

OPTIMASI KRISTALISASI UREA PADA PEMBUATAN KONSENTRAT ASAM LEMAK ω -3 DARI MINYAK HASIL SAMPING PENEPUNGAN IKAN LEMURU (*Sardinella longiceps*)

Urea Crystallization Optimization of Oil from Lemuru (Sardinella longiceps) Meal Processing by Product for Concentrate ω -3 Fatty Acids Preparation

Teti Estiasih

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya
Jl. Veteran – Malang
Email: teties@yahoo.co.id

ABSTRACT

Oil from lemuru meal processing by product is a potential and an abundant source of ω -3 fatty acids. This oil can be processed to be ω -3 fatty acids concentrate. Urea crystallization is a method for producing high content of ω -3 fatty acids concentrate. Production of ω -3 fatty acids concentrate from lemuru oil was optimized. Central composite design of response surface method was employed as experimental design with two variables, urea-to-fatty acids ratio and crystallization time toward response of EPA+DHA content. The result showed that quadratic regression model was suitable to explain the interaction between both variables toward response of EPA+DHA content whereas urea-to-fatty acids ratio was optimum at 2.59:1 and crystallization time was optimum at 24 hours 18 minute. EPA+DHA content of ω -3 fatty acids concentrate in optimum condition was verified and showed the value was 57.90%, recovery yield was 34.7%, which was increased 2.51 times compared to original lemuru fish oil. Optimum ω -3 fatty acids concentrate quality met the International Association of Fish Meal Manufacturer (IFOMA) standard except for copper concentration.

Keywords: optimization, oil from lemuru meal processing by product, urea crystallization, EPA+ DHA content

PENDAHULUAN

Ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) merupakan komoditas perairan Indonesia. Menurut Anonim (2007), volume penangkapan ikan lemuru di Bali dan Banyuwangi yang merupakan dua wilayah produksi ikan lemuru terbesar di Indonesia adalah sebesar 55.959 ton. Dari jumlah produksi tersebut, sebanyak 40% digunakan untuk pengalengan, 50% untuk penepungan, dan 10% untuk lain-lain.

Jumlah produksi tersebut, 50% dimanfaatkan sebagai bahan baku penepungan dengan rendemen minyak

ikan sebesar 5%. Jumlah yang cukup besar tersebut masih belum dimanfaatkan secara optimum. Kurniasari (2005) menunjukkan bahwa minyak tersebut memiliki kandungan asam lemak ω -3 sebesar 19,29% dan mutunya masih memenuhi standar *International Association of Fish Meal Manufacturer*. Dengan masih tingginya kandungan asam lemak ω -3 pada minyak tersebut, maka perlu penanganan lanjut agar lebih bermanfaat.

Pemanfaatan minyak hasil samping penepungan lemuru berpotensi sebagai bahan baku pembuatan konsentrat asam

lemak ω -3. Asam lemak ω -3 mampu mencegah penyakit kardiovaskuler serta perkembangan fungsi otak dan retina mata pada bayi (Nettleton, 2005). Konsumsi dalam bentuk konsentrat lebih baik dibandingkan minyak asli karena menjaga asupan lemak total tetap rendah (Haagsma *et al*, 1982).

Berbagai metode untuk mendapatkan konsentrat asam lemak ω - 3 antara lain metode kristalisasi pelarut suhu rendah (Ahmadi, 2006), pemadatan cepat (Moffat *et al*, 1992; Estiasih *et al*, 2005, 2006), ekstraksi cairan superkritis (Tatum and Chow, 2000), kromatografi (Bimbo, 1998), enzimatis (Sridhar and Lakshminarayana, 1992; Yamane *et al*, 1992; Carvalho *et al*, 2002; Lee *et al*, 2003), dan kristalisasi urea (Haagsma *et al*, 1982; Ackman *et al*, 1988; Ganga *et al*, 1998; Wanasundara and Shahidi, 1999; Hwang and Liang, 2001; Liu *et al*, 2006). Metode kristalisasi urea didasarkan atas pembentukan kompleks urea-asam lemak jenuh lebih cepat daripada pembentukan kompleks urea-asam lemak tidak jenuh (Hayes, 2002). Metode ini lebih efektif karena pemisahan asam lemak dilakukan berdasarkan keberadaan ikatan gandanya, bukan berdasarkan sifat fisik seperti titik beku dan kelarutannya (Wanasundara and Shahidi, 1999).

Metode kristalisasi urea dipengaruhi oleh faktor rasio urea:asam lemak, lama kristalisasi, dan suhu kristalisasi. Pada penelitian kali ini rasio urea:asam lemak dan lama kristalisasi akan dioptimasi sebagai faktor yang dikaji dengan respon yang diamati adalah kadar EPA+DHA. Optimasi dilakukan untuk mendapatkan kondisi proses kristalisasi urea yang optimum pada pembuatan konsentrat asam lemak ω -3.

