

Sintesis Biosurfaktan Palmitin Etanolamida Menggunakan Biokatalis Lipase Imobil Getah Pepaya

Hendra¹ Rahman² Nurhaeni³

¹Alumni Jurusan Kimia FMIPA, Universitas Tadulako, Palu

²Lab Penelitian Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Tadulako

³Lab Kimia Dasar Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Tadulako

Abstrak

Biosurfaktan palmitin etanolamida diperoleh dari reaksi antara asam palmitat dan etanolamina dengan menggunakan katalis enzim lipase imobil getah pepaya dan pelarut organik n-heksan. Pengaruh enzim lipase dapat dianalisa dengan menggunakan katalis enzim lipase ekstrak getah pepaya yang telah diimobilisasi dan reaksi tanpa katalis sebagai pembanding. Telah dilakukan tiga variasi untuk mendapatkan kondisi optimum reaksi masing-masing adalah variasi waktu, konsentrasi enzim imobil dan rasio asam palmitat terhadap etanol amida. Dari ketiga variasi tersebut maka waktu 72 jam, 12,5% enzim imobil dan rasio 1 : 7 memberikan hasil yang optimal dan hasil dilihat dari besarnya bilangan ester yang diperoleh.

Kata Kunci : *Biosurfaktan, lipase, getah pepaya, palmitin etanolamida.*

I. LATAR BELAKANG

Surface active agent (surfaktan) merupakan bahan aktif permukaan yang mempunyai peranan penting sebagai emulsifier (industri kosmetik, industri makanan, dan industri minuman), pelarut obat (industri farmasi), penyempurna dalam penyebaran warna kain (industri tekstil) dan pelunak kulit (Anah dan Mahfud, 2011).

Surfaktan pada umumnya disintesis dari turunan minyak bumi, seperti linier alkil benzen sulfonat (LAS), alkil sulfonat (AS). Namun surfaktan ini dapat

menimbulkan pencemaran terhadap lingkungan karena setelah digunakan akan menjadi limbah yang sukar terdegradasi dan tidak dapat diperbaharui. Oleh karena itu, banyak pihak mencari alternatif surfaktan yang mudah terdegradasi dan berasal dari bahan baku yang dapat diperbaharui yang dikenal dengan biosurfaktan (Zuhrina 2010). Dewasa ini, penggunaan biosurfaktan meningkat karena memiliki kemampuan yang cukup tinggi dalam menurunkan tegangan antarmuka pada konsentrasi rendah dan bersifat homogen. Biosurfaktan sangat bervariasi sehingga sangat luas fungsinya,

dapat diterapkan pada perlindungan lingkungan dan kesehatan, bersifat nontoksik serta ramah lingkungan (Kardawati, 2008).

Aplikasi enzim dalam proses sintesis senyawa-senyawa kimia termasuk surfaktan merupakan salah satu terobosan dalam teknologi sintesis, terutama berkaitan dengan *green technology* sehingga beberapa peneliti telah melakukan pengkajian lebih lanjut tentang sintesis surfaktan dengan menggunakan enzim lipase khususnya dalam mengkatalisis reaksi esterifikasi dan amidasi (Ismail, 2008). Elisabet dkk (2006) mengemukakan bahwa enzim lipase mikrobial seperti *Rhizomucor Meihei Lipase*, SP254 dan Lipase B dari *Candida antarctica*, Novozym 435 dapat digunakan untuk mensintesis biosurfaktan alkanolamida namun penggunaan lipase ini memiliki biaya yang relatif mahal, karena proses produksi dan isolasinya relatif rumit. Lebih lanjut Ismail (2008) mengemukakan bahwa salah satu sumber enzim lipase adalah getah pepaya (*Carica Papaya Latex*) yang telah dibuktikan memiliki aktivitas katalisis dalam proses hidrolisis lemak, esterifikasi, transesterifikasi beberapa asam lemak rantai panjang dan reaksi pembentukan amida pada sintesis parasetamol.

Menurut Zuhrina (2010) surfaktan etanolamida bersifat lebih efektif baik sebagai penstabil busa, pengental dan booster busa. Pemanfaatan etanolamida dapat ditemukan pada pembuatan deterjen, agen emulsifier, dan kosmetika. Lebih lanjut Rosdiana (2009) mengemukakan bahwa surfaktan ester asam lemak dapat digunakan dalam industri rumah tangga.

II. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Bahan utama dalam penelitian ini adalah getah pepaya dengan tahapan perlakuan sebagai berikut:

1. Preparasi dan Imobilisasi Enzim (Sudardi dkk, 2006)

Diambil 100 getah pepaya dan ditambahkan dengan larutan fisiologis (NaCl 0,98 %) dengan perbandingan 1 : 2, lalu diaduk dengan magnetig stirrer selama 3 jam pada suhu $\pm 5^{\circ}\text{C}$. Selanjutnya disaring dengan kertas saring whatman. Filtrat difraksinasi dengan ammonium sulfat kejenuhan 20% untuk membuang protein pengotornya dan didekantasi dengan kecepatan 12000 rpm. Filtrat selanjutnya difraksinasi kembali dengan ammonium sulfat kejenuhan 80% lalu didekantasi dengan kecepatan yang sama.

Endapan protein di larutkan dalam buffer fosfat encer 0,01 M pH 7,3. Cairan selanjutnya di tambahkan alginat sampai kadarnya 3% lalu campuran protein alginat di larutkan dalam CaCl_2 jenuh dengan menggunakan pipet drop. Butiran enzim imobil kemudian di cuci dengan akudes lalu dikeringkan dalam *freeze dryer* selama 48 jam.

2. Pengaruh Waktu Reaksi (Zuhrina, 2005)

Untuk mendapat kondisi optimum reaksi amidasi maka digunakan 5 tingkatan waktu reaksi masing-masing 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan 120 jam dengan perbandingan substrat 5 gram asam palmitat : 1 gram etanolamina dengan konsentrasi enzim imobil 10 % dari substrat asam palmitat dan dilarutkan dalam n-heksan. Pada akhir reaksi enzim imobil dipisahkan dari larutan lalu produk dipisahkan dari n-heksan dengan menggunakan rotary vakum evaporator.

3. Pengaruh Konsentrasi Enzim (Zuhrina, 2005)

Untuk mendapat kondisi optimum reaksi amidasi maka digunakan 5 tingkatan konsentrasi enzim imobil masing-masing 5%, 7,5% , 10%, 12,5% dan 15% dari substrat asam palmitat dengan perbandingan substrat 5 gram asam palmitat : 1 gram etanolamina dengan Sintesis Biosurfaktan Palmitin Etanolamida Pepaya

menggunakan kondisi terbaik dari pengaruh waktu reaksi dan dilarutkan dalam n-heksan. Pada akhir reaksi enzim imobil dipisahkan dari larutan lalu produk dipisahkan dari n-heksan dengan menggunakan rotary vakum evaporator.

4. Pengaruh Rasio Substrat Asam Palmitat Terhadap Etanolamina (Zuhrina, 2005)

Untuk mendapat kondisi optimum reaksi amidasi maka digunakan 5 tingkatan rasio substrat asam palmitat terhadap etanolamina dengan rasio 1:1, 3:1, 5:1, 7:1 dan 9:1 dengan menggunakan kondisi terbaik dari pengaruh waktu reaksi dan konsentrasi enzim. substrat dilarutkan dalam n-heksan. Pada akhir reaksi enzim imobil dipisahkan dari larutan lalu produk dipisahkan dari n-heksan dengan menggunakan rotary vakum evaporator.

5. Analisis Bilangan Ester (Hilyati dkk, 2004)

Satu gram contoh dilarutkan dalam 10 mL etanol, tambahkan indikator pp dan 0,1 N KOH-etanol sampai warna merah. Tambahkan 25 mL 0,4 N OH-etanol refluks selama 1,5 jam. Bahan didinginkan dan selanjutnya dititrasi dengan 0,5N larutan H_2SO_4 sampai warna hamper hilang (a mL). Buat larutan blanko dengan komposisi 5 mL

Menggunakan Biokatalis Lipase Imobil Getah

etanol, 0,1N KOH-etanol dan 25 mL 0,4 N KOH-etanol dengan cara yang sama (b mL) Bilangan ester relevan terhadap biosurfaktan alkanolamida maupun ester asam lemak yang terbentuk dan dapat dihitung dengan menggunakan persamaan :

$$BE = \frac{(\text{BlankBo} - \text{Sampel}) \times N \text{ H}_2\text{SO}_4 \times \text{BM KOH}}{\text{Bobot Contoh}}$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengaruh Waktu Reaksi

Penentuan waktu optimum lipase dilakukan untuk mengkatalisis reaksi dengan variasi waktu masing-masing 24 jam, 48 jam, 72 jam, 96 jam dan 120 jam.

