

# ASIDOLISIS ENZIMATIK MINYAK IKAN TUNA (*THUNNUS THYNNUS*) MENJADI PRODUK ASAM LEMAK KAYA OMEGA-3 DENGAN PEMANFAATAN LIPASE GETAH PEPAYA (*carica papaya latex*)

Wahyuningsih<sup>1</sup>, Isti Pudjihastuti<sup>2</sup>, Heny Kusumayanti<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Proses Industri Kimia, PSD III Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro Jl Prof Sudharto SH, Tembalang Semarang ; Telpon 024 7471379, HP 08122876918, Email : wahyunimachin@gmail.com

<sup>2</sup>Laboratorium Bioteknologi, PSD III Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro Jl Prof Sudharto SH, Tembalang, Semarang

<sup>3</sup>Laboratorium Teknologi Pengolahan Pangan, PSD III Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro, Jl Prof Sudharto SH, Tembalang, Semarang

## ABSTRACT

*Incorporation of omega-3 polyunsaturated acids (n-3 PUFA) into Tuna (*Thunnus thynnus*) fish oil was investigated by using acidolysis enzymatic Process. The product of this modification is expected to be used as an ingredient nutrition food products, especially in milk and baby food as well as pregnant and lactating*

*The purpose of this study was to optimizing the used of lipase papaya latex (*Carica papaya latex*) in the product to incorporation fatty acids rich in omega-3. Bioreactor acidolysis enzymatic development and Optimization of process the productivity of fatty acids rich in omega-3. Reaction Acidolysis was conducted between tuna (*thunnus thynnus*) fish oil by microbial lipase (5% of the weight of the substrate mixture) or vegetable lipase (*Carica papaya latex*) (6-10% by weight subtract mixture) as biocatalist. Acidolysis mixture the bioreactor at 40 ° C for (2-6 hours) and the stirring speed of 200 rpm, pH (4.5 to 6.5). to eliminate free fatty acids from the product acidolysis performed neutralization with NaOH*

*The results are expected to show that the lipase papaya latex (*Carica papaya latex*) can be used as biocatalyst incorporated omega-3 fatty acids in tuna (*thunnus thynnus*) fish oil . In this study sought conditions for optimum incorporation rate, ie the use of papaya latex lipase concentration of 8%, the ratio of concentrations of omega-3 fatty acid and palm oil (1:1), pH = 5.5, Optimal time of 4 hours and the temperature (40°C) . The results were analyzed incorporation of omega-3 (EPA and DHA) with GC. EPA generated: 3.57% and DHA = 3.91%*

**Key word:** Acidolysis, Tuna fish oil

## PENDAHULUAN

Peranan asam lemak omega-3, yakni EPA (asam eikosapentanoat ;C20:5) dan DHA (asam dokosaheksanoat: C 22:6) terhadap kesehatan telah banyak diketahui. Di samping mencegah penyakit jantung, memiliki sifat anti tumor, anti inflamasi serta dibutuhkan tumbuh kembang otak, dan retina manusia (Connor, 2003). Meskipun memiliki banyak keunggulan, tidak semua orang senang mengonsumsi asam lemak omega-3 yang berasal dari minyak ikan karena baunya yang amis. Hal ini merupakan masalah utama dalam

penggunaannya sebagai bahan nutrisi atau formulasi produk pangan. Salah satu upaya untuk mengatasi masalah ini adalah menginkorporasikan asam lemak n-3 dari minyak ikan dan minyak nabati yang biasa dikonsumsi manusia, seperti minyak kacang tanah (Sridhar, dkk, 2004), minyak biji melon (Huang, et al, 1999), Evening primrose (Ako, et al, 2003), dan minyak sawit (Elizabeth, dkk, 2001).

Sintesis minyak nabati kaya asam lemak n-3 umumnya menggunakan lipase sebagai katalis, sehingga dengan penggunaan suhu dan tekanan proses yang rendah maka kerusakan oksidatif asam lemak n-3 dapat dikurangi. Jenis lipase yang banyak digunakan untuk sintesis minyak kaya asam lemak n-3 adalah lipase mikrobial, diantaranya lipase *Rhizomucor meihei*, *candida antarica*, *chromobacterium viscosum* dan *pseudo monas* (Mukhejee,1999).

