

Optimasi produksi diasilgliserol dari *crude palm oil* menggunakan lipase spesifik 1,3-gliserida dari *Rhizopus oryzae* TP-2

Optimization of diacylglycerol production from crude palm oil using specific lipase of 1,3-glyceride from Rhizopus oryzae TP-2

SUHARYANTO^{*}), TRI-PANJI & Urip PERWITASARI

Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Jl. Taman Kencana No.1 Bogor 16151, Indonesia

Diterima tgl 9 Nopember 2010/Disetujui tgl 7 Pebruari 2011

Abstract

Modern lifestyle caused the increasing prevalence of obesity that precedes degenerative disease such as coronary cardiovascular disease, hypercholesterolemia, stroke, and diabetes mellitus. Use of healthy oil in the daily food diet could reduce the risk of the disease. One of healthy oils that proved to be useful for human health is diacylglycerol (DAG). Unfortunately, production of DAG in Indonesia is hampered by the relatively high price of the lipase enzyme. To overcome the provision of costly imported lipase in producing DAG, a research was conducted by employing crude extract of lipase enzyme from an indigenous mold namely *Rhizopus oryzae* TP-2. Crude extract of lipase enzyme from mycelium culture filtrate was freeze dried and used for crude palm oil (CPO) bioconversion through glycerolysis at various process condition. The objective of this research was to determine optimum variable of temperature, incubation time, amount of substrate and pH in producing DAG from CPO using lipase of *R. oryzae* TP-2. The research result showed that lipase from *R. oryzae* TP-2 was proved to be specific at position of 1,3-glyceride as indicated by glycerolysis products i.e DAG/TAG ratio 0.48 higher than that of FFA/TAG ratio 0.06. Optimum conditions for glycerolysis were at temperature 37 °C, pH 7, 3 g of CPO substrate, and 18 hours of incubation time. DAG yield by this optimum condition reach as much as 20.76 % w/w. The lipase derived from this experiment produced DAG better than that of using imported commercially lipase enzyme of *Rhizomucor meihei*.

[Keywords: Fatty acid, lipase enzyme, vegetable oil, *Rhizopus oryzae*, glycerolysis]

Abstrak

Gaya hidup modern telah menyebabkan meningkatnya kasus kegemukan yang berdampak timbulnya berbagai penyakit degeneratif seperti jantung koroner, hiperkolesterolemia, stroke dan diabetes mellitus. Penggunaan minyak sehat (*healthy oil*) sebagai menu diet sehari-hari dapat mengurangi faktor risiko penyakit tersebut. Salah satu jenis minyak sehat yang terbukti berdampak positif pada kesehatan manusia adalah diasilgliserol (DAG). Sayangnya, produksi DAG di Indonesia terkendala oleh mahalnya enzim lipase spesifik 1,3-gliserida yang masih harus diimpor. Untuk mengatasi mahalnya enzim lipase impor dalam produksi DAG dari CPO, penelitian penggunaan ekstrak kasar lipase dari kapang lokal *Rhizopus oryzae* TP-2 telah dilakukan. Ekstrak kasar lipase dari filtrat kultur miselium *R. oryzae* TP-2

dikeringbekukan dan digunakan untuk biokonversi CPO melalui proses gliserolisis pada berbagai kondisi reaksi. Penelitian bertujuan menetapkan peubah suhu, waktu, jumlah substrat dan pH optimum dalam produksi DAG menggunakan lipase dari *R. oryzae* TP-2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim lipase *R. oryzae* TP-2 bersifat spesifik 1,3-gliserida yang ditunjukkan oleh nisbah DAG/TAG, yaitu 0,48 lebih besar dari nisbah ALB/TAG yaitu sebesar 0,06. Kondisi optimum untuk gliserolisis CPO adalah waktu inkubasi selama 18 jam, suhu reaksi 37°C, jumlah substrat CPO 3 g, dan pH reaksi 7. Hasil DAG pada kondisi optimum gliserolisis adalah 20,76 %. (b/b). Lipase *R. oryzae* TP-2 yang digunakan dalam penelitian ini menghasilkan DAG lebih tinggi dari pada lipase impor asal *Rhizomucor meihei*.