Hasil analisis statistik menunjukkan bilangan ester yang dihasilkan dari waktu reaksi selama 72 jam menunjukkan perbedaan yang sangat nyata terhadap variasi waktu yang lain sehingga dapat disimpulkan bahwa waktu berpengaruh terhadap proses sintesis biosurfaktan dan 72 jam dengan nilai bilangan ester sebesar 156,87610 mg/g merupakan waktu terbaik yang dapat digunakan untuk mensintesis biosurfaktan.

Hal ini disebabkan karena enzim memiliki batas kemampuan dengan waktu tertentu untuk mengkatalisis baik dalam menghidrolisis ataupun mensintesis substrat. Setelah melewati waktu optimum

maka enzim akan terdenaturasi secara perlahan sehingga terjadi penurunan aktivitas enzim. Dengan demikian maka produk yang dihasilkan akan semakin berkurang (Zuhrina, 2005)

2. Pengaruh Konsentrasi Enzim

Penentuan kondisi optimum reaksi dilakukan dengan menggunakan 5 variasi konsentrasi enzim dalam persen (b/b).

Hasil analisis statistik menunjukkan bilangan ester yang dihasilkan dari konsentrasi 5 % dan 7,5 % menunjukkan perbedaan tidak nyata, konsentrasi enzim 10 % dan 15 % dan konsentrasi 12,5 % memiliki perbedaan yang nyata dengan konsentrasi enzim yang lain sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi enzim berpengaruh terhadap proses sintesis biosurfaktan. Dengan demikian maka konsentrasi enzim 12,5 % dengan nilai bilangan ester sebesar 173,58890 mg/g merupakan konsentrasi terbaik yang dapat digunakan untuk mensintesis biosurfaktan.

Hal ini menunjukkan bahwa aktifitas enzim akan meningkat seiring dengan meningkatnya persen berat enzim terhadap substrat asam palmitat namun pada konsentrasi enzim 15 % terlihat bahwa terjadi penurunan derajat esterifikasi sebab dengan penambahan

konsentrasi enzim pada substrat yang tetap akan membuat kecepatan reaksi semakin tinggi dan akan mencapai titik maksimum namun kerja enzim dapat dikendalikan dalam hal ini pada keadaan tertentu sintesis akan dihambat oleh produk akhir sebagai derivat dari reaktan asam palmitat melalui penghambatan aktivitas (*inhibisi*) secara cepat sehingga terjadi penurunan aktivitas enzim (Sylvia, 2008).

3. Pengaruh Rasio Substrat Asam Palmitat Terhadap Etanolamina

Proses sintesis biosurfaktan ini juga di buat Rasio substrat terhadap peningkatan bilangan ester masing-masing 1:1, 3:1, 5:1, 7:1 dan 9:1.

Hasil analisis statistik menunjukkan masing-masing rasio menunjukkan perbedaan yang sangat nyata terhadap variasi rasio yang lain sehingga dapat disimpulkan bahwa rasio substrat berpengaruh terhadap proses sintesis biosurfaktan dan rasio 7 : 1 dengan nilai bilangan ester sebesar 251,59475 mg/g merupakan rasio terbaik yang dapat digunakan untuk mensintesis biosurfaktan. Hal ini disebabkan karena enzim memiliki batasan aktifitas pada jumlah substrat yang tersedia dimana pada konsentrasi substrat yang rendah, bagian aktif enzim hanya menampung substrat sedikit Sintesis Biosurfaktan Palmitin Etanolamida Menggunakan Biokatalis Lipase Imobil Getah Pepaya

(Zuhrina,2005). Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak pula yang dapat berhubungan dengan enzim pada bagian aktif tersebut. Dengan demikian konsentrasi kompleks enzim substrat makin besar dan hal ini menyebabkan makin bertambahnya kecepatan reaksi. Pada batas konsentrasi substrat tertentu, semua bagian aktif enzim telah dipenuhi dengan substrat atau telah jenuh dengan substrat. Dalam keadaan ini, bertambah besarnya konsentrasi substrat tidak menyebabkan bertambahnya besarnya konsentrasi kompleks enzim substrat, sehingga jumlah hasil reaksinya pun tidak bertambah besar (Poedjiadi, 2009).

