

## Metanolisis Minyak Kelapa dengan Katalis Enzim Lipase dalam Bubuk Getah Pepaya (*Carica Papaya Latex*, CPL)

Sri Sukadarti dan Siti Diyar Kholisoh

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri  
Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Yogyakarta  
Jln. Swk 104 Lingkar utara, Condongcatur, Yogyakarta, 55283.

Telp/fax: 0274 486889

E-mail: sukadartisri@yahoo.com; diyar.kholisoh@upnyk.ac.id

### Abstract

This research was aimed to obtain an alternative way for manufacturing methyl ester which is cheaper with a quality that meets the standards. According to its availability and abundance in Indonesia, coconut palm oil was applied as the raw material and lipase enzyme in papaya latex was used as its catalyst. Experiments were conducted in a glass flask-reactor equipped with baffles and stirrer. They were performed on a methanol-to-coconut oil molar ratio of 4:1 at temperature of 55°C. Factors such as stirring speed, the amount of enzyme, and reaction time were varied. The glycerol contents in the mixture were therefore analyzed to determine the conversion of triglycerides obtained. The results of experiments at 100 ml of coconut oil and 48 ml of methanol showed that the optimum stirring speed was 900 rpm and the optimum amount of enzyme was 6 grams (with enzyme activity of 81,33 units/gram). Such condition was obtained for 3 hours and resulted in the triglycerides conversion of 16,85%. This trans-esterification reaction kinetics was relatively consistent with the Michaelis-Menten model with values of  $K_M$  and  $v_{max}$  of 0,00230 gmol/ml and  $7,41 \times 10^{-5}$  gmol/ml/hr, respectively.

**Key words:** Carica papaya latex (CPL), coconut palm oil, lipase, methyl ester

### 1. Pendahuluan

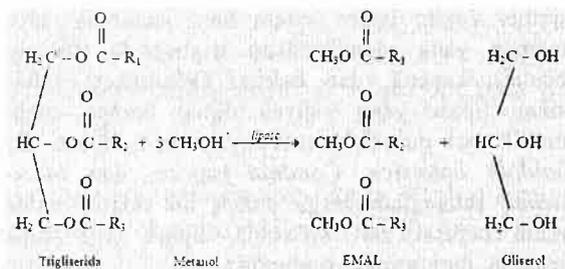
Metil ester merupakan senyawa yang dapat digunakan sebagai bahan bakar pengganti solar yang saat ini dikenal dengan biodiesel. Metil ester saat ini sudah diproduksi di Indonesia dengan bahan baku minyak sawit dan minyak jarak. Produksinya masih terbatas karena bahan baku minyak sawit masih banyak digunakan untuk minyak goreng dan minyak jarak belum banyak dihasilkan. Kelapa merupakan salah satu komoditi yang dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan metil ester. Kelapa banyak tersedia di Indonesia dan relatif murah. Kelapa banyak dihasilkan di Jawa Tengah, Jawa Timur, Riau, Sulawesi Tengah, dan Sulawesi Utara dengan produksi nasional yang mencapai 3.098.539 ton/tahun (Anonim, 2004). Konversi minyak kelapa menjadi metil ester dalam industri oleokimia maupun biodiesel merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan nilai manfaat bahan komoditi ini. Biodiesel dari minyak kelapa biasanya disebut *cocodiesel*. Pembuatan biodiesel dilakukan melalui proses trans-esterifikasi minyak dengan alkohol menggunakan katalis asam (seperti  $H_2SO_4$ ), basa (seperti KOH, NaOH, dan  $CaCO_3$ ), atau enzim lipase. Penggunaan katalis enzim mempunyai beberapa keuntungan dibandingkan katalis asam atau basa, yaitu proses dapat berlangsung pada suhu rendah (30-55°C), mempunyai spesifisitas yang tinggi sehingga tidak ada reaksi samping, dan hasilnya tidak korosif. Enzim yang biasa digunakan dalam reaksi trans-esterifikasi adalah lipase. Lipase termasuk dalam golongan enzim hidrolitik, yaitu enzim yang dapat menghidrolisis triasilgliserol menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Enzim lipase mempunyai aktivitas

