

PROFIL GLISERIDA, DAN KANDUNGAN EPA (EICOSAPENTAENOAT) DAN DHA (DOCOSAHEKSAENOAT) HASIL HIDROLISIS MINYAK HATI IKAN COD OLEH LIPASE TERAMOBIL DARI *MUCOR MIEHEI*

Erryana Martati¹ Tyas Utami² Pudji Hastuti²

ABSTRACT

Hydrolysis of cod liver oil by immobilized lipase from *Mucor miehei* was studied to observe the hydrolysis level, glycerides profile and EPA (eicosapentaenoic acid) and DHA (docosahexaenoic acid) contents in the form of glycerides and free fatty acid on various hydrolysis temperatures.

Enzymatic hydrolysis of cod liver oil was carried out in a waterbath shaker at temperatures ranging from 30-60°C for 48 hours.

Up to 12 hours reaction time, higher temperature gave higher hydrolysis level. Reaction time longer than 12 hours did not improve level of hydrolysis and all of them beyond 67%. This result indicated that there was possibility of acyl migration during hydrolysis. Though the hydrolysis level was high, after 48 hours reaction, EPA and DHA contents in the form of free fatty acid were low.

PENDAHULUAN

Minyak ikan komersial mempunyai kandungan asam lemak tidak jenuh kurang lebih 29-34% (Maehr dkk, 1994). Asam lemak tidak jenuh terutama eicosapentaenoat (C20:5, EPA) dan docosaheksaenoat (C22:6, DHA) mempunyai peranan yang sangat penting dalam mencegah beberapa penyakit pada manusia antara lain kardiovaskuler dan kanker (Shimada dkk, 1994). Salah satu cara untuk memperoleh konsentrat EPA dan DHA adalah dengan cara hidrolisis menggunakan enzim lipase.

Lipase mempunyai sifat selektif terhadap asam lemak ataupun posisi asil sehingga dapat digunakan untuk mengarahkan produk hasil hidrolisis menjadi asam lemak bebas ataupun gliserida dengan kandungan asam lemak tertentu. Lipase yang telah diteliti antara lain lipase dari *Geotrichum candidum* (Shimada dkk, 1994 dan 1995, Mc Neill dkk, 1996), *Candida rugosa* (Mc Neill dkk, 1996, Sonnet, 1988, Tanaka, 1992) dan *Mucor miehei* (Pedersen dan Holmer, 1995).

Keuntungan hidrolisis minyak secara enzimatik adalah dapat dilakukan pada suhu yang tidak terlalu tinggi (30-45°C) pada tekanan atmosfer; sedikit menggunakan bahan kimia sehingga produk yang dihasilkan tidak berwarna (*colorless*) dan tidak memerlukan investasi peralatan yang besar (Linfield, 1988, Brady dkk, 1988). Oleh karenanya hidrolisis secara enzimatik sesuai untuk menyiapkan produk asam lemak yang memiliki tingkat ketidakjenuhan yang tinggi yang mudah terpolimerisasi dan terdekomposisi pada suhu tinggi (Sonntag, 1982). Hidrolisis secara enzimatik

beberapa jenis minyak dan lemak telah dilakukan oleh beberapa peneliti (Khor dkk, 1986; Mukataka dkk, 1987; Brady dkk, 1988; Park dkk, 1988; Bilyk dkk, 1991; Virto dkk, 1991; Fu dkk, 1995; Yang dan Rhee, 1992).

Lipase teramobil dari *Mucor miehei* dapat menghidrolisis gliserida pada posisi 1,3. Menurut Pederson dan Holmer (1995) *Mucor miehei* teramobil dapat mengenali asam lemak dengan rantai C20 hingga C22. Dalam minyak hati ikan cod, EPA terdistribusi secara acak sedangkan DHA sebanyak 74% teresterifikasi pada posisi sn-2 (Aursand dkk, 1995). Pola hidrolisis yang berkaitan dengan EPA dan DHA pada hasil hidrolisisnya sangat dipengaruhi oleh spesifisitas enzim dan kondisi lingkungan operasi seperti suhu, pelarut organik dan waktu reaksi.

