

OPTIMASI SINTESIS ASAM LEMAK HIDROKSAMAT MENGGUNAKAN MINYAK MENTAH DEDAK PADI

OPTIMIZATION OF FATTY HYDROXAMIC ACIDS SYNTHESIS USING RICE BRAN OIL

Muhsinun*, Fena Prayunisa

Program Studi Pendidikan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pendidikan Nusantara Global, Praya

Jl. Raya Praya-Mantang KM.07 Aik Mual, Praya – NTB, Indonesia, 83511

*Corresponding Author : cinun.chemist@gmail.com

ABSTRACT

Fatty Hydroxamic Acids (FHA) has been successfully synthesized from rice bran oil. The purpose of this research was the enzymatic synthesis of fatty hydroxamic acids from rice bran oil and determine the optimum conditions, which includes three stages of processing, namely the oil preparation stage, the synthesis optimization stage and the characterization stage. At the oil preparation stage, the yield of rice bran oil was 23%. At the optimization stage, the optimum conditions for the synthesis of fatty hydroxamic acids from rice bran oil were at a temperature of 35°C for 25 hours with a ratio of lipase (gram) : hydroxylamine (mmol) equal to 1:500 and the ratio of lipase (gram) : crude bran rice (gram) was equal to 1:75. The number of hydroxamic acid groups in 1 gram of dry sample of fatty hydroxamic acid was 2.98 mmol. Based on the results of the analysis of the color test with Cu (II) and Fe (III), a complex color that is typical for the two metals which obtained with fatty hydroxamic acids, they were green and dark red. Whereas, from the FTIR analysis, the spectrum of the functional groups of hydroxamic acid was obtained.

Keywords : optimization, synthesis, fatty hydroxamic acids, FHA, rice bran oil, enzymatic

PENDAHULUAN

Asam lemak hidroksamat (FHA) merupakan salah satu agen pengkelat yang dapat mengikat ion logam secara spesifik dan mempunyai nilai ekonomis yang tinggi. Kompleksnya dengan beberapa ion logam telah digunakan dalam kimia analitik sebagai reagen untuk gravimetri, spektrofotometri logam, pengkelat untuk mineral bumi yang langka, dan untuk pengekstraksi ion-ion logam dari fase air. Hal ini sesuai dengan penelitian Haron [1], yang telah mengekstraksi 81,70 mg/L logam Cu menggunakan 0,008 M turunan asam hidroksamat dengan pelarut n-heksana. Pemisahan dengan ekstraksi pelarut pada Ni dan Co juga telah dilaporkan menggunakan gugus asam hidroksamat dengan persen ekstraksi 90,9% dan 75,7% berturut-turut [2]. Selain itu, FHA juga telah digunakan sebagai agen kolektor pada proses flotasi biji mangan [3]. Dari beberapa penelitian tersebut dapat disimpulkan bahwa FHA mempunyai kemampuan tinggi dalam mengekstraksi logam. FHA mempunyai rumus molekul $R-CO-NH-OH$ (R = alkyl atau aril), yaitu turunan dari senyawaan nitrogen yang mengikat hidrogen dalam molekul hidroksilaminnya [4]. Adanya atom N dan O pada molekul FHA berfungsi membentuk ikatan koordinasi antara FHA dengan ion logam, sehingga meningkatkan kelat

yang stabil dengan ion logam. Salah satu metode yang digunakan untuk membuat FHA adalah melalui reaksi alkilasi hidroksilamina dengan ester [5], dan ester dapat dengan mudah dibuat dari trigliserida dengan bantuan enzim lipase [6].

