

PEMBUATAN DIGLISERIDA DARI SANTAN KELAPA MENGUNAKAN ENZIM LIPASE KECAMBAH BIJI WIJEN

Moh. Sui^{1*}), Frida Dwi Anggraini¹⁾

¹⁾Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Widyagama, Malang

*Email Korespondensi: sui_uwg@yahoo.co.id

ABSTRAK

Digliserida banyak digunakan sebagai bahan pengemulsi (emulsifying agent) dalam pengolahan bahan pangan. Digliserida bias diperoleh dari proses hidrolisis minyak (lipid), maupun esterifikasi asam lemak bebas dengan gliserol. Enzim lipase dari kecambah biji wijen digunakan sebagai katalisator dalam esterifikasi tersebut. Tujuan penelitian adalah mempelajari perbandingan gliserol dengan santan terhidrolisis dan lama esterifikasi. Penelitian dengan dua faktor yaitu perbandingan gliserol : santan kelapa terhidrolisis (1:10 dan 3:10) dan lama reaksi esterifikasi 0, 2 dan 4 jam). Pengamatan dilakukan terhadap kadar asam lemak bebas, laju esterifikasi, jumlah digliserida dan komposisi asam lemak dalam digliserida. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbandingan santan: gliserol 1:10 dan lama reaksi 4 jam mempunyai kecepatan reaksi esterifikasi yang optimum. Jumlah digliserida tertinggi diperoleh pada perbandingan santan:gliserol : santan terhidrolis 1:10 dan 0 jam esterifikasi.

Kata kunci: digliserida, santan, kelapa, lipase, wijen

ABSTRACT

Diglycerides are widely used as emulsifying agents in food processing. Diglycerides can be obtained from the hydrolysis of oil (lipids), as well as esterification of free fatty acids with glycerol. The lipase enzyme from sesame seed sprouts is used as a catalyst in the esterification. The aim of this research was to study the comparison of glycerol with hydrolyzed coconut milk and the time of esterification. The study used two factors, namely the ratio of glycerol: hydrolyzed coconut milk (1:10 and 3:10) and the esterification reaction time (0, 2 and 4 hours). Observations were made on the levels of free fatty acids, the rate of esterification, the number of diglycerides and the composition of fatty acids in the diglycerides. The results showed that the coconut milk: glycerol ratio of 1:10 and the reaction time of 4 hours had the optimum esterification reaction. The highest amount of diglyceride was obtained in the ratio of coconut milk: glycerol: hydrolyzed coconut milk of 1:10 and 0 hours of esterification.

Keywords: diglycerides, coconut milk, coconut, lipase, sesame

PENDAHULUAN

Digliserida merupakan produk turunan dari minyak kelapa disamping monogliserida. Produk turunan lainnya adalah ester asam lemak, asam lemak amina dan asam lemak (asam laurat, asam miristat, asam kaprat) [1]. Menurut [2], monogliserida dan digliserida digunakan sebagai bahan pengemulsi (emulsifier).

Digliserida dan monogliserida dapat disintesa melalui reaksi gliserolisis enzimatis antara minyak kelapa dengan gliserol menggunakan biokatalis enzim papain yang bersumber dari isolasi getah pepaya. Peningkatan konsentrasi enzim papain tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap pembentukan digliserida dan monogliserida (persentase penurunan asam lemak bebas). Pada rasio mol minyak kelapa:gliserol (1:10), konsentrasi enzim papain 5% (b/b) diperoleh persentase penurunan kandungan asam lemak bebas tertinggi sebesar 35,18% [3].

Reaksi esterifikasi asam laurat dengan gliserol menggunakan enzim lipase dari biji wijen menghasilkan monolaurin dan dilaurin sebagai emulsifier. Tetapi hasil penelitian ini tidak mengamati jumlah monolaurin dan dilaurin, melainkan hanya mengukur kemampuan pengemulsinya [2].

