunakan shaker). Hidrolisa berlangsung pada suhu kamar (T= 30° C) dan tekanan atmosfer selama 3 (tiga) hari atau 72 jam dan pH= 4, pengaturan pH dilakukan dengan menambahkan larutan asam asetat. Setelah 72 jam, hidrolisa dihentikan dengan cara memanaskan hingga emulsi terpecah menjadi 2 (dua) fase, fase air dibagian bawah dan fase minyak dibagian atas. Fase air dipisahkan dengan labu pemisah, fase minyak dicuci dengan 50 ml aquadest guna mengencerkan fase air. Fase air dianalisa kadar gliserolnya. Langkah-langkah tersebut di atas diulangi untuk berat air 100; 150 & 200 gram dan masing-masing diulang sebanyak 2 kali.

Tahap ketiga yaitu menganalisa kadar gliserol. Lima (5) ml sampel, diambil dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer, lalu ditambahkan 10 ml larutan Sodium Periodate 2.14 % b/v dan diamkan selama ± 15 menit. Tiga hingga empat tetes indikator PP ditambahkan dan selanjutnya dititrasi dengan larutan NaOH 4 N. Jumlah volume dari NaOH 4 N yang diperlukan (V₁) untuk menitrasi dicatat. Lakukan juga titrasi blanko (V₂). Kadar gliserol dihitung dengan rumus :

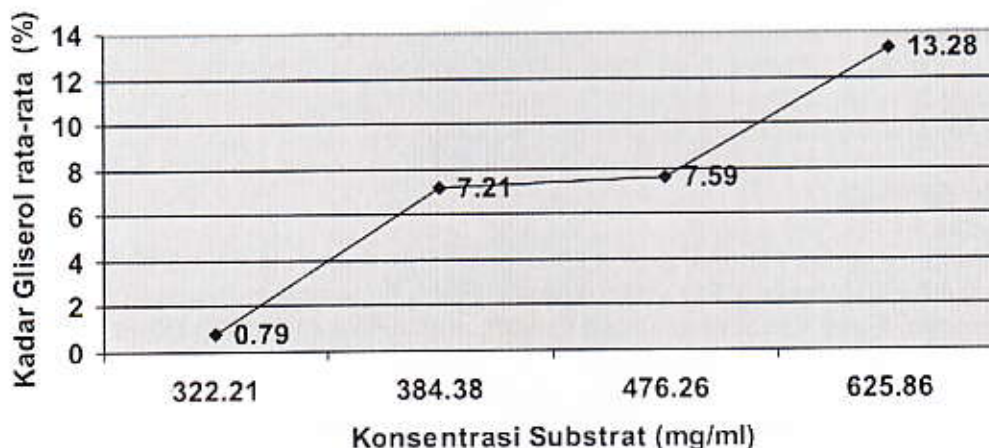
$$K = \frac{\{(V_1 - V_2) \times N \times 9,21\} \times 100}{W \times 100}$$

Dimana, K = Kadar gliserol (% b/b)
 N = Normalitas larutan NaOH (N)
 V1 = Volume titrasi larutan sampel (ml)
 V2 = Volume titrasi larutan blanko (ml)
 W = Berat sampel (mg)

([Http://www.pharmacopoeia.co.uk](http://www.pharmacopoeia.co.uk))

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kadar gliserol
 Kadar gliserol rata-rata dari dua kali ulangan dapat dilihat pada gambar di bawah ini :



Gambar 1. Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kadar gliserol

Untuk konsentrasi substrat 322,21 mg/ml diperoleh kadar gliserol rata-rata sebesar 0,79 %. Kadar gliserol terus meningkat menjadi 13, 28 % seiring dengan bertambahnya konsentrasi substrat hingga mencapai 625,86 mg/ml. Ini disebabkan karena kecepatan reaksi semakin cepat sehingga kadar gliserol yang dihasilkan semakin besar. Menurut Winarno, 1982, pada suatu reaksi enzimatik, kecepatan reaksi hidrolisis atau reaksi katalisis yang disebut *Velo city* atau disingkat V, besarnya sangat tergantung pada konsentrasi substrat. Semakin tinggi konsentrasi substrat maka reaksi enzimatik semakin cepat, sampai mencapai kecepatan yang tetap. Untuk hidrolisa CPO dengan filtrat biji jarak pada suhu 30 °C dan waktu 72 jam diperoleh kadar gliserol optimum sebesar 13,28 % pada konsentrasi substrat 625,86 mg/ml.

Pengaruh konsentrasi substrat terhadap harga konstanta Michaelis (K_m).