Saat ini sudah tersedia banyak jenis lipase mikrobial komersial yang dapat langsung dipergunakan, namun umumnya lipase mikrobial relatif harganya mahal, karena proses produksi, ekstraksi, dan isolasinya relatif rumit. Hal ini merupakan salah satu kendala aplikasi reaksi enzimatik pada skala industri.

Upaya mencari sumber lipase yang murah telah dilakukan oleh banyak peneliti. Salah satu sumber lipase yang potensial dikembangkan adalah bahan tumbuhan, seperti: lipase dedak padi, umbi kentang, kecambah biji-bijian, serta getah pepaya. Lipase bahan tumbuhan tersebut berperan dalam menghidrolisis cadangan minyak atau lemak untuk persediaan energi dan rangka karbon yang dibutuhkan untuk pertumbuhan embrio (Mukherjee,1999) dan (Jachmanian dan Mukherjee,2001). Disisi lain, lipase juga merupakan penyebab kerusakan minyak dan lemak yang terdapat pada tumbuhan, misalnya minyak dedak padi.

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa lipase tumbuhan merupakan biokatalis yang potensial untuk memproses modifikasi minyak dan lemak. Flogia (2002) telah membuktikan bahwa lipase getah pepaya yang telah umum diketahui memiliki aktivitas protease untuk menghidrolisa protein, dapat digunakan pada sintesis lipid terstruktur berenergi rendah.

Penelitian ini mencoba mengkaji lebih proses asidodilis minyak tuna dengan proses asidolisis untuk memproduksi asam lemak omega-3 dan mengkaji pemanfaatan getah pepaya (*carica papaya latex*) sebagai biokatalis dalam sintesis minyak ikan tuna (*thunnul thunny*) kaya omega-3.

## **METODE PENELITIAN :**

### **Bahan Penelitian**

Minyak ikan tuna ( dari PT Aneka Tuna Gempol, Jawa timur), Minyak kelapa sawit, Lipase getah pepaya sebagai biokatalis dan Buffer fosfat dari Indrasari Semarang, Bahan-bahan kimia sebagai pelarut dan analisa diperoleh dari Indrasari, Semarang.

### **Alat penelitian**

- Alat glass ware untuk analisa bahan baku (kadar air, kadar asam lemak bebas, angka iod, angka penyabunan).
- Alat GC untuk analisa hasil asam lemak n-3 (EPA dan DHA)
- Alat bioreactor enzimatik (alat produksi asam lemak kaya n-3)

Reaksi asidolisis dilakukan antara konsentrat asam lemak omega-3 (minyak ikan tuna) dan minyak kelapa sawit pada berbagai tingkat nisbah dengan lipase getah papaya sebanyak 10 % b/b substrat campuran sebagai biokatalis (Elizabeth, 2004). Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 40°C selama 4 jam, sambil diaduk pada orbital shaker dengan kecepatan 300 rpm. Udara dalam bejana digantikan dengan gas N<sub>2</sub> untuk mencegah oksidasi. Semua reaksi dilakukan 2 ulangan dan analisis dilakukan secara duplo. Reaksi dihentikan dengan menambahkan campuran pelarut aseton/etanol ( 1:1 ,v/v), lalu lipase getah pepaya dipisahkan dengan cara penyaringan. Proses ekstraksi fraksi lipida dilakukan dengan menambahkan heksana, methanol dan air dengan volume yang sama. Campuran ini kemudian dititrasi dengan NaOH dalam methanol (0,5N) untuk menghilangkan asam lemak bebas yang terdapat pada produk. Setelah itu lapisan heksana dipisahkan dan asam lemak omega -3 diperoleh setelah pelarut heksana dihilangkan dengan cara evaporasi vacuum.

Pada percobaan ini, dijalankan dengan ratio minyak ikan tuna dan minyak kelapa sawit sebesar 1:1. Asidolisis enzimatik ini, dilakukan dalam bioreaktor enzimatik pada berbagai variabel proses yang telah ditentukan.