[Kata kunci: Asam lemak, enzim lipase, minyak nabati, *Rhizopus oryzae*, gliserolisis]

Pendahuluan

Produk olahan CPO klasifikasi khusus seperti *specialty fats*, *confectionery fat*, dan minyak sehat (*healthy oil*) memiliki harga jauh lebih tinggi dibandingkan dengan minyak makan (*cooking oil*) atau *shortening*. Salah satu jenis minyak sehat adalah diasilgliserol (DAG). Meningkatnya prevalensi kegemukan akibat tingginya konsumsi minyak makan di berbagai negara yang memicu penyakit jantung koroner, stroke, hiperkolesterolemia dan diabetes mellitus telah mendorong konsumsi minyak sehat seperti DAG (Yasunaga *et al.*, 2001). Menurut Yasunaga *et al.* (2001), DAG dimetabolisme secara efisien oleh tubuh sebagai sumber energi sehingga mencegah akumulasi lemak dalam badan (*body fat*). Selain itu DAG juga dapat menurunkan *low density lipoprotein* (LDL), trigliserida (TG) dan inhibitor plasminogen. Selain sebagai minyak sehat, campuran DAG dan monoasilgliserol (MAG) juga dapat digunakan untuk surfaktan makanan (Andarwulan *et al.*, 2008) dan bahan anti mikroba (Nuraida *et al.*, 2008). Diasilgliserol dapat diproduksi secara kimiawi dari minyak atau lemak nabati dengan gliserol pada suhu tinggi (240-260°C) menggunakan katalis anorganik seperti natrium hidroksida, kalium hidroksida, atau kalsium hidroksida. Namun, teknik tersebut memiliki kelemahan, yaitu

^{*}) Penulis korespondensi: suharyanto_biotek@yahoo.com

pemakaian energi yang cukup tinggi, terbentuknya produk samping hasil reaksi peroksidasi dan polimerisasi yang bersifat toksik bagi kesehatan manusia, serta produk yang diperoleh berwarna gelap (Elisabeth *et al.*, 1999).

Selain itu, proses suhu tinggi akan merusak senyawa-senyawa minor dalam CPO seperti tokoferol, tokotrienol dan karoten. Untuk mengatasi hilangnya senyawa minor dalam produksi MAG dan DAG, Hasanuddin *et al.* (2003) mengembangkan proses etanolisis pada suhu ruang. Namun, proses pemecahan ikatan ester pada minyak dengan proses kimia berlangsung secara acak sehingga produk DAG murni sulit diperoleh. Penggunaan CPO untuk produksi DAG memiliki keunggulan karena ketersediaan CPO di Indonesia melimpah, memiliki kandungan asam lemak tak jenuh tunggal (asam oleat) yang tinggi sehingga cocok untuk minyak goreng, mengandung nutrisi penting seperti β -karoten, vitamin E, dan tokotrienol.

Alternatif lain dalam produksi DAG adalah dengan proses gliserolisis enzimatis menggunakan lipase sebagai biokatalisator. Pemanfaatan enzim lipase sebagai katalis memiliki beberapa keuntungan, yaitu spesifitas yang tinggi, kondisi operasional pada suhu dan tekanan yang cukup rendah, biaya pengolahan limbah yang relatif lebih murah, dan produk yang dihasilkan lebih aman. Lipase berdasarkan sifat spesifitasnya dibagi dua jenis yaitu non spesifik dan spesifik. Lipase non spesifik akan menghidrolisis triasilgliserol (TAG) pada ketiga posisi ikatan ester sehingga dihasilkan asam-asam lemak dan gliserol. Lipase spesifik akan menghidrolisis ikatan ester pada posisi 1,3 sehingga hasil yang terbentuk adalah asam lemak, monoasilgliserol (MAG) dan diasilgliserol (DAG). Lipase banyak ditemukan di alam, baik pada hewan, tumbuhan, maupun mikroorganisme. Sejumlah fungi seperti *Penicillium* sp., *Rhizomucor* sp. dan *Aspergillus niger* diketahui aktif menghasilkan lipase dalam substrat CPO (Ibrahim *et al.*, 1991). Harga lipase komersial dari fungi relatif mahal karena teknik produksi, ekstraksi, dan isolasi yang cukup rumit (Elisabeth *et al.* 1999).