4. Hasil Analisis Produk Biosurfaktan

Hasil analisis produk biosurfaktan dimana asam palmitat yang direaksikan dengan etanolamina dengan menggunakan katalis ataupun tanpa katalis dapat menghasilkan palmitin etanolamida. Hal ini dapat ditunjukkan dengan spektrum IR. Berikut ini adalah tabel perbandingan hasil analisis dengan FTIR pada sampel yang menggunakan katalis dan tanpa katalis.

Tabel 1. Perbandingan hasil analisis sampel dengan menggunakan katalis dan tanpa katalis.

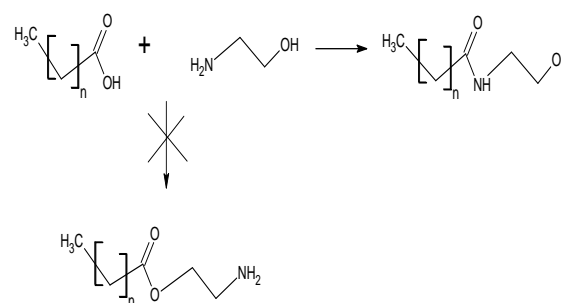
Gugus Fungsi	Sampel Dengan Katalis (cm ⁻¹)	Sampel nonatalis (cm ⁻¹)
C = O	1640	1633
C – N	1469	1468
C – H	2850	2850
O – H/N – H	3435	3433

(Sumber : Silverstein dkk, 2005)

Hasil analisis ini juga didukung oleh adanya N-H amida bending di daerah bilangan gelombang 617,89 cm⁻¹ pada sampel yang menggunakan katalis dan 618,45 cm⁻¹ pada sampel tanpa katalis (Silverstein dkk, 2005) namun spektrum ini menunjukkan peristiwa overlap antar gugus fungsi sehingga terjadi pergeseran bilangan gelombang sebagai akibat dari sampel yang tidak dimurnikan terlebih dahulu sehingga masih terdapat asam palmitat yang belum bereaksi. Hal ini didukung dengan lebarnya pita OH sebagai akibat dari adanya ikatan hidrogen yang terjadi antara asam karboksilat dengan senyawa amida yang terbentuk dan adanya gugus karbonil (C=O) dari asam karboksilat yang menyerap pada bilangan gelombang 1702 cm⁻¹ (Fessenden, 2003).

Hasil sintesis bioisurfaktan ini tidak menghasilkan ester sebab sifat kebasaan dan nukleofil dari NH₂ lebih kuat dari gugus OH dan jika alkohol amina

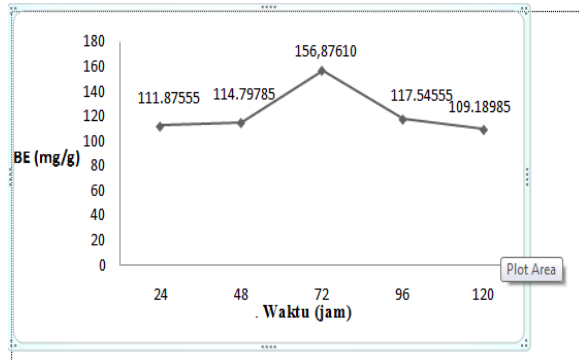
primer yang direaksikan dengan asam karboksilat memiliki n < 3 memiliki reaksifitas yang tinggi reaktifitas yang tinggi dan migrasi dari gugus ester menjadi amida terjadi secara spontan (Kidwai dkk, 2009). Lebih lanjut Kidwai dkk, 2009 mengemukakan bahwa reaksi antara asam lemak dan alkohol amina yang memiliki n < 3 adalah dan dikatalisis oleh enzim lipase sebagai berikut :



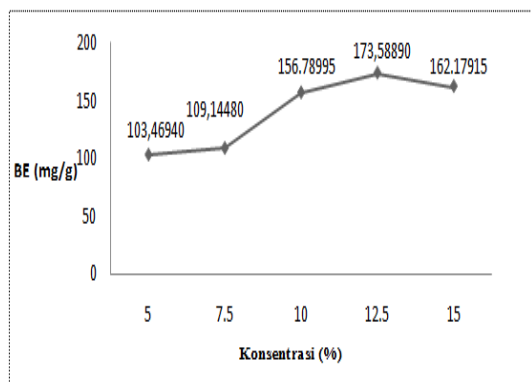
Gambar 1. Reaksi antara asam lemak dan etanolamina yang dikatalisis oleh enzim lipase (Kidwai dkk,2009).