Pada umumnya lipase bebas bekerja pada kisaran suhu 30-40°C, lipase 8901 dari *Aspergillus* sp bekerja optimum pada suhu 37°C (Fu dkk, 1995). Menurut Tsai dkk (1991) lipase dari *Candida rugosa* (Sigma Co) bekerja optimum pada suhu 31°C dan pada suhu 26-37°C belum ada perubahan aktivitas enzim, namun pada suhu 43°C mulai terjadi deaktivasi enzim. Suhu reaksi optimum hidrolisis minyak dengan sistem *reverse micelles* dengan lipase dari *Candida cylindracea* adalah 55°C atau 20° lebih tinggi dari pada sistem akuos dan AOT (dengan surfaktan) (Chen dan Chang, 1993). Lipase teramobil dari *Mucor miehei* dapat bekerja pada suhu 30-70°C. Suhu reaksi akan menentukan kecepatan reaksi hidrolisis, ketahanan asam lemak dan stabilitas enzim. Hidrolisis lemak hewani oleh lipase teramobil dari *Mucor miehei* menghasilkan asam lemak bebas 90% dalam waktu 20 dan 6 jam berturut-turut pada suhu 20 dan 45°C (Bilyk dkk, 1991). Meskipun suhu optimum suatu enzim telah diketahui, namun pemilihan suhu reaksi hidrolisis enzimatik juga ditentukan oleh sifat substrat (padat atau cair pada suhu kamar), ketahanan substrat, produk dan enzim terhadap suhu serta sistem reaksi.

Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh suhu hidrolisis minyak hati ikan cod oleh lipase teramobil dari *Mucor miehei* terhadap tingkat hidrolisis, profil gliserida dan kandungan EPA dan DHA.

METODE PENELITIAN

Bahan

Minyak hati ikan cod yang sudah mengalami pemurnian yang diperoleh dari apotek yang diimpor dari Soma Chemie Jerman. Minyak ikan disimpan dalam botol

¹ Alumni Program Pasca Sarjana Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

² Staf pengajar Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

kecil berukuran kurang lebih 20 ml dalam ruang gelap, lipase terambil dari *Mucor miehei* (Lipozyme IM) diperoleh dari NOVO Nordisk perwakilan Malaysia, minyak zaitun (Sigma Co), buffer Tris (Merck) dan bahan kimia yang lain untuk analisis dengan kualitas Pro Analys dari Merck.

Analisa Minyak Ikan

Analisis minyak ikan meliputi kadar air (AOCS, 1989), bilangan penyabunan (IUPAC, 1978), angka peroksida (IUPAC, 1979), angka asam (Snell dkk, 1972), profil gliserida (Mukataka, 1987) dan komposisi asam lemak menggunakan dengan kromatografi gas.

Pengujian aktivitas dan stabilitas lipase.

Aktivitas lipase ditentukan berdasarkan metode Khor dkk (1986). Aktivitas enzim dinyatakan dalam μmol asam lemak yang dibebaskan per menit per g enzim. Pengujian stabilitas lipase dilakukan sebagai berikut : enzim sebanyak 0,1 g diperlakukan pada suhu 30, 40, 50 dan 60°C dalam 10 ml buffer Tris HCl pH 7,5 selama waktu tertentu. Kemudian enzim diuji aktivitasnya pada kondisi optimum untuk uji aktivitas enzim (Khor dkk, 1986). Aktivitas enzim yang tersisa dinyatakan dalam aktivitas relatif (%).

Hidrolisis minyak ikan secara enzimatis

Hidrolisis minyak ikan dilakukan dalam erlenmeyer 100 ml di dalam penangas air bergoyang dengan kecepatan goyang pada skala 100. Banyaknya buffer yang ditambahkan adalah 10 ml untuk 1 g minyak ikan (Khor dkk, 1986). Konsentrasi enzim yang digunakan adalah 10% dari berat minyak. Hidrolisis minyak ikan dilakukan pada suhu 30, 40, 50 dan 60°C dengan waktu reaksi 1, 3, 6, 12, 24 dan 48 jam dan dianalisis tingkat hidrolisis, profil gliserida (pada suhu 50 dan 60°C) serta kandungan EPA dan DHA dalam bentuk asam lemak bebas atau gliserida (48 jam, pada suhu 30 dan 50°C).