Untuk mengatasi masalah tersebut diperlukan suatu metode dalam memproduksi lipase dengan murah. Salah satunya dengan memfermentasikan mikroba tertentu yang mampu menghasilkan lipase. Tri-Panji *et al.* (2008) telah memfermentasikan CPO dengan *Neurospora sitophila* dan mampu memproduksi lipase spesifik 1,3-gliserida. Kapang lokal jenis ini juga dikenal aman karena biasa digunakan dalam pembuatan oncom merah. Kapang lokal lain yang juga aman adalah *Rhizopus* yang dikenal sebagai jamur tempe kedelai. Hasil percobaan pendahuluan diketahui bahwa lipase dari *Rhizopus* lebih aktif dari pada lipase asal *N. sitophilla*. Penelitian bertujuan untuk menetapkan kondisi optimum produksi DAG dengan ekstrak kasar lipase kapang lokal *Rhizopus oryzae* TP-2.

Bahan dan Metode

Bahan

Minyak untuk produksi DAG adalah CPO dari Pabrik Kelapa Sawit (PKS) Kertajaya, PTPN VIII, Banten dan tripalmitin (Sigma). *Rhizopus oryzae* TP2 untuk produksi lipase adalah isolat koleksi Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia (BPBPI) yang dipelihara pada PDA miring dan diremajakan setiap tiga minggu.

Kondisi kultur dan penyiapan lipase spesifik 1,3-gliserida

Kultur kapang *Rhizopus oryzae* TP2 dalam *potato dextrose agar* (PDA) miring berumur 3-4 hari ditambahkan akuades steril 3 mL kemudian spora dikerik dan divorteks hingga diperoleh suspensi spora. Suspensi spora diinokulasikan dalam 200 mL medium *potato dextrose broth* (PDB) yang mengandung CPO 2 % dan diinkubasi pada suhu ruang (27-30°C) selama lima hari sambil dikocok dengan kecepatan 75 rpm. Setelah lima hari, miselium dan spora dipisahkan dengan penyaringan menggunakan kertas saring kasar dan filtrat diambil sebagai ekstrak kasar lipase. Filtrat dikeringbekukan (*freeze dried*) untuk mempertahankan kestabilan lipase. Sebanyak 7 g serbuk ekstrak enzim kasar diperoleh dari 500 mL filtrat yang dikeringbekukan. Serbuk lipase kemudian disimpan dalam *freezer* sampai diperlukan untuk bahan percobaan selanjutnya.

Optimasi produksi DAG

Kondisi optimum produksi DAG dalam medium gliserolisis ditetapkan secara bertahap meliputi peubah waktu, jumlah substrat, suhu dan pH. Penetapan waktu optimum gliserolisis dilakukan pada suhu ruang (28-30°C) dengan substrat tripalmitin 2 g, pH 7, dan ekstrak kasar lipase 10 μ L. Pemilihan tripalmitin sebagai substrat bertujuan untuk melihat spesifitas lipase yang dihasilkan oleh *Rhizopus oryzae* TP-2. Ekstrak kasar lipase disiapkan dengan melarutkan serbuk enzim hasil pengeringan beku (0,05 g) ke dalam 1 mL bufer Tris-HCl pH 7. Penentuan waktu optimum gliserolisis dilakukan dengan variasi waktu selama 3, 6, 24 dan 30 jam. Setelah reaksi gliserolisis selesai, sampel diambil dan dianalisis kadar TAG, DAG, MAG dan asam lemak bebas (ALB). Secara teoretis jika nilai perbandingan DAG/TAG lebih besar dari ALB/TAG maka lipase tersebut spesifik 1,3-gliserida (Tri-Panji *et al.*, 2008). Waktu optimum produksi DAG digunakan untuk penentuan substrat optimum gliserolisis. Penentuan substrat optimum dilakukan dengan variasi jumlah CPO sebanyak 1, 2, 3 dan 10 g. Penentuan pH optimum reaksi gliserolisis dilakukan dengan variasi pH 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 dan 8,0 dengan kondisi waktu dan konsentrasi substrat

optimum. Setelah waktu, konsentrasi substrat, dan pH optimum dari reaksi gliserolisis diketahui, tahap selanjutnya adalah penentuan suhu optimum. Reaksi gliserolisis dilakukan lebih tinggi dari suhu ruang yaitu 37°C, 42°C, dan 50°C.

Perbandingan keefektifan lipase lokal dan impor

Kondisi optimum gliserolisis tersebut selanjutnya digunakan untuk membandingkan keefektifan lipase isolat *R. oryzae* TP-2 dengan lipase komersial dari *Rhizomucor meihei* (Sigma). Larutan lipase disiapkan dengan melarutkan serbuk kering beku lipase (0,05 g) ke dalam 1mL bufer Tris HCl pH 7,0. Reaksi gliserolisis dilakukan selama 18 jam, suhu reaksi 37°C, substrat CPO 3 g, lipase 10 µL gliserol 0,8 g, pelarut heksana 40 mL, bufer Tris-HCl pH 7,0 sebanyak 50 mL. Kontrol negatif berupa medium gliserolisis dengan kondisi yang sama dengan sampel, namun tidak ditambah dengan ekstrak enzim.