Metode permukaan respon digunakan untuk mencari nilai optimum rasio urea:asam lemak dan lama kristalisasi pada proses kristalisasi urea. Metode ini telah berhasil diaplikasikan di berbagai riset optimasi proses (Namal and Shahidi, 2002). Pada kondisi proses

kristalisasi yang optimum, diharapkan akan diperoleh konsentrat asam lemak ω -3 dengan kadar EPA+DHA yang maksimum.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Minyak hasil samping penepungan ikan lemuru yang diperoleh dari PT. Blambangan Raya Muncar, banyuwangi pada bulan Desember 2007. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah standar asam lemak (C12:0, C14:0, C16:0, C16:1 ω -9, C18:0, C18:1 ω -9, C18:2 ω -6, C18:3 ω -3, C20:0, C22:1 ω -9, C20:5 ω -3, C22:6 ω -3, C24:0), standar internal metil ester C19:0 (Sigma Co.), metanol, etanol, urea (teknis); NaOH, heksana, etanol, KOH, metilen klorida, BF₃-metanol, isooktana, p-anisidin, benzena, BaCl₂, FeSO₄, amonium tiosianat, FeCl₂, HNO₃, H₂O₂, FeCl₃, fenolftalein, asam asetat, HCl, Na₂EDTA, KI, pati, kloroform, kalium tiosianat, toluena, urea (*pro-analysis*), kertas saring Whatman No.1, kertas saring kasar, gas hidrogen, gas nitrogen, dan gas helium.

Peralatan yang digunakan adalah kromatografi gas (GC-14B, Shimadzu), integrator (Chromatopac C-RGA, Shimadzu), neraca analitik, refrigerator, alat-alat gelas, pengaduk magnet, dan rotavapor (Buchi).

Metode Penelitian

Pembuatan konsentrat asam lemak ω -3

Minyak hasil samping penepungan lemuru disaponifikasi dengan penambahan larutan NaOH 20% dan dilakukan pada suhu 60°C. Kemudian fraksi tersabunkan dipisahkan dengan fraksi tidak tersabunkan. Asam lemak termasuk dalam fraksi yang tersabunkan. Fraksi yang tidak tersabunkan terdiri dari sterol, vitamin, dan hidrokarbon lain. Penambahan HCl hingga pH 4 bertujuan untuk mengubah asam lemak tersabunkan menjadi asam lemak bebas dan mengkoagulasi protein-hemoglobin

(Haagsma *et al*, 1982). Bagian atas yang mengandung asam lemak bebas terlarut dalam heksana dipisahkan dan dievaporasi pada suhu 30°C.

Urea yang telah ditentukan rasionya dilarutkan dalam larutan metanol dengan perbandingan 10% (b/v) pada suhu 60°C. Perbandingan 10% (b/v) bertujuan untuk menghindari kejenuhan urea di dalam metanol (Elizabeth, 1992). Asam lemak (rasio yang ditentukan) dilarutkan dalam larutan metanol-urea dan didiamkan pada suhu 10°C dengan lama waktu yang telah ditentukan. Selama proses kristalisasi akan terbentuk kompleks urea-asam lemak jenuh dan asam lemak monoenoat yang terlihat seperti jarum-jarum panjang. Kompleks urea yang terbentuk dipisahkan. Asam lemak yang tidak jenuh yang tetap terlarut dalam metanol diekstraksi dengan heksana dan dilakukan penambahan HCl. Ekstraksi dilakukan sebanyak dua kali bertujuan untuk mendapatkan rendemen konsentrat yang maksimum dan terjadi peningkatan 20% (Haagsma *et al*, 1982). Larutan dievaporasi vakum pada suhu 30°C sampai pelarut habis untuk mendapatkan konsentrat asam lemak ω -3.

Penelitian pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mendapatkan titik yang diduga optimum dan akan menjadi titik pusat pada penelitian utama. Penelitian pendahuluan untuk rasio urea:asam lemak dimulai pada rasio 1,5:1, 2:1, 2,5:1, 3:1, 3,5:1 dengan lama kristalisasi 24 jam. Setelah rasio urea:asam lemak yang maksimum diketahui, rasio tersebut digunakan untuk mencari lama kristalisasi yang maksimum. Variabel lama kristalisasi terdiri dari 12, 18, 24, 30, dan 36 jam.