Seperti diketahui, FHA yang tersedia di pasaran hanya berupa FHA dengan rantai pendek sedangkan untuk FHA dengan rantai sedang dan panjang belum banyak di pasaran. Oleh sebab itu, sangat perlu dilakukan sintesis FHA dengan rantai sedang dan panjang. Solusinya yaitu dengan menggunakan bahan baku yang memiliki kandungan asam lemak rantai sedang dan panjang yang tinggi. Bahan baku yang dipilih adalah minyak mentah yang akan diekstrak dari dedak padi yang dikoleksi dari penggilingan padi di daerah Aikmual. Pertimbangannya karena minyak mentah dedak padi merupakan minyak nabati yang bukan bahan makanan, murah, dan minyak grade rendah dengan kandungan asam lemak yang tinggi. Minyak mentah dedak padi dipilih karena tinggi akan kandungan asam lemak rantai sedang maupun panjang [7]. Adanya enzim lipase yang aktif dalam dedak padi menyebabkan kandungan asam lemak bebas lebih tinggi pada minyak mentah dedak padi bahkan mencapai lebih dari 60% [8], sehingga memiliki potensi sebagai bahan baku sintesis FHA.

Permasalahannya adalah bagaimana kondisi optimum pada sintesis FHA dari minyak mentah dedak padi untuk menghasilkan yield produk FHA yang tinggi. Untuk itu, melalui penelitian ini dilakukan penentuan kondisi optimum pada sintesis FHA berdasarkan variabel-variabel, seperti waktu reaksi, suhu reaksi, perbandingan enzim lipase dengan hidroksilamin dan perbandingan enzim lipase dengan minyak mentah dedak padi. Dengan diperolehnya kondisi optimum sintesis FHA diharapkan dapat menghasilkan yield produk FHA yang tinggi dan dapat meningkatkan nilai ekonomis dedak padi sebagai bahan baku sintesis FHA. Tingginya yield produk FHA diharapkan dapat menyediakan produk FHA rantai sedang maupun panjang.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Adapun peralatan yang digunakan dalam penelitian, yaitu semua peralatan dasar dari gelas di laboratorium kimia, magnetic stirrer-pemanas, magnetic bar, watershaker batch, pompa vakum, timbangan digital, statif-klem, pH meter digital, FTIR. Adapun bahan yang digunakan berderajat P.A (Pro Analyze) kecuali yang disebut khusus. Bahan tersebut adalah sebagai berikut: n-heksana, hidroksilamin hidroklorida, buffer asetat, enzim Lipase, NaOH, HCl, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$, Aquades, pH universal Merck dan kertas saring Whatman. Dedak Padi (dikoleksi dari pengilangan padi daerah Aikmual-Praya).

Prosedur Penelitian

Preparasi minyak mentah dedak padi

Dedak padi yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari daerah Aikmual - Lombok Tengah, Nusa Tenggara Barat. Dedak padi dipanaskan dalam oven pada suhu 105o C selama 2 jam untuk menghilangkan kadar air, setelah itu material dimasukkan kedalam wadah gelas kimia yang tertutup selanjutnya di simpan dalam desikator. Sejumlah 100 gram dedak padi dimasukkan dalam thimble ekstraksi dan meletakkannya dalam Soxhlet. Selanjutnya dilakukan ekstraksi menggunakan 500 mL n-heksana sebagai pelarut. Proses ini dilakukan \pm 6 jam hingga semua minyak terekstrak. Minyak mentah dedak padi dipisahkan dari pelarutnya/n-heksana menggunakan rotary evaporator.

Optimasi sintesis asam lemak hidroksamat (FHA)

Secara umum, FHA disintesis berdasarkan metode enzimatik [6]. Reaksi pembuatan FHA dilakukan dengan mereaksikan sejumlah minyak

mentah dedak padi dengan hidroksilamin hidroklorida dalam 100 mL pada erlenmeyer yang tertutup dengan bantuan katalis enzim lipase. Tahap optimasi sintesis FHA dilakukan dengan memvariasikan variabel optimasi (jumlah lipase, minyak mentah dedak padi, suhu, dan waktu). Campuran pada masing-masing variasi diatas kemudian diinkubasi dalam watershaker batch selama variable waktu tertentu dengan kecepatan putaran 100 rpm. FHA yang terbentuk diantara lapisan air-heksan, dipisahkan dari air dan lipase dengan filtrasi. Untuk mendapatkan FHA padat, fraksi n-heksana didinginkan dalam pendingin ($< 5^\circ\text{C}$) selama 5 jam. Kemudian disaring dan dicuci dengan n-heksana beberapa kali dan dikeringkan dalam vaccum desicator selama 24 jam lalu ditimbang menggunakan timbangan analitik.

