

PEMANFAATAN BAHAN TUMBUHAN SEBAGAI BIOKATALISATOR DALAM PRODUKSI MINYAK SAWIT KAYA ASAM LEMAK OMEGA-3 ¹⁾

[Using of Plant Biocatalisator for Omega-3 PUFA -Rich Palm Oil Production]

Jenny Elisabeth ²⁾, D. Siahaan ²⁾, dan D. R. H. Simajuntak ³⁾

¹⁾ Makalah dipresentasikan pada Seminar Nasional PATPI, Semarang 9-10 Oktober 2001

²⁾ Pusat Penelitian Kelapa Sawit (PPKS), Jl. Brigjen Katamso 51, Medan 20158

³⁾ Alumnus Fakultas Pertanian, Unika St. Thomas SU, Medan

ABSTRACT

Incorporation of omega-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA) into red palm oil was investigated by using acidolysis process. Rice bran and Carica papaya latex (CPL) were used as biocatalyst. Acidolysis between red palm oil and n-3 PUFA concentrate in free fatty acid form was conducted without solvent, with weight ratio of n-3 PUFA concentrate to palm oil being 1:1. The n-3 PUFA concentrate was prepared from tuna oil by crystallization method. The study has demonstrated that rice bran lipase showed higher activity to incorporate n-3 PUFA into red palm oil than CPL. The extent of EPA (eicosapentaenoic acid, C20:5) and DHA (docosahexaenoic acid, C22:6) incorporation were 3.4% and 12.7% with the rice bran lipase, and 1.7% and 3.2% with the CPL. Furthermore, rice bran from several varieties of paddy (Mamberamo, IR-64, Merah Munte, and Cirata) produced equal incorporation of EPA and DHA into red palm oil. Rice bran from germinated seed of paddy did not increase the n-3 PUFA incorporation into red palm oil. It means that rice bran in its natural form could be used and act as immobilized lipase. It is easier to remove the rice bran from reaction mixture and reuse the bran for 14 times without decreasing its enzyme activity.

Key words : *Carica papaya latex, EPA, DHA, lipase, omega-3 fatty acids, palm oil, and rice bran*

PENDAHULUAN

Asam lemak omega-3 (n-3) yang banyak terdapat pada minyak ikan, yakni EPA (asam eikosapentaenoat; C20:5) dan DHA (asam dokosaheksaenoat; C22:6), diketahui dapat mencegah penyakit jantung, memiliki sifat antitumor dan anti-inflamasi, serta dibutuhkan untuk tumbuh kembang otak dan retina manusia (Uauy dan Valenzuela, 1992). Meskipun memiliki banyak keunggulan, tidak semua orang senang mengonsumsi 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 dengan menginkorporasikan asam lemak n-3 dari minyak ikan pada minyak nabati yang biasa dikonsumsi manusia, seperti minyak kacang tanah (Sridhar dan Lakshminarayana, 1992), minyak biji melon (Huang et al., 1994), minyak kanola, jagung, kedelai (Huang dan Akoh, 1994), *evening primrose* (Akoh et al., 1996), dan minyak sawit (Elisabeth et al., 1998). 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, di antaranya lipase *Rhizomucor meihei*, *Candida antarctica*, *Chromobacterium viscosum*, dan *Pseudomonas*. Saat ini

sudah tersedia banyak jenis lipase mikrobial komersial yang dapat langsung dipergunakan, namun umumnya lipase mikrobial ini memiliki harga yang relatif mahal, karena proses produksi, ekstraksi, dan isolasinya yang 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 dedak padi dan gandum, getah pepaya, umbi kentang, serta kecambah biji-bijian. Lipase pada bahan tumbuhan tersebut berperan dalam menghidrolisis cadangan minyak atau lemak untuk persediaan energi dan rangka karbon yang dibutuhkan untuk pertumbuhan embrio (Mukherjee, 1994) dan (Jachmanian dan Mukherjee 1994). Di sisi lain, lipase juga merupakan penyebab kerusakan minyak dan lemak yang terdapat pada bahan tumbuhan, seperti misalnya minyak dedak padi.