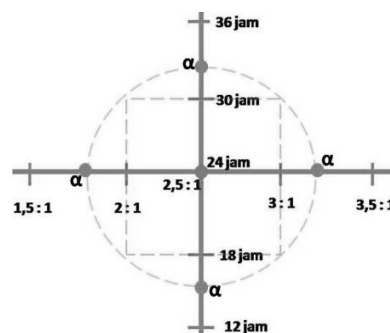
Penelitian utama

Rancangan komposit pusat digunakan untuk mencari titik optimum. Perlakuan utama adalah kombinasi dari kondisi maksimum yang telah diperoleh pada penelitian pendahuluan yaitu rasio urea:asam lemak sebesar 2,5:1 (^b/_b) dan

lama kristalisasi 24 jam. Perluasan perlakuan dilakukan dengan mengkombinasikan masing-masing titik sebelum dan sesudah kondisi maksimum untuk rasio urea:asam lemak yaitu 2:1 (^b/_b) dan 3:1 (^b/_b). Lama kristalisasi diperluas dengan titik-titik sebelum dan sesudah lama kristalisasi maksimum yaitu 18 jam dan 30 jam. Untuk menghindari bias, perlakuan diperluas lagi dengan mengkombinasikan kondisi maksimum dengan titik α dan -α, dengan α adalah komponen perluasan matrik dan dirumuskan $\alpha=2^{k/4}$ (k=variabel yang dicobakan).

Tabel 1. Variabel yang dicobakan pada Rancangan Komposit Pusat

| Variabel kode | X ₁ (Rasio urea : asam lemak) | X ₂ (lama kristalisasi) |
|---------------|--|------------------------------------|
| 1,414 (α) | 3,207:1 | 32,484 jam |
| 1 | 3 : 1 | 30 jam |
| 0 | 2,5 : 1 | 24 jam |
| -1 | 2 : 1 | 18 jam |
| -1,414 (α) | 1,793 : 1 | 15,516 jam |



Gambar 1. Rancangan komposit pusat

Analisis komponen asam lemak, analisis kimia, dan analisis data

Profil asam lemak dianalisis menggunakan metode metilasi Christopherson dan Glass (1969), perhitungan berdasarkan %(b/b) yang diukur dengan membandingkan berat asam lemak dengan standar internal metil ester C:19. Analisis kadar air metode destilasi (AOCS, 1989), asam lemak bebas (AOCS, 1989), angka peroksida (AOAC, 1990), bilangan anisidin (IUPAC, 1979), bilangan totoks (IUPAC, 1979),

kadar besi dan tembaga dengan metode AAS, kadar fosfor dengan metode molibdat-vanadat (AOAC, 1990) dan analisis warna dengan metode Gardner. Analisis data menggunakan *software Design Expert 7.1.6*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Respon Kadar EPA+DHA dan Analisis Pemilihan Model

Respon kadar EPA dan DHA yang diperoleh dalam konsentrat asam lemak ω-3 yang dihasilkan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Data respon kadar EPA+ DHA

| Variabel Kode | | Kadar |
|---------------|--------|---------------|
| X1 | X2 | EPA + DHA (%) |
| -1 | -1 | 40,85 |
| -1 | 1 | 49,37 |
| 1 | -1 | 53,25 |
| 1 | 1 | 49,99 |
| 0 | 0 | 57,47 |
| 0 | 0 | 55,30 |
| 0 | 0 | 59,72 |
| 0 | 0 | 56,57 |
| 0 | 0 | 60,67 |
| -1,414 | 0 | 48,84 |
| 1,414 | 0 | 50,39 |
| 0 | -1,414 | 50,00 |
| 0 | 1,414 | 51,70 |

Dari analisis didapatkan bahwa terdapat beberapa kemungkinan model yang dapat dipilih untuk menggambarkan pengaruh rasio urea:asam lemak terhadap kadar EPA+DHA total pada konsentrat asam lemak ω-3. Beberapa desain model tersebut adalah linier, linier dengan interaksi, kuadrat, serta kubik. Ada tiga metode yang digunakan dalam pemilihan

model berdasarkan perhitungan menggunakan program *Design Expert 7.1.6*, yaitu *Sequential Model Sum of Squares*, *lack of fit*, dan *summary of statistic*

Pemilihan model berdasarkan *Sequential Model Sum of Squares* pada model kuadrat, yang memiliki bentuk persamaan respon $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_1^2 + b_4X_2^2 + b_5X_1X_2$, memiliki nilai P sebesar 0,0014 (0,14%) yang menunjukkan bahwa peluang kesalahan model kurang dari 5%, atau berarti model kuadrat memiliki pengaruh yang nyata (signifikan) terhadap respon (Tabel 3). Dari hasil perhitungan *lack of fit test* (uji simpangan model) (Tabel 4), Model kuadrat memiliki nilai P 33,57% dan model kubik memiliki nilai P sebesar 30%. Kedua model tersebut tidak berbeda nyata pada nilai $P < 5\%$, sehingga dapat diartikan kedua model tersebut memiliki model yang tepat. Program memilih model kuadrat sebagai model terpilih (*suggested*) karena memiliki nilai P yang lebih besar daripada model kubik. Pada analisis *model summary of statistic* pada Tabel 4, diperoleh model yang disarankan adalah model kuadrat. Pemilihan model difokuskan pada nilai PRESS (*prediction error sum of squares*) yang paling kecil (Draper and Smith, 1998). Berdasarkan tiga kriteria pemilihan model maka model yang terpilih untuk menjelaskan hubungan antara variabel rasio urea:asam lemak dan variabel lama kristalisasi terhadap respon Y (kadar EPA+ DHA) adalah model kuadrat.