maksimum pada daerah permukaan antar fase di mana enzim terlarut dengan fase minyak. Lipase mempunyai sifat-sifat yang berbeda, salah satu yang spesifik adalah terhadap posisi dan jenis asam lemak. Sumber enzim lipase antara lain: pankreas, susu, tanaman yang menghasilkan trigliserida (kacang, kedelai), kapang, dan bakteri (Whittaker, 1994). Enzim lipase yang banyak dijual berupa enzim amobil dari mikrobia, misalnya enzim lipase dari *Candida antarctica*, *Candida rugosa*, dan *Mucor miehei*, sedangkan harga enzim ini relatif mahal. Selain berasal dari mikrobia, lipase juga dapat diekstrak dari tumbuh-tumbuhan.

Menurut Mukherjee (1996), getah pepaya ternyata mengandung enzim yang mempunyai aktivitas lipolitik. Hasil penelitian Tjahjono (1999) menunjukkan bahwa reaksi pembuatan ester butil asam lemak dari minyak kelapa sawit dengan butanol yang dikatalisis enzim lipase yang berasal dari *Rhizomucor miehei* (*Lysozyme-IM*), *Candida antarctica* (*Novozyme-435*), getah pepaya (*Carica papaya latex*, CPL, yang diproduksi oleh *Sigma*), dan dedak padi menghasilkan konversi yang berbeda-beda. *Lysozyme-IM* menghasilkan konversi 90,7%, *Novozyme-435* menghasilkan 89,5%, CPL mampu menghasilkan konversi 46,7%, dan dedak padi mengkonversi 15,6% minyak sawit. Lipase getah pepaya terikat kuat dalam getah pepaya sehingga tidak dapat diisolasi seperti halnya enzim *papain* yang dapat dengan mudah dipisahkan dari getah pepaya melalui proses pemurnian. Aktivitas lipolitik getah pepaya sangat dipengaruhi oleh banyaknya penyadapan. Getah pepaya yang diperas pada penyadapan kedua memiliki aktivitas yang lebih rendah (biasanya menjadi sekitar 50%) dari

penyadapan pertama. Getah pepaya yang diperoleh dari penyadapan pertama diketahui dapat digunakan dalam modifikasi komposisi asam lemak dengan cara hidrolisis selektif (Caro, 2000). Getah pepaya (CPL) harganya murah dan berpotensi untuk mengkatalisis proses trans-esterifikasi minyak menjadi ester asam lemak, tetapi belum banyak diteliti, sedangkan tanaman pepaya cukup banyak tumbuh di Indonesia. Dari penelitian Tjahjono (1999), alkoholisis dengan katalis CPL belum menghasilkan konversi trigliserida yang tinggi. Namun demikian, jika alkohol yang digunakan berupa alkohol dengan rantai yang lebih pendek (seperti metanol), maka tingkat konversinya diharapkan akan meningkat. Aktivitas enzim lipase dinyatakan dalam unit, sedangkan satu unit lipase menyatakan jumlah atau banyaknya lipase yang mampu memproduksi 1 mol asam lemak per menit (Marseno, 1998).

Teknologi alkoholisis secara umum berupa reaksi trans-esterifikasi. Teknologi ini sesuai diterapkan pada minyak yang mengandung banyak asam lemak jenuh seperti minyak sawit, minyak kelapa, atau minyak sejenisnya yang tidak mudah tengik. Untuk minyak jarak atau minyak yang mengandung banyak asam lemak tak jenuh, teknologi esterifikasi-transesterifikasi (estrans) lebih sesuai untuk diterapkan. Reaksi pembentukan ester metil asam lemak (EMAL) dan gliserol dari trigliserida dalam minyak dan metanol (atau reaksi metanolisis) dengan katalis enzim lipase, mengikuti persamaan reaksi sebagai berikut.



Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap proses trans-esterifikasi minyak dengan alkohol menggunakan enzim lipase antara lain adalah temperatur, perbandingan enzim dengan substrat, kecepatan pengadukan, jenis lipase, dan perbandingan reaktan (atau perbandingan antara alkohol dengan minyak). Reaksi metanolisis dengan katalis enzim lipase ini dianggap reaksi sederhana sehingga kinetika reaksinya dapat didekati dengan

$$\text{model Michaelis-Menten: } v = \frac{v_{\text{maks}} C_S}{K_M + C_S}, \text{ dengan } v$$

menyatakan kecepatan reaksi enzimatik,  $C_S$  menyatakan konsentrasi substrat (yang dalam hal ini adalah trigliserida dalam minyak kelapa), serta  $v_{\text{maks}}$  dan  $K_M$  menyatakan konstanta-konstanta Michaelis-Menten.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi operasi yang optimum dan parameter kinetika reaksi

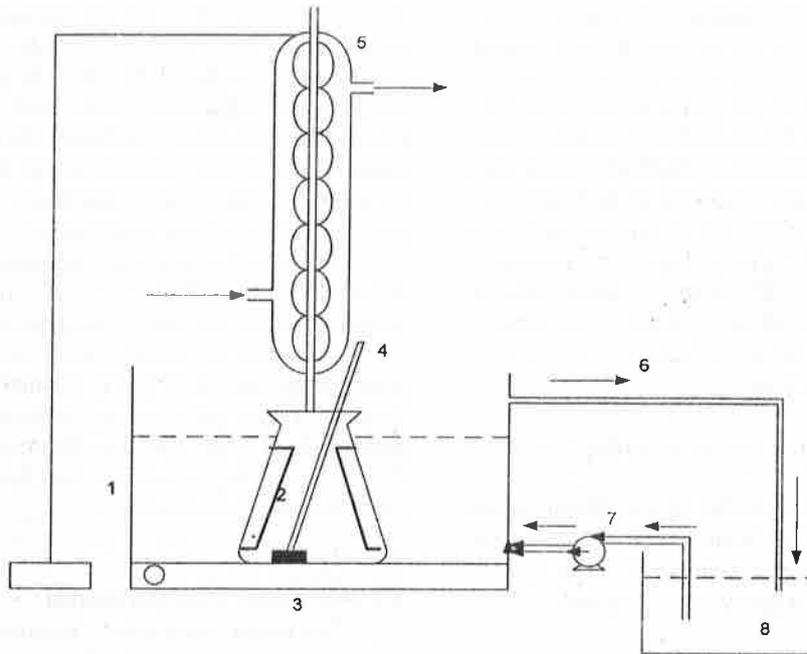
trans-esterifikasi minyak kelapa dan metanol dengan katalis enzim lipase di dalam bubuk getah pepaya (CPL). Variabel yang diamati meliputi kecepatan pengadukan dan banyaknya (atau aktivitas) enzim lipase (atau perbandingan enzim dengan substrat) dalam CPL yang digunakan.

## II. Metodologi Penelitian

Bahan-bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini berupa minyak kelapa (diperoleh dari daerah Kulon Progo), bubuk getah pepaya (*Carica papaya latex*, CPL) yang diperoleh dari Laboratorium Teknologi Pertanian UGM, dan larutan metanol prima (99,5 %), serta bahan pembantu berupa air (*aquadest*) dan bahan-bahan untuk analisis.

Langkah awal penelitian berupa penyiapan bahan dan alat. Jenis asam lemak, komposisi asam lemak, kadar asam lemak bebas, dan kadar air dalam minyak kelapa dianalisis. Analisis jenis dan komposisi asam lemak dilakukan dengan *gas chromatography mass spectrometry* (GC-MS). Aktivitas enzim lipase dalam CPL diuji dengan metode *Lindfield-Tsujisaka*. Percobaan dilakukan dalam reaktor berbentuk labu gelas yang dilengkapi dengan pengaduk magnetik, *baffle*, dan *waterbath* untuk mempertahankan suhu, serta beroperasi secara *batch*. Rangkaian alat untuk percobaan ini disajikan pada Gambar 2.