Analisis TAG, DAG, MAG, dan ALB

Fraaksi masa komponen TAG, DAG, MAG, dan ALB dari reaksi gliserolisis dianalisis dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Lempong yang digunakan adalah lempeng silika gel G 60. Sebanyak 10 µL contoh ditotolkan sedikit demi sedikit ke dalam lempeng tersebut dan dielusikan dengan campuran petroleum benzene:dietileter:asam asetat glasial (90:10:1). Lempong KLT yang sudah dielusikan dibiarkan mengering terlebih dahulu, kemudian visualisasi noda dilakukan dengan menggunakan uap iodine. Kristal iodine dituangkan ke dalam cawan Petri hingga rata. Lempong KLT yang sudah kering diletakkan di atas cawan Petri selama dua menit (hingga terlihat noda coklat). Noda yang terlihat langsung diberi tanda menggunakan pensil. Noda yang terlihat dijiplak menggunakan kertas HVS 80 g lalu ditimbang bobotnya. Fraaksi masa komponen dihitung dengan persamaan:

$$\text{Fraksi masa komponen } x (\%) = \frac{\text{Berat komponen } x (\text{g})}{\text{Berat komponen total } (\text{g})} \times 100\%$$

Hasil dan Pembahasan

Optimasi waktu gliserolisis

Dalam optimasi waktu gliserolisis, percobaan juga sekaligus mempelajari spesifisitas lipase yang dihasilkan oleh *R. oryzae* TP2 menggunakan tripalmitin sebagai substrat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa produk gliserolisis memiliki nisbah DAG/TAG sebesar 0,48 dan nisbah ALB/TAG sebesar 0,06. Oleh karena itu diduga kuat lipase yang dihasilkan oleh *Rhizopus oryzae* TP2 merupakan lipase yang spesifik 1,3. Hal tersebut juga diperkuat oleh jumlah MAG dan ALB yang tidak

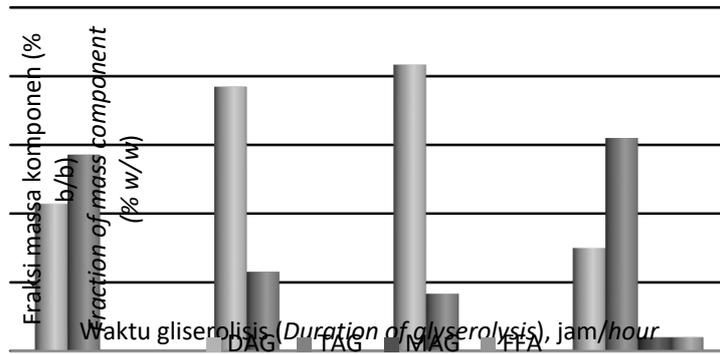
semakin tinggi, dan tidak terbentuknya gliserol dengan penambahan waktu inkubasi. Putranto *et al.* (2006) telah mengidentifikasi gen lipase dari *Rhizopus oryzae* yang diharapkan dapat diklon untuk produksi DAG. Gen lipase spesifik 1,3-gliserida dari tanaman jarak telah berhasil diklon oleh Xiaohua *et al.* (2004). Data pada Gambar 1 menunjukkan bahwa DAG yang diperoleh meningkat waktu inkubasi 3 jam, 6 jam, dan 24 jam DAG kemudian turun pada jam ke-30. Peningkatan DAG pada inkubasi jam ke-6 sampai jam ke-24 relatif kecil. Hal tersebut terjadi karena DAG yang sudah terbentuk dihidrolisis kembali oleh lipase menjadi MAG dan ALB. Jumlah TAG juga menurun setelah tiga jam, sampai dengan 24 jam inkubasi dan kembali meningkat pada jam ke-30. Peningkatan nilai TAG terjadi karena kerja dari enzim ini dua arah, selain menghidrolisis lipase juga dapat melakukan esterifikasi (Turner *et al.*, 2008). ALB yang terbentuk langsung diesterifikasi kembali membentuk TAG. Waktu gliserolisis optimum dipilih selama 24 jam dengan pertimbangan menghasilkan DAG paling tinggi dan jauh lebih singkat dari pada yang dilaporkan Tri-Panji *et al.* (2008) menggunakan enzim lipase asal *Neurospora sitophila* yaitu 10 hari. Namun, bila diperlukan peningkatan kapasitas produksi, waktu inkubasi kemungkinan bisa dipersingkat hingga enam jam.