Tabel 3. Uraian jumlah kuadrat dari urutan model (*Sequential Model Sum of Square* untuk minyak hasil samping penepungan lemuru

| Sumber | Jumlah Kuadrat | db | Kuadrat Tengah | Fhit | Prob>F | Keterangan |
|-----------|----------------|----------|----------------|--------------|---------------|------------------|
| Rata-rata | 35997,34 | 1 | 35997,34 | | | |
| Linear | 36,25 | 2 | 18,12 | 0,59 | 0,5738 | |
| 2FI | 34,66 | 1 | 34,66 | 1,14 | 0,3136 | |
| Kuadrat | <u>231,53</u> | <u>2</u> | <u>115,76</u> | <u>19,16</u> | <u>0,0014</u> | <i>Suggested</i> |
| Kubik | 15,67 | 2 | 7,84 | 1,47 | 0,3143 | <i>Aliased</i> |
| Residu | 26,62 | 5 | 5,32 | | | |

Tabel 4. Uji simpangan model (*lack of fit test*)

| Sumber | Jumlah Kuadrat | db | Kuadrat Tengah | Fhit | Prob>F | Keterangan |
|-----------|----------------|----|----------------|-------|--------|------------------|
| Linear | 288,82 | 6 | 48,14 | 9,79 | 0,0224 | |
| 2FI | 254,15 | 5 | 50,83 | 10,34 | 0,0210 | |
| Kuadratik | 22,63 | 3 | 7,54 | 1,53 | 0,3357 | <i>Suggested</i> |
| Kubik | 6,96 | 1 | 6,96 | 1,42 | 0,3000 | <i>Aliased</i> |
| Galat | 19,66 | 4 | 4,92 | | | |

Analisis permukaan respon kadar EPA dan DHA menghasilkan persamaan model regresi kuadratik menggunakan variabel kode (X_1 dan X_2) maka persamaannya disebut persamaan kode, yaitu :

$$Y = 57,94 + 1,90X_1 + 0,96X_2 - 2,94X_1X_2 - 4,63X_1^2 - 4,01X_2^2$$

Apabila menggunakan variabel aktual maka bentuk persamaannya disebut persamaan aktual, yaitu :

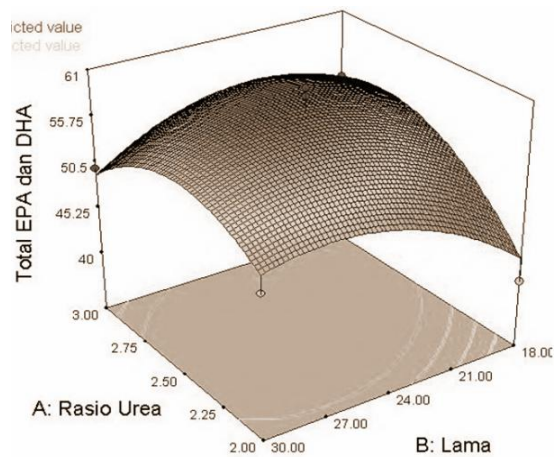
$$Y = -194,2907 + 119,9968R + 7,9641W - 0,98125RW - 18,5290R^2 - 0,11149W^2$$

dengan R = rasio urea:asam lemak dan W= lama kristalisasi

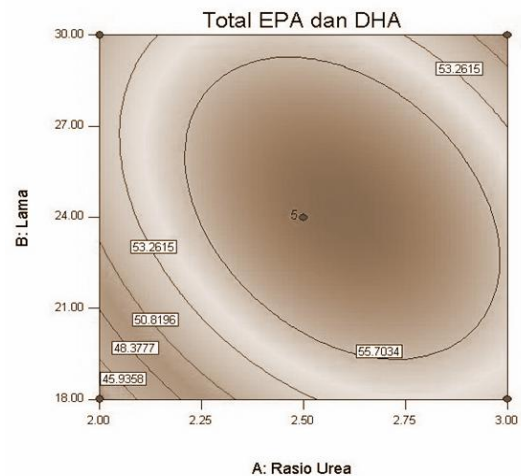
Persamaan tersebut merupakan persamaan aktual yang diperlukan untuk mengetahui respon kadar EPA dan DHA total yang akan didapatkan jika nilai variabel yang diperlakukan berbeda. Pada persamaan diatas, masing - masing koefisien R^2 dan W^2 bertanda negatif yang menandakan adanya titik stationer maksimum dari permukaan respon yang didapatkan. Tanda minus (-) dari koefisien variabel kuadrat (R^2 dan W^2) menunjukkan bahwa pola kuadratik yang diperoleh adalah maksimum (grafik terbuka ke bawah).