Air dalam *waterbath* dipanaskan sampai 55°C. Minyak kelapa sebanyak 100 ml dimasukkan ke dalam reaktor dan dipanaskan sampai 55°C. Bersamaan dengan itu, bubuk getah pepaya dengan berat yang bervariasi dilarutkan dalam 48 ml metanol, dipanaskan sampai 55°C, dan kemudian dimasukkan ke dalam reaktor. Pengaduk dijalankan dengan kecepatan yang bervariasi dan reaksi dihentikan setelah berlangsung selama 10 jam. Larutan hasil reaksi didiamkan selama 24 jam sehingga terbentuk larutan dua fasa. Fasa ringan terdiri dari metil ester, metanol, dan sisa trigliserida, sedangkan fasa berat terdiri dari gliserol. Kedua fasa dipisahkan, selanjutnya fasa ringan dicuci dengan air sambil diaduk selama 5 menit untuk melarutkan metanol yang masih terikat dalam metil ester. Fasa berat yang terdiri dari gliserol, enzim, dan sedikit trigliserida yang terikat kemudian disentrifugasi untuk mengendapkan enzimnya. Kadar gliserol kemudian dianalisis dengan *gas chromatography*. Konversi trigliserida dihitung berdasarkan kadar gliserol yang terbentuk. Percobaan reaksi trans-esterifikasi ini dilakukan pada perbandingan molar minyak dengan metanol tetap, yaitu 1:4. Percobaan dilakukan dengan variasi kecepatan pengadukan 800-1200 rpm dan berat bubuk getah pepaya 4-10 gram. Untuk memperoleh model persamaan laju reaksinya, data konversi trigliserida setiap waktu diambil pada percobaan dengan kondisi operasi terbaik (optimum), dan selanjutnya diuji dengan model kinetika Michaelis-Menten



Keterangan gambar:

- 1. Waterbath
- 2. Labu Erlenmeyer dengan baffle
- 3. Pengaduk magnetik
- 4. Termometer
- 5. Pendingin balik
- 6. Selang sirkulasi
- 7. Pompa sirkulasi
- 8. Bak sirkulasi

Gambar 2. Rangkaian alat percobaan.

III. Hasil dan Pembahasan

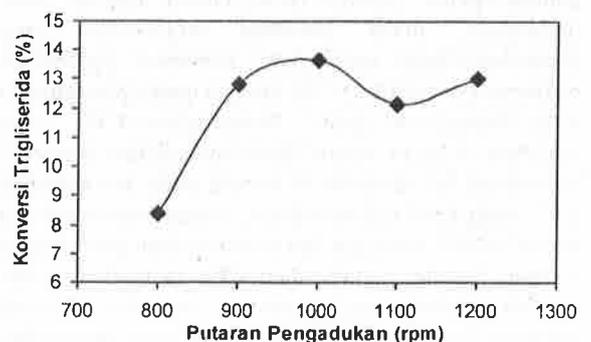
Minyak kelapa yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai kadar asam lemak bebas sebesar 0,51% dan kadar air sebesar 0,5%, sedangkan komposisi asam lemaknya disajikan pada Tabel 1. Enzim lipase yang ada dalam bubuk getah pepaya mempunyai aktivitas sebesar 81,33 unit/gram. Semua percobaan dilakukan dengan volume minyak kelapa 100 ml (0,2955 gmol), metanol 48 ml (1,18 gmol), waktu reaksi 10 jam, dan suhu reaksi 55°C.

