

---

## PENGEMBANGAN PROSES ENZIMATIS UNTUK PRODUKSI ASAM LEMAK DARI BIJI KARET SECARA IN SITU

Mohamad Endy Y, Nanik Damayanti, Fiqih Putri Juanita, Hermawan Dwi Ariyanto

Jurusan Teknik Kimia PSD III Teknik, UNDIP Semarang  
Jl. Prof Sudarto SH, Pedalangan Tembalang, Semarang 50239  
E-mail: [hda\\_25@yahoo.co.id](mailto:hda_25@yahoo.co.id)

### Abstrak

*Minyak nabati merupakan komoditi perkebunan yang memiliki kegunaan, baik sebagai bahan baku oleokimia maupun oleopangan seperti asam lemak. Pemenuhan kebutuhan Asam lemak untuk industri di Indonesia selama ini masih dilakukan dengan import. Mengingat bahwa asam lemak dapat dibuat dari biji karet, dimana di Indonesia hasilnya sangat melimpah sehingga perlu diupayakan untuk dapat memproduksi sendiri dalam upaya penghematan devisa negara. Selama ini produksi asam lemak dilakukan dengan mengolah lanjut minyak nabati, padahal untuk memproduksi minyak nabati sendiri sudah memerlukan biaya operasi maupun investasi yang cukup tinggi. Oleh karena biji karet mengandung enzim lipase yang dapat menghidrolisa trigliserida yang ada dalam biji karet menjadi asam lemak dan gliserol maka perlu dikaji teknologi proses produksinya. Penelitian ini bertujuan mencari kondisi operasi optimum untuk menghasilkan asam lemak secara langsung dari biji karet. Kajian dilakukan dengan cara percobaan untuk mendapatkan kondisi operasi proses dan cara aktivasi enzim lipase yang ada dalam biji karet. Variabel percobaan yang dilakukan adalah variasi antara waktu dengan kondisi optimum dari enzim lipase yang meliputi kadar air, pH dan temperatur. Tiap variabel proses dianalisis yield asam lemaknya baik secara kualitatif maupun kuantitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa variabel berpengaruh pada proses biokonversi biji karet menjadi asam lemak dengan mengaktifkan enzim lipase adalah temperatur dan pH. Kondisi operasi optimum proses pembuatan asam lemak secara langsung dari biji karet adalah proses hidrolisa pada pH 5, temperatur 35°C, rasio buah:air 0,4, perlakuan mekanik biji karet dilukai dan penggilingan halus.*

**Kata kunci:** asam lemak; biji karet; enzimatik

### Pendahuluan

Di Indonesia sumber-sumber minyak nabati sangat berlimpah, seperti: minyak kelapa sawit (*palm*), minyak kelapa (*coconut*), minyak jarak, minyak biji kapok, minyak kacang tanah, minyak biji karet dan lain-lain. Biji karet merupakan salah satu sumber minyak nabati yang sangat potensial khususnya sebagai bahan oleopangan dan oleokimia. Sebagai bahan oleopangan, minyak biji karet digunakan untuk minyak goreng, margarin, vanaspati dan pengganti lemak coklat (*cocoa butter*), sedangkan sebagai bahan non pangan (*oleokimia*) dapat berupa asam lemak, gliserin, sabun deterjen, pelumas plastisizer, kosmetika dan alternatif bahan bakar diesel.

Indonesia memiliki perkebunan karet dalam jumlah cukup besar. Areal perkebunan karet di Indonesia mencapai lebih dari 3 juta hektar, terluas di dunia. Di Jawa Tengah, perkebunan karet seluas 23.515,32 ha dengan produksi sebesar 19.971,13 ton/tahun (1). Produksi perkebunan karet mengalami fluktuasi dan cenderung meningkat, sehingga ketersediaan biji karet sangat berlimpah. Selama ini biji karet hanya digunakan sebagai mainan anak-anak. Padahal biji karet banyak mengandung minyak nabati. Minyak ini berwarna kuning muda, dan dapat dimanfaatkan sebagai minyak lampu, masak serta sebagai pengganti minyak cat tetapi memiliki kualitas rendah.