Cara Analisis

Pengukuran Tingkat Hidrolisis

Reaksi hidrolisis dihentikan dengan penambahan 10 ml acetone:etanol (1:1) kemudian dititrasi dengan 0,2 N KOH. Tingkat hidrolisis menunjukkan jumlah asam lemak bebas hasil hidrolisis minyak, dinyatakan dalam persen terhadap total asam lemak dalam sampel. Rumus tingkat hidrolisis sebagai berikut :

$$\% \text{ hidrolisis} = \frac{\text{ml KOH(sampel-blanko)} \times \text{N KOH} \times 56,1}{\text{berat minyak} \times \text{BP}} \times 100\%$$

BP = bilangan penyabunan minyak ikan

Analisis profil gliserida dengan kromatografi lapis tipis

Analisis profil gliserida hasil hidrolisis minyak ikan menggunakan metode Mukataka dkk (1987). Analisis kuantitatif dilakukan dengan TLC Scanner Camag II dengan kondisi alat sebagai berikut lampu : D2, panjang gelombang : 350 nm, lebar pita panjang gelombang : 10 nm, lebar celah lampu : skala 3, panjang celah lampu : skala 6, Integrator : HP 3396 series II. Persen setiap komponen dinyatakan dalam persen luas area komponen tersebut terhadap total luas area.

Analisis komposisi asam lemak bebas hasil hidrolisis

Untuk mendapatkan asam lemak bebas, hasil hidrolisis dipisahkan dengan kromatografi preparatif (Mukataka dkk, 1987). Area yang menunjukkan kelompok asam lemak bebas dan selain asam lemak bebas (monogliserida, digliserida dan trigliserida) ditandai. Selanjutnya silika gel dipisahkan dari campuran sehingga diperoleh hasil hidrolisis yang terlarut dalam dietil eter. Kemudian dietil eter diuapkan seluruhnya, selanjutnya ditambahkan beberapa ml heksana dan dimetilasi dengan KOH metanolik 2 N. Sampel siap untuk dianalisis asam lemak dengan kromatografi gas. Kromatografi gas yang dipergunakan adalah HP 5890 series II Gas Chromatograph. Kolom: kapiler HP-5 (cross linked 5% phenyl metil silicone), panjang kolom : 30 m, diameter kolom: 0,32 mm, jenis detektor : FID, suhu detektor: 270°C, suhu injektor: 260°C, gas pembawa : helium kecepatan 10 ml/ menit, suhu awal : 80°C, suhu akhir : 250°C, kenaikan 10°C/ menit dan Integrator : HP 3396 series II

Kandungan EPA dan DHA dalam bentuk asam lemak bebas atau gliserida dinyatakan dalam persen berat terhadap berat mula-mula asam lemak tersebut.

Analisis Data

Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 2 kali. Data dianalisis dengan Analisis Varian. Jika terdapat pengaruh yang dikaji maka dilanjutkan dengan Uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Minyak Ikan

Analisis minyak hati ikan cod dilakukan untuk mengetahui kondisi minyak tersebut sebelum dihidrolisis. Minyak hati ikan cod yang digunakan dalam percobaan ini sudah mengalami pemurnian yang sifatnya dapat dilihat pada Tabel 1.

Kadar asam lemak bebas minyak hati ikan cod adalah 0,12%. Angka ini sedikit lebih tinggi dari batas maksimal asam lemak bebas dalam minyak yaitu 0,10% (Bimbo, 1990). Minyak yang dipergunakan Fu dkk (1995) dalam percobaan hidrolisis minyak dengan lipase dari *Aspergillus* sp mempunyai kadar asam lemak bebas berkisar 0,8-2,6% masih dapat digunakan. Sehingga minyak hati ikan cod sebagai substrat untuk hidrolisis secara enzimatis masih memenuhi syarat.

Tabel 1. Sifat dan kandungan asam lemak DHA dan EPA minyak hati ikan cod

Parameter	Kadar
Kadar air (%)	0,2
Asam lemak bebas (%)	0,12
Bilangan peroksida (meq/kg)	16
Bilangan Penyabunan	182
Trigliserida (%)	~ 100
EPA (g/ 100 g minyak)	12,06
DHA (g/ 100 g minyak)	4,57

Keterangan : EPA dan DHA terdapat dalam bentuk trigliserida.

Minyak ikan yang dipergunakan dalam percobaan ini mempunyai bilangan peroksida 16 meq/kg. Angka ini tidak lebih dari 20 meq/kg, angka yang disyaratkan oleh Kosugi dkk (1995). Jika bilangan peroksida minyak ikan lebih dari 20 meq/kg menyebabkan lipase dari *Mucor miehei* menjadi inaktif. Pada penelitian pendahuluan, hidrolisis minyak hati ikan cod pada bilangan peroksida 24,4 meq/kg menyebabkan sistem reaksi menjadi keruh seperti susu dan enzim menurun aktivitasnya, yang ditunjukkan dengan rendahnya tingkat hidrolisis.

