

**PRODUKSI FRAKSI KAYA ASAM LEMAK OMEGA-3, MELALUI REAKSI ALKOHOLISIS ENZIMATIS MINYAK IKAN TUNA MENGGUNAKAN LIPASE *Rhizomucor miehei***

Rr. Handaruwati, Slamet Budijanto, Purwiyanto Hariyadi,  
dan Budiartman Satiawihardja

Minyak ikan tuna hasil samping dari proses pengalengan ikan tuna merupakan sumber asam lemak omega-3 (eikosapentanoat/EPA dan dokosaheksanoat/DHA) yang sangat potensial dan dapat digunakan sebagai bahan utama dalam produksi fraksi gliserida kaya asam lemak omega-3 melalui reaksi alkoholisis enzimatis. Asam lemak omega-3 (EPA dan DHA) berperan penting terhadap kesehatan, sedangkan ketersediaannya tidak dapat disintesis oleh tubuh melainkan harus dari diet. Sampai saat ini telah banyak hasil penelitian yang menyatakan bahwa minyak ikan mengandung asam lemak tak jenuh, khususnya asam lemak omega-3 yang tinggi dan para ahli pangan dan gizi juga telah mengungkapkan adanya pengaruh positif dari asam lemak omega-3 terhadap kesehatan. Dengan demikian perlu penyediaan produk pangan yang mengandung asam lemak omega-3.

Tujuan penelitian ini adalah memproduksi fraksi kaya asam lemak omega-3 melalui reaksi alkoholisis minyak ikan tuna dengan biokatalisator lipase komersial dari *Rhizomucor miehei*. Untuk mencapai tujuan tersebut dilakukan tahap-tahap penelitian yang meliputi (1) identifikasi fraksi kaya asam lemak omega-3 hasil reaksi alkoholisis, (2) optimasi parameter kondisi reaksi yang terdiri dari konsentrasi enzim dalam % g/g total substrat, nisbah mol substrat (MIT: Bu-OH, mol/mol), serta suhu inkubasi dalam derajat Celsius pada variasi waktu inkubasi dalam satuan jam, dan (3) produksi fraksi kaya asam lemak omega-3 pada kondisi optimum.

Reaksi alkoholisis enzimatis minyak ikan tuna dan n-butanol merupakan salah satu dari reaksi transesterifikasi yang menghasilkan fraksi gliserida sebagai monoasilgliserol (MAG), diasilgliserol (DAG), dan fraksi monoester berbentuk butilester (BE). Lipase sebagai biokatalisator berperan penting terhadap fraksi produk yang dihasilkan. Hal ini berkaitan dengan spesifisitas dari lipase tersebut. *Rhizomucor miehei* yang digunakan dalam penelitian ini termasuk sebagai lipase dengan spesifisitas posisional sn1- dan sn3-, dengan demikian produk yang dihasilkan dapat diarahkan dalam bentuk gliserida, yaitu bentuk fraksi MAG dan DAG.

Identifikasi fraksi kaya asam lemak omega-3 dari hasil reaksi alkoholisis enzimatis minyak ikan tuna dan n-butanol dilakukan dengan analisis kandungan asam lemak menggunakan kromatografi gas. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi produk dalam bentuk fraksi parsial gliserida terdiri dari MAG dan DAG yang kaya asam lemak omega-3. Selanjutnya dilakukan optimasi fraksi MAG dan DAG dengan penentuan kondisi optimum reaksi yang meliputi konsentrasi enzim, nisbah mol substrat (MIT : Bu-OH) dan penentuan suhu serta waktu inkubasi.

Untuk penentuan konsentrasi enzim yang dilakukan variasi dari 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, dan 10 % (b/b) menunjukkan bahwa konsentrasi enzim optimum sebesar 6 % (b/b total substrat) untuk reaksi alkoholisis pada kondisi reaksi waktu inkubasi 6 jam dan nisbah mol substrat 1:10.6 (mol/mol) dengan suhu inkubasi

50°C. Untuk reaksi dengan konsentrasi enzim optimum ini diperoleh peningkatan fraksi produk MAG, DAG, dan BE masing-masing sebesar 3 kali, 2.34 kali dan 2.03 kali jumlah semula. Fraksi TAG mengalami penurunan sebesar 14.58 kali jumlah semula.

Untuk penentuan nisbah mol substrat (MIT:Bu-OH) dilakukan tiga variasi nisbah substrat yaitu 1:8, 1:10.6 dan 1:13.2 (mol/mol). Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa rasio substrat 1:8 mol/mol merupakan rasio substrat yang paling optimum. Hal ini ditunjukkan dengan tingginya fraksi produk MAG, DAG, dan BE serta semakin berkurangnya fraksi TAG sebagai substrat.

Penentuan parameter suhu reaksi pada berbagai waktu inkubasi. Variasi suhu inkubasi dilakukan pada 35, 40, 45, 50, dan 55°C. Berdasarkan variasi suhu yang dilakukan menunjukkan peningkatan fraksi produk pada variasi waktu yang dilakukan. Berdasarkan pada masing-masing fraksi yang terbentuk menunjukkan bahwa fraksi MAG, DAG, dan BE meningkat paling tinggi pada waktu 6 jam dengan suhu inkubasi 55°C. Fenomena yang sama juga terjadi pada fraksi TAG yang mengalami tingkat penurunan tertinggi pada suhu inkubasi dan waktu tersebut. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa waktu inkubasi 6 jam merupakan waktu optimum reaksi dengan menghasilkan peningkatan fraksi MAG, DAG, dan BE masing-masing sebesar 4.56 kali, 3.00 kali dan 1.65 kali jumlah semula. Sedangkan fraksi Tag mengalami penurunan sebesar 19 kali konsentrasi semula.

Produksi fraksi gliserida kaya asam lemak omega-3 (EPA, DHA, dan total asam lemak omega-3) dilakukan pada kondisi optimum reaksi yang telah ditentukan sebelumnya. Berdasarkan kondisi reaksi optimum yaitu rasio mol substrat (MIT : Bu-OH) sebesar 1:8 mol/mol, konsentrasi enzim 6% (b/b total substrat) dan suhu inkubasi 55°C dilakukan penentuan konsentrasi asam lemak omega-3 pada variasi waktu inkubasi 0, 2, 4, 6, 8, dan 10 jam. Peningkatan konsentrasi asam lemak omega-3 tertinggi diperoleh dalam fraksi MAG sebesar 3.59 kali konsentrasi semula, sedangkan fraksi DAG hanya 1.78 kali konsentrasi semula. Untuk peningkatan konsentrasi DHA diperoleh untuk fraksi MAG sebesar 3.40 kali, sedangkan fraksi DAG sebesar 2.50 kali konsentrasi semula. Fenomena yang sama juga terjadi untuk peningkatan total asam lemak omega-3. Peningkatan konsentrasi asam lemak DHA tertinggi terjadi pada fraksi MAG (3.42 kali), sedangkan fraksi DAG 2.26 kali.

Rendemen potensial dari hasil reaksi alkoholisis enzimatis yang dilakukan pada kondisi optimum diperoleh rendemen total fraksi asilgliserol (TAG, DAG, dan MAG) dan rendemen dari jumlah fraksi DAG dan MAG tidak berbeda nyata. Kedua kelompok tersebut memiliki potensial yang hampir sama. Rendemen campuran TAG, DAG, dan MAG diperoleh sebesar 64.87% (b/b) dengan peningkatan konsentrasi EPA, DHA, dan TALO-3 berturut-turut sebesar : 1.53 kali, 2.05 kali, dan 1.61 kali konsentrasi minyak ikan tuna. Untuk rendemen fraksi MAG dan DAG sebesar 61.01% (b/b) dengan peningkatan konsentrasi EPA, DHA, dan TALO-3 berturut-turut sebesar 1.60 kali, 2.18 kali, dan 22.04 kali konsentrasi minyak ikan tuna. Untuk fraksi MAG murni mengalami peningkatan konsentrasi yang sangat tinggi, tetapi rendemen yang dihasilkan relatif kecil. Rendemen MAG yang dihasilkan hanya sebanyak 21.92% (b/b) yang berarti 34.86 kali lebih kecil dibandingkan rendemen yang dihasilkan dari total fraksi asilgliserol (TAG, DAG, dan MAG) atau campuran fraksi MAG dan DAG. Peningkatan konsentrasi EPA, DHA, dan TALO-3 dari fraksi MAG diperoleh hasil yang cukup tinggi, masing-masing sebesar 2.18 kali, 2.52 kali, 2.41 kali konsentrasi minyak ikan tuna. Untuk

fraksi MAG meskipun konsentrasi asam lemaknya relatif tinggi, tetapi tidak bisa dipilih sebagai produk yang potensial. Oleh karena itu perlu diperimbangkan untuk dapat memisahkan fraksi asilgliserol (TAG, DAG, dan MAG) dari fraksi ester.