Minyak dalam biji karet cukup besar yaitu sekitar 48,5% berat dengan asam lemak bebas 5,4% (2). Minyak biji karet memiliki komposisi asam-asam lemak. Salah satu cara pengambilan asam lemak dari minyaknya adalah dengan hidrolisis. Reaksi hidrolisa minyak biji karet juga akan menghasilkan produk samping berupa gliserol (3). Asam-asam lemak itu antara lain asam palmitat, asam stearat, asam oleat, asam linoleat dan asam linolenat.

Selama ini produksi asam lemak dari minyak nabati seperti sawit dan kelapa masih bersifat konvensional dari segi teknologi, yaitu dengan cara hidrolisa minyak nabati dengan menggunakan air pada rentang suhu 240 °C – 260 °C dan tekanan 45 – 50 bar (4). Metode konvensional lain yang digunakan adalah dengan menghidrolisa minyak nabati secara enzimatik, yaitu dengan menggunakan enzim lipase. Ditinjau dari segi ekonomi dan teknik, kedua cara ini dinilai kurang

efisien karena untuk pembuatan asam lemak ini diperlukan terlebih dahulu satu pabrik pengolahan minyak nabati sebagai bahan bakunya. Untuk mengatasi hal ini, maka perlu dikaji suatu alternatif lain proses pembuatan asam lemak yang lebih murah. Alternatif proses yang akan ditelaah adalah dengan memproduksi secara langsung asam lemak dari biji karet secara enzimatik, yaitu dengan cara mengaktifkan enzim lipase yang terdapat pada biji karet. Meskipun demikian, aktivitas enzim lipase yang bagaimana sehingga dihasilkan asam lemak pada kondisi optimum. Oleh karenanya, perlu mengkaji kondisi proses optimum untuk menghasilkan asam lemak secara langsung dari biji karet.

Penelitian ini bertujuan mencari kondisi operasi optimum untuk menghasilkan asam lemak secara langsung dari biji karet. Penelitian ini dilakukan dengan cara mengaktifkan enzim lipase yang terdapat pada biji karet yang akan mengkatalisis hidrolisa trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol.

Hidrolisa trigliserida secara langsung dengan mengaktifkan enzim lipase sebagai biokatalisator yang terdapat pada biji karet akan menghasilkan asam lemak dan gliserol (5). Teknologi ini merupakan pengembangan proses pembuatan asam lemak dengan keunggulan tidak diperlukan pabrik minyak nabati. Oleh karenanya, postulat ini dapat menambah khasanah ilmu pengetahuan. Hasil penelitian adalah informasi kondisi operasi teknologi pembuatan asam lemak secara enzimatik dari biji karet, dengan spesifikasi produk sesuai standar kualitas yang digunakan dalam industri kosmetik, plastik, cat, deterjen dan sabun. Diharapkan informasi teknologi ini nantinya dapat digunakan sebagai dasar pengembangan penelitian lebih lanjut dan *scale-up* alat pemroses dari skala laboratorium menjadi skala industri, serta diproduksi secara komersial oleh industri asam lemak yang saat ini masih menggunakan metoda konvensional.

## Metodologi

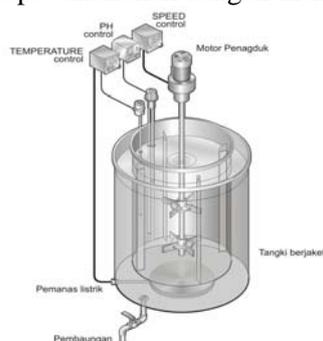
### Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini menggunakan biji karet yang baru dipanen, dan diamati kenaikan kandungan asam lemak dalam biji karet akibat aktifitas enzim lipase. Kondisi percobaan yang dilakukan meliputi kadar air, pH, dan temperatur, disesuaikan dengan aktifitas optimum dari enzim lipase sebagai fungsi waktu. Perlakuan secara mekanik untuk melukai biji karet juga dikaji pada penelitian ini, sehingga akan meningkatkan aktifitas enzim lipase untuk menghidrolisis biji karet.

### Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan adalah biji karet 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 buffer fosfat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  dan  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) dan 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 carbon serta penentuan bilangan peroksida.