Karakterisasi Asam Lemak Hidroksamat

Analisis kualitatif gugus asam hidroksamat yang terbentuk dari hasil reaksi hidroksilaminolisis di atas dilakukan dengan melihat terbentuknya kompleks berwarna setelah larutan metanolik dari FHA tersebut direaksikan dengan larutan Fe(III) dan larutan Cu(II). Selain itu, analisis kualitatif dari gugus fungsi asam hidroksamat yang terbentuk dilakukan dengan mengukur spektrum FTIR pada FHA kemudian dibandingkan dengan spektrum FTIR sampel minyak dedak padi sehingga diperoleh perbedaan spektrum yang menandakan FHA telah berhasil disintesis dari minyak dedak padi. Analisis kuantitatif dilakukan dengan menentukan jumlah gugus asam hidroksamat yang terbentuk berdasarkan jumlah nitrogen yang terkandung pada FHA kering dengan menggunakan metode Semi Makro Kjeldahl.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi minyak mentah dedak padi

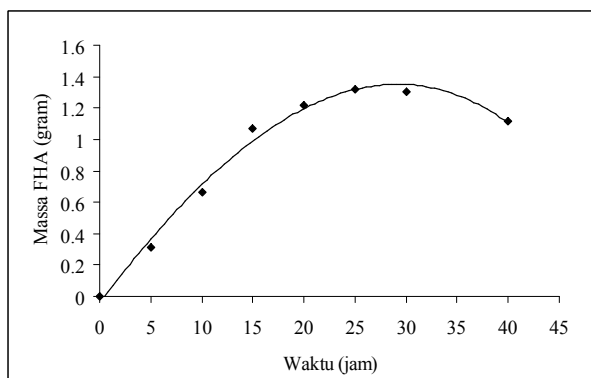
Pada penelitian ini, ekstraksi minyak mentah dedak padi dilakukan dengan metode Soxhletasi dan n-heksana sebagai pelarutnya. Pertimbangan digunakannya metode Soxhletasi ini, yaitu pengambilan minyak dapat lebih optimal karena merupakan ekstraksi berulang sehingga ampasnya hanya kurang dari 0,1% dari berat keringnya [9]. Proses ekstraksi minyak dari dedak padi dengan menggunakan alat Soxhlet ini berlangsung secara terus menerus selama 6 jam hingga diperoleh minyak mentah dedak padi. Rendemen minyak mentah dedak padi yang diperoleh dari proses Soxhletasi tersebut berkisar antara 21-23%. Minyak dedak padi yang dihasilkan berwarna kuning kecoklatan, masih merupakan minyak mentah karena mengandung

komponen-komponen seperti trigliserida, gum dan sedikit pelarut.

Optimasi waktu

Waktu merupakan indikator yang tepat untuk mengetahui kemampuan enzim dan kemajuan reaksi. Enzim yang memiliki kemampuan yang baik adalah enzim yang mempunyai waktu yang pendek untuk mendapatkan hasil yang optimal. Semakin pendek waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan hasil yang optimal, maka semakin sedikit biaya yang dikeluarkan [10].