Optimasi jumlah substrat

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan substrat 1, 2, 3, dan 10 g CPO dapat dikonversi menjadi DAG berturut-turut sebesar 17,17; 16,15; 16,54 dan 3,75 %. Nilai optimum untuk variasi substrat dipilih 3 g karena jumlah DAG yang terbentuk (16,54 %) jika dikalikan dengan konsentrasi substrat (3 g) menghasilkan bobot DAG yang paling besar (Gambar 2). Gliserolisis menggunakan substrat CPO menghasilkan persentase DAG lebih kecil dibandingkan dengan gliserolisis menggunakan tripalmitin sebagai substrat. Hal tersebut mungkin disebabkan bervariasinya asam lemak penyusun trigliserida CPO. Oleh karena lipase adalah spesifik terhadap jenis asam lemak tertentu, maka hasil DAG yang diperoleh dengan substrat CPO lebih kecil (Elisabeth *et al.* 1998).

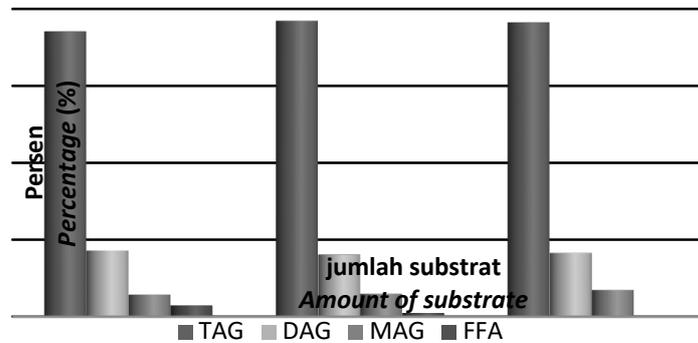
Optimasi suhu gliserolisis

Optimasi suhu gliserolisis dilakukan dengan menggunakan waktu dan konsentrasi substrat optimum (inkubasi selama 24 jam dan jumlah substrat 3 g) dan variasi suhu di atas suhu ruang. Hasil DAG tertinggi adalah 14 % yang diperoleh pada suhu reaksi 42°C (Gambar 3). DAG yang diperoleh pada suhu 37°C lebih sedikit dibandingkan dengan DAG yang diperoleh pada suhu 42°C. Sampai batas tertentu, suhu dapat mempercepat laju reaksi enzim. Peningkatan suhu reaksi menjadi 50°C menghasilkan DAG kurang dari 14 %. Menurut Daniel *et al.* (1995) penurunan aktivitas enzim



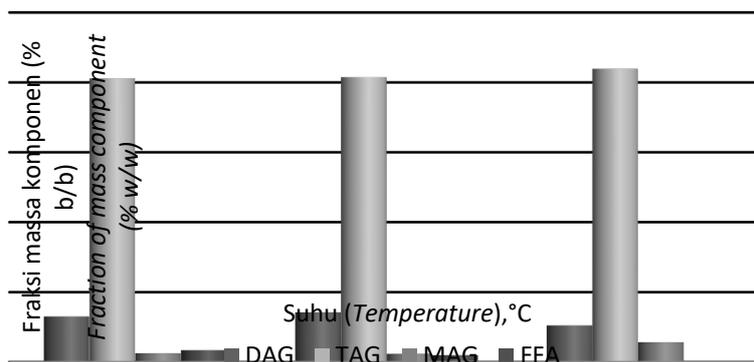
Gambar 1. Produksi DAG dan kandungan TAG, MAG serta FFA pada berbagai waktu dengan substrat tripalmitin pada suhu ruang (28-30°C)

Figure 1. DAG production and content of TAG, MAG and FFA at various times with tripalmitin substrate at room temperature (28-30°C)



Gambar 2. Produksi DAG dan kandungan TAG, MAG serta FFA hasil gliserolisis dengan variasi jumlah substrat CPO selama 24 jam dan suhu ruang (28-30°C)