Analisis trigliserida minyak hati ikan cod dengan kromatografi lapis tipis menunjukkan kadar trigliserida 100% tetapi pengukuran asam lemak bebas menunjukkan angka sebesar 0,12 %. Menurut Hammond (1991) minyak setelah mengalami pemurnian mengandung minimal 98% trigliserida. Dengan alat TLC Scanner asam lemak bebas dalam minyak hati ikan cod tidak terdeteksi karena konsentrasi minyak hati ikan cod yang dispotkan pada plat TLC sangat kecil yaitu 0,3 mg.

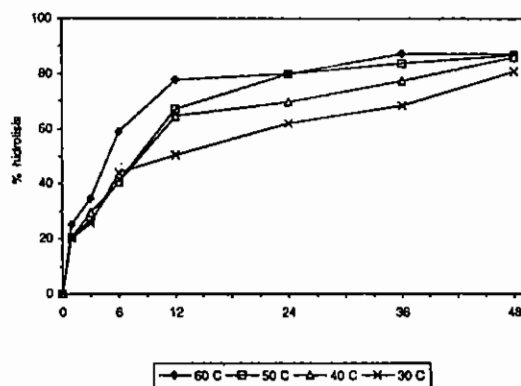
Asam lemak EPA dan DHA yang dianalisis terdapat dalam bentuk trigliserida. Kadar EPA dalam minyak hati ikan cod untuk percobaan ini adalah 12,06 g per 100 g sampel, sedangkan DHA 4,57 g per 100 g. Kandungan total EPA dan DHA adalah sebesar 16,63 g per 100 g minyak hati ikan cod. Hasil ini sesuai dengan Nettleton (1995) yang menyatakan minyak ikan yang telah mengalami pemurnian terutama minyak hati ikan cod dan minyak ikan dalam bentuk kapsul selalu mempunyai kadar EPA lebih tinggi daripada DHA.

Hidrolisis Minyak Hati Ikan Cod Pada Berbagai Suhu

Hasil pengujian aktivitas enzim menunjukkan bahwa enzim lipase teramobil dari *Mucor miehei* yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai aktivitas 117,3 μ mol asam lemak bebas per 1 g enzim per menit.

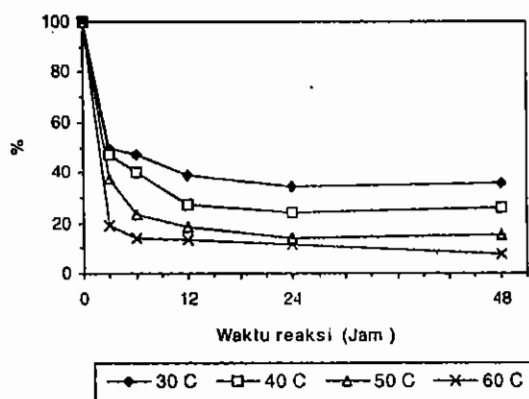
Hidrolisis minyak hati ikan cod pada berbagai suhu dapat dilihat pada Gambar 1. Pola hidrolisis minyak hati ikan cod pada suhu 30, 40, 50 dan 60°C menunjukkan kenaikan hidrolisis yang tajam hingga 12 jam reaksi. Tingkat hidrolisis setelah 12 jam reaksi pada suhu 30, 40, 50 dan 60°C berturut-turut adalah 50,4%, 64,6%, 67,5% dan

77,7%. Setelah 12 jam kecepatan reaksi hidrolisis pada suhu 50 dan 60°C tidak menunjukkan kenaikan yang tajam sedangkan suhu 30°C dan 40°C masih menunjukkan kenaikan tingkat hidrolisis yang nyata (dari pengujian statistika). Namun pada reaksi 48 jam, tingkat hidrolisis pada berbagai suhu tidak menunjukkan perbedaan yang nyata.