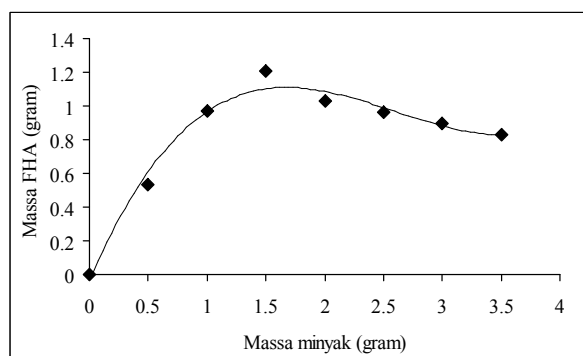
Berdasarkan **Gambar 1**, jumlah FHA yang dihasilkan meningkat seiring dengan bertambahnya waktu dan mencapai kondisi optimumnya pada jangka waktu 25 jam. Setelah melewati jangka waktu 25 jam, hasil sintesis FHA menjadi menurun. Peningkatan hasil reaksi itu seiring dengan bertambahnya waktu reaksi, hal ini disebabkan oleh penambahan jumlah substrat yang dapat diubah menjadi produk. Dan titik optimum tercapai karena semua substrat sudah habis diubah menjadi produk, sehingga penambahan waktu pun tidak menyebabkan peningkatan jumlah produk yang dihasilkan. Kurva penurunan yang terjadi setelah mencapai kondisi optimum disebabkan karena asam lemak hidroksamat yang terbentuk dapat dihidrolisis kembali oleh lipase setelah mencapai kondisi optimumnya.



Gambar 1. Pengaruh waktu reaksi terhadap pembentukan FHA

Optimasi jumlah minyak mentah dedak padi

Jumlah minyak mentah dedak padi yang digunakan untuk melihat pengaruh konsentrasi substrat terhadap pembentukan asam lemak hidroksamat adalah mulai dari 0 gram sampai 3,5 gram (**Gambar 2**). Berdasarkan gambar grafik tersebut, jumlah produk yang dihasilkan meningkat secara linear seiring bertambahnya jumlah substrat yaitu mulai 0 gram sampai 1,5 gram. Tapi setelah jumlah substrat lebih dari 1,5 gram, pembentukan produk kembali menurun.

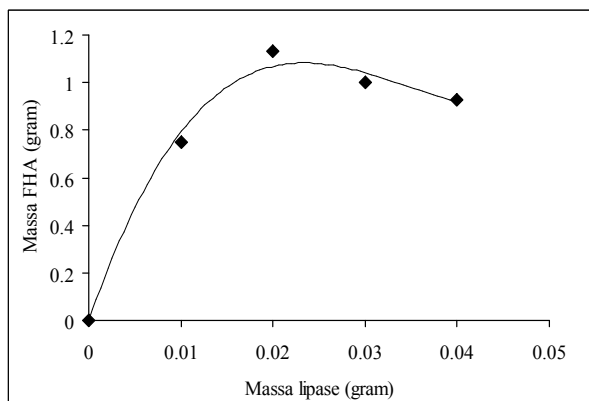


Gambar 2. Pengaruh jumlah massa minyak terhadap pembentukan FHA

Menurut Worthington [11], jumlah substrat yang berlebih mengakibatkan terhambatnya kerja enzim. Hal ini disebabkan karena semakin banyak jumlah substrat, maka semakin banyak pula jumlah molekul substrat yang bersaing untuk menempel pada sisi aktif permukaan enzim. Hal ini mengakibatkan terblokirnya sisi aktif enzim dan mencegah substrat lainnya untuk bereaksi sehingga terjadi penurunan kecepatan reaksi. Oleh sebab itu, penambahan jumlah substrat setelah mencapai titik maksimum mengakibatkan menurunnya jumlah produk yang dihasilkan. Hal ini didukung oleh penelitian [10] yaitu peningkatan jumlah substrat ke tingkat lebih tinggi mengakibatkan pendeaktivasi enzim.