Tabel 1. Komposisi asam lemak di dalam minyak kelapa

Jenis Asam Lemak	BM (Massa Molekul Relatif)	Komposisi (%)
Asam oktanoat	144	12,90
Asam laurat	200	54,77
Asam miristat	228	14,34
Asam kaproat	172	8,86
Asam palmitat	256	4,61
Lain-lain		4,52
<b>Jumlah</b>		<b>100,00</b>

3.1. Pengaruh Kecepatan Pengadukan terhadap Konversi Reaksi

Pengaruh kecepatan putaran pengadukan terhadap konversi trigliserida ditampilkan pada Gambar 3.



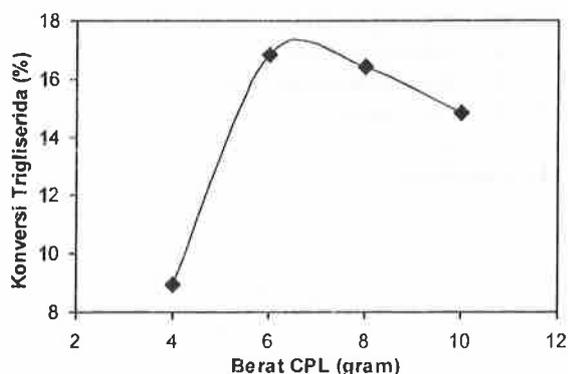
Gambar 3. Hubungan antara kecepatan putaran pengadukan dan konversi trigliserida dengan 8 gram katalis bubuk getah pepaya (aktivitas lipase = 81,33 unit/gram)

Dari Gambar 3, terlihat bahwa kenaikan kecepatan pengadukan dari 800 rpm sampai 900 rpm

menyebabkan kenaikan konversi trigliserida yang cukup signifikan. Hal ini disebabkan transfer massa reaktan masih lambat, sehingga masih berpengaruh besar terhadap proses trans-esterifikasi. Namun demikian, pada kecepatan pengadukan yang melebihi 900 rpm, penambahan kecepatan pengadukan hanya sedikit menaikkan konversi, bahkan cenderung konstan. Pada kecepatan lebih besar dari 900 rpm transfer massa berlangsung cepat dan proses hanya dikendalikan oleh reaksi kimia. Jadi, pada kecepatan pengadukan 900 rpm telah dicapai kondisi intrinsik proses. Namun demikian, hasil pengamatan menunjukkan bahwa sebagian bubuk getah pepaya (CPL) masih belum terlarut.

### 3.2. Pengaruh Aktivitas Enzim terhadap Konversi Reaksi

Pengaruh aktivitas enzim lipase dalam bubuk getah pepaya (CPL), atau berat CPL yang mempunyai aktivitas lipase sebesar 81,33 unit/gram, terhadap konversi trigliserida disajikan dalam Gambar 4.



**Gambar 4.** Hubungan antara berat CPL (aktivitas lipase = 81,33 unit/gram) dengan konversi trigliserida pada kecepatan pengadukan 900 rpm

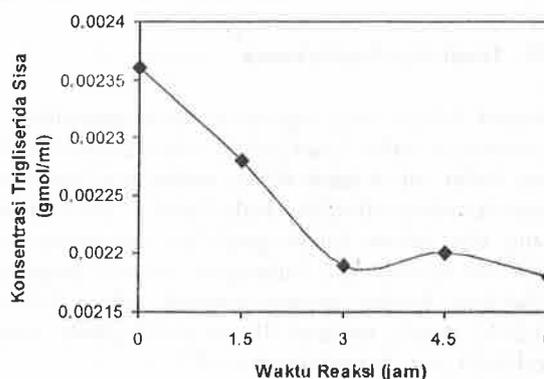
Gambar 4 memperlihatkan bahwa semakin banyak getah pepaya (atau enzim lipase) yang digunakan, maka konversi trigliserida yang dihasilkan juga meningkat. Konversi trigliserida tertinggi (yaitu 16,85 %) dicapai pada penggunaan CPL seberat 6 gram. Penambahan CPL yang melebihi 6 gram relatif tidak menaikkan konversi. Fenomena ini disebabkan karena pada penambahan CPL yang kecil (yaitu 4 gram) ikatan enzim-substrat masih sedikit sehingga laju pembentukan produk juga lambat. Setelah penambahan CPL menjadi 6 gram, jumlah ikatan enzim-substrat semakin banyak sehingga laju pembentukan produk juga meningkat. Namun demikian, ketika dilakukan penambahan CPL lebih dari 6 gram ternyata konversi cenderung tetap. Hal ini disebabkan karena pada penambahan CPL 6 gram dimungkinkan telah tercapai kesetimbangan reaksi. Dengan demikian, penambahan berat CPL mengakibatkan bertambahnya keaktifan enzim lipase yang terkandung di dalamnya. Hal ini mengakibatkan