Hasil analisis didukung dengan tidak terdapatnya peak pada bilangan gelombang di daerah sekitar 1740 cm⁻¹ yang merupakan absorpsi inframerah karbonil ester alifatik (C=O) (Fessenden, 2003).

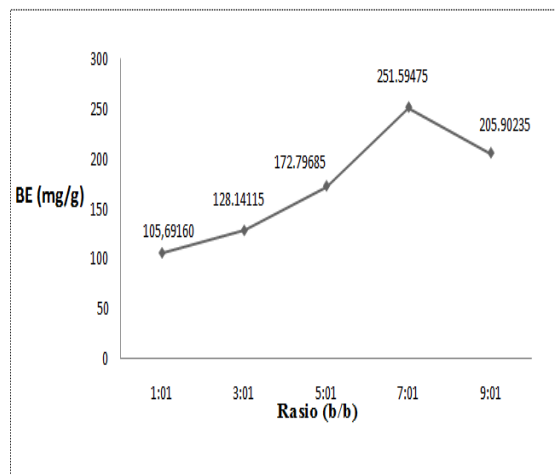
Jadi produk yang dihasilkan dari reaksi antara asam palmitat dan etanolamina dengan menggunakan biokatalis lipase imobil dari getah pepaya hanyalah suatu senyawa amida (palmitin etanolamida).



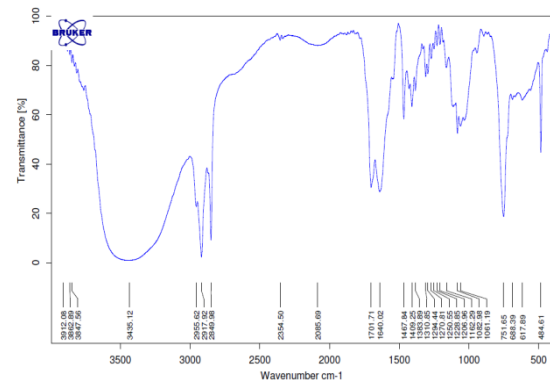
Gambar 2. Grafik pengaruh waktu reaksi terhadap peningkatan derajat esterifikasi.



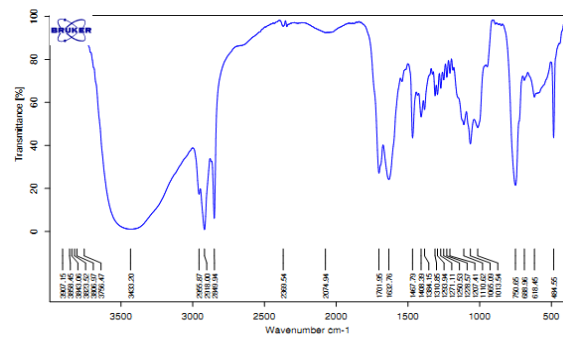
Gambar 3. Grafik pengaruh konsentrasi enzim Terhadap peningkatan derajat esterifikasi.



Gambar 4. Grafik pengaruh rasio terhadap peningkatan derajat esterifikasi.



Gambar 5. Spektrum FTIR sampel dengan menggunakan katalis



Gambar 6. Spektrum FTIR sampel tanpa katalis

IV. KESIMPULAN

1. Enzim lipase getah pepaya dapat digunakan dalam mensintesis biosurfaktan dan Hasil analisis FTIR menunjukkan bahwa reaksi antara asam palmitat dan etanolamina dengan menggunakan biokatalis enzim lipase hanyalah suatu senyawa amida (palmitin etanolamida).
2. Kondisi reaksi sintesis biosurfaktan terbaik ditemukan pada penggunaan waktu reaksi 72 jam, enzim imobil 12,5 % dan rasio asam palmitat terhadap monoetanol amina 7 : 1

dengan bilangan ester sebesar 251,59475 mg/g.