Isolasi asam laurat dengan cara menghidrolisis santan kelapa menggunakan enzim lipase (enzim endogenous dalam santan). Santan dibuat dari kelapa parut ditambah air 1 : 1 dan dihidrolisis selama 72 jam. Santan terhidrolisis menghasilkan asam laurat sebesar 48,25% dari total minyak dalam santan. Asam laurat yang dihasilkan dengan proses hidrolisis tersebut memiliki kemurnian sebesar 53,86%. Karena masih banyak mengandung senyawa lain, maka disebut dengan fraksi kaya asam laurat. Senyawa lain yang terdapat dalam fraksi tersebut antara lain asam miristat 16,71%, asam kaprilat 7,86%, asam kaprat 7,76% dan asam palmitat 6,60% [4].

Selanjutnya, [5] melakukan isolasi enzim lipase biji wijen (bentuk kecambah dan bukan kecambah). Aktivitas esterifikasi enzim kecambah biji wijen lebih tinggi dibandingkan yang tidak dikecambahkan yaitu 335,98 u mol FFA/menit/gram biji wijen. Sedangkan biji yang tidak dikecambahkan 206,99 u mol FFA/menit/gram biji wijen.

Reaksi esterifikasi berlangsung optimum pada konsentrasi enzim 75% dari minyak (substrat) dibanding konsentrasi enzim 25%, 50% dan 100%. Aktifitas esterifikasi dengan konsentrasi enzim 75% selama 1, 2, 3 dan 4 jam adalah 22,50 u mol FFA/ml sampel; 43,75 u mol FFA/ml sampel; 35,75 u mol FFA/ml sampel dan 38,0 u mol FFA/ 5 ml sampel [5].

Pembuatan digliserida dan monogliserida dilakukan melalui proses etanolisis. Campuran minyak inti sawit dengan minyak biji mengkudu (rasio 1 : 25) ditambahkan etanol 96% yang mengandung NaOH 1 % (rasio campuran minyak dengan etanol 0,9 b/v). Reaksi dilakukan pada suhu $28 \pm 1^\circ\text{C}$, 300 rpm; 6 menit. Setelah reaksi selesai, dilakukan fraksinasi dengan cara ditambah etanol pa. ke dalam produk etanolisis (produk etanolisis dengan etanol 1:3 v/v). Selanjutnya disentrifuse 4000 rpm selama 30 menit sehingga diperoleh 2 fraksi yaitu bagian atas (monogliserida dan digliserida) dan bagian bawah (trigliserida) [6].

Emulsifier monogliserida dan digliserida bisa diproduksi dari Crude Pal Oil (CPO) yang berasal dari Fat-Pit menggunakan NaOH. Konsentrasi NaOH terbaik untuk membuat monogliserida dan digliserida adalah 4% karena memiliki kadar air dan ALB rendah serta kemampuan menurunkan tegangan permukaan dan menstabilkan emulsi yang tinggi. Monogliserida dan digliserida yang dihasilkan memiliki kadar air antara 0,027% - 0,14%, asam lemak bebas antara 1,27% - 0,14%, tegangan permukaan berada antara 26,76 dyne/cm - 34,86 dyne/cm dan kestabilan emulsi yang terbentuk antara 135 detik - 173,4 detik [7].

Lipase candida rugose immobile, dapat digunakan sebagai biokatalis dalam reaksi esterifikasi untuk sintesa Lipid Terstruktur dari minyak ikan tuna dengan asam laurat. Kondisi optimum reaksi adalah pada suhu 50 oC, konsentrasi lipase 10%, perbandingan ratio substrat (Minyak ikan tuna : asam laurat) 1:10 selama 12 jam. Profil gliserida dari hasil asidolisis enzimatis adalah 78,1 % trigliserida, 32,2 % digliserida dan 11,9% monogliserida [8].

Berdasarkan uraian di atas maka perlu dilakukan penelitian pembuatan digliserida dari santan kelapa menggunakan enzim lipase dari kecambah biji wijen. Produk digliserida yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh perbandingan gliserol dengan asam lemak bebas serta lama reaksi esterifikasi. Jumlah asam lemak bebas yang terlalu banyak, maka trigliserida meningkat. Waktu reaksi yang terlalu lama, akan banyak dihasilkan trigliserida.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan di laboratorium Kimia Universitas Widya Gama Malang dan Laboratorium Kimia Universitas Gajah Mada (UGM).