bertambahnya kecepatan reaksi atau mempercepat tercapainya konversi kesetimbangan, akan tetapi jumlah gliserol yang dihasilkan tidak berubah. Selain itu, pada penambahan CPL lebih dari 6 gram teramati ada sebagian CPL yang tidak larut sehingga enzim lipase di dalamnya menjadi kurang berfungsi. Dengan demikian, gliserol yang dihasilkan tidak bertambah, bahkan pada penambahan CPL sebesar 10 gram terjadi penurunan hasil reaksi.

Hasil-hasil percobaan dengan variabel berat katalis ini menunjukkan bahwa konversi trigliserida sangat dipengaruhi oleh kelarutan CPL. Selain itu, jika dibandingkan dengan hasil proses alkoholisis yang menggunakan CPL dari Sigma (Tjahjono, 1999), konversi trigliserida yang diperoleh dari penelitian ini jauh lebih rendah. Hal ini dikarenakan CPL yang digunakan pada penelitian ini bukan merupakan produksi pabrik (komersial).

### 3.3. Parameter Kinetika Reaksi

Penentuan parameter kinetika reaksi trans-esterifikasi secara enzimatik ini didasarkan pada pendekatan model Michaelis-Menten, dengan mengambil data dari percobaan sebelumnya pada kondisi yang terbaik (optimum). Hubungan antara waktu reaksi dengan konsentrasi trigliserida (substrat) yang tersisa ditampilkan pada Gambar 5. Dari Gambar 5, dapat dilihat bahwa konsentrasi trigliserida turun seiring dengan bertambahnya waktu reaksi sampai dengan 3 jam, dan setelah itu mengalami penurunan yang kurang signifikan.



**Gambar 5.** Profil konsentrasi trigliserida sisa terhadap waktu pada percobaan dengan berat CPL = 6 g (aktivitas = 62,12 unit/g), dan kecepatan pengadukan = 900 rpm.

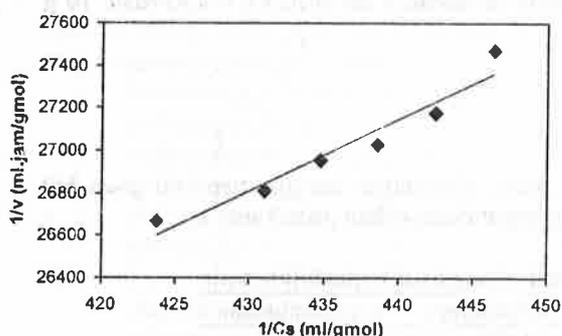
Parameter kinetika reaksi menurut model Michaelis-Menten pada penelitian ini ditentukan melalui pemanfaatan data kinetika yang berupa simulasi data pada rentang waktu sampai dengan 2,4 jam (sebelum 3 jam). Pada rentang waktu tersebut kondisi reaksi masih berada jauh dari kesetimbangan dan peninjauan kinetika reaksi secara *batch* paling baik dilakukan sebelum reaksi mencapai kesetimbangan. Harga-harga parameter kinetika reaksi ini selanjutnya dapat ditentukan melalui *Lineweaver-Burk plot*, yaitu

plot antara  $1/v$  dengan  $1/C_s$ , yang hasil-hasilnya disajikan pada Gambar 6.