Dari konsentrasi substrat dan kadar gliserol rata-rata yang diperoleh, didapat harga K_m sebesar 2,04x 10⁻² M (gmol/ml). Harga K_m enzim sangat bervariasi, tetapi pada umumnya berkisar dari 10⁻¹ sampai 10⁻⁵ M. Harga K_m tergantung pada jenis substrat dan juga keadaan lingkungan seperti suhu dan kekuatan ion (Winarno, 1982). Jika dilihat dari harga K_m yang diperoleh maka harga K_m untuk enzim lipase dari filtrat biji jarak dengan substrat CPO memiliki nilai yang cukup besar.

K_m merupakan suatu indikator kekuatan ikatan kompleks enzim substrat (ES). Jika harga K_m besar maka ikatan kompleks ES (enzim substrat) lemah artinya ikatan kompleks ES yang terbentuk cenderung untuk terurai kembali menjadi Enzim dan Substrat. Hal ini dapat dilihat pada skema reaksi enzimatik yang berjalan mengikuti postulat Michaelis-Menten di bawah ini :



Sebelum reaksi berlangsung substrat bergabung dengan enzim membentuk kompleks enzim substrat dengan konstanta kecepatan k_1 . Kompleks enzim substrat kemudian mengalami 2 kemungkinan penguraian yaitu pertama kembali terurai menjadi E dan S dengan konstanta kecepatan k_2 , atau melanjutkan reaksi dengan menghasilkan produk (P) atau E dengan konstanta kecepatan k_3 . Terurainya kembali kompleks ES menjadi enzim dan substrat disebabkan karena adanya penghambatan kerja atau aktivitas enzim. Penghambatan ini diantaranya disebabkan oleh adanya inhibitor yaitu senyawa oksidator ataupun senyawa-senyawa yang mirip dengan substrat yang terikat pada enzim sehingga menghalangi masuknya substrat ke lokasi aktif enzim (Winarno, 1982).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh kesimpulan bahwa konsentrasi substrat berbanding lurus terhadap kadar gliserol. Untuk hidrolisa CPO menjadi gliserol secara enzimatik yang berlangsung pada suhu 30 °C, tekanan atmosfer, pH 4, berat minyak 100 gram, berat enzim 10 gram dan berlangsung selama 72 jam diperoleh kadar gliserol optimum sebesar 13,28 % dan harga Konstanta Michaelis (K_m) sebesar $2,04 \times 10^{-2}$ M (gmol/ml) dengan konsentrasi substrat sebesar 625,86 mg/ml.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih diberikan kepada Baristand Industri Samarinda sebagai penyandang dana dan Kepala Baristand Industri Samarinda atas kesediannya dalam memberikan tempat, alat dan bahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Destianna M, Zandy A, Nazel dan Puspasari S., 2007, *Intensifikasi Proses Produksi Biodiesel*, Lomba Karya Ilmiah Mahasiswa ITB Bidang Energi, ITB, Bandung.
- http://agribisnis.deptan.go.id/layanan_info/view.php?file=USAHA-PENGOLAHAN/PROFIL+INVESTASI+BIOENERGI/FINAL+PROFIL+INVESTASI.doc&older=PENGOLAHAN-HASIL-PERTANIAN, diakses tgl 13 Januari 2009.
- http://riaubisnis.com/index.php?option=com_content&task=view&id=3971&Itemid=129
- [http://Seafast.ipb.acid/seafast.info/informasi/Gratis Kajian Pasar Industri Hilir Kelapa Sawit.pdf](http://Seafast.ipb.acid/seafast.info/informasi/Gratis_Kajian_Pasar_Industri_Hilir_Kelapa_Sawit.pdf), diakses tgl 13 Januari 2009.
- <http://www.pharmacopoeia.co.uk>
- Ketaren, S 1986, *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*, Cetakan pertama, Hal. 5; 6; 264; 265, UI-Press Jakarta.
- Lamrie, I., 2008, *Strategi Pengembangan Komoditas Unggulan dan Kompetensi Daerah Dalam Rangka Menghadapi Pasar Bebas*, di sampaikan dalam Seminar Pameran PPI Regional di Samarinda tgl. 8 Juli 2008.
- Priyanto, U., 2007, *Menghasilkan Biodiesel Jarak Pagar Berkualitas*, Cetakan pertama, hal. 6 & 9, Agromedia, Jakarta.
- Reed, G., 1975, *Enzymes in Food Processing*, 2nd, p. 205, Academic Press, New York.
- Winarno, F.G., 1982, *Enzim Pangan*, hal. 66; 67; 68, PT. Gramedia, Jakarta.
- Winarno, F.G., 1997, *Kimia Pangan dan Gizi*, hal. 86, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Muhammad Y.R., 2004, *Pengaruh Bilangan Asam Terhadap Hidrolisa Minyak Kelapa Sawit*, Fakultas Teknik Universitas Sumatera Utara, Medan.

;

Saleh, A.B., dkk, 1993, "Extract and Intracelullar lipase from thermophilic *Rhizopus oryzae* and factors affecting their production", *Can.J. Microbial*, p. 39; 978-981.