Optimasi jumlah enzim

Dari segi penerapan, jumlah enzim lipase yang digunakan harus sekecil mungkin untuk mendapatkan hasil semaksimal mungkin. Karena bagaimanapun, semakin tinggi jumlah enzim lipase yang dipakai, maka semakin tinggi pula biaya yang dipakai [6]. Oleh sebab itu, pada penelitian ini dilakukan optimasi jumlah enzim untuk mengetahui pengaruh enzim lipase terhadap pembentukan produk asam lemak hidroksamat yang disintesis. **Gambar 3** menunjukkan jumlah produk asam lemak hidroksamat yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan penambahan jumlah lipase. Hal ini disebabkan karena semakin tinggi jumlah lipase yang digunakan, maka kecepatan reaksi akan semakin meningkat sehingga titik optimum akan semakin cepat tercapai. Hubungan ini dapat digunakan apabila tidak ada faktor-faktor pembatas seperti rendahnya konsentrasi substrat, adanya aktivator, inhibitor atau pengaruh pemindahan massa [12].

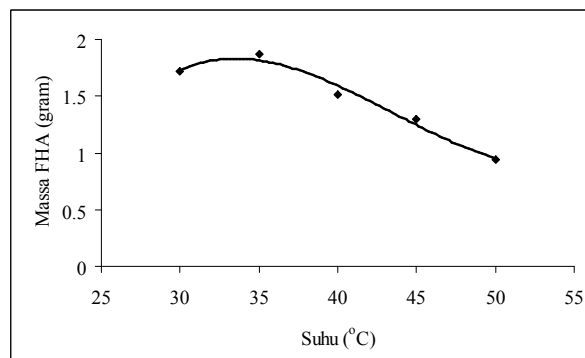


Gambar 3. Pengaruh jumlah massa lipase terhadap pembentukan FHA

Seperti terlihat pada **Gambar 3**, titik optimum dicapai pada massa lipase sebesar 0,02 gram. Titik optimum ini tercapai karena terjadinya penghentian reaksi ke arah produk yang disebabkan oleh terbatasnya jumlah substrat yang dapat diubah oleh enzim lipase menjadi produk reaksi, sehingga peningkatan jumlah enzim lipase ke tingkat yang lebih tinggi tidak akan meningkatkan jumlah asam lemak hidroksammat.

Optimasi suhu

Perubahan suhu dalam suatu reaksi dapat mempengaruhi aktivitas dan stabilitas enzim dan kecepatan reaksi. Selain itu, perubahan suhu juga berpengaruh pada kelarutan dari substrat [12]. Pada peningkatan suhu reaksi, kelarutan dari substrat ditingkatkan oleh pengurangan pemindahan massa sehingga membuat substrat menjadi lebih cocok dengan enzim. Suhu reaksi yang lebih tinggi juga meningkatkan tumbukan antara molekul enzim dan substrat sehingga mempercepat kecepatan reaksi [10]. Pada penelitian ini, penentuan suhu optimum dalam sintesis asam lemak hidroksammat menggunakan rentang variasi suhu dimulai dari 30-50 °C. **Gambar 4** memperlihatkan jumlah asam lemak hidroksammat yang dihasilkan meningkat seiring meningkatnya suhu dan kembali menurun setelah suhu optimumnya, yaitu pada suhu 35 °C.

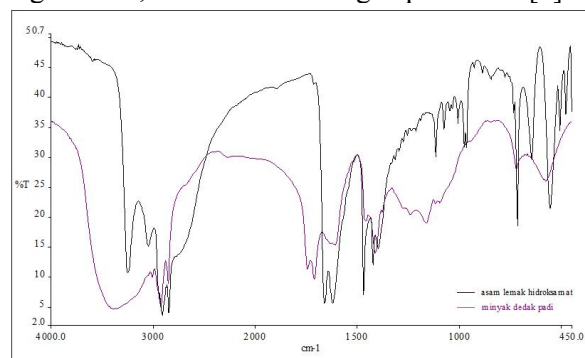


Gambar 4. Pengaruh suhu terhadap pembentukan FHA

Peningkatan hasil seiring peningkatan suhu ini disebabkan oleh peningkatan kelarutan dari substrat sehingga frekuensi interaksi antara enzim lipase dengan substrat menjadi meningkat. Sedangkan penurunan hasil seiring meningkatnya suhu disebabkan oleh terdenaturasinya enzim lipase sehingga enzim lipase menjadi tidak aktif [13]. Dan seperti dilaporkan Islam dkk. [14], lipase sangat aktif pada suhu 30-40°C.

Karakterisasi asam lemak hidroksammat

Keberadaan gugus asam hidroksammat pada produk sintesis dapat dikonfirmasi dengan analisis kualitatif berdasarkan kemampuan gugus asam hidroksammat untuk membentuk kompleks berwarna dengan logam-logam transisi dalam larutan asam, seperti Fe, Cu, Ni, Co, Zn [15]. Kompleks FHA dengan Fe(III) dan Cu(II) menghasilkan warna merah gelap dan hijau berturut-turut. Warna tersebut merupakan warna umum dari kompleks yang dapat diamati ketika ion logam Fe(III) dan Cu(II) bereaksi dengan FHA, hal ini sesuai dengan penelitian [1].



Gambar 5. Spektrum FTIR dari FHA dan minyak mentah dedak padi

Gambar 5. memperlihatkan perbedaan yang signifikan antara spektrum FTIR minyak dedak padi dengan FHA. Spektrum FTIR dari FHA menunjukkan karakteristik penyerapan ikatan dari

gugus fungsi -NH- amina pada bilangan gelombang 3252 cm^{-1} dan tidak ditemukan gugus fungsi amina pada spektrum FTIR minyak dedak padi. Pada bilangan gelombang 1744 cm^{-1} spektrum FTIR minyak dedak padi terdapat satu pita yang dimiliki oleh regangan C=O ester dari trigliserida. Hal ini berbeda dengan spektrum FTIR dari FHA, terlihat pergeseran bilangan gelombang pada gugus fungsi C=O ditunjukkan pada bilangan gelombang 1661 cm^{-1} , yang mengindikasikan keberadaan regangan C=O amida yang terdapat pada FHA [16]. Dari dua tes kualitatif diatas membuktikan bahwa terdapat gugus asam hidroksamat yang disintesis dari minyak mentah dedak padi.

Analisis kuantitatif FHA yang terbentuk dilakukan dengan penentuan jumlah total N yang terkandung dalam FHA kering menggunakan metode Semi Makro Kjeldahl. Berdasarkan hasil analisis, jumlah total N yang terkandung dalam sampel FHA kering adalah 4,18%. Ini berarti bahwa terdapat 2,98 mmol gugus asam hidroksamat dalam satu gram sampel FHA kering hasil sintesis dari minyak mentah dedak padi.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan kajian pustaka yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa FHA telah berhasil disintesis dari minyak mentah dedak padi, dengan kondisi optimum sintesis FHA dari minyak mentah dedak padi adalah pada suhu $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ selama 25 jam dengan perbandingan lipase (gram) : hidroksilamin (mmol) sama dengan 1 : 500 dan perbandingan enzim lipase (gram) : minyak mentah dedak padi (gram) sama dengan 1 : 75. Jumlah gugus asam hidroksamat dalam 1 gram sampel kering asam lemak hidroksamat adalah 2,98 mmol.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada Direktur Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat, Deputi Bidang Penguatan Riset dan Pengembangan, Kementerian Riset dan Teknologi/Badan Riset dan Inovasi Nasional yang telah mendanai penelitian ini melalui skema Penelitian Dosen Pemula dengan Surat Kontrak No: 084/SP2H/LT/DRPM/2020, Tanggal 26 Februari 2020 dan Surat Kontrak No: 1063/LL8/PG/KM/2020, Tanggal 30 Maret 2020.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Haron MJ, Jahangirian H, Silong S, Yusof NA, Kassim A, Moghaddam RR, Peyda M, Abdollahi Y, Amin J, Gharayebi Y. (2012). Copper extraction by fatty hydroxamic acids derivatives synthesized based on palm kernel oil. *J. Oleo Sci.* 61(4): 189-195.
- [2] Zhang W, Pranolo Y, Urbani M, Cheng CY. (2012). Extraction and separation of nickel and cobalt with hydroxamic acids LIX®1104, LIX®1104SM and the mixture of LIX®1104 and Versatic 10. *J. Hydromet.* 119-120: 67-72.
- [3] Zhou F, Tao C, Chunjie Y, Huan L, Ting C, Dan L, Qunying W. (2015). The flotation of low-grade manganese ore using a novel linoleate hydroxamic acid. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects.* 466 : 1-9.
- [4] Lee TS, Jeon DW, Kim JK, Hong SI. (2001). Formation of metal complex in a poly (hydroxamic acid) resin bead. *Fibers and Polymers.* 2(1):13-17.
- [5] Agarwal H, Agarwal OP, Karnawat R, Sharma IK, Verma PS. (2010). Synthesis, characterisation and biocidal studies of some hydroxamic acids. *Ijabpt.* 1(3):1293-1299.
- [6] Suhendra D, Yunus WMZ, Haron MJ, Basri M, Silong S. (2005). Enzymatic synthesis of fatty hydroxamic acid from palm oil. *J. Oleo Sci.* 54(1): 33-38.
- [7] Tahira RA, Mutt MA. (2007). Characterization of rice bran oil, *J. Agric. Research.* 45(3): 225-230.
- [8] Lakkakula NR, Lima M, Walker T. (2004). Rice bran stabilization and rice bran oil extraction using ohmic heating. *Biores. Tech.* 92(2): 157-161.
- [9] Adi N, Nurhayati E, Shamuwati, Harjono P, Hadi BH. (2003). *Ekstraksi Minyak Dari Dedak Padi Dengan Pelarut n-Heksana*. Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia. Yogyakarta (ID): Universitas Negeri Yogyakarta.
- [10] Moghaddam, M.G., Ahmad, F.B.H., Basri, M. dan Rahman, M.B.A., (2010), Lipase-Catalyzed Esterification of Betulinic Acid Using Anhydride in Organic Solvent Media: Study of Reaction Parameters, *Journal of Applied Sciences*, p:337-342.
- [11] Worthington, V., (2010), *Introduction to Enzymes*, Worthington Biochemical Corporation, New Jersey.
- [12] Gunawan, E.R. dan Suhendra, D., (2008), Synthesis of Wax Ester from Kernel Palm Oil Catalyzed Lipase, *Jurnal Matematika dan Sains*, p:76-83.
- [13] Kumari, A., Mahapatra, P., Garlapati, V.K. dan Banerjee, R., (2009), Enzymatic transesterification of Jatropha oil, *Biotechnology for Biofuels*, p:1-7.

- [14] Islam, M. E., Parveen, F., Hossain, K., Khatun, S., Karim, M.R., Kim, G.S., Absar, N., dan Haque, M.S., (2009). Purification and Biochemical Characterization of Lipase from the Dorsal Part of *Cirrhinus reba*, *Thai Journal of Agricultural Science*, p:71-80
- [15] Mukai H, Yamane Y, Fujiwara Y, Houki Y. (2001). Metal separation using dihydroxamic acids as a highly selective chelating reagent. *Anal. Sci.* 17: i709-i712.
- [16] Suhendra D, Wan Yunus WMZ, Haron MJ, Basri M, Silong S. (2006). Separation and preconcentration of copper ion by fatty hydroxamic acid immobilized onto Amberlite XAD-4. *Indo. J. Chem.* 6(2): 165-169.