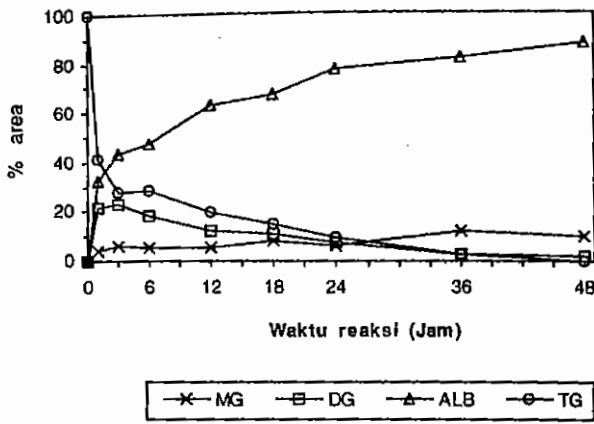


Gambar 1. Pengaruh suhu terhadap hidrolisis minyak hati ikan cod (1 g minyak ikan, 10 ml buffer Tris HCl 0,1 M pH 7,5; 0,1 g Lipozyme IM)

Hidrolisis pada suhu 60°C memberikan kecepatan hidrolisis yang tertinggi hingga 12 jam. Pada suhu 60°C aktivitas enzim akan meningkat tetapi setelah 12 jam laju reaksi mendekati konstan. Hal ini dapat disebabkan oleh beberapa hal. Pertama, pada suhu 60°C terjadi kerusakan enzim hal ini terbukti dari pengujian stabilitas enzim pada suhu 60°C selama 12 jam menunjukkan aktivitas enzim tinggal 13% (Gambar 2.). Suhu yang tinggi dapat berdampak ganda yaitu meningkatkan kecepatan reaksi dan meningkatkan kecepatan inaktivasi enzim. Inaktivasi enzim juga dipengaruhi oleh adanya air dalam sistem reaksi ini. Kemungkinan kedua, konsentrasi substrat menurun selama waktu reaksi sehingga menurunkan laju reaksi hidrolisis. Hasil analisis gliserida pada jam ke-12 menunjukkan konsentrasi trigliserida tinggal 19% (Gambar 3).



Gambar 2. Stabilitas enzim lipase teramobil dari *Mucor miehei* pada berbagai suhu



Gambar 3. Perubahan gliserida selama hidrolisis minyak ikan pada suhu 60°C (1 g minyak, 10 ml buffer Tris HCl 0,1 M pH 7,5; 0,1 g Lipozyme IM)

Hidrolisis pada suhu 30°C berlangsung dengan kecepatan yang lebih rendah dibandingkan suhu lainnya tetapi setelah 48 jam tingkat hidrolisis tidak berbeda jauh dengan perlakuan suhu lainnya. Pada suhu 30°C aktivitas enzim rendah tetapi memiliki stabilitas yang lebih tinggi dibandingkan suhu 40, 50 dan 60°C. Pengujian stabilitas enzim pada suhu 30°C selama 48 jam menunjukkan aktivitas enzim adalah 36% (Gambar 2). Pada suhu 30°C campuran minyak hati ikan cod dan buffer berbentuk semi solid. Keadaan seperti ini menyulitkan kontak antara enzim dengan substrat. Tetapi adanya pengadukan dengan kecepatan goyang pada skala 100 sudah dapat mengatasi kontak enzim dengan substrat, terbukti dari tingkat hidrolisis hingga 48 jam hampir sama dengan suhu lainnya. Adanya pengadukan selama proses hidrolisis tidak berpengaruh terhadap stabilitas enzim (data tidak tercantum).

Secara teoritis hidrolisis minyak hati ikan cod dengan *Mucor miehei* teramobil yang bersifat spesifik 1,3, akan memberikan tingkat hidrolisis sebesar 66,7%. Tetapi dari percobaan ini tingkat hidrolisis lebih besar dari 66,7%. Hal ini kemungkinan karena adanya migrasi asil dari posisi sn-2 ke posisi sn-1 atau sn-3.

Pada pemilihan suhu hidrolisis minyak ikan secara enzimatis untuk skala besar harus juga mempertimbangkan lama waktu reaksi dan penggunaan kembali enzim. Suhu yang semakin tinggi akan meningkatkan kecepatan reaksi hidrolisis sehingga waktu reaksi cepat, tetapi kondisi ini memerlukan energi besar serta dapat menurunkan aktivitas enzim. Stabilitas enzim yang rendah akan menyebabkan *recovery* enzim rendah.