Peralatan utama yang dipakai pada penelitian ini adalah tangki berpengaduk (Gambar 1) dan oven. 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. Rangkaian alat bioreaktor tangki berpengaduk

---

## Variabel Percobaan

Variabel percobaan yang dilakukan adalah variasi antara waktu dengan kondisi optimum dari enzim lipase yang meliputi temperatur, pH dan konsentrasi air serta perlakuan mekanik. Temperatur hidrolisis ditetapkan pada 30-45 °C, karena rentang ini merupakan temperatur rata-rata aktivitas lipase. Untuk variabel pH ditetapkan berdasarkan dua fasa akuatik yang berbeda yaitu menggunakan air dan menggunakan buffer fosfat pH 8,2, yaitu pH ditetapkan pada rentang 4,7 – 5. Sedangkan konsentrasi air ditetapkan pada rentang 40 – 60% terhadap berat mesokarp yang digunakan.

## Prosedur Percobaan

Pada percobaan ini, biji karet yang mempunyai ukuran beragam digiling secara halus dan kasar, lalu dikempa. Penggilingan secara halus dan kasar 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.

Pada proses hidrolisa ini, jumlah air yang ditambahkan terhadap biji karet adalah sekitar 30 – 40% dari berat buah. Penambahan jumlah air ini disesuaikan dengan reaksi yang terjadi pada proses hidrolisa trigliserida menjadi asam lemak dan gliserol.

Prosedur percobaan dilakukan dengan cara mengamati kandungan asam lemak setiap 6 jam. Pengamatan ini akan dilakukan selama beberapa hari sampai kemampuan enzim lipase menurun untuk menghidrolisa trigliserida. Pada percobaan ini juga dibandingkan pengaruh ukuran biji karet yang digiling secara halus dan kasar terhadap kenaikan kadar asam lemak.

## Penentuan Yield

Komposisi asam lemak diukur dengan cara gas khromatografi. Faktor konversi dihitung berdasar asam lemak yang terbentuk terhadap biji karet yang digunakan.

## Pengukuran Kualitas Produk

Kadar asam lemak bebas diukur dengan bilangan asam, kejenuhan diukur dengan bilangan iod, berat molekul dan panjang rantai Carbon diukur dengan bilangan penyabunan, derajat kerusakan lemak diukur dengan bilangan peroksida dan kadar air diukur dengan penentuan kadar air manual.

## Hasil dan Pembahasan

### Penentuan Variabel Berpengaruh

Studi pendahuluan dilakukan untuk menentukan variabel yang berpengaruh pada reaksi hidrolisa trigliserida biji karet secara enzimatik. Penentuan variabel berpengaruh dilakukan dengan tempuhan sesuai rancangan percobaan, yaitu metoda faktorial design. Tahap awal penggunaan metoda faktorial design adalah menetapkan variabel bebas maupun variabel terkendali. Variabel bebas meliputi: suhu, pH, rasio biji karet/air, perlakuan mekanik, penggilingan biji karet secara halus dan kasar. Untuk menentukan variabel yang berpengaruh, dengan cara mengukur kadar asam lemak, yaitu saat terjadi reaksi hidrolisa selama 24 jam.

Data hasil pengukuran melalui tempuhan dengan faktorial design dianalisa guna mencari harga efek utama maupun efek interaksi. Harga efek utama dan efek interaksi disajikan pd Tabel 1.

Berdasarkan data dari harga efek utama maupun harga efek interaksi dapat diketahui bahwa harga efek dari interaksi antara temperatur dan pH (AB) memiliki nilai positif tertinggi. Oleh karenanya, diputuskan bahwa data harga efek yang paling berpengaruh adalah interaksi antara variabel temperatur dan pH.

### Optimasi terhadap pH

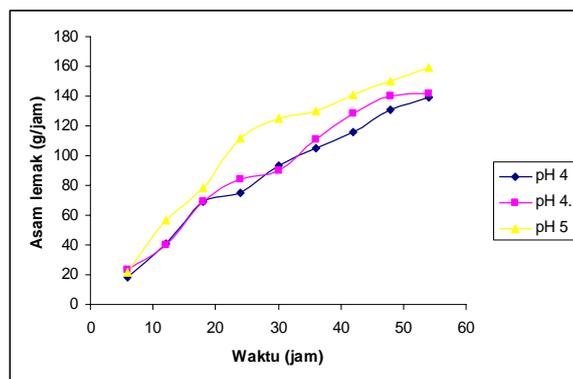
Reaksi hidrolisis trigliserida berpengaruh terhadap pH sistem, pH reaksi akan menurun seiring dengan terbentuknya asam lemak jika tanpa menggunakan buffer. Penggunaan buffer bermanfaat untuk menjaga pH larutan sehingga lebih stabil dibandingkan dengan menggunakan air.