Bahan yang digunakan antara lain, buah kelapa varitas dalam dari Donomulyo Kabupaten Malang, biji wijen, air destilasi bebas ion, aquades. Bahan kimia antara lain gum arab, gliserol, hexana, tersier butanol, garam amonium sulfat, minyak olive, twin 80, petroleum eter, dietil eter, asam formiat, etanol, gliserol, NaOH, indikator pp.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat gelas, pipet mikro, penyaring plastik, pisau stainless steel, alat parut stainless steel (Brilliant), mortar, sentrifus, neraca analitik (Mettler Toledo AL 204), pengaduk magnet (*stirer*), pemanas (Janke-Kunkel), oven, pH-meter (Orion 201), termometer ruang, *spektrofotometer UV-Vis* (Genesys 10 UV series), alat kromatografi gas (model HP seri 5890) dengan kolom CBPS.

Penelitian dilakukan dalam beberapa tahap yaitu (1) Hidrolisis santan (sebagai substrat pembuatan digliserida), (2) Pembuatan digliserida (3) Pemisahan digliserida dan (4) uji komposisi digliserida.

Pembuatan Substrat dalam pembentukan digliserida (metode [4])

Santan dibuat dari kelapa parut ditambah aquades dengan perbandingan 1 : 1, kemudian diperas dan disaring sehingga diperoleh santan. Selanjutnya, santan diuji aktivitas enzim lipasanya (aktivitas hidrolisis). Santan kemudian diinkubasi selama 72 jam pada suhu 55 oC agar terjadi hidrolisis untuk menghasilkan asam lemak bebas. Selanjutnya diuji kadar asam lemak bebasnya.

Pembuatan digliserida

Pembuatan digliserida dilakukan dengan cara membuat substrat berupa campuran antara gliserol dan santan terhidrolisis dengan perbandingan (1:10 dan 3:10) v/v. Selanjutnya substrat ditambah ekstrak kasar enzim lipase kecambah biji wijen (Su'i, et all., 2018) dengan konsentrasi 40 % (v/v) dari substrat. Sebelum digunakan, enzim lipase biji wijen diukur aktivitasnya.

Substrat yang telah diberi enzim diinkubasi pada suhu 55 oC selama 0, 2 dan 4 jam. Pada masing-masing lama inkubasi, sampel diuji laju rekasi esterifikasinya. Laju esterifikasi dihitung berdasarkan jumlah asam lemak bebas yang bereaksi dengan gliserol.

Pemisahan Digliserida

Produk hasil diesterifikasi ditambahkan Petroleum eter kemudian dikocok dan didiamkan sehingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah berupa fraksi non minyak yang mengandung air, ekstrak enzim lipase dan gliserol. Bagian bawah ini dibuang. Bagian atas merupakan fraksi minyak yang mengandung petroleum eter, trigliserida, digliserida dan monogliserida serta asam lemak bebas. Fraksi minyak ini ditampung untuk diambil digliseridanya.

Fraksi minyak sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam kolom kromatografi yang berisi adsorben silika gel G 60. Selanjutnya dielusi secara bertahap dengan eluen yang berbeda. Hasil elusi setiap eluen ditampung dalam wadah yang berbeda.

Pertama, eluen n-heksana sebanyak 200 ml ditambahkan (secara bertahap) untuk mendapatkan fraksi trigliserida dan asam lemak bebas. Kedua, eluen n-heksana:dietil eter:asam formiat (90:10:2) sebanyak 200 ml ditambahkan untuk mendapatkan fraksi digliserida.

Masing-masing fraksi diuapkan sisa pelarutnya sehingga diperoleh fraksi bebas pelarut, Fraksi digliserida diukur volume dan komposisi digliseridanya. Komposisi digliserida menggunakan kromatografi gas [10].

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Enzim Lipase Dalam Santan

Santan yang akan digunakan sebagai substrat dalam pembuatan digliserida mempunyai aktivitas enzim lipase sebesar 0,22 u mol/menit/ml santan. Enzim lipase dalam santan ini akan berperan sebagai katalisator dalam proses hidrolisis santan. Setelah santan dihidrolisis selama 72 jam suhu 55 oC, menghasilkan asam lemak bebas sebesar 0,13 m mol/ml santan.

