

KARAKTERISASI REAKSI LIPASE DARI KAPANG INDIGENUS DAN APLIKASINYA UNTUK PRODUKSI MINYAK BERNILAI TINGGI

Lilis Nuraida¹⁾

Purwiyatno Hariyadi²⁾, Slamet Budiyanto²⁾, Ratih Dewanti-Hariyadi²⁾

Penggunaan lipase pada industri minyak meningkat sejalan dengan pengetahuan bahwa enzim lipase tidak hanya mampu mengkatalisa reaksi hidrolisis tetapi pada kondisi tertentu juga dapat mengkatalisa reaksi sebaliknya, misalnya pada pembentukan gliserida dari gliserol dan asam lemak.

Kemampuan lipase dalam mengkatalisis reaksi-reaksi sintesis (esterifikasi, transesterifikasi dan interesterifikasi) telah memperluas aplikasi lipase pada industri oleokimia. Sampai saat ini lipase yang banyak digunakan untuk keperluan reaksi sintesis adalah lipase komersial dari *Rhizomucor miehei* dan *Pseudomonas* sp. Peneliti telah melakukan eksplorasi terhadap kapang indigenus sebagai penghasil lipase dengan aktivitas esterifikasi dan hidrolis. Dari 24 kapang isolat yang terdiri dari genus *Rhizopus*, *Mucor* dan *Aspergillus* diketahui enzim lipase dari beberapa kapang menunjukkan aktivitas esterifikasi tinggi dan kapang yang berbeda memiliki aktivitas hidrolisis tinggi.

Tujuan penelitian ini adalah (1) mempelajari spesifikasi reaksi enzim yang dihasilkan oleh kapang *Mucor javanicus* M26/II dan *Aspergillus indigenus*, (2) mempelajari pengaruh suhu terhadap reaksi lipase *Mucor* dan *Aspergillus* dan (3) melakukan pengujian aplikasi enzim untuk memproduksi minyak bernilai tinggi seperti monoasilgliserol, diasil gliserol dan monoolein dari minyak tropika.

Pengujian aktivitas esterifikasi terhadap asam lemak dengan berbagai panjang rantai (C6-C18) menunjukkan bahwa lipase *Aspergillus* memiliki aktivitas esterifikasi tertinggi terhadap asam palmitat (C16) yaitu sebesar 8,31 mmol AL teresterkan/g protein menit. Aktivitas terhadap palmitat tidak berbeda jauh dengan aktivitas terhadap asam miristat (C14) yaitu sebesar 7,74 mmol AL teresterkan/g protein menit. Sementara itu aktivitas esterifikasi lipase *Mucor* tertinggi diperoleh pada substrat asam kaprilat (C8) yaitu sebesar 7,4 mmol AL teresterkan/g protein menit dan asam palmitat (C16) yaitu sebesar 6,9 mmol AL teresterkan/g protein menit. Aktivitas esterifikasi menurun dengan meningkatnya jumlah ikatan rangkap.

Aktivitas enzim lipase *Aspergillus* lebih tinggi terhadap butanol (12,8 mmol AL teresterkan/g protein menit) dibandingkan dengan oktanol (4,9 mmol AL teresterkan/g protein menit) dan dodekanol (4,5 mmol AL teresterkan/g protein menit). Sementara, aktivitas lipase *Mucor* lebih tinggi terhadap oktanol (4,9 mmol AL teresterkan/g protein menit) dibandingkan dengan butanol dan dodekanol yaitu masing-masing sebesar 4,02 dan 4,4 mmol AL teresterkan/g protein menit. Lipase *Aspergillus* sp. lebih menyukai butanol primer dibandingkan dengan butanol sekunder dan tersier. Sedangkan lipase *Mucor javanicus* aktivitas esterifikasinya lebih tinggi pada etilen glikol dan gliserol dibandingkan dengan aktivitasnya terhadap

^{1)Ketua Peneliti (Staf Pengajar Departemen Teknologi Pangan dan Gizi, Fateta-IPB); ^{2)Anggota Peneliti}}

butanol. Aktivitas esterifikasi terhadap etilen glikol lebih tinggi dibandingkan dengan gliserol.

Untuk reaksi esterifikasi lipase *Mucor* memiliki suhu optimum pada 40-50°C dan lipase *Aspergillus* pada suhu 50°C, sementara itu untuk reaksi hidrolisis lipase *Aspergillus* memiliki suhu optimum pada 30-50°C dan lipase *Mucor* pada 40°C.

Pengujian aktivitas hidrolis dengan menggunakan berbagai jenis minyak sebagai substrat menunjukkan bahwa aktivitas hidrolis tertinggi lipase dari kedua jenis kapang diperoleh pada minyak kelapa, diikuti dengan minyak sawit. Aktivitas yang dimiliki oleh enzim dari kedua jenis kapang ini menunjukkan potensi penggunaan enzim ini untuk memproduksi produk oleokimia yang berbasis minyak tropika.

Pengujian produksi MAG dan DAG dilakukan dengan reaksi hidrolisis dan esterifikasi. Untuk reaksi hidrolis digunakan minyak kelapa dan minyak sawit, sedangkan untuk reaksi esterifikasi digunakan DALMIK dan DALMS sebagai substrat. Minyak sawit dihidrolisia lebih lambat dibandingkan dengan minyak kelapa. Berdasarkan peningkatan jumlah asam lemak, waktu optimum untuk lipase *Aspergillus* sp. dan *Aspergillus niger* adalah 48 jam, sedangkan waktu optimum untuk lipase *Mucor javanicus* adalah 72 jam.

Penggunaan DALMIK sebagai substrat untuk reaksi esterifikasi menunjukkan aktivitas esterifikasi yang lebih tinggi dibandingkan dalam DALMS. Berdasarkan penurunan jumlah asam lemak bebas pada substrat, waktu reaksi optimum untuk *Aspergillus niger* adalah 48 jam, sedangkan untuk lipase kapang lainnya 72 jam.

Analisis terhadap produk reaksi dengan menggunakan HPLC menunjukkan terjadinya pembentukan DAG dan MAG. DAG terdapat dalam 2 bentuk yaitu 1,3 DAG dan 1,2 DAG. Dengan reaksi hidrolis, proporsi DAG 1,2 lebih banyak dibandingkan dengan DAG 1,3, sedangkan dengan reaksi esterifikasi proporsi DAG 1,3 lebih banyak dibandingkan dengan DAG 1,2. Hal ini dimungkinkan karena pada reaksi hidrolisis, lipase cenderung memotong ikatan 1,3 dan meninggalkan asam lemak pada posisi 2, sedangkan reaksi esterifikasi lipase cenderung mengesterkan asam lemak pada posisi 1,3.