Pernyataan ini didukung dengan data eksperimen bahwa fasa akuatik menggunakan buffer memberikan derajat hidrolisis yang lebih besar jika dibandingkan dengan menggunakan air. Konversi maksimal yang dicapai bila menggunakan fasa akuatik air adalah 38,7 % sedangkan dengan menggunakan buffer pH 8,2 mencapai derajat hidrolisis 49,1 %. Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas lipase sangat sensitif terhadap pH (6).

Tabel 1. Harga Efek Utama dan Efek Interaksi

Efek	Harga Efek	Efek	Harga Efek
E	-1,84375	AE	-0,06875
D	1,41875	AD	-3,00625
DE	-2,20625	ADE	2,40625
C	-5,05625	AC	-1,78125
CE	-2,44375	ACE	-3,31875
CD	0,7	ACD	-5,81875
CDE	1,63125	ACDE	1,76875
B	-2,49375	AB	5,40625
BE	-9,78125	ABE	1,84375
BD	-0,33125	ABD	-0,33125
BDE	-1,79375	ABDE	-1,79375
BC	2,25625	ABC	1,71825
BCE	-1,54375	ABCE	-3,48125
BCD	-5,05625	ABCD	-0,68125
BCDE	-5,71875	ABCDE	-4,64375
A	-1,03125		

Hasil optimasi terhadap pH menunjukkan bahwa pada pH 5 diperoleh jumlah asam lemak tertinggi bila dibandingkan proses hidrolisa pada pH 4 dan 4,5 (Gambar 2). pH optimum tergantung pada masing-masing enzim. pH ini juga tergantung pada jenis dan konsentrasi substrat yang dipakai dan syarat-syarat percobaan lainnya. Pada umumnya pH optimum untuk beberapa enzim adalah berkisar pada larutan netral atau asam lemah.



Gambar 2. Asam Lemak pada Variasi pH

Lipase aktif terdapat mesokarp dengan pH optimal 4,5 (7). Produksi, pemurnian dan karakterisasi lipase dari *Mucor hiemalis f. Hiemali*, ditegaskan bahwa lipase ekstraseluler dihasilkan pada fermentasi *batch* dengan aktivitas tertinggi dicapai pada pH optimum (8).

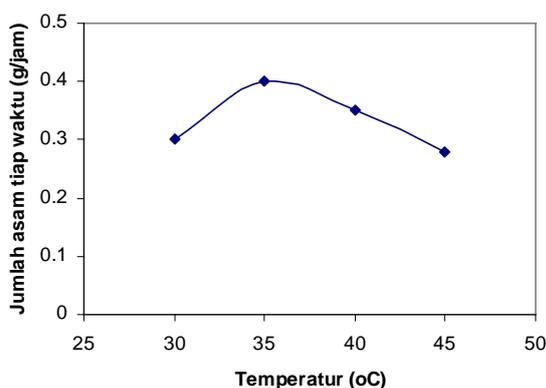
#### Optimasi Terhadap Temperatur

Optimasi terhadap temperatur dilakukan dengan rasio biji karet : air sebesar 0,4 pada pH 5. Sedangkan perlakuan mekanik biji karet dilukai, penggilingan halus dengan variasi suhu 30, 35 dan 40°C.

Temperatur optimum akan memberikan aktivitas katalitik terbesar. Gambar 3 menyajikan hasil yang diperoleh untuk variasi temperatur inkubasi (temperatur reaksi hidrolisis). Kurva ini

menunjukkan hubungan antara peningkatan jumlah asam yang terbentuk per satuan waktu terhadap temperatur. Peningkatan jumlah asam yang terbentuk ini ditentukan berdasarkan kadar asam setelah inkubasi dikurangi dengan kadar asam sebelum inkubasi dan dibagi terhadap waktu inkubasi. Penentuan asam yang terbentuk dikurangi dengan kadar asam awal karena studi ini tidak dilakukan secara bersamaan, sedangkan dalam penyimpanannya, biji karet akan mengalami peningkatan kadar asam seiring dengan waktu. Penentuan data kadar asam lemak dengan cara membandingkan kadar asam lemak yang terbentuk terhadap kadar asam lemak awal (9).