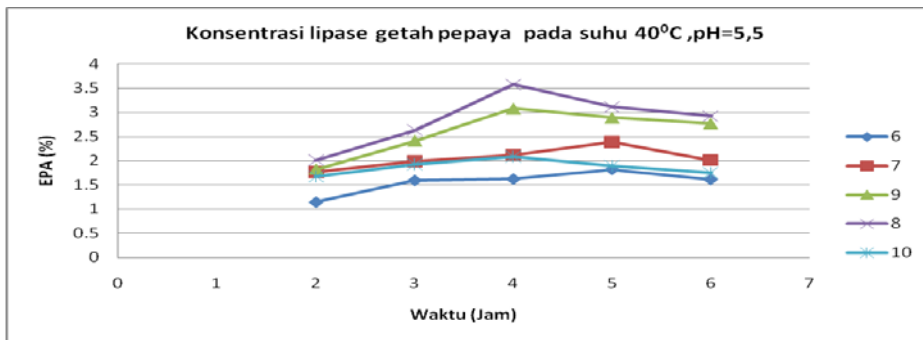
Prosedur percobaan dilakukan dengan cara mengamati kandungan asam lemak setiap 30 menit. Pengamatan ini akan dilakukan selama beberapa hari sampai kemampuan enzim lipase menurun untuk asidolisa trigliserida. Pada percobaan ini juga dibandingkan pengaruh konsentrasi lipase getah pepaya, pH dan waktu reaksi

**Analisis konsentrasi asam lemak omega -3:**

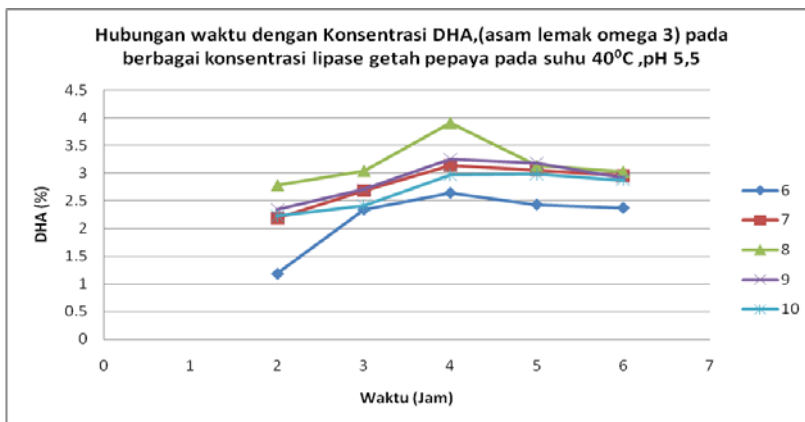
Analisis asam lemak pada sampel menggunakan kromatografi gas GZ-9AM (Schimadzu, Jepang) yang dilengkapi dengan detector FID. integrator Chroma-topac C-R6A dan kolom kapiler DB-23(30 m x 0,25 mm id: J&W Scientific , Folsom, CA). Preparasi OCS official Method Ce 1-62. Penyuntikan sampel

sebanyak 1uL menggunakan system langsung dengan injector 250°C ,suhu detector 260 °C, suhu kolom awal 140 °C yang di pertahankan selama 6 menit, peningkatan suhu kolom 30 °C per menit hingga suhu akhir 230°C dan dipertahankan selama 20 menit. Gas Helium digunakan sebagai gas pembawa dengan tekanan 1 kg/cm2, sedangkan tekanan gas Hidrogen dan udara untuk FID masing-masing adalah 0,5 kg/cm2. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan standar ester metal asam lemak dengan kuantifikasi masing-masing jenis asam lemak dilakukan dengan perbandingan terhadap standar internal C 17:0

**HASIL DAN PEMBAHASAN**



Gambar 1. Hubungan waktu dengan Konsentrasi EPA, (asam lemak omega 3) pada berbagai Konsentrasi lipase getah pepaya pada suhu 40° C , pH=5,5



Gambar 2 Hubungan waktu dengan Konsentrasi DHA, (asam lemak omega 3) pada berbagai konsentrasi lipase getah pepaya pada suhu 40° C , pH 5,5

Kandungan EPA dan DHA pada minyak ikan tuna masing-masing adalah sebesar 3,3 % dan DHA 3,9 %. Kandungan asam lemak pada minyak sawit didominasi oleh asam palmitat (C 16;0) dan asam oleat (C 18;1) masing-masing sebesar 49,6% dan 40,1%. Minyak kelapa sawit sebagai sumber molekul trigliserida sedangkan konsentrat minyak ikan tuna sebagai sumber asam lemak omega-3.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa inkorporasi enzimatis asam lemak kaya omega-3 dari minyak ikan tuna dan minyak kelapa sawit dengan biokatalis lipase getah pepaya (*carica paprica latex*) dapat dijalankan. Lipase getah pepaya mempunyai aktivitas lipase yang lebih rendah dalam menginkorporasikan asam lemak omega-3 pada minyak ikan tuna jika dibandingkan lipase dedak padi. Perbedaan aktifitas dan spesifisitas lipase serta interaksinya dengan faktor ekstrinsik seperti kadar air, menyebabkan perbedaan waktu reaksi dari masing-masing jenis lipase untuk mencapai tingkat inkorporasi EPA dan DHA maksimum

Dengan tingkat nisbah substrat 1:1 yakni nisbah konsentrat asam lemak omega 3 dan minyak sawit (b/b), maka tingkat inkorporasi EPA dan DHA pada minyak ikan tuna dengan katalis lipase dedak padi masing-masing 18,08 dan 9,99, sedangkan dengan katalis lipase getah pepaya masing-masing 3,11 dan 3,91 (gambar 3 dan 4).

Aktifitas lipase dedak padi yang lebih tinggi dalam menginkorporasi asam lemak omega-3

pada minyak ikan tuna mengindikasikan bahwa lipase dedak padi memiliki spesifisitas yang lebih tinggi terhadap EPA dan DHA dibandingkan dengan lipase getah pepaya. Faktor bentuk bahan tumbuhan juga mempengaruhi aktivitas lipase yang terdapat didalamnya. Lipase dedak padi dapat dianalogkan sebagai lipase imobil dengan kulit padi yang berfungsi sebagai bahan penyangga sedangkan lipase getah pepaya terdapat dalam bentuk ekstrak protein kasar. Enzim dalam bentuk imobil relatif lebih stabil terhadap

kondisi lingkungan yang kurang sesuai, seperti suhu dan polaritas tinggi.

## KESIMPULAN

Biokatalis Lipase getah pepaya (*carica paprica Latex*) ternyata dapat digunakan untuk proses asidolisis minyak sawit dengan minyak ikan tuna menjadi produk asam lemak kaya omega-3. Hasil optimum dari proses ini pada kondisi operasi : Suhu 40°C, waktu 4 jam , pH 5,5, perbandingan reaktan 1:1(b/b), konsentrasi lipase getah papaya 8 %; harga EPA=3,11% dan DHA 3,91%.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada Dekan Fakultas Teknik Undip yang telah mendukung hingga penelitian ini bisa kami lakukan, penelitian ini didukung oleh dana TTG hibah bersaing Fakultas Teknik, DIPA Fakultas Teknik Undip, SK no 304/SK/UN7.3.3/IV/2011 yang telah diterima penulis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Akoh,C.C,B.H.Jennings and D.A.Lillard, 2003,"*Enzymatic modification of evening pimrose oil:incorporation of n-3 Polyunsaturated fatty acids*, J.Am.Oil.Chem.Soc,73(8):1059-1062
- Connor,W.e.,M.Nouringer and S Reisbick, 2003,"*Essential fatty acid the importance of n-3 fatty acid in the retina and brain*", Nutrition Rev, 50(4), 21-29
- Elizabeth,J.,A.Jatmika,and K Sinaga, 2001, "Sintesis minyak sawit merah kaya omega-3 dengan metode asidolisis enzimatis,J, Penelitian kelapa sawit 7(1), 43-66
- Elizabeth,J.,A.Jatmika,K.Sinaga and Sembiring ,2004,"*Lipaze catalyst incorporation of n-3 PUFA inti palm oil,Processing of international Oil palm Conference*, Bali September 23- 35

- Fogila, T.A., and P. Villeneuve, 2003, "Carica papaya latex lipase catalyze synthesis of structure triacyl Glycerol, J. Am. Chem. Soc., 74(11) : 1447-1449
- Huang, K.H., C.C. Akoh, and M.C. Erichson, 1999, "Enzymatic Modification of melon seed oil, incorporation of eicosapentaenoic acid, J. Agro Food Chem. 42(11); 2246-2648
- Mukherjee K.D., 1999, "Plant Lipases and their application in lipid biotransformation. Prog Lipids Res 33(1/2) : 155-174 European Biochemical Societies
- Jachmanian, A.A., K.D., Mukherjee 2003, "Effect of Enzymatic Interesterification on melting point of palm olein, Appl. Biochem. Biotechnol. (abstract) vol 110, n 1 July p 45-5