Profil gliserida

Gambar 3 menunjukkan profil gliserida hasil hidrolisis minyak hati ikan cod pada suhu 60°C. Pada jam ke-1 trigliserida turun menjadi 40,8%, asam lemak bebas meningkat hingga 32,6%. Hingga 48 jam trigliserida turun menjadi 0,3%, asam lemak bebas meningkat menjadi 87%.

Monogliserida cenderung meningkat sedangkan digliserid meningkat kemudian menurun. Pada jam ke-18 jumlah asam lemak bebas telah mencapai 66% sedangkan jumlah monogliserida relatif tetap sehingga sulit menentukan kapan terjadinya migrasi asil.

Pada jam pertama kecepatan pemotongan trigliserida paling tinggi dibandingkan kecepatan pemotongan digliserida. Hal ini bisa dilihat dari penurunan trigliserida dari 100% menjadi 40% atau penurunannya sebesar 60%. Kemudian disusul dengan kecepatan hidrolisis digliserida. Hal ini sejalan dengan percobaan Boswinkel dkk (1996) yang menunjukkan konstanta kecepatan reaksi orde I dari hidrolisis trigliserida mempunyai nilai yang paling tinggi dibandingkan dengan konstanta kecepatan reaksi hidrolisis digliserida.

Profil gliserida hasil hidrolisis pada suhu 50 dan 60°C pada jam ke 48 dapat dilihat pada Tabel 2. Semakin tinggi suhu maka kandungan asam lemak bebas yang dihasilkan makin tinggi sedangkan kandungan trigliserida menurun. Hidrolisis selama 48 jam pada suhu 50 dan 60°C, menghasilkan asam lemak bebas lebih dari 66,7%.

Tabel 2. Perubahan gliserida selama hidrolisis minyak hati ikan cod pada berbagai suhu dengan waktu inkubasi 48 jam

Suhu Hidrolisis	MG (%)	DG (%)	ALB (%)	TG (%)
50°C	10,0	8,9	69,1	11,8
60°C	10,1	1,9	87,6	0,30

Keterangan : MG : monogliserida; ALB : asam lemak bebas
DG : digliserida; TG : trigliserida % dinyatakan dalam luas area

Kemungkinan adanya migrasi asil ditunjukkan dari persen asam lemak bebas yang dihasilkan lebih besar dari 66% pada suhu 50 dan 60°C. Hasil hidrolisis pada suhu 50 dan 60°C menunjukkan jumlah persen monogliserida yang hampir sama yaitu 10%. Jumlah monogliserida hasil hidrolisis pada suhu 50°C masih mungkin mengalami kenaikan karena jumlah digliserida dan trigliserida masih cukup tinggi. Sedangkan pada suhu 60°C jumlah monogliserida kemungkinan meningkatnya kecil karena persen trigliserida dan digliserida rendah. Hasil penelitian Bilyk dkk (1991) menunjukkan hidrolisis lemak sapi dengan lipase teramobil dari *Mucor miehei* dengan waktu hidrolisis 24 jam dan suhu 45°C menunjukkan jumlah monogliserida dan digliserida sebesar 5%. Sedangkan percobaan ini jumlah monogliserida dan digliserida adalah 18,9% dan 12% untuk suhu 50 dan 60°C untuk waktu reaksi 48 jam. Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan substrat, Bilyk dkk (1991) menggunakan lemak sapi yang komponen asam lemaknya adalah oleat (C18:1). Lipase dari *Mucor miehei* lebih mudah menyerang asam lemak yang berantai pendek. Selain itu posisi sn-2 trigliserida pada minyak hati ikan cod sebagian besar adalah DHA. Migrasi asil dari posisi sn-2 ke posisi sn-1 atau sn-3 dipengaruhi

oleh panjang rantai. Migrasi asil dengan asam lemak dengan rantai yang panjang seperti DHA memerlukan waktu yang lebih lama dibandingkan asam lemak dengan rantai lebih pendek (Boswinkel, 1996).