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian [4] yang menyatakan bahwa santan yang dihidrolisis menggunakan enzim lipase endogenous selama 72 jam menghasilkan asam lemak bebas sebesar 0,15 u mol/ml.

Aktivitas Enzim Lipase Kecambah Biji Wijen

Ekstrak kasar enzim lipase kecambah wijen mempunyai aktivitas sebesar 4,39 u mol/menit tiap ml enzim. Menurut [11] aktivitas enzim lipase dalam kecambah wijen sebesar 7 u mol/menit.

Kecepatan Reaksi Esterifikasi

Kecepatan reaksi esterifikasi meningkat dengan semakin besar perbandingan gliserol dengan santan. Kecepatan reaksi esterifikasi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Laju Reaksi Esterifikasi pada Perbandingan Gliserol dengan Santan Terhidrolisis dan lama Esterifikasi yang Berbeda

Perbandingan Gliserol : Santan terhidrolisis (v/v)	Laju Reaksi pada waktu yang berbeda (u mol FFA/ml substrat)	
	2 jam	4 jam
1:10	35,96	57,24
3:10	27,78	46,44

Tabel 1 menunjukkan bahwa laju reaksi esterifikasi semakin rendah dengan semakin banyak gliserol. Dengan kata lain, semakin banyak santan terhidrolisis, reaksi esterifikasi semakin cepat. Menurut [12], peningkatan konsentrasi substrat berpengaruh terhadap pembentukan kompleks enzim-substrat untuk membentuk produk. Dengan demikian makin tinggi konsentrasi substrat maka pembentukan produk makin cepat.

Pemisahan Digliserida Hasil Esterifikasi Santan Terhidrolisis

Penelitian ini menggunakan santan terhidrolisis sebagai substrat dengan perbandingan gliserol : santan (1:10) dengan lama reaksi esterifikasi 2 dan 4 jam. Hasil pemisahan digliserida dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Jumlah (%) Digliserida Hasil Esterifikasi Santan Terhidrolisis

Lama Esterifikasi (jam)	Digliserida	
	% v	% b
0	22.45	22.88
2	7.26	7.38
4	14.00	14.19

Hasil pemisahan menunjukkan bahwa digliserida mengalami penurunan selama esterifikasi 2 jam, kemudian meningkat lagi pada jam ke-4. Hal ini disebabkan karena selama 2 jam esterifikasi, digliserida yang ada akan bereaksi dengan asam lemak bebas membentuk trigliserida. Setelah 2 jam, terjadi reaksi esterifikasi antara monogliserida dengan asam lemak bebas membentuk digliserida sehingga terjadi peningkatan jumlah digliserida.

Reaksi esterifikasi terjadi antara asam lemak dengan gliserol membentuk monogliserida. Reaksi esterifikasi juga bisa terjadi antara asam lemak bebas dengan monogliserida membentuk digliserida. Jika reaksi esterifikasi terjadi antara digliserida dengan asam lemak bebas, maka akan membentuk trigliserida. Dalam penelitian ini, esterifikasi selama 4 jam yang terjadi adalah reaksi antara gliserida dengan asam lemak bebas membentuk trigliserida sehingga terjadi penurunan jumlah digliserida.

Komposisi Digliserida

Jenis asam lemak dalam digliserida diuji menggunakan Gas Chromatography (GC). Komposisi asam lemak pada monogliserida dan digliserida dapat dilihat pada Tabel 3

Tabel 3. Komposisi asam lemak pada digliserida

Jenis Asam Lemak	Jumlah asam lemak (b/v%) selama esterifikasi (jam)		
	0	2	4
Kaproat	-	-	-
Kaprilat	13.76	4.80	11.72
Kaprat	9.25	7.40	8.14
Laurat	54.02	57.60	50.07
Miristat	13.64	17.30	14.26
Palmitat	4.69	6.20	6.10
Linoleat	2.06	5.80	3.85
Oleat	2.17	0.40	4.39
Stearat	0.41	0.50	1.47

Jenis asam lemak dalam digliserida mempunyai kecenderungan yang sama dengan komposisi asam lemak dalam minyak kelapa. Jenis asam lemak yang paling tinggi pada digliserida adalah asam laurat kemudian asam miristat. Jenis asam lemak dalam digliserida sangat dipengaruhi oleh jenis asam lemak bebas yang terdapat dalam santan terhidrolisis. Menurut [4], santan yang dihidrolisis selama 12 jam menggunakan enzim lipase endogenous santan kelapa mengandung asam laurat paling tinggi, kemudian asam miristat yaitu 52,33% dan 16,65%.

KESIMPULAN

Penggunaan enzim lipase dari kecambah biji wijen dalam esterifikasi mempunyai kecepatan reaksi paling tinggi pada perbandingan gliserol:santan 1:10. Lama reaksi esterifikasi 0 jam, menghasilkan digliserida paling tinggi dibandingkan 2 dan 4 jam. Komposisi digliserida menunjukkan bahwa asam laurat merupakan asam lemak paling banyak yang dalam digliserida.

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang proses pembuatan digliserida melalui proses hidrolisis santan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Universitas Widyagama Malang yang telah membiayai penelitian ini.

REFERENSI

- [1] Anonimous, 2005, Arah Pengembangan Agribisnis Kelapa, Departemen Pertanian Republik Indonesia.

- [2] Arbianti R., Utami T.S., Hermansyah H. dan Handayani W., 2008, Pemanfaatan Biji Wijen Sebagai Sumber Enzim Lipase Untuk Reaksi Esterifikasi Gliserol –Asam Laurat pada Pembuatan Agen Pengemulsi, Proseding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses, ISSN: 1411-4216.
- [3] Kurniasih E., 2014, Sintesa Mono-Digliserida Melalui Reaksi Gliserolisis Enzimatis, Jurnal Teknologi, Vol. 14, No. 1, April 2014 : 25-28
- [4] Su'i, M., Sumaryati, E., Prasetyo, R. dan Qoyim, R. (2014). Hidrolisis santan kelapa menjadi asam laurat menggunakan enzim lipase endogenous. Jurnal Litbang Jatim Cakrawala 8(1): 69-76.
- [5] Su'i M., Utomo Y., Oktafiana E. and Tyas W.W., 2018, Enzyme from Sesame Seed and Its Application in Esterification of Coconut Oil, International Journal of Engineering Science Technology And Research (IJESTR), Volume –3, Issue – 2, March - April - 2018, Page No. 12 – 20.
- [6] Murhadi , 2009, Senyawa Dan Aktivitas Antimikroba Golongan Asam Lemak Dan Esternya Dari Tanaman [Antimicrobial Activity Of Fatty Acids And Its Ester Forms Of Plant Materials], Jurnal Teknologi Industri Dan Hasil Pertanian Volume 14, No. 1: 87-105.
- [7] Silsia D., Surawan F.E.D, Meiriska I., 2017, Karakteristik Emulsifier Mono Dan Diasilgliserol (Mdag) Dari Crude Palm Oil (Cpo) Yang Berasal Dari Fat Pit Pada Berbagai Konsentrasi Katalis Naoh, Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia – Vol. 9, No. 2: 82-88, <https://doi.org/10.17969/jtipi.v9i2.9973>
- [8] Wahyuningsih, Supriyo E., dan Broto R.T.D.W., 2018, Biokatalisator Lipase Dedak Padi Untuk Proses Asidolisis Minyak Tuna Dan Asam Laurat Wahyuningsih, METANA Vol. 14(1):11-14
- [9] Sihotang, H. dan Ginting M., 2006. Pembuatan Monogliserida Melalui Gliserolisis Minyak Inti Sawit Menggunakan Katalis Natrium Metoksida. *Jurnal Sains Kimia*, 10 (2): 51-57.
- [10] Mattick L. R. and Lee, F. A., 1959, A note on a Method for the Extraction of Free Fatty Acid for Lipid Material, Food Research.
- [11] Suhendra L., Tranggono dan Hidayat C., 2004, Aktivitas Hidrolisis dan Esterifikasi Lipase Ekstrak Biji Wijen, Proseding Seminar Nasional dan Kongres PATPI.
- [12] Granner D.K., Mayes, P.A., Murray, R.K. and Rodwell, V.W., 2003, *Harper's Illustrated Biochemistry*, 26th edition, Mc Graw-Hill Companies Inc., New Delhi.