Berdasarkan analisis ragam (ANOVA) yang disajikan pada Tabel 6, dapat diketahui bahwa nilai P pada model kuadratik (A^2 dan B^2) serta interaksi A dan B (model 2FI) menunjukkan nilai yang berbeda nyata. Hal tersebut disebabkan karena respon yang terbentuk antara rasio urea:asam lemak dan lama kristalisasi secara parsial maupun ortogonal adalah bentuk kuadrat

(lengkung) (Gambar 2). Adanya interaksi antara rasio dan lama kristalisasi memang terdapat pada kedua faktor tersebut.



Gambar 2. Kurva permukaan respon kadar EPA+DHA dengan variabel rasio urea:asam lemak dan lama kristalisasi



Gambar 3. Kontur plot hubungan rasio urea:asam lemak dan lama kristalisasi terhadap respon kadar EPA+ DHA

Tabel 5. Ringkasan model secara statistik (*model summary statistics*) untuk minyak hasil samping penepungan lemuru

| Sumber | Standar deviasi | R-Squared | Adjusted R Squared | Predicted R-Squared | PRESS | Keterangan |
|-----------|-----------------|---------------|--------------------|---------------------|---------------|------------------|
| Linear | 5,55 | 0,1051 | -0,0738 | -0,4919 | 514,28 | |
| 2FI | 5,52 | 0,2057 | -0,0591 | -1,0576 | 709,31 | |
| Kuadratik | <u>2,46</u> | <u>0,8773</u> | <u>0,7897</u> | <u>0,4441</u> | <u>191,62</u> | <i>Suggested</i> |
| Kubik | 2,31 | 0,9228 | 0,8147 | -0,3806 | 475,93 | <i>Aliased</i> |

Tabel 6. Analisis ragam untuk minyak hasil samping penepungan lemuru

| Sumber | Jumlah Kuadrat | db | Kuadrat Tengah | Nilai F | p-value Prob > F | Keterangan |
|--------------------|----------------|----|----------------|---------|------------------|------------------|
| Model | 302,44 | 5 | 60,49 | 10,01 | 0,0043 | Signifikan |
| A-Rasio | 28,91 | 1 | 28,91 | 4,78 | 0,0649 | |
| B-Lama | 7,34 | 1 | 7,34 | 1,21 | 0,3068 | |
| AB | 34,66 | 1 | 34,66 | 5,74 | 0,0478 | Signifikan |
| A ² | 149,27 | 1 | 149,27 | 24,71 | 0,0016 | Signifikan |
| B ² | 112,06 | 1 | 112,06 | 18,55 | 0,0035 | Signifikan |
| Residual | 42,29 | 7 | 6,04 | | | |
| <i>Lack of Fit</i> | 22,63 | 3 | 7,54 | 1,53 | 0,3357 | Tidak Signifikan |

Wanasundara and Shahidi (1999) menyatakan rasio urea:asam lemak, lama kristalisasi, dan suhu saling memberikan pengaruh terhadap kadar EPA+DHA yang dihasilkan. A dan B (model linier) tidak menunjukkan nilai yang berbeda nyata. Hal tersebut dapat berarti model kuadratik merupakan model yang tepat dalam memberikan pengaruh yang signifikan terhadap respon kadar EPA+DHA.

Pengaruh Variabel Rasio Urea:Asam Lemak dan Lama Kristalisasi terhadap Respon Kadar EPA+DHA

Kadar EPA+DHA tertinggi ditunjukkan pada rasio urea:asam lemak disekitar 2,5:1. Pada rasio urea:asam lemak = 2,5:1 diduga telah terjadi kesetimbangan antara jumlah urea dan jumlah asam lemak jenuh dan asam lemak monoenoat untuk membentuk kompleks yang sempurna. Hal tersebut diperkuat oleh Wanasundara and Shahidi (1999), menyatakan bahwa rasio urea:asam lemak mempengaruhi kesempurnaan proses kristalisasi.

Rasio urea yang kurang dari 2,5:1 menunjukkan respon kadar EPA+DHA

yang cenderung lebih rendah. Hal tersebut diduga belum terjadinya kesetimbangan pembentukan kompleks antara urea dengan asam lemak jenuh dan asam lemak monoenoat. Stout *et al* (1990) menyatakan bahwa pada proses kristalisasi ada kesetimbangan antara asam lemak dan urea dengan kristal yang terbentuk.

Kadar EPA+DHA yang cenderung menurun pada rasio urea:asam lemak yang lebih dari 2,5:1 diduga disebabkan oleh adanya kelebihan urea yang membentuk kompleks dengan EPA dan DHA. Liu *et al*. (2006) menyatakan bahwa EPA mempunyai kecenderungan yang lebih besar untuk membentuk kompleks dengan urea dibandingkan dengan DHA. Dengan demikian semakin banyak urea yang ditambahkan kadar EPA+DHA akan cenderung menurun.

