

UJI AKTIVITAS ENZIM LIPASE PADA FRAKSI SKIM SANTAN TERHIDROLISIS

Moh. Su'i , Enny Sumaryati, Frida Dwi Anggraeni dan Aghfariza Indriyani

Fakultas Pertanian, Universitas Widyagama Malang

Korespondensi: sui_uwg@yahoo.co.id

Abstract

Article history:

Received 15 December 2022

Accepted 30 January 2023

Published 30 April 2023

Fresh coconut milk (not hydrolyzed) contains lipase enzymes. If coconut milk is hydrolyzed using lipase enzymes, it will produce free fatty acids, lauric acid, and monoglycerides (monolaurin), which have anti-bacterial and anti-viral activities. Besides that, hydrolyzed coconut milk can produce diglycerides which function as emulsifiers. During the hydrolysis process, it's a possibility of damage to the lipase enzyme due to the activity of the protease enzyme in coconut milk. The aim of this study is to examine the activity of the lipase enzyme in coconut milk which is hydrolyzed. The research used two factors, namely the first factor was the hydrolysis time (0, 24, and 48 hours) and the second factor was the incubation temperature (40 °C and 55 °C) which were arranged factorially. The study was repeated three times and used a randomized block design (RBD). The hydrolyzed fraction in the form of skim was tested for lipase enzyme activity, free fatty acid content, and yield. The results showed that coconut milk which was hydrolyzed for 2 days at 40 °C and 55 °C still contained the lipase enzyme with an activity of 3.49 to 9.40 units/ml. Large fatty acid levels ranged from 0.32 m mol/ml to 0.72 m mol/ml.

Keywords: Activity; coconut milk; enzyme; hydrolysis; lipase.

Pendahuluan

Santan kelapa mengandung minyak dan protein. Kandungan asam lemak kelapa berbeda dengan minyak lainnya. Santan mengandung asam lemak seperti asam laurat, asam kaprat dan asam miristat bermanfaat sebagai anti bakteri (Vetter dan Schlievert, 2005), menghambat perkembangan virus HIV (Conrado, 2002). Su'i, dkk (2011) berpendapat bahwa isolasi enzim lipase (kasar) dari daging buah kelapa dan aktivitas enzimnya sebesar 1,43 u mol FFA/ml enzim/Jam. Jika buah kelapa ditunaskan selama 45 hari, enzim lipase dalam daging buah meningkat menjadi 1,78 u

mol FFA/ml enzim/Jam. Selain daging buah, aktivitas enzim lipase juga terdapat dalam tunas dan kentos masing-masing sebesar 5,80 dan 2,49 u mol FFA/ml enzim/Jam. Su'i (2012 a) melakukan isolasi enzim lipase dari santan kelapa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, enzim lipase dalam santan kelapa terdapat pada fraksi skim dengan aktivitas enzim lipase sebesar 2,08 unit/ml dan aktivitas spesifik 1,11 unit/mg protein. Sedangkan pada fraksi minyak (krim) tidak terdapat enzim lipase.

Enzim lipase dalam fraksi skim selanjutnya difraksinasi menggunakan

amonium sulfat. Aktivitas spesifik paling tinggi dihasilkan pada fraksi 30-45% kemudian 45-60% dan 60-75% dengan aktivitas berturut-turut 0,55 unit/mg protein, 0,42 unit/mg protein, 0,31 unit/mg protein. Sedangkan fraksi 15-30% dan 75-90% tidak ada aktivitas enzim lipase (Su'i dan Suprihana, 2013).

Hidrolisis santan dilakukan dengan membuat santan kemudian diinkubasi. Santan yang dibuat dengan cara mencampurkan kelapa parut dengan air (1:1) kemudian diinkubasi selama 72 jam pada suhu 40 oC, menghasilkan asam laurat paling tinggi yaitu sebesar 25,86 % dari total minyak dalam santan (Su'i, dkk., 2014). Hidrolisis santan dilakukan dengan menyiapkan substrat. Substrat berupa santan sebanyak 1 liter dimasukkan ke dalam wadah, kemudian ditutup rapat dan diaduk. Setelah itu, santan dimasukkan ke dalam inkubator dengan temperature 35°C, 45°C, 55°C, dan 65°C. Sampel santan diambil selama waktu yang telah ditentukan yaitu 0, 1, 2, 3, 4 hari. Sampel yang sudah diambil dipanaskan sampai mendidih dengan tujuan untuk menghentikan kinerja enzim. Selanjutnya sampel yang sudah diinkubasi diuji. Hasil asam laurat paling tinggi terdapat pada suhu inkubasi 55°C dan lama inkubasi 48 jam yaitu 51,603% dari total asam lemak bebas yang dihasilkan. (Su'i, dkk. 2017)