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa lipase tumbuhan merupakan biokatalis yang potensial untuk proses modifikasi minyak dan lemak. Foglia dan Villeneuve (1997) telah membuktikan bahwa lipase getah pepaya, yang telah umum diketahui memiliki aktivitas protease untuk menghidrolisis protein, dapat digunakan pada sintesis lipid terstruktur berenergi rendah. Lipase dari *rapeseed* juga telah digunakan untuk sintesis minyak kaya asam γ -linoleat dari minyak *evening primrose* (Mukherjee, 1994), serta memiliki

aktivitas yang tinggi pada proses reaksi esterifikasi dan interesterifikasi (Jachmanian and Mukherjee, 1996).

Sebagai sumber lipase, dedak padi merupakan bahan yang harganya relatif murah karena merupakan produk samping hasil penggilingan padi dan banyak tersedia di Indonesia. Penelitian sebelumnya juga telah menunjukkan bahwa lipase dedak padi yang digunakan tidak membutuhkan proses isolasi ataupun pemurnian terlebih dahulu. Dalam bentuk alaminya dedak padi dapat digunakan sebagai lipase imobil yang mudah dipisahkan dari reaktan dan diduga dapat digunakan berulang kali.

Penelitian ini mencoba mengkaji lebih lanjut pemanfaatan dedak padi sebagai biokatalis dalam sintesis minyak sawit kaya asam lemak n-3.

METODOLOGI

Bahan

Pada penelitian ini digunakan minyak sawit merah yang dipreparasi di Pusat Penelitian Kelapa Sawit dan minyak ikan yang merupakan *tuna pre-cook oil* dari PT Aneka Tuna, Gempol, Jawa Timur. Dari minyak ikan tuna dilakukan isolasi asam lemak n-3 dengan metode kristalisasi urea (Elisabeth et al., 1994). Dedak padi yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari beberapa varietas padi, yakni Mamberamo, IR-64, Merah Munte, dan Cirata yang diperoleh dari Balai Benih Induk Padi Murni, Lubuk Pakam, Sumatera Utara. Untuk melihat pengaruh pengecambahan, masing-masing jenis bulir padi di kecambahkan selama 0,3, dan 4 hari, dikeringkan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, kemudian digiling di penggilingan padi untuk memperoleh dedaknya. Biokatalis lain yang digunakan adalah getah pepaya kering (papain) yang diperoleh dari Sigma Chem. Co., USA dalam bentuk granular, serta *lipase Rhizomucor miehei* (Lipozyme-IM) produksi Novo Nordisk Bioindustry Ltd., Denmark.

Reaksi asidolisis enzimatik

Reaksi asidolisis dilakukan antara konsentrat asam lemak n-3 dan minyak sawit merah pada berbagai tingkat nisbah dengan dedak padi sebanyak 10% (b/b substrat campuran) sebagai biokatalis (Elisabeth et al., 1999). 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 N₂ untuk mencegah oksidasi. Semua reaksi dilakukan dengan 2 ulangan dan analisis dilakukan secara duplo. Reaksi dihentikan dengan menambahkan campuran pelarut aseton/etanol (1:1, v/v), lalu dedak padi dipisahkan dengan penyaringan. Proses ekstraksi fraksi lipida dilakukan dengan menambahkan heksana, metanol dan air dengan volume yang sama. Campuran ini kemudian dititrasi dengan larutan NaOH dalam methanol (0,5 N) untuk menghilangkan asam

lemak bebas yang terdapat pada produk. Setelah itu lapisan heksana dipisahkan dan minyak sawit kaya asam lemak n-3 diperoleh setelah pelarut heksana dihilangkan dengan cara evaporasi vakum.

Analisis

Analisis kandungan asam lemak dilakukan dengan metode AOCS Ce 1b-89 (93), menggunakan asam lemak C17:0 sebagai standar internal. Sampel dipreparasi dengan proses metilasi menggunakan BF₃-metanol (14%b/v), dan kemudian dianalisis dengan alat kromatografi gas Perkin Elmer 8420 yang dilengkapi dengan detektor FID dan kolom kapiler DB-225 (30 m x 0.25 mm i.d.; J & W Scientific, Folsom, CA, USA). Suhu injektor dan detektor sebesar 260°C, sedangkan suhu oven isothermal 220°C dan tekanan gas hidrogen sebagai gas pembawa sebesar 15 psig.

HASIL DAN PEMBAHASAN

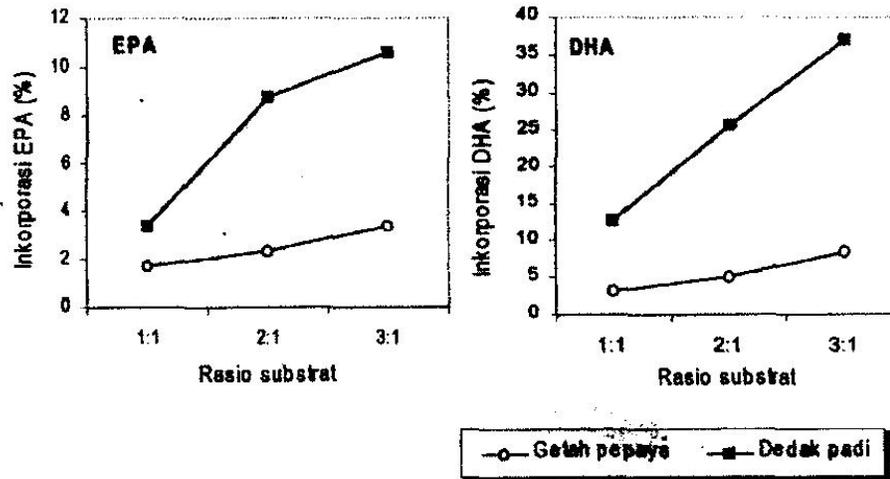
Kandungan asam lemak pada minyak sawit merah (MSM) didominasi oleh asam palmitat (C16:0) dan asam oleat (C18:1), masing-masing sebesar 49,6 dan 40,1%, sedangkan asam lemak tidak jenuh ganda yang terdeteksi hanyalah asam linoleat (C18: 2 n-6) sebesar 8,0%. Pada reaksi asidolisis yang dilakukan, MSM digunakan sebagai sumber molekul trigliserida, sedangkan konsentrat asam lemak n-3 digunakan sebagai sumber asam lemak EPA dan DHA. Kandungan EPA dan DHA pada minyak ikan tuna masing-masing adalah sebesar 3,9 dan 12,7%, sedangkan pada konsentrat asam lemak n-3 sebesar 7,8 dan 55,2%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dedak padi memiliki aktivitas lipase yang lebih tinggi dalam menginkorporasikan asam lemak n-3 pada MSM dibandingkan getah pepaya. Dengan tingkat nisbah substrat 1:1, yakni nisbah antara konsentrat asam lemak n-3 dengan MSM (b/b), maka tingkat inkorporasi EPA dan DHA pada MSM dengan katalis dedak padi masing-masing adalah 3,4% dan 12,7%, sedangkan dengan katalis getah pepaya masing-masing adalah 1,7% dan 3,2% (Gambar 1). Semakin tinggi tingkat nisbah substrat yang digunakan maka tingkat inkorporasi EPA dan DHA pada MSM akan semakin tinggi pula, namun peningkatan yang terjadi pada penggunaan dedak padi jauh lebih tinggi dibandingkan dengan getah pepaya.

Aktivitas dedak padi yang lebih tinggi dalam menginkorporasikan asam lemak n-3 pada MSM mengindikasikan bahwa lipase dedak padi memiliki spesifitas yang lebih tinggi terhadap EPA dan DHA dibandingkan dengan lipase getah pepaya. Faktor bentuk bahan tumbuhan juga mempengaruhi aktivitas lipase yang terdapat di dalamnya. Lipase dedak padi dapat dianalogkan sebagai lipase imobil dengan kulit padi yang berfungsi sebagai bahan

penyangga sedangkan getah pepaya terdapat dalam bentuk ekstrak protein kasar. Enzim dalam bentuk imobil relatif lebih stabil terhadap kondisi lingkungan yang kurang sesuai, seperti suhu tinggi dan polaritas medium, sehingga aktivitasnya dapat lebih tinggi (Shuler dan Kargi, 1992).

Uji kesamaan dua ragam terhadap aktivitas lipase dedak dari beberapa varitas padi menunjukkan bahwa setiap varitas menghasilkan tingkat inkorporasi EPA dan DHA yang relatif sama ($p>0.05$) pada MSM.



Gambar 1. Inkorporasi EPA dan DHA pada minyak sawit merah menggunakan getah pepaya dan dedak padi sebagai biokatalis

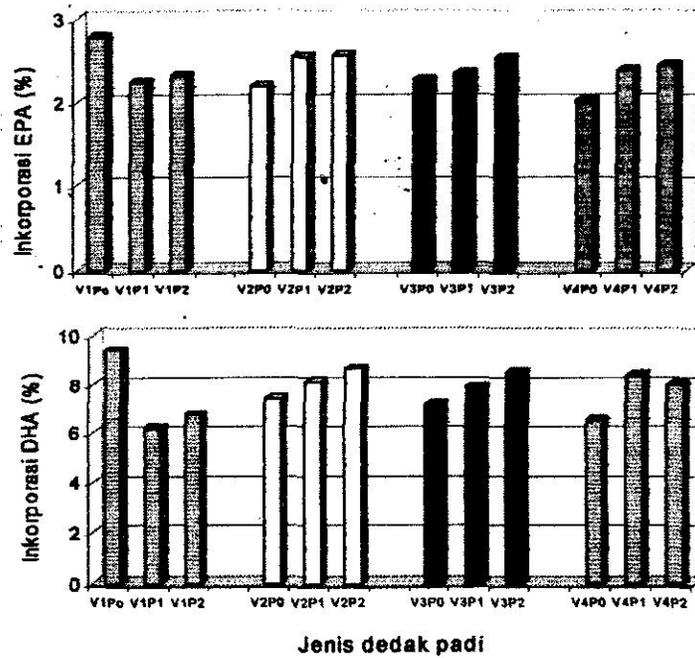
Dalam penelitian ini juga diamati pengaruh proses pengecambahan terhadap aktivitas lipase dedak padi dalam menginkorporasikan asam lemak n-3 pada MSM. Hal ini didasarkan bahwa selama proses pengecambahan (germinasi) terjadi peningkatan aktivitas enzimatis untuk mendegradasi komponen makromolekul, seperti karbohidrat, protein, dan lemak di dalam biji yakni untuk penyediaan energi bagi pertumbuhan embrio. Aktivitas lipase selama proses pengecambahan adalah menghidrolisis cadangan lemak dalam biji menjadi asam lemak dan gliserol (Huang, 1984).

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa proses pengecambahan pada setiap varitas padi tidak berpengaruh nyata ($p>0.05$) terhadap aktivitas lipase dedak padi dalam menginkorporasikan asam lemak n-3 pada MSM. Tingkat inkorporasi EPA dan DHA pada MSM masing-masing berkisar 2,0 – 2,8% dan 6,2-9,3 % (Gambar 2). Karena pengecambahan tidak meningkatkan aktivitas lipase dedak padi dalam menginkorporasikan asam lemak n-3 pada MSM, maka proses ini tidak dibutuhkan dalam pemanfaatan dedak padi sebagai biokatalis. Dengan perkataan lain dedak padi yang diperoleh dari penggilingan padi telah cukup memadai untuk digunakan. Selain membutuhkan waktu, pengecambahan padi juga membuat proses s penggilingan padi menjadi tidak efisien karena agak sulit memisahkan dedak padi dari bulir yang telah berkecambah.