Kadar EPA dan DHA tertinggi ditunjukkan pada lama kristalisasi 24 jam. pada lama kristalisasi 24 jam diduga telah menunjukkan pembentukan kompleks urea-asam lemak jenuh dan asam lemak monoenoat secara sempurna. Pembentukan kompleks urea membutuhkan waktu tertentu sehingga

pembentukan kompleks maksimum dan sempurna (Liu *et al.*, 2006).

Rendahnya kadar EPA+ DHA pada konsentrat asam lemak ω -3 sebelum mencapai titik maksimum 24 jam disebabkan oleh belum sempurnanya kompleks kristal yang terbentuk antara urea dengan asam lemak jenuh dan asam lemak monoenoat. Timms (1997) menyatakan bahwa penggabungan molekul membutuhkan waktu tertentu untuk melakukan penyesuaian sehingga mampu membentuk kristal yang sempurna.

Penurunan kadar EPA+ DHA yang terjadi setelah melewati titik maksimum 24 jam diduga disebabkan oleh kolapsnya struktur urea-asam lemak. Peristiwa kolapsnya struktur urea yang menyebabkan terlepasnya asam lemak merupakan proses yang *irreversible* (Kenneth, 1997). Diduga asam lemak monoenoat terlebih dahulu terlepas dari kompleks urea daripada asam lemak jenuh. Bentuk asam lemak monoenoat yang terdapat lekukan di ikatan rangkapnya diduga tidak memberikan kesempatan urea untuk membentuk saluran-saluran kompleks yang panjang. Hal tersebut menjadikan energi ikatan total antara kompleks urea dengan asam lemak monoenoat menjadi lebih kecil. Hayes (2008) menyatakan bahwa rantai alkil yang memiliki ikatan ganda dalam bentuk *cis* mempunyai energi ikatan total yang kecil dengan kompleks urea. Diduga ikatan hidrogen dan gaya van der Waals pada kompleks urea-asam lemak monoenoat tidak cukup besar energinya jika dibanding dengan kompleks urea-asam lemak jenuh. Akibatnya setelah melewati 24 jam asam lemak monoenoat terlepas dari kompleks urea-asam lemak dan menurunkan kadar EPA dan DHA. Pendapat lain menyatakan bahwa penurunan kadar EPA dan DHA juga diduga disebabkan oleh terbentuknya kompleks antara EPA dengan urea. EPA memiliki kecenderungan lebih mudah membentuk kompleks dengan urea

daripada DHA (Liu *et al.*, 2006; Wanasundara and Shahidi, 1999).

Titik Optimum

Untuk mengetahui titik optimum dari masing-masing variabel secara tepat (titik stationer) maka dilakukan analisis kanonik. Nilai yang diperoleh untuk rasio urea:asam lemak optimum adalah 2,59:1, sedangkan nilai optimum untuk waktu kristalisasi adalah 24 jam 18 menit. Kedua nilai tersebut digunakan sebagai perlakuan untuk mendapatkan kadar EPA+ DHA optimum yang akan diverifikasi. Menurut perhitungan matrik kanonik dari hasil persamaan kuadrat diperoleh prediksi kadar EPA+ DHA adalah 58,14%.

Verifikasi Hasil Kristalisasi pada Titik Optimum

Hasil perlakuan optimum menunjukkan bahwa kadar EPA dan DHA total pada konsentrat asam lemak ω -3 hasil verifikasi adalah 57,90 % (Tabel 6). Nilai ini sedikit berbeda jika dibandingkan dengan perhitungan kadar EPA dan DHA total menurut fungsi persamaan yang menunjukkan nilai sebesar 58,14%.

Tabel 6. Perbandingan komposisi asam lemak minyak awal dengan konsentrat asam lemak ω -3 hasil verifikasi

| Jenis Asam Lemak | Minyak Awal | Konsentrat |
|------------------|-------------|------------|
| C14:0 | 9,51 | 0,60 |
| C16:0 | 13,01 | 7,22 |
| C16:1 | 13,09 | 2,76 |
| C18:0 | 7,78 | 7,57 |
| C18:1 | 1,60 | 16,41 |
| C18:2 | 3,38 | - |
| C18:3 | 1,37 | 3,89 |
| C20:0 | 0,16 | - |
| C22:1 | 3,16 | - |
| EPA | 13,81 | 35,06 |
| DHA | 9,27 | 22,84 |
| EPA+ DHA | 23,09 | 57,90 |
| Pengayaan | | |
| EPA | | 2,54 |
| DHA | | 2,46 |
| EPA+ DHA | | 2,51 |
| Rendemen | | 34,7% |

Tabel 6 menunjukkan perbandingan kandungan asam lemak antara konsentrat asam lemak ω -3 dibandingkan dengan minyak awal. Asam lemak ω -3 seperti C18:3 (asam α -linolenat), C20:5 (EPA), dan C22:6 (DHA) pada konsentrat mengalami kenaikan dibandingkan minyak awalnya. Tingkat kenaikan kadar EPA dan DHA total adalah 2,51 kali.

Kadar asam lemak jenuh dan asam lemak monoenoat pada konsentrat mengalami penurunan jika dibandingkan dengan minyak awal. Hal tersebut dikarenakan sebagian besar asam lemak jenuh dan asam lemak monoenoat terkompleks oleh urea dan dibuang pada saat penyaringan. Pada konsentrat asam lemak ω -3 tidak terdeteksi adanya asam lemak C20:0 (asam arakhidonat) dan C22:0 (asam dokasanoat). Liu *et al* (2006), menyatakan bahwa asam lemak monoetanoat rantai panjang seperti C20:0 (asam arakhidonat) dan C22:0 (asam dokasanoat), lebih cepat membentuk kompleks dengan urea dibandingkan dengan asam lemak rantai pendek seperti C14:0 dan C16:0.

Karakteristik Mutu Konsentrat Asam Lemak ω -3

Analisis karakteristik mutu minyak awal dan konsentrat asam lemak ω -3 dilakukan terhadap parameter kadar air, asam lemak bebas, angka peroksida, bilangan anisidin, bilangan total oksidasi (totoks), warna, kadar besi, tembaga dan fosfor. Hasil analisis secara lengkap disajikan pada Tabel 7 dengan standar minyak ikan untuk konsumsi yang ditetapkan oleh *International Association of Fish Meal Manufacturer (IFOMA)*.

Semua parameter mutu konsentrat asam lemak ω -3 memenuhi standar *International Association of Fish Meal Manufacturer (IFOMA)*, kecuali untuk parameter kadar tembaga. Dalam bentuk konsentrat asam lemak ω -3 hampir semua nilai dari parameter mutu cenderung menurun dibandingkan dengan minyak awal. Hal tersebut menunjukkan bahwa rangkaian proses kristalisasi urea

dapat menurunkan kandungan produk oksidasi primer, produk oksidasi sekunder, pigmen, kadar Fe, dan pengotor berat (nilai densitas). Dapat diartikan bahwa mutu konsentrat asam lemak ω -3 lebih baik daripada dalam bentuk minyak asli.

Tabel 7. Perbandingan karakteristik mutu konsentrat asam lemak ω -3 dengan IFOMA

| Parameter | Standar IFOMA | Minyak Awal | Konsentrat |
|----------------------------|---------------|-------------|------------|
| Kadar air (%) | <1 | < 0,1 | - |
| Asam lemak bebas (% oleat) | 1 - 7 | 0,30 | - |
| Bil. peroksida (meq/kg) | 3 - 20 | 6,45 | 0,37 |
| Bil. anisidin | 4 - 60 | 26,28 | 4,24 |
| Bil. totoks | 10 - 60 | 39,18 | 4,98 |
| Warna | < 14 | 150 | 1,0 |
| Fe (ppm) | 0,50-0,70 | 0,32 | 0,075 |
| Cu (ppm) | < 0,3 | 0,0092 | 0,665 |
| P (ppm) | 5 - 100 | 0,0036 | td |
| Viskositas (cP) | | 2,02 | 0,84 |

KESIMPULAN

Dari hasil optimasi diperoleh kondisi optimum berada pada rasio urea : asam lemak sebesar 2,59:1 dan lama kristalisasi selama 24 jam 18 menit. Verifikasi kadar EPA+DHA total dalam konsentrat asam lemak ω -3 optimum sebesar 57,90%, tingkat kenaikan dari minyak awal sebesar 250,8%, dengan rendemen sebesar 34,7%. Seluruh parameter mutu konsentrat asam lemak ω -3 optimum telah memenuhi standar *International Association of Fish Meal Manufacturer* kecuali untuk parameter kadar tembaga.

DAFTAR PUSTAKA

- Ackman, R.G., W.M.N. Ratnayake, and B. Olsson. 1988. The "basic": fatty acid composition of Atlantic fish oils: potential similarities useful for enrichment of polyunsaturated fatty acids by urea complexation. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 65(1): 136-138

- Ahmadi, K. 2006. Optimasi kristalisasi pelarut suhu rendah pada pembuatan minyak kaya asam lemak ω -3 dari hasil samping pengalengan ikan lemuru (*Sardinella longiceps*). *Agritek* 14(3): 580-593
- Anonim. 2007. Perkembangan Produksi Unggulan Bali dan Probolinggo. <http://agribisnis.deptan.go.id/pustaka/data-statistik%20P2HP/keragaman%20wila-yah/bali.xls> Tanggal Akses 10 Januari 2008
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 11th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC
- AOCS. 1989. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemistry Society. 4th ed. Broadmaker Drive, Champaign, Illinois
- Bimbo, A.P. 1998. Guidelines for characterizing food-grade fish oil. *INFORM* 9(5): 473-483
- Carvalho, P. O., P.R.B. Campos, M.D. Noffs, D.H.M. Bastos, and J.G. de Oliveira. 2002. Enzymic enhancement of ω -3 polyunsaturated fatty acids content in Brazilian sardine oil. *Acta Farm. Bonaerense* 21(2): 85-88
- Elizabeth, J. 1992. Isolasi asam Lemak Omega-3 dari Hasil Limbah Industri Pengalengan Ikan Tuna. Thesis. Program Pascasarjana, IPB, Bogor
- Estiasih, T., F.C. Nisa, dan K. Ahmadi. 2005. Optimasi pemadatan cepat pada pengayaan minyak ikan hasil samping pengalengan lemuru dengan asam lemak ω -3 menggunakan metode permukaan respon. *Jurnal Teknol. dan Industri Pangan* XVI(3): 222-229
- Estiasih, T., F.C. Nisa, dan K. Ahmadi. 2006. Optimasi pemadatan cepat pada pembuatan minyak kaya asam lemak ω -3 dari minyak hasil samping penepungan ikan lemuru. *Agritek* 14(3): 681-694
- Ganga, A., S. Nieto, J. Sanhuez, C. Romo, H. Speisky, and A. Valenzuela. 1998. Concentration and stabilization of ω -3 polyunsaturated fatty acids from sardine oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75(6): 233-235
- Haagsma, N., C.M. Cant Gent. J.B. Luten. R.W de Jong and E van Doorn. 1982. Preparation of an ω -3 fatty acid concentrate from cod liver oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 59 (3): 117 - 118
- Hayes, D.G. 2002. Urea inclusion compound formation. *INFORM*, 13: 781-783
- Hayes, D.G. 2008. Purification of Free Fatty Acids via Urea Inclusion Compound. *Handbook of Functional Lipids*. CRC Press, New York
- Hwang, L. S. and J-H. Liang. 2001. Fractionation of urea-pretreated squid visceral oil ethyl esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 78(5): 473-476
- IUPAC. 1979. Standard Methods for The Analysis of Oils, Fats, and Derivatives. 6th edition. Pergamon Press, Oxford
- Kenneth D, and Harris. 1997. Understanding the properties of urea and thiourea inclusion compound. *Chemical Society Reviews* Vol. 26
- Kurniasari, F. 2005. Proses Pengalengan Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) di PT. Blambangan Raya Muncar Banyuwangi. Laporan PKL. Jurusan Teknologi Hasil Petanian. Universitas Brawijaya, Malang
- Lee, H., Kizito, S.A., Weeseem S.J., Craig-Schmidt, M.C., Lee, Y., Wei, C.I., and H. An. 2003. Analysis of headspace volatile and oxidized volatile compounds in DHA-enriched fish oil on accelerated oxidative storage. *J. Food Sci.* 68(7): 2169-2177
- Liu, S, C. Zhang, P. Hong, and H. Ji. 2006. Concentration of docosahexanoic acids (DHA) and eicosapentanoic acids (EPA) of tuba oil by urea complexation: optimization of process parameters. *Journal of Food Engineering* 73: 203-209
- Moffat, C.F., A.S. McGill, R. Hardy, and R.S. Anderson. 1993. The production of fish oils enriched in polyunsaturated fatty acid-

- containing triglycerides. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 70(2): 133-138
- Namal, S.S.P.J., and F. Shahidi. 2002. Lipase-catalysed incorporation of docosahexanoic acid (DHA) into borage oil: optimization using Response Surface methodology. *Food Chemistry* 77: 115-123
- Nettleton, J. A. 2005. Omega-3 Fatty Acids in Food and Health. *Food Tech.* 59:120
- Sridhar, R. and G. Lakshminarayana. 1992. Incorporation of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acid into groundnut oil by lipase-catalyzed ester interchange. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69(10): 1041-1042
- Stout, V.F, W.B. Nilsson. J. Krzynowek and H. Schlenk. 1990. Fractination of Fish Oils and Their Fatty Acids. Dalam M.E. Stansby. *Fish Oil in Nutrition*. Van Nostrand Reinhold, New York
- Tatum and C.K Chow. 2000. *Fat in Food and Their Health Implication* 2nd Edition. Marcell Dekker Inc., New York
- Timms, R. E. 1997. Fractination. In F.F Gunstone and F.B Padley (ed). *Lipid Technologies and Applications*. Marcel Decker. Inc., New York
- Wanasundra, U. N. and F. Shahidi. 1999. Concentