

CONTINUOUS PRODUCTION OF PURE SQUALENE BY USING COLUMN CHROMATOGRAPHY

Produksi Skualen Murni Secara Sinambung Menggunakan Kromatografi Kolom

Dosis Undjung*

^a Program Studi Pengolahan Hasil Perikanan, Faculty of Farming, Univeristy of Palangkaraya
Jl. Yos Sudarso Kampus UNPAR Tunjung Nyaho, Palangka Raya

Received 5 October 2005; Accepted 11 October 2005

ABSTRACT

The purpose of this research was to produce pure Squalene using the Chromatography Column of Continuous System, so that it will be applicable in home industry. The raw material was a Shark caught from the sea water in Katingan Regency, Central Kalimantan. The result of this research concludes that the Column Chromatography of Continuous System in the experiment was able to produce pure Squalene with the level of purification of 79.89 % out of raw material was as long 180 minutes, by the elution speed of 4 mL per minute, and the eluen (liquid of the raw material) needed was as much as 900 mL, the solution lost (2 % of dietil eter in benzene) during the process was 2.04 %, the temperature in the heater tube was 110 °C, the number of the Silica gel G 40 types as what so-called solid phase in this process to purify 90 g of raw material was 90 g, and the amount of the solution remained in the pure Squalene was 1.5 ppm. Column Chromatography of Continuous System may be applicable in home industry to produce pure Squalene from Shark Liver Oil, the materials and equipment for this activity can be easily found as they are available in markets. A further analysis is needed to find out of contained compound for its further use.

Keywords: pure squalene, continuous system, column chromatography

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara kepulauan yang sebagian wilayahnya adalah perairan laut yang di dalamnya terdapat berbagai jenis ikan dan non ikan telah ditangkap dan diolah menjadi berbagai produk pangan dan non pangan. Hati ikan hiu merupakan salah satu hasil samping dari laut yang belum dimanfaatkan sepenuhnya. Berbagai macam ekstraksi minyak hati ikan hiu telah dilakukan seperti ekstraksi pelarut organik, perebusan, penguapan, dan proses silase asam untuk meningkatkan dayaguna hati ikan Hiu. Upaya tersebut dilakukan antara lain untuk mengisolasi senyawa-senyawa penting yang terkandung di dalam minyak hati ikan hiu seperti skualen (2,6,10,15,19,23-hexamethyl-2,6,10,14,18,22-tetra-cosahexaene/C₃₀H₅₀).

Penggunaan skualen antara lain untuk bahan dasar industri kosmetika dan obat-obatan perawatan kulit atau kecantikan [1], untuk bahan cat pada industri cat dan memberi warna mengkilap sutera alam maupun buatan pada industri tekstil [2] serta dipakai dalam industri bakterisida, zat pewangi, bahan kimia karet, maupun *surface active agents* [3].

Ikan hiu atau ikan cucut berprospek baik sebagai penghasil minyak hati, ikan ini mudah di tangkap dan terdapat dalam jumlah relatif besar di perairan Indonesia, tingkat penangkapan hingga sekarang baru 39 % dari potensi lestarnya.

Ikan hiu botol (*Centrophorus antromarginatus*) yang terdapat di perairan laut Indonesia memiliki panjang tubuh 1,5 meter dengan berat 50 kilogram dan kandungan minyak di dalam hatinya mencapai 85 % [4].

Metoda isolasi skualen dari minyak hati ikan hiu antara lain adalah distilasi bertingkat (*fractional distillation*) pada tekanan rendah/2 mm Hg dengan rendemen 60 % dan kemurnian 99,9 % [5]; pembekuan -50 ° - -70 °C menghasilkan rendemen skualen kasar 88 % [6]; penyabunan menghasilkan rendemen skualen kasar 97,5 % [7] serta kromatografi kolom menghasilkan rendemen skualen 79,70 % dengan kemurnian 100 %. Bobot contoh skualen kasar 30 g dengan waktu proses pemurnian 60 menit secara curah menggunakan eluen 2 % dietil eter dalam benzena [8].

Penelitian ini bertujuan untuk memproduksi skualen murni secara sinambung menggunakan kromatografi kolom agar dapat diaplikasikan dalam industri rumah tangga.

* Email address : dosisundjung@yahoo.com

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang digunakan adalah minyak hati ikan hiu botol (*C. atromarginatus*) dari perairan pantai Pagatan, Kabupaten Katingan, Propinsi Kalimantan Tengah. Bahan pelarut dietil eter dan benzena, NaOH, garam dapur, kloroform, asetonitril dan bahan kimia lainnya untuk analisis.

Alat

Peralatan yang digunakan adalah kolom berdiameter 2,39 cm dengan panjang 70 cm, *silica gel G* tipe 40 dengan *mesh* 70-230 dengan diameter 0,063-0,200 mm, corong pemisah, tabung reaksi, alat pelengkap kolom kromatografi, tabung pendingin, pengaduk magnetik, kompor pemanas, tabung penampung, gelas ukur, saringan vakum, kertas saring, neraca analitik, labu Erlenmeyer, penangas listrik, corong buchner, TLC, HPLC serta peralatan lainnya untuk keperluan analisis.

Prosedur Kerja

Tahap pertama, hati ikan hiu botol (*C. atromarginatus*) diekstraksi dengan silase asam selanjutnya dilakukan netralisasi menggunakan NaOH 61 % ditambahkan air garam jenuh, lalu diperoleh skualen kasar (digunakan sebagai bahan baku produksi). Sifat fisiko-kimia, rendemen dan kandungan skualen kasar tersebut dianalisis disentuh menggunakan HPLC.

Tahap ke dua mempersiapkan rangkaian kromatografi kolom untuk memproduksi skualen murni secara sinambung (Gambar 1).

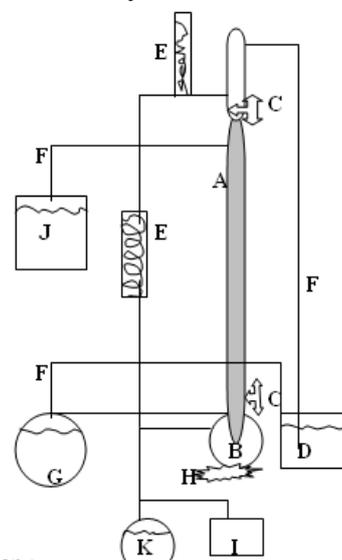
Tahap ke tiga, proses produksi skualen murni menggunakan kromatografi kolom yang sudah dirangkai dan diisi bahan (skualen kasar maupun pelarut), dengan pelarut 2 % dietil eter dalam benzena. Laju alir eluen antara bahan baku dengan pelarut adalah sama dan pada kolom A terdapat skualen kasar sebanyak 90 g (jumlah skualen kasar dimurnikan 150 g). Selama proses produksi dicatat

laju eluen / eluat serta lama proses produksi. Pada akhir proses dilakukan perhitungan rendemen skualen yang di hasilkan dengan rumus berikut : *berat skualen murni* di bagi *berat skualen kasar* dikali 100 %. Selain itu dilakukan pula analisis HPLC untuk mengetahui kemurnian skualen yang dihasilkan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Bahan Baku

Bahan baku yang di analisis sudah mengalami proses ekstraksi silase asam dan netralisasi, hasil analisis tersebut disajikan dalam Tabel 1.



Keterangan :

- A = Kolom kromatografi bersilika
 B = Penampung skualen murni + pelarut
 C = Pengatur laju alir eluen / eluat
 D = Pelarut
 E = Pendingin
 F = Pompa
 G = Destilat
 H = Pemanas
 I = Refraktometer (detektor)
 J = Bahan baku/skualen kasar
 K = Skualen murni

Gambar 1 Rangkaian kromatografi kolom untuk memproduksi skualen murni sistem sinambung dalam percobaan.

Tabel 1. Sifat fisiko-kimia dan kandungan skualen minyak hati ikan hiu botol (bahan baku)

Parameter	Bahan baku ^{A)}	SFI ^{*)}	AOCS ^{**)}	Skualen komersial ^{B)}
Warna	Putih kekuningan	-	-	Tidak berwarna/agak kekuningan
Bau	Sedikit bau ikan asin dan tengik	-	-	Ada sedikit bau ikan, tidak tengik, ada bau gosong.
Bilangan asam	-	lebih kecil atau sama dengan 2	1,6	-
Bilangan penyabunan	-	-	183-186	-
Bilangan iod	342,89	110-190	130-160	359,20
Titik didih (pada 2 mmHg)	234 °C	-	-	420 °C
Berat jenis (pada 20 °C)	0,8702	-	-	0,8625
Indeks bias (pada 20 °C)	1,4882	-	-	1,4896
Kandungan skualen ^{C)}	803 mg/g sk	-	-	999,9 mg/l ssk
Kandungan skualen ^{C)}	83 %	-	-	60 %