Gambar 6 memperlihatkan profil *Lineweaver-Burk plot* yang berupa *trend* garis lurus. Hal ini menunjukkan bahwa reaksi tran-esterifikasi antara minyak kelapa dan metanol dengan katalis enzim lipase dalam bubuk getah pepaya ini mengikuti model kinetika Michaelis-Menten dengan harga  $K_M$  sebesar  $0,00230$  gmol/ml dan  $v_{maks}$  sebesar  $7,41 \times 10^{-5}$  gmol/ml/jam. Dengan demikian, kinetika reaksi ini

mempunyai bentuk:  $v = \frac{7,41 \times 10^{-5} C_s}{0,00230 + C_s}$ , dengan:

$v$  [=] gmol/ml/jam dan  $C_s$  [=] gmol/ml. Berdasarkan harga-harga parameter kinetika yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa reaksi ini berlangsung sangat lambat. Hal ini dikarenakan enzim yang digunakan mempunyai aktivitas yang rendah (dari bubuk getah pepaya yang belum diolah), karena bukan diproduksi oleh perusahaan yang khusus membuat enzim secara komersial.



Gambar 6. *Lineweaver-Burk plot* untuk menentukan parameter model kinetika Michaelis-Menten.

#### IV. Kesimpulan dan Saran

Beberapa hal yang dapat disimpulkan dari penelitian ini meliputi:

1. Kondisi operasi yang terbaik pada percobaan ini (pada perbandingan molar minyak kelapa dan metanol = 1:4 dan suhu reaksi  $55^\circ\text{C}$ ) adalah berat CPL 6 g (dengan aktivitas enzim lipase sebesar 81,33 unit/gram) dan kecepatan pengadukan 900 rpm yang menghasilkan konversi trigliserida sebesar 16,85 %.
2. Model kinetika reaksi trans-esterifikasi minyak kelapa dengan metanol menggunakan enzim lipase dalam katalis getah pepaya (CPL) mengikuti model

Michaelis-Menten dengan harga  $K_M = 0,00230$  gmol/ml dan  $v_{maks} = 7,41 \times 10^{-5}$  gmol/ml/jam.

Sebagai saran, untuk penelitian selanjutnya perlu dicari cara-cara untuk membuat katalis enzim lipase dari CPL dengan aktivitas lebih tinggi dan cara-cara melarutkannya yang lebih sempurna supaya diperoleh konversi trigliserida yang lebih tinggi.

#### V. Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) UPN "Veteran" Yogyakarta, yang telah memberikan bantuan dana untuk penelitian ini
2. Iskandar Wibowo dan Ernance Dwi Mayasari, yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini.

#### VI. Pustaka

- Anonim, 2004, *Prospek dan Arah Pengembangan Agribisnis Kelapa*, Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian Agribisnis Kelapa, <http://www.litbang.deptan.go.id> (28 November 2008)
- Caro, Y., P. Villeneuve, M. Pina, M. Reynes, and J. Graille, 2000, *Lipase Activity and Fatty Acid Typoselectivities of Plant Extracts in Hydrolysis and Interesterification*, Journal of the American Oil Chemists' Society (JAOCS), 77 (4): 349-354
- Marseno, D.W., R.Indrati and Y. Ohta. 1998. *A Simplified Method for Determination of Free Fatty Acids for Soluble and Immobilized Lipase Assay*, Indonesian Food and Nutrition Progress,5:79-83.
- Mukherjee, K. D., and I. Kiewitt. 1996. *Specificity of Carica Papaya Latex as Biocatalyst in the Esterification of Fatty Acid with i-Butanol*. J. Agric. Food. Chem. 44:1948-1952.
- Tjahjono Herawan dan Jenny Elisabeth, 1999, *Pembuatan Ester dari Asam Lemak Sawit Secara Enzimatik*, Jurnal Penelitian Kelapa Sawit, 7 (3):187-196
- Whittaker, J. R., 1994, *Principles of Enzymology for the Food Sciences*, Marcell Dekker Inc., New York.