Hasil ini mengungkapkan bahwa tidak dibutuhkan dedak padi dengan varietas tertentu untuk dapat digunakan sebagai biokatalis dalam sintesis minyak sawit kaya asam lemak n-3.

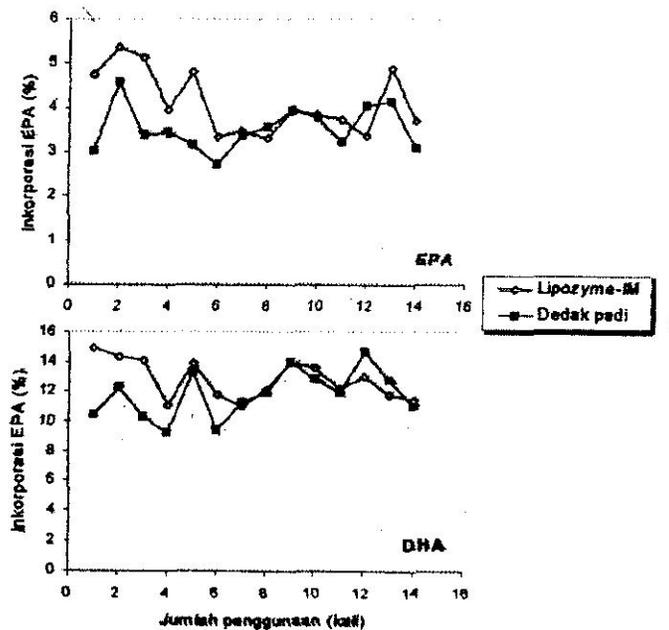
Tingkat inkorporasi EPA dan DHA pada tahap penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan tahap penelitian sebelumnya (Elisabeth et al., 1999). Hal ini diduga berkaitan dengan umur penyimpanan padi yang digunakan sebagai sumber dedak padi. Dedak padi yang digunakan pada tahap penelitian ini bersumber dari benih padi yang telah disimpan sekitar 2-3 bulan, sedangkan dedak padi yang digunakan pada tahap penelitian sebelumnya bersumber dari padi varitas Merah Munte yang baru dipanen di penggilingan padi komersial.

Dalam bentuk alamnya, dedak padi yang digunakan sebagai sumber lipase mudah dipisahkan dari campuran reaktan dan dapat digunakan kembali untuk proses asidolisis berikutnya. Dengan demikian bentuk lipase dedak padi ini dapat diidentikkan sebagai enzim imobil, yaitu molekul lipase terikat pada bahan penyangga dedak padi. Pada penelitian ini pengujian stabilitas dedak padi dalam sintesis minyak sawit kaya asam lemak n-3 dengan penggunaan yang berulang kali dibandingkan dengan lipase mikrobal komersial dari *Rhizomucor miehei* (Lipozyme-IM). Pada Gambar 3 tertera tingkat inkorporasi EPA dan DHA pada MSM yang menggunakan kedua jenis biokatalis tersebut hingga penggunaan 14 kali.



Gambar 2. Inkorporasi EPA dan DHA pada minyak sawit merah dengan menggunakan berbagai jenis dedak padi sebagai biokatalis

(Keterangan : V1 = Mamberamo, V2 = IR-64, V3=Merah Munte, V4 = Cirata, P1 = Tanpa dikecambahkan, P2= Dikecambahkan 3 hari, P3 = Dikecambahkan 4 hari)



Gambar 3. Inkorporasi EPA dan DHA pada minyak sawit merah dengan dedak padi sebagai biokatalis pada penggunaan berulang

Dari Gambar 3 terlihat bahwa dedak padi masih memiliki aktivitas lipase yang cukup baik dalam menginkorporasikan EPA dan DHA pada MSM hingga penggunaan 14 kali. Meskipun hasil uji sidik ragam menunjukkan bahwa lipase Lipozyme-IM memiliki aktivitas yang lebih tinggi dalam menginkorporasikan EPA dan DHA pada MSM ($p < 0.05$), namun sifat stabilitas yang terdapat pada dedak padi tidak berbeda jauh dengan lipase Lipozyme-IM.

KESIMPULAN

Dedak padi dan getah pepaya memiliki kemampuan menginkorporasikan asam lemak omega-3 dari minyak ikan tuna pada MSM dengan proses asidolisis enzimatik, dengan dedak padi yang memiliki aktivitas jauh lebih tinggi. Adapun tingkat inkorporasi EPA dan DHA pada MSM dengan katalis dedak padi dan getah pepaya masing-masing adalah 3,4% dan 12,7%, serta 1,7% dan 3,2%. Varietas dedak padi dan proses pengecambahan tidak mempengaruhi tingkat inkorporasi EPA dan DHA pada MSM. Hal ini berarti tidak dibutuhkan dedak padi dengan varitas tertentu untuk digunakan sebagai katalis dalam produksi minyak sawit kaya asam lemak-3 dan proses pengecambahan tidak meningkatkan aktivitas lipase yang terdapat di dalamnya. Dalam bentuk alaminya, dedak padi juga mudah dipisahkan dari campuran reaktan dan dapat digunakan kembali untuk proses asidolisis berikutnya. Dengan waktu reaksi 4 jam per siklus reaksi, telah dibuktikan bahwa dedak padi dapat digunakan hingga 14 kali tanpa penurunan aktivitas.

DAFTAR PUSTAKA

- Akoh, C.C, B.H. Jennings and D.A. Lillard. 1996.** Enzymatic modification of evening primrose oil: incorporation of n-3 polyunsaturated fatty acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73(8): 1059-1062.
- Elisabeth, J., F.G. Winarno, M. A. Wirakartakusumah and D. Fardiaz. 1994.** Extraction of omega-3 fatty acids from pre-cook oil, the canned tuna industries by product. Paper on International Seminar on Fisheries, Oceanography and Remote Sensing. Bogor, November 18-19.
- Elisabeth, J., A. Jatmika, K. Sinaga, and. Sembiring. 1998.** Lipase-catalyzed incorporation of n-3 PUFA into palm oil. *Proceeding of International Oil Palm Conference.* Bali, September 23-35, 1998.
- Elisabeth, J., A. Jatmika, and K. Sinaga. 1999.** Sintesis minyak sawit merah kaya asam lemak omega-3 dengan metode asidolisis enzimatik. *J. Penelitian Kelapa Sawit* 7 (1) : 43-56.
- Foglia, T.A. and P. Villeneuve. 1997.** *Carica papaya latex* lipase-catalyzed synthesis of structured triacylglycerols. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 74 (11): 1447-1449.
- Huang, A.H.C. 1984.** Plant lipases dalam Borgstrom B. H.L. Brockman (eds). *Lipases.* Elsevier Science Pub., Amsterdam.
- Huang, K.H. and C.C Akoh. 1994.** Lipases-catalyzed incorporation of n-3 polyunsaturated fatty acids into vegetables oils. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71 (11): 1277-1280
- Huang, K. H., C.C. Akoh and M.C. Erickson. 1994.** Enzymatic modification of melon seed oil : incorporation of eicosapentaenoic acid. *J. Agric. Food Chem.*, 42 (11): 2646-2648.
- Jachmanian, I. and K.D. Mukherjee. 1996.** Esterification and interesterification reactions catalyzed by acetone powder from germinating rapessed. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 73 (11): 1527-1532.
- Mukherjee, K.D. 1994.** Plant lipases and their application in lipid biotransformations. *Prog. Lipid Res.* 33 (1/2) : 165-174
- Uauy R.D. and A. Valenzuela. 1992.** Marine oils as a source of omega-3 fatty acids in the diet: how to optimize the health benefits. *Prog. In Food and Nutr. Sci.*, 16 : 199-243.
- Shuler, M.L. and F. Kargi. 1992.** *Bioprocess Engineering : Basic Concepts.* Prentice Hall, New Jersey.
- Sridhar, R and G. Lakshiminarayana. 1992.** Incorporation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids into groundnut oil by lipase-catalyzed ester interchange. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 69 (10): 1041-1042.