DAFTAR PUSTAKA

- Anah L dan Mahpud, 2011, Kinetika Reaksi Esterifikasi Asam Oleat dan Sorbitol Dengan Katalis Asam p-Toluen Sulfonat, Pusat Penelitian Kimia LIPI, Bandung.
- Aria, 2011, Kajian Penggunaan Ulang Ragi Roti Amobil Dalam Bioreaktor Fermentasi Sistem Batch Menggunakan Substrat Gula Pasir, Universitas Tadulako, Palu.
- Daniel, 2005, Pembuatan Surfaktan Dari Minyak Kemiri Melalui Reaksi Interesterifikasi Diikuti Reaksi Amidasi, Jurnal Sains Kimia Vol. 9 No.1 Tahun 2005, ISSN : 1410-5152.
- Elisabeth J dkk, 2002, Pemanfaatan Bahan Tumbuhan Sebagai Biokatalisator Dalam Produksi Minyak Inti Sawit Kaya Asam Lemak Omega-3, Buletin Teknologi dan Industri Pangan, Vol XIII no.2 Th. 2002.
- Fessenden dan Fessenden, 2003, Kimia Organik Jilid I, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Fessenden dan Fessenden, 2003, Kimia Organik Jilid II, Penerbit Erlangga, Jakarta
- Hilyati dkk, 2004, Penentuan Kondisi Optimum Sintesis Alkil Monoetanolamida dari minyak inti sawit, Jurnal Kimia Indonesia (Pusat Penelitian Kimia-LIPI, kawasan PUSPITEK-Serpong.
- Ikkal M., 2012, Isolasi Lipase Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) Varietas Lokal dan Aplikasinya Dalam Biosintesis Monolaurin, Universitas Tadulako, Palu.
- Ismail., 2008, Pemeriksaan Aktivitas Lipase dalam Getah Pepaya (*Carica papaya*) Sebagai Katalis pada Pembentukan Amida dalam Sintesis Parasetamol, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- J.M, Munderwa dkk, 1985, Purification and Propertis Of the Lipase From *Candida Oleformans* (Zach) and Guera, JAOCS, 62(6), 1031-1036.
- Kardawati S., 2008, Karakterisasi Biosurfaktan Yang Dihasilkan Bakteri *Providencia Rettgery* dan *Bacilus Sabtilis* Dari Reservoir Minyak Di Indonesia, Lembaran Publikasi LEMIGAS volume 42 No.3, Desember 2008: 18 – 26.
- Kidwai,dkk.,(2009) N-acylation of ethanolamine using lipase: A chemoselective catalyst, *Beilstein Journal of Organic Chemistry*,5,art. no.10.
- Kurnia, 2010, Produksi Enzim Lipase Ekstraseluler dari *Aspergillus Niger* Untuk Menghasilkan Monoasilgliserol, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Kurniasih Eka, 2008, Pemanfaatan Asam Lemak Sawit Destilat Sebagai Bahan Baku Dietanol Amida Menggunakan Lipase (*Rhizomucor Meihei*), Universitas Sumatra Utara, Padang.
- Merck chemicals, 2013, Chemicals Et Reagens, www.merck-chemicals.com, Germany.

Sintesis Biosurfaktan Palmitin Etanolamida Menggunakan Biokatalis Lipase Imobil Getah Pepaya

- Muniarsih, 1997, *Pemisahan Enzim Papain Dari Getah Pepaya (Carica papa L.)*, Skripsi Universitas Tadulako, Palu.
- Murni dkk, 2011, *Isolasi dan Karakterisasi Lipase dari Aspergillus Niger*, UPN "Veteran", Yogyakarta, ISSN 1693-1493.
- Silverstein dkk, 2005, *Spectrometric Identification Of Organic Compounds, 7th Edition*.
- Suhardi, 2003, *Penggunaan Getah Pepaya Dalam Sintesis Ester Xylitol Asam Lemak (EXAL)*, Jurnal Teknologi dan Industri Pangan XIV.
- Suhardi dkk, 2006, *Sintesis Secara Semikontinu Biosurfaktan Ester Sorbitol Oleat Dengan Menggunakan Lipase Getah Pepaya Imobil*, Majalah Ilmu dan Teknologi Pertanian Volume XVI Tahun 2006.
- Suyati dkk., 1998, *Analisis Sifat Fisiko-Kimia Dari Getah Pepaya (Candida Papa L.)*, CV. Paris. Gandul dan Bangkok.
- Sylvia, 2008, *Mikrobiologi Farmasi*, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Pelczar Michael J. dan Chan E.C.S., 2008, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Poedjiadi Ana, 2009, *Dasar-Dasar Biokimia*, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Zuhrina M., 2005, *Sintesis Biosurfaktan Dietanolamida Menggunakan Rhizomucor Meihei dan Candida Antartica*, Jurnal Teknologi Press, Media Publikasi Karya Ilmiah Teknik Kimia, 7(2) Juli 2008 : 108 – 112, ISSN 1472 – 7814.
- Zuhrina M., (2010), *Tinjauan Pustaka Biosurfaktan*, Universitas Sumatra Utara, Padang