Keterangan : A) = Bahan baku sudah mengalami netralisasi

*) = Standard Farmakope Indonesia [9]

***) = Standard minyak ikan Amerika Serikat [10] ssk= Skualen komersial

B) = Skualen komersial Jepang [11]

C) = Bukan sifat fisiko-kimia / hasil analisis HPLC

sk = Skualen kasar (hasil netralisasi)

Tabel 2 Kemampuan produksi skualen murni menggunakan kromatografi kolom sistem sinambung

No.	Karakteristik	Pengukuran
1	Skualen kasar dimurnikan melewati 90 g silika, mempunyai kemampuan untuk 3 kali proses produksi	Bobot contoh 90 g / utk 1 kali proses
2	Laju elusi	4 mL / menit
3	Mengalirnya skualen setelah eluat pertama menetes*)	Pada menit ke 25
4	Lama mengalirnya skualen*)	25,03 menit (proses pertama)
5	Kehilangan pelarut selama proses	2,04 %
6	Lama proses	180 menit
7	Kadar pelarut tersisa pada skualen murni yang dihasilkan	1,5 ppm
8	Rendemen skualen murni dihasilkan	79,8 %
9	Eluen diperlukan untuk proses bobot contoh 90 g	900 mL
10	Suhu pada tabung pemanas	110 °C

Keterangan : *) = Berdasarkan analisis TLC

Bobot contoh 150 g skualen kasar

Spesifikasi proses : Kromatografi kolom (panjang 70 cm, diameter 2,9 cm) Berisi *silica gel G* tipe 40 (*mesh* 70-230, diameter 0,063-0,200 mm sepanjang 35 cm = terisi penuh oleh 90 g skualen kasar. Eluen 2 % dietil eter dalam benzena.

Berdasarkan hasil analisis seperti pada Tabel 1, diketahui bahwa bahan baku yang digunakan dalam kondisi/mutu baik (belum mengalami kerusakan dan layak digunakan dalam percobaan).

Proses Produksi Skualen Murni

Kromatografi kolom sistem sinambung mampu menghasilkan skualen murni (100 %) dengan rendemen 79,8 %. Tabel 2 memaparkan spesifikasi proses dan karakteristik hasil yang diperoleh. Jumlah silika yang dipakai untuk memurnikan 90 g skualen kasar yang melewati Kromatografi kolom adalah 90 g, setelah itu harus segera dicuci/dibersihkan menggunakan etanol, silika ini dapat dipakai kembali untuk proses produksi skualen murni, demikian seterusnya.

Pada proses produksi skualen murni menggunakan kromatografi kolom sistem sinambung dengan eluen 2 % dietil eter dalam benzena, terlihat bahwa pada fraksi eluat 1 sampai 4 belum terdapat senyawa skualen maupun senyawa lainnya, baru pada fraksi eluat 5 sampai 8 terdapat senyawa skualen dan pada fraksi eluat 9 hanya berisi senyawa lainnya. Ada 2 fasa yang penting, pertama fasa diam (*stationary phase*) adalah *silica gel G* tipe 40 yang fungsinya menahan senyawa-senyawa dengan cara adsorpsi atau pelarutan. Ke dua, fasa bergerak yakni 2 % dietil eter dalam benzena yang fungsinya membawa senyawa-senyawa. Berdasarkan perbedaan adsorpsi atau kelarutan maka kecepatan migrasi dari setiap senyawa juga berbeda. Akibat perbedaan migrasi inilah maka antara senyawa yang satu dengan yang lainnya akan terpisah, dan dari hasil percobaan diketahui bahwa migrasi senyawa skualen lebih cepat dari senyawa lain yang tidak dikehendaki. Hal ini didukung pula dengan perbedaan berat molekul antar senyawa. Skualen memiliki berat molekul yang lebih besar dari senyawa lainnya sehingga

dengan adanya pengaruh gravitasi bumi senyawa skualen lebih cepat migrasi dibanding senyawa lainnya. Dengan demikian senyawa skualen lebih cepat keluar mendahului senyawa-senyawa lain melintasi fasa diam dan mengalir ke tabung eluat, hal ini sangat didukung oleh ketiadaan gugus COOH pada senyawa skualen.

Percobaan ini dapat diskalagandakan bagi industri rumah tangga menggunakan alat dan bahan yang mudah didapatkan di pasaran.

Analisis Sifat Fisiko-Kimia Skualen Hasil Produksi

Hasil analisis sifat fisiko-kimia skualen yang dihasilkan melalui kromatografi kolom secara sinambung disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 Sifat fisiko-kimia skualen hasil produksi kromatografi kolom sistem sinambung

Parameter	Skualen hasil produksi	Skualen Standard*)
Warna	Bening	Agak ekuningan
Bau	Tidak berbau, tidak tengik, ada sedikit bau pelarut	Ada sedikit bau ikan asin, tidak tengik
Titik didih (pada 2mmHg)	241 °C	240-242 °C
Berat jenis (pada 20 °C)	0,8592	0,858-0,860
Indeks bias (pada 20 °C)	1,4984	1,495-1,498
Bilangan iod	370,40	360-370
Kandungan skualen**)	1000 mg/g skualen hasil produksi	1000 mg/g skualen standard

Keterangan :

*) = Parameter mutu skualen Jepang/HS No.1504.10.000 [5]

**) = Bukan sifat fisiko-kimia, tetapi hasil analisis HPLC

Berdasarkan hasil analisis pada Tabel 3 diketahui bahwa skualen hasil produksi dalam percobaan adalah berkualitas baik. Hal ini didukung pula oleh hasil analisis HPLC bahwa skualen yang dihasilkan memiliki kemurnian 100 %.

Rendemen Hasil Samping

Setelah proses produksi skualen berakhir, maka didapatkan hasil samping yang didapat dari fraksi eluat serta dari hasil pencucian silika gel menggunakan eluen etanol. Rendemen hasil samping yang diperoleh sebesar 2,02 %, hasil samping ini sebaiknya dianalisis untuk mengetahui senyawa-senyawa apa saja yang terkandung di dalamnya guna pemanfaatan lebih lanjut.

KESIMPULAN

Produksi skualen murni dapat dilakukan dengan kromatografi kolom sistem sinambung, dalam percobaan didapatkan rendemen skualen murni 79,8 % pada tingkat kemurnian 100 % (berkualitas baik). Lama proses produksi untuk 90 g bahan baku adalah 180 menit, dengan laju elusi 4 mL/menit, kehilangan pelarut selama proses 2,04 %, suhu tabung pemanas 110 °C dan pelarut tersisa pada skualen murni yang dihasilkan 1,5 ppm. Hasil percobaan ini dapat diskalagandakan untuk industri rumah tangga, menggunakan alat dan bahan yang mudah di dapatkan di pasaran.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada : Himpunan Alumni PPs-IPB Bogor yang membiayai penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Miall, L.M.M., and D.W.A. Sharp, 1968, *A New Dictionary of Chemistry*, Longman Group Ltd., London, p428.
2. Brody, J., 1965, *Fisheries by Products Tecnology*, The Avi Publishing Comp. Inc., Westport Connecticut, p376.
3. Gopakumar, K., and Thankappan, T.K., 1986, *J. Seafood-Exp.* 18 (3), 17.
4. Surendro, D., dan Sujayanto, G., 1992, *Skualen Alternatif Penangkal Penyakit*, Intisari (Desember), Jakarta, 27-35.
5. Anonim, 1987, *Marketing Research on Indonesia Shark Liver Oil*. Asean Promotion Centre on trade, Investmen and Tourism. Omni Tec., Japan, p33.
6. Anonim, 1990, *Isolasi Skualen dari Minyak Hati Ikan Hiu Botol*. Departemen Perindustrian, Balai Industri Ambon, Ambon, p12.
7. Sudirman, A., 1993, *Isolasi Skualen dari Minyak Hati Ikan Hiu Botol dengan Cara Penyabunan*, Skripsi Universitas Juanda, Bogor, p65.
8. Undjung, D., 1995, *Isolasi Skualen dari Minyak Hati Ikan Hiu Botol* (tesis, tidak dipublikasikan), PPs-IPB, Bogor, p72.
9. Anonim, 1974, *Ekstra Farmakope Indonesia*. Departemen Kesehatan RI, Jakarta, p35.
10. Williams, K.A., 1966, *Oil, Fat and Fatty Acids*. edisi ke 4, J and A Churchill-Little, London, p369.
11. Nipposha, Y., 1988, *Cosmetic Products Raw Materials Standard*, edisi 2, YN, Tokyo, pp25-26.