Kadar asam lemak EPA dan DHA hasil hidrolisis minyak hati ikan cod

Persen asam lemak bebas dan gliserida hasil hidrolisis dapat dilihat pada Tabel 3. Hidrolisis minyak hati ikan cod pada suhu 50°C memberikan asam lemak bebas 69,1%, tetapi EPA dan DHA dalam bentuk asam lemak bebas yang dihasilkan sangat rendah, EPA dan DHA berturut-turut 0,4% dan 0,5%. Hidrolisis minyak pada suhu 30°C menghasilkan asam lemak bebas 22,1%, EPA dan DHA dalam bentuk asam lemak bebas yang dihasilkan berturut-turut 0,95% dan 1,1%. Hasil ini menunjukkan bahwa EPA dan DHA dalam bentuk asam lemak bebas lebih mudah rusak pada suhu tinggi. Tabel 3 menunjukkan kadar EPA dan DHA dalam gliserida lebih tinggi dibandingkan EPA dan DHA dalam bentuk asam lemak bebas. Hal ini menunjukkan bahwa EPA dan DHA dalam bentuk asam lemak bebas lebih mudah rusak dibandingkan dalam bentuk gliserida. Oleh karena itu untuk mendapatkan EPA dan DHA dengan konsentrasi yang tinggi maka EPA dan DHA dalam bentuk gliserida lebih memungkinkan.

Tabel 3. Persen asam lemak bebas, gliserida dan kadar EPA dan DHA hasil hidrolisis minyak hati ikan cod pada waktu inkubasi 48 jam

Suhu	ALB*	Gliserida*	EPA**		DHA**	
			ALB	Gliserida	ALB	Gliserida
30°C	22,1	77,9	0,95	63,2	1,1	83,8
50°C	69,1	30,9	0,40	1,26	0,5	4,0

Keterangan:

* : persen luas area

** : kadar EPA dan DHA dinyatakan dalam % berat terhadap berat mula-mula EPA dan DHA sebagai trigliserida

ALB : Asam lemak bebas

Kerusakan asam lemak bebas ini dapat disebabkan karena oksidasi. Asam lemak EPA dan DHA memiliki ketidak-jenuhan tinggi yang bersifat mudah mengalami oksidasi. Stabilitas oksidatif asam lemak dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain panjang rantai, jumlah ikatan rangkap, adanya asam lemak tertentu dapat meningkatkan stabilitas minyak, sistem akouous atau nonakuous (Endo dkk, 1997).

KESIMPULAN

Tingkat hidrolisis minyak ikan menggunakan lipase teramobil dari *Mucor miehei* makin tinggi dengan naiknya suhu reaksi dari 30°C hingga 60°C sampai dengan 12 jam. Setelah hidrolisis 48 jam perbedaan suhu reaksi menghasilkan tingkat hidrolisis yang tidak jauh berbeda

yaitu berkisar antara 80,1%, hingga 87,3%. Hal ini menunjukkan kemungkinan adanya migrasi asil selama hidrolisis.

Kadar EPA dan DHA dalam bentuk asam lemak bebas pada hasil hidrolisis dipengaruhi oleh suhu reaksi. Kadar EPA dalam bentuk asam lemak bebas pada hidrolisis minyak ikan selama 48 jam suhu 30°C dan 50°C, berturut-turut 0,95% dan 0,4%. Sedang kadar DHA dalam bentuk asam lemak yang dihasilkan berturut-turut adalah 1,1% dan 0,5%.