Seperti terlihat pada Gambar 3, kenaikan temperatur hingga temperatur 35 °C akan menyebabkan kenaikan aktivitas katalitik lipase sehingga meningkatkan derajat hidrolisis.



Gambar 3. Hubungan antara Temperatur dengan jumlah asam yang terbentuk

Menurut Arrhenius, aktivitas lipase meningkat dengan kenaikan temperatur. Hal ini disebabkan pada temperatur terlalu rendah, trigliserida biji karet yang merupakan reaktan akan berada dalam bentuk padat sehingga reaksi hidrolisis menjadi sulit. Selain itu, lipase memiliki keunikan karena mengkatalisis reaksi pada interface antara fasa minyak dan air. Bila fasa minyak berada dalam fasa padat, luas interface antara fasa minyak dan fasa air menjadi kecil dan lipase akan lebih sulit mengkatalisis reaksi. Akan tetapi peningkatan temperatur lebih lanjut akan menyebabkan penurunan aktivitas katalitik lipase. Pada temperatur 40 °C, enzim mulai menunjukkan penurunan aktivitas dan menurun tajam pada temperatur 45 °C. Hal ini membuktikan bahwa persamaan Arrhenius ini dibatasi oleh peristiwa denaturasi enzim (10). Suhu yang terlalu tinggi dapat menyebabkan terjadinya kerusakan struktur enzim. Akibatnya enzim menjadi terdeaktivasi dan proses hidrolisis menjadi terhambat (10). Lipase aktif terdapat mesokarp dengan temperatur optimal 30 °C (7). Produksi, pemurnian dan karakterisasi lipase dari *Mucor hiemalis f. hiemalis*, bahwa lipase ekstraseluler dihasilkan pada fermentasi *batch* dengan aktivitas tertinggi dicapai pada temperatur optimum 40 °C (8).

### Kesimpulan

Variabel berpengaruh pada proses biokonversi trigliserida biji karet menjadi asam lemak dengan mengaktifkan enzim lipase secara in situ adalah temperatur dan pH. Kondisi operasi optimum proses pembuatan asam lemak secara langsung dari biji karet pada pH 5, temperatur 35 °C, rasio biji karet : air 0.4, perlakuan mekanik biji karet dilukai dan penggilingan halus.

### Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini, penulis mengucapkan syukur Alhamdulillah kepada Allah SWT serta terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Dinas Pendidikan dan Kebudayaan Propinsi Jawa Tengah atas dukungan dana dalam kegiatan Penelitian Rancang Bangun Teknologi Mahasiswa 2009.

**Daftar Pustaka**

- (1) Dinas Perkebunan Propinsi Jawa Tengah. Luas Areal Perkebunan Karet. 2006.
- (2) Fadiloglu S, Ciftci ON, Gogus, F. Reduction of Free Fatty Acid Content of Olive-Pomace Oil by Enzymatic Glycerolysis. Food Science and Technology International (Abstract). 2003; Vol. 9, No. 1: p. 11-15.
- (3) Yassin AA, Mohamed IO, Ibrahim MN, Yusoff MS. Effect of Enzymatic Interesterification on Melting Point of Palm Olein," Appl Biochem Biotechnol. (Abstract). 2003; Vol. 110 No. 1 July: p. 45-52.
- (4) Sambanthamurthi R, Kushairi A. Selection for Lipase Activity in The Oil Palm. MPOB TT. 2003; 141.
- (5) Holtman A, Under supervisor of Ganzelveld KJ, Manurung R. In situ Direct Hydrolysis of Palm Oil. Rug-ITB-Agricinal.2003.
- (6) Yulianto ME, Broto RW, Pudjihastuti I. Studi Awal Pembuatan Asam Lemak Secara Enzimatis Dari Buah Segar Kelapa Sawit. Jurnal Metana. 2005; Vol 1 No. 2: hal 22-27.
- (7) <http://www.freepatentsonlinePatent 5518754.htm>
- (8) Hio A, Jonzo MD, Druet D, Comeau L. Production, Purification, and Characterization of an Extracellular Lipase from *Mucor hiemalis* f. *Hiemalis*. Enzym and Microbial Technology.1999; 25: hal 80 – 87.
- (9) <http://www.freepatentsonlinePatent 6706502.htm>
- (10) <http://www.americanpalmoil.com/glossary.html#14>