Figure 2. DAG production and content of TAG, MAG and FFA from gliserolisis with variation in amount of CPO as substrate for 24 hours at room temperature (28-30°C)



Gambar 3. Produksi DAG dan kandungan TAG, MAG serta FFA variasi suhu menggunakan substrat CPO (3 g) dan inkubasi selama 24 jam

Figure 3. DAG production and content of TAG, MAG and FFA at various temperatures with CPO as substrate (3 g) and during 24 hours incubation

pada suhu tinggi disebabkan antara lain oleh perubahan struktur molekul protein dan proses autolisis. Enzim yang dihasilkan oleh *Rhizopus* tidak termostabil dikarenakan kapang ini hidup pada suhu ruang.

Jika waktu inkubasi diperpendek menjadi 18 jam, jumlah DAG yang didapat menjadi 20,76 % pada suhu 37°C, 15,78 % pada 42°C, dan 14,23 % pada 50°C (Gambar 4). Waktu inkubasi yang diperpendek dapat memperbesar konsentrasi DAG diduga karena reaksi hidrolisis CPO lebih lanjut menjadi MAG dan ALB dapat dikurangi. Hal ini akan memudahkan dalam proses pemisahan. Oleh sebab itu suhu gliserolisis 37°C dipilih untuk percobaan selanjutnya. Menurut McNeilla GP & RG Bergera (1993) gliserolisis pada suhu 30-40°C akan menyebabkan sebagian besar asam lemak jenuh terkumpul pada fraksi MAG sehingga fraksi DAG akan berpeluang mengandung asam lemak tak jenuh yang lebih tinggi. Pahn *et al.* (1991) melaporkan bahwa gliserolisis minyak zaitun dengan *Chromobacterium viscosum* optimum pada suhu 37°C. Suhu optimum yang diperoleh dalam penelitian ini lebih rendah dari pada suhu optimum yang dilaporkan Andarwulan *et al.* (2008) yaitu 60°C menggunakan bahan baku RBDPO (*refined bleach deodorised palm oil*) dengan proses enzimatik dan 120°C dengan katalis alkali (Haryati *et al.*, 2008).

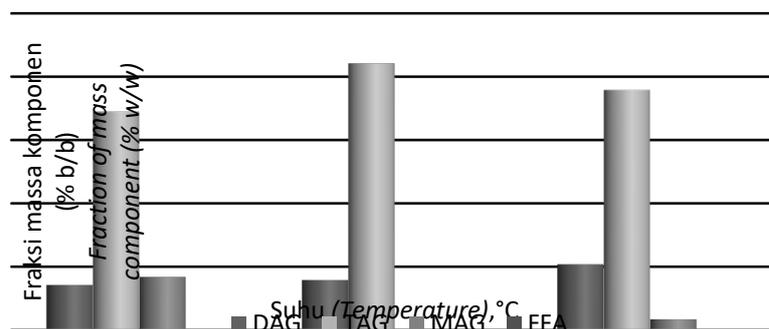
Optimasi pH

Setelah waktu, konsentrasi substrat, dan suhu reaksi gliserolisis dalam produksi DAG diketahui (18 jam, 3 g, 37°C), percobaan dilanjutkan untuk memperoleh pH optimum. Variasi pH diuji di atas dan di bawah pH netral (5; 6; 6,5; 7,5; dan 8). Dari semua variasi pH yang dilakukan tidak diperoleh kondisi pH optimum yang melebihi pH 7 (Gambar 5). Reaksi enzimatik sangat dipengaruhi oleh pH. Konformasi enzim akan berubah

karena adanya peralihan H⁺ yang menyebabkan perubahan ionisasi asam-asam amino penyusun enzim (Price & Stevens, 1996). Aktivitas lipase *R. oryzae* TP-2 adalah pada kisaran pH 5,0-8,0. Dalam penelitian ini kondisi reaksi dipilih pada pH 7,0 dengan pertimbangan reaktan tidak perlu ditera kembali.

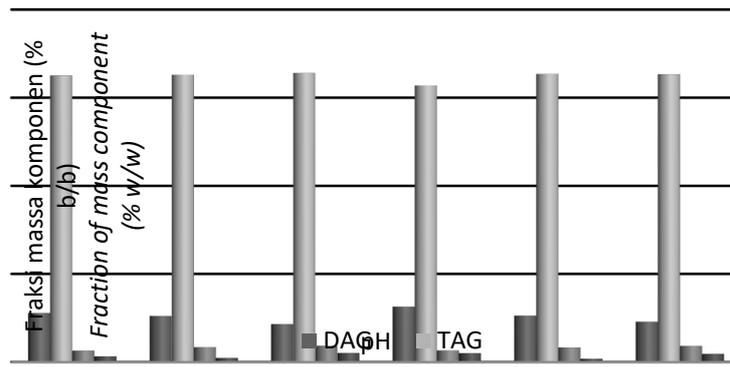
Efektivitas lipase lokal dan komersial untuk produksi DAG

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak lipase spesifik 1,3-gliserida dari isolat fungi lokal lebih efektif dalam produksi DAG jika dibandingkan dengan kontrol positif yang menggunakan lipase impor dengan spesifisitas sejenis (Gambar 6). Gliserolisis CPO dengan kondisi optimum (waktu inkubasi 18 jam, suhu reaksi 37°C, substrat CPO 3 g, dan pH reaksi 7) menghasilkan 20,76 % DAG. Proses gliserolisis minyak sawit untuk menghasilkan MAG dan DAG dengan lipase Lipozyme IM impor telah dipelajari oleh Elisabeth *et al.* (1999). Dengan lipase impor yang diproduksi dengan *Rh. miehei*, DAG yang dihasilkan adalah sekitar 16 %. Harga lipase impor dari fungsi *Rh. miehei* (Lipozyme IM) yang diproduksi oleh perusahaan Novo, Nordisk Bioindustry Inc, Denmark sekitar 30 juta rupiah per kg (Sigma, 2008). Tri-Panji *et al.* (2008) menggunakan lipase isolat lokal *Neurospora sitophila* dengan kondisi optimum waktu gliserolisis 10 hari, suhu 40°C, pH 6, dan 2 g CPO memperoleh DAG sebesar 29 %. Hasil ini menunjukkan bahwa lipase dari isolat fungi lokal sangat prospektif untuk menunjang industri minyak sehat dalam negeri berbahan baku CPO. Kajian perbesaran skala percobaan, pengembangan teknologi produksi dan perhitungan tekno-ekonomi produksi minyak sehat dari CPO dengan isolat fungi lokal penghasil lipase perlu dilakukan.



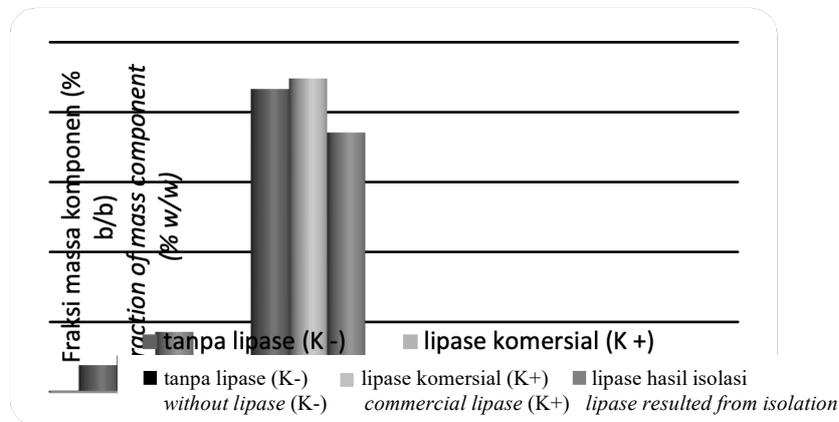
Gambar 4. Produksi DAG dan kandungan TAG, MAG serta FFA variasi suhu reaksi menggunakan substrat CPO (3 g) dan inkubasi selama 18 jam

Figure 4. DAG production and content of TAG, MAG and FFA at various temperature reaction using 3 g CPO as substrate for 18 hours incubation time



Gambar 5. Optimasi gliserolisis untuk produksi DAG pada suhu 37°C, selama 18 jam dengan 3 g substrat CPO dalam berbagai variasi pH

Figure 5. Optimization of glycerolysis with pH variation at 37°C, using 3 g CPO as substrate for 18 hours in various setting of pH



Gambar 6. Perbandingan produk biokonversi CPO dengan lipase spesifik 1,3-gliserida dari fungi lokal (*R. oryzae TP-2*) dan lipase impor (*Rh. meihe*)

Figure 6. Comparison of CPO bioconversion product using specific 1,3- lipase diglyceride from local fungi (*R. oryzae TP-2*) and imported lipase (*Rh. meihe*)

Kesimpulan

Lipase dari isolat *R. oryzae TP-2* bersifat spesifik 1,3-gliserida. Ekstrak kasar lipase yang telah dikering-bekukan dapat digunakan untuk proses biokonversi CPO menghasilkan 20,76 % DAG. Kondisi optimum untuk gliserolisis CPO dengan lipase *R. oryzae TP-2* yaitu dengan menggunakan jumlah substrat sebanyak 3 g, suhu reaksi pada 37°C, pH netral dan inkubasi selama 18 jam.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan pendanaan dari DIPA 2009 melalui Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Kementerian Pertanian sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Daftar Pustaka

- Andarwulan N, P Hariyadi, T Haryati & Anggirasti (2008). Optimization of palm oil based emulsifier using enzymatic process. Dalam: *Prosiding Seminar Tahunan MAKSI 2008*. Bogor, Masyarakat Perkelapa-Sawitan Indonesia (MAKSI) & SEAFast Center, IPB. p.189-190.
- Daniel RM, HS Toogood & PL Bergquist (1995). Thermostable proteases. *Biotechnol Gen Engineer Rev* 13, 51-100.
- Elisabeth J, A Jatmika & OP Sitanggang (1999). Optimasi proses gliserolisis enzimatis pada minyak sawit untuk meningkatkan monogliserida. *J Penelitian Kelapa Sawit* 7 (3), 173-185.
- Haryati T, N Andarwulan, P Hariyadi & Achmad Zaelani (2008). Optimization of mono and diacylglycerol palm oil based emulsifier using response surface methodology.

- Dalam: *Prosiding Seminar Tahunan MAKSI 2008*. Bogor, Masyarakat Perkelapa-Sawitan Indonesia (MAKSI) & SEAFast Center, IPB. p 191-192.
- Hasanuddin A, Mappiratu & GS Hutomo (2003). Pola perubahan mono dan diasilgliserol dalam reaksi etanolisis minyak sawit mentah. *J Tekn Indust Pangan* 14 (3), 241-247.
- Ibrahim CO, Noor NJ & D Ibrahim (1991). Isolation and identification of an exogenous lipase producing fungi using palm oil medium. *J Biosci* 2, 56-59.
- McNeilla GP & RG Bergera (1993). Enzymatic glycerolysis of palm oil fractions and a palm oil based model mixture: Relationship between fatty acid composition and monoglyceride yield. *Food Biotechnol* 7 (1), 75 – 87.
- Nuraida L, D Anggraini, I S Mintarti & T Haryati (2008). Kajian aktivitas antimikroba monoasilgliserol dan mono-diasilgliserol dari minyak kelapa dan minyak inti sawit. *Dalam: Prosiding Seminar Tahunan MAKSI 2008*. Bogor, Masyarakat Perkelapa-Sawitan Indonesia (MAKSI) & SEAFast Center, IPB. p 204-214.
- Pahn SC, SR Joon, K Jae-Jin (1991). Continuous glycerolysis of olive oil by *Chromobacterium viscosum* lipase immobilized in liposome in reversed micelles. *Biotechnol Bioengin* 38 (10), 1159–1165.
- Putranto RA, D Santoso, Tri-Panji, Suharyanto & A. Budiani (2006). Karakterisasi gen penyandi lipase dari kapang *Rhizopus oryzae* TP-2 dan *Absidia corymbifera*. *Menara Perkebunan* 74(1), 23-32.
- Tri-Panji, Suharyanto & Nining Arini (2008). Lipase spesifik 1,3-gliserida dari fungi lokal untuk biokonversi CPO menjadi diasilgliserol. *Menara Perkebunan*, 2008, 76(1), 11-22.
- Turner C, JW King, T McKeon (2008). Selected uses of enzymes with critical fluids. Diunduh dari http://pearl1.lanl.gov/external/c-cde/scf/pubs/king/190_enzyme_review.pdf [18 Februari 2008]
- Xiaohua H, C Turner, G Q Chen, Jiann-Tsyh Lin & TA McKeon (2004). Cloning and characterization of a cDNA encoding diacylglycerol acyltransferase from castor bean. *Lipid* 39 (4), 311-318.
- Yasunaga K, Y Katsuragi & T Yasukawa (2001). Nutritional characteristics of diacylglycerol. In: *Proc Internat Palm Oil Congress Food Technology & Nutrition Conf*, Malaysia 20-22 August 2001. p149-155.