Walaupun tingkat hidrolisis tinggi namun kandungan EPA dan DHA dalam bentuk asam lemak bebas rendah sedangkan kandungannya pada gliseridanya tinggi. Untuk mendapatkan EPA dan DHA dengan konsentrasi yang tinggi maka EPA dan DHA dalam bentuk gliserida lebih memungkinkan. Perlu kajian lebih lanjut mengenai kandungan EPA dan DHA dalam bentuk gliserida selama waktu hidrolisis minyak ikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aursand, M., Jorgensen, L. dan Grasdalen, H. 1995. Positional Distribution of w-3 Fatty Acids in Marine Lipid Triacylglycerols by High-Resolution ¹³C Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *JAOCS*, Vol. 72 : 293-297.
- Bilyk, A., Bistline R.G., Haas, M.J dan Fairheller S.H. Lipase-Catalyzed Triglyceride Hydrolysis in Organic Solvent. 1991. *JAOCS*. Vol. 68 : 320-323.
- Boswinkel, G., Derksen, J.T.P., Van't Riet, dan Cuperus, F.P. 1996. Kinetic of Acyl Migration in Monoglycerides and Dependence on Acyl Chainlength. *JAOCS*. Vol. 73 : 707-711.
- Brady, C., Metcalfe, L., Slaboszewski, D., dan Frank, D. 1988. Lipase Immobilized, Microporous Support for the Hydrolysis of Fat. *JAOCS*. Vol. 65 no. 6 : 917-921.
- Brimberg, U.L. 1993. On the Kinetics of The Autooxidation of Fats. *JAOCS*. Vol. 70. : 249-254
- Chen, J.P dan Chang, K.C. 1993. Lipase Catalyzed Hydrolysis of Milk Fat in Lecithin Reverse Micelles. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. Vol. 76(2): 98-104.
- Endo, Y, Hoshizaki, S dan Fujimoto, K (1997). Oxidation of Syntetic Triacylglycerol Containing Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids : Effect of Oxidation System and Triacylglycerol. *JAOCS*. Vol. 74: 1041-1045.
- Fu, X., Zhu, X., Gao, K., dan Duan, J. 1995. Oil and Fat Hydrolysis with Lipase from *Aspergillus* sp. *JAOCS*, Vol. 72: 527-531.
- Khor, H.T., Tan, N.H dan Chua, C.L. 1986. Lipase-Catalyzed Hydrolysis of Oil. *JAOCS* Vol. 63: 538-540.
- Linfield, W. M. 1988. Enzymatic Fat Splitting dalam *Proceeding World Conference on Biotechnology for the Fats and Oils Industry*. Applewhite, T.H (ed). AOCS. USA.

- Maehr, H., G. Zenchoff dan D.L. Coffen. 1994. Enzymic Enhancement of omega-3 Fatty Acid Content in Fish Oils. *JAOCS*, Vol.71 : 463-467.
- McNeill, G.P, Ackman, R.G dan Moore, S.R. 1996. Lipase Catalyzed Enrichment of Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids. *JAOCS*. Vol 73 : 1404-1407
- Mukataka, S., T. Kobayashi, S. Sato, dan J. Takahashi. 1987. Enzymatic Hydrolysis of Fats at High Substrate Concentrations in Biphasic Organic-Aqueous System. *J.Ferment. Technol*, Vol.63: 23-29.
- Park, Y.K., Pastore, M dan Almeida, M.M. 1988. Hydrolysis of Soybean Oil by a Combined Lipase System. *JAOCS*, Vol. 65 : 252-254.
- Pedersen, S.B dan Holmer, G. 1995. Studies of Fatty Acid Specificity of Lipase from *Rhizomucor miehei* Toward 20:1-n9, 20:5n-3, 22:1n-9 and 22:6n-3. *JAOCS* Vol. 72: 239-243.
- Shimada, Y., Maruyama, K., Okazaki, S., Nakamura, M., dan Sugihara, A. 1994. Enrichment of Polyunsaturated Fatty Acids with *Geotrichum candidum* Lipase. Vol. 71 : 951-954.
- Shimada, Y., Maruyama, K., Nakamura, M., Nakayama, S, Sugihara, A dan Tominaga, Y. 1995. Selective Hydrolysis Polyunsaturated Fatty Acids Containing Oil with *Geotrichum candidum* Lipase. *JAOCS*. Vol. 72 : 1577-1581.
- Sonnet, P.E. 1988. Lipase Selectivities. *JAOCS*. Vol.65 : 900-904
- Sonntag, N.V. 1982. Fat Splitting, Esterification and Interesterification dalam Swern, D. Bailey's Industrial Oil and Fat Products. John Wiley and Sons. New York.
- Tanaka, Y., Hirano, J., dan Funada T. 1992. Concentration of Docosahexaenoic Acid in Glyceride by Hydrolysis of Fish Oil with *Candida cylindracea* Lipase. *JAOCS*. Vol. 69 : 1210-1214.
- Tsai, S.W, Wu, G.H dan Chiang, C.L. 1991. Kinetics of Enzymatic Hydrolysis of Olive Oil in Biphasic Organic-Aqueous System. *Biotechnology and Bioengineering*, Vol 38: 761-766.
- Virto, M.D, Lascaray, J.M., Solozabal, R. dan Renobales, M. 1991. Enzymic Hydrolysis of Animal Fats in Organic Solvents at Temperature Below Their Melting Points. *JAOCS*. Vol.68 : 324-327.
- Yang, D dan Rhee, J.S. 1992. Continous Hydrolysis of Olive Oil by Immobilized Lipase in Organic Solvent. *Biotech and Bioeng*, Vol, 40: 748-752.