Asam laurat hasil isolasi dari buah kelapa (fraksi kaya asam laurat) tersebut mampu membunuh (membunuh hampir semua sel bakteri) bakteri patogen (non patogen. Asam laurat bisa membunuh bakteri patogen *Salmonella*, *Stafilococcus aureus* dan *E. Coli*). Asam laurat mampu membunuh bakteri non patogen *Micrococcus*, *Bacillus stearothermophilus*, dan *Pseudomonas* (Su'i, dkk, 2015). Asam laurat hasil isolasi dari buah kelapa kemudian digunakan sebagai pengawet susu kedelai. Penambahan fraksi asam laurat sebesar 20% dari susu kedelai mampu mengawetkan selama 2 hari pada suhu ruang (25 °C). Setelah disimpan 2 hari, susu kedelai kemasan mengandung total mikroba $1,00 \times 10^4$ cfu/ml, asam lemak bebas 0,12 m mol/ml, pH 5,05 dan skor aroma 4

(menyukai) sehingga masih layak dikonsumsi (Su'i, dkk, 2016).

Santan yang sudah dihidrolisis, selain mengandung asam laurat juga mengandung monogliserida dan digliserida. Jumlah monogliserida dalam santan terhidrolisis sebesar 14% dari total minyak dalam santan (Su'i dkk., 2018). Jumlah digliserida dalam santan sebesar 22,88% dari total minyak (Su'i dkk., (2020 a).

Monogliserida dan digliserida digunakan sebagai bahan pengemulsi (Arbiati dkk, 2008), sebagai anti bakteri (Nuraida, dkk, 2008). Monogliserida yang berupa monolaurin bersifat anti bakteri dan anti virus (Conrado, 2002). Monogliserida dalam bentuk monolaurin dan monokaprin memiliki kemampuan anti bakteri lebih tinggi dibanding asam laurat dan asam kaprat. Sedangkan dalam bentuk digliserida (dilaurin, dan dikaprin) serta trigliserida (trilaurin) tidak memiliki aktivitas bakteriostatis (Kabara *et al.*, 1972). Monolaurin juga dapat menghambat produksi toxin dari *Stafilococcus aureus* dan bakteri gram positif lainnya. (Vetter and Schlievert, 2005).

Pembuatan monogliserida juga telah dilakukan oleh beberapa peneliti terdahulu. Luna (2011) melakukan sintesis monolaurin menggunakan bahan baku asam laurat dan gliserol dengan katalis enzim lipase amobil. Arbiati dkk. (2008) membuat monolaurin melalui .reaksi esterifikasi. Kurniasih (2014) membuat mono dan digliserida secara enzimatis. Minyak kelapa dicampur dengan gliserol dengan perbandingan 1:2 kemudian ditambah enzim papain dan pelarut hexana. Setelah diinkubasi selama 4 am pada suhu 60-70 oC dengan pengadukan 200 rpm, maka diperoleh mono dan digliserida kasar. Hasil reaksi ini dipisahkan sisia gliserol, enzim papain dan sisi pelarutnya untuk mendapatkan mono dan digliiserida yang lebih murni. Berdasarkan uraian diatas, diketahui bahwa santan (belum dihidrolisis) mengandung enzim lipase. Sedangkan santan yang sudah dihidrolisis mengandung senyawa oleo kimia diantaranya asam laurat, monogliserida,

digliserida, trigliserida. Senyawa tersebut mempunyai nilai ekonomis sangat tinggi.

Dalam santan, selain mengandung enzim lipase, juga mengandung enzim protease. Aktivitas enzim protease dalam daging buah kelapa tua (umur 12 bulan) sebesar 0,51 unit/g protein (Panicker, et. al., 2005). Enzim protease mampu mengurai protein menjadi asam amino. Semua enzim (termasuk enzim lipase) tersusun atas protein sehingga ada kemungkinan enzim lipase juga terurai oleh enzim protease selama proses hidrolisis santan. Masalahnya adalah, apakah santan yang sudah dihidrolisis masih mengandung enzim lipase yang masih aktif. Jika enzim lipase masih aktif, maka santan terhidrolisis dapat menghasilkan beberapa produk sekaligus yaitu enzim lipase, asam laurat, monogliserida dan digliserida. Jika ternyata selama proses hidrolisis santan terjadi kerusakan enzim lipase, maka enzim lipase tidak bisa diperoleh dari santan terhidrolisis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas enzim lipase dalam santan yang telah dihidrolisis. Hidrolisis santan berapa lama yang tepat sehingga aktivitas enzim lipase masih tinggi dan asam lemak bebas yang dihasilkan juga tinggi.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Juli sampai Desember 2022 di laboratorium Kimia Universitas Widya Gama Malang. Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain glassware set, mikropipet, filter plastik, pisau stainless steel, scraper stainless steel (Brilliant), mortar, centrifuge, dan neraca analitik (Mettler Toledo AL 204), magnetic stirrer, heater (Janke-Kunkel), oven, pH meter (Orion 201), termometer ruangan, spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10 UV series), fase gas kromatografi (seri HP 5890) dengan kolom CBPS.

Bahan yang digunakan antara lain, buah kelapa varitas dalam dari Lawang Kabupaten Malang, biji wijen, aquades, air destilasi bebas

ion. Bahan kimia antara lain gum arab, gliserol, hexana, tersier butanol, garam amonium sulfat, minyak olive, twin 80, petroleum eter, dietil eter, asam formiat, TCA, etanol, gliserol, NaOH, indikator pp, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , $CuSO_4$, KNa-tartrat, HCl.

Penelitian ini menggunakan dua faktor yaitu Lama hidrolisis (0, 24 dan 48 jam) suhu terhidrolisis (40 oC dan 55 oC). yang disusun secara faktorial. Penelitian diulang tiga kali. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK). Penelitian dilakukan dengan melakukan proses hidrolisis pada santan kelapa menggunakan enzim lipase endogenous pada suhu 40 °C dan 55 °C selama 0, 24 dan 48 jam. Santan yang telah terhidrolisis, dipisah minyak dan krimnya. Fraksi yang tersisa (skim) diuji aktivitas enzimnya dan asam lemak bebas.

Hasil dan Pembahasan

Rendemen

Proses pembuatan asam laurat dan monogliserida dibuat dari santan kelapa segar yang dihidrolisis menggunakan enzim lipase endogenous dalam santan. Hidrolisis dilakukan dengan cara melakukan inkubasi santan segar pada suhu 40 oC atau 55 oC selama 3 hari. Setelah diinkubasi pada suhu 40 oC dan 55 oC selama 2 hari, santan terhidrolisis akan terpisah menjadi 3 fraksi yaitu dihasilkan fraksi minyak (atas), krim (tengah) dan skim (bawah) dengan jumlah sebesar . Jumlah fraksi skim dari santan terhidrolisis dapat dilihat pada Tabel 1. Penelitian Su'i, dkk. (2020 b) menunjukkan bahwa santan kelapa (200 ml) yang dihidrolisis selama 72 jam diperoleh 3 fraksi yaitu fraksi minyak (34,25 ml atau 17,13%) , fraksi krim (30 ml atau 15,00%) dan fraksi skim/air (131,50 ml atau 65,75%).

Kadar Asam Lemak Bebas

Hasil uji kadar asam lemak bebas pada skim antara 0,32 m mol/ml sampai 0,72 m mol/ml. Kadar asam lemak bebas dari masing-masing fraksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 1. Jumlah fraksi minyak, krim dan skim setelah inkubasi selama 48 jam

Suhu inkubasi (oC)	Rendemen (%)		
	Minyak	Krim	Skim
40	15,58	11,17	73,25
55	12,52	12,95	74,53

Tabel 2. Kadar asam lemak bebas pada fraksi skim santan kelapa selama inkubasi.

Perlakuan		Asam lemak bebas (mmol/ml)
Suhu inkubasi (°C)	Lama inkubasi (jam)	
40	0	0,33
40	24	0,32
40	48	0,72
55	0	0,32
55	24	0,55
55	48	0,67

Adanya asam lemak bebas dalam skim menunjukkan terjadinya hidrolisis pada minyak kelapa oleh enzim lipase endogenous dalam santan selama inkubasi. Makin tinggi jumlah asam lemak bebas, tingkat hidrolisis makin tinggi. Su'i, dkk (2019) menyatakan bahwa minyak kelapa yang dihasilkan dari santan kelapa yang dihidrolisis (menggunakan lipase endogenous) mengandung asam lemak bebas yang lebih tinggi (1,32 m mol/ml minyak) dibandingkan dengan minyak kelapa dari santan yang tidak dihidrolisis (0,60 m mol/ml minyak).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa makin lama inkubasi, kadar asam lemak bebas

dalam fraksi skim makin tinggi. Hal ini karena selama inkubasi terjadi hidrolisis minyak oleh enzim lipase menjadi asam lemak bebas.

Menurut Su'i, dkk. (2010), enzim lipase dari kentos kelapa mampu menghidrolisis minyak kelapa menjadi asam lemak bebas. Hasil penelitian Su'i, dkk. (2014) menunjukkan bahwa selama inkubasi pada proses pembuatan asam laurat terjadi peningkatan kadar asam lemak bebas. Sebeleum diinkubasi, santan kelapa mengandung asam lemak bebas 0,07 m mol/ml santan. Setelah diinkubasi selama 1 jam dan 2 jam, kadar asam lemak bebas meningkat menjadi 0,09 dan 0,13 m mol/ml santan.

Tabel 3. Aktivitas Enzim Lipase pada fraksi skim santan kelapa selama inkubasi.

Perlakuan		Aktivitas Enzim (unit/ml enzim)
Suhu inkubasi (oC)	Lama inkubasi (jam)	
40	0	3,49
40	24	3,49
40	48	5,87
55	0	3,49
55	24	3,49
55	48	9,40

Hasil penelitian menunjukkan bahwa santan kelapa yang diinkubasi selama 2 hari untuk proses pembuatan asam laurat, ternyata pada fraksi skim masih terdapat aktivitas enzim lipase. Dengan demikian, inkubasi selama 2 hari pada suhu 40 °C dan 55 °C tidak merusak enzim lipase. Penelitian Su'i (2012) yang menyatakan bahwa fraksi skim dari santan kelapa segar (tanpa diinkubasi) mempunyai aktivitas enzim lipase sebesar 2,08 unit/ml dan aktivitas spesifik 1,11 unit/mg protein.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil pembahasan dan analisis data dapat disimpulkan bahwa selama inkubasi 2 hari, fraksi skim mengandung asam lemak bebas dengan jumlah yang hampir sama yaitu antara 0,32 m mol/ml sampai 0,72 m mol/ml. Fraksi skim juga masih mengandung enzim lipase dengan aktivitas sebesar 3,49 sampai 7,40 unit/ml skim.

Ucapan Terimakasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Widyagama, Malang yang telah membantu mendanai penelitian ini.

Daftar Pustaka

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.

Conrado S. D., 2002, Coconut Oil in Health and Disease : Its and Monolaurin'S Potential as Cure for HIV/Aids, Cocotech Meeting XXXVIIth, Chennai, India, July 25, 2002.

Kabara J.J., Swieczkowski D.M., Conley A.J. and Truant J.P., 1972, Fatty acid derivatives as antimicrobial agent, Antimicrobial Agent and

Chemotherapy, July 1972, p. 23-28.

Kurniasih E., 2014, Sintesa Mono-Digliserida Melalui Reaksi Gliserolisis Enzimatis, Jurnal Teknologi, Vol. 14, No. 1, April 2014 : 25-28

Luna P., 2011, Optimasi Sintesis Monolaurin Menggunakan Katalis Enzim Lipase Imobil pada Circulated Packed Bed Reaktor, Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor (IPB).

Nuraida L., Anggaerni D., Mintarti I.S. and Hariyati T., 2008, Kajian Aktivitas Antimikroba Monoasilgliserol (Mag) Dan Mono-Diasilgliserol (Mdag) Dari Minyak Kelapa Dan Minyak Inti Sawit, Proseding Seminar Nasional Penelitian dan Pengembangan untuk Mendukung Agribisnis Kelapa Sawit Nasional, 2008

Panicker, L.M., Usha, R. and Mandan, C.N., 2005, Variation of protease activity in coconut kernel in relation to variety, nut maturity and season, Coconut Research and Development Journal, Vol. 21 No. 02.

Su'i, M., 2012, Identifikasi Enzim Lipase dalam Santan Kelapa, Jurnal Litbang Jatim CAKRAWALA, Vol. 7 No. 1 Desember 2012 : 69-76.

Su'i M., Harijono, Yuniarta dan Aulani'am, 2010, Aktivitas Hidrolisis Enzim Lipase Dari Kentos Kelapa Terhadap Minyak Kelapa, Jurnal Agritech Teknologi Pertanian Universitas Gajah Mada Yogyakarta, Vol. 2 No. 2 Agustus 2010 : 164-167

Su'i M., Harijono, Yuniarta dan Aulani'am, 2011, Perubahan aktivitas enzim lipase dari buah kelapa selama pertunasan, Berkala Penelitian Hayati, Vol. 16, 2011:155-159.

Su'i, M. dan Suprihana, 2013, Fraksinasi Enzim Lipase dari Endosperm Kelapa dengan Metode Salting Out, Jurnal Agritech Teknologi Pertanian Universitas Gajah Mada Yogyakarta, Vol. 3 No. 4 November 2013 : 377-383.

- 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.
- Su'i, M., Sumaryati E. Prasetyo R. dan Eric D. P., 2015, Anti Bacteria Activities Of Lauric Acid From Coconut Endosperm (Hydolyse Using Lipase Endogeneous), *Advances in Environmental Biology*, 9 (23) Oktober 2015, Pages 45-49
- Su'i, M., Sumaryati E. dan Suchyono, D. W., 2016, Pemanfaatan Fraksi Kaya Asam Laurat (Hasil Hidrolisis dari Endosperm Kelapa Menggunakan Lipase Endogeneous) sebagai Pengawet Susu Kedelai Kemasan, *Jurnal Agritech Teknologi Pertanian Universitas Gajah Mada Yogyakarta*, Vol. 36 No. 2 Mei 2016 : 154-159.
- Su'i M., Sumaryati E. dan Yusron M., 2017, Pengaruh Suhu dan Lama Hidrolisis Santan Kelapa terhadap Kadar Asam Laurat (menggunakan Enzim Lipase Endogeneous), *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian AGRIKA*, Vol 11 No. 1 Mei 2017 : 1-10
- 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 : 12 – 20.
- Moh. Su'i, Enny Sumaryati, Frida Dwi Anggraeni, Ricky Prasetyo, 2019, Fractinations of Coconut Oil from Coconut Milk and Antibacterial Activities, *International Journal of Engineering & Technology*, 8 (1.9) : 339-342.
- Moh. Sui, Frida Dwi Anggraini, 2020 a., Pembuatan Digliserida Dari Santan Kelapa Menggunakan Enzim Lipase Kecambah Biji Wijen, *Prosiding of Conference On Innovation And Application Of Science And Technology (Ciastech 2020) Universitas Widyagama Malang*, 2 Desember 2020 : 279-284
- Moh. Su'i, Enny Sumaryati, Yudi Utomo, Panca Eric, 2020 b., The Influence of Methods For Fractination of Free Fatty Acid Fraction From Coconut Milk Hydrolysis Using Coconut Lipase Endogeneous Enzyme, *Prosiding International Conference on Qur'an and Hadith Studies*, Publikasi 25 Mei 2020 : .
- Vetter S.M. and Schlievert, 2005, Gliserol monolaurate inhibits virulence factor production in *Bacillus anthracis*, *Antimicrob Agent Chemother*, April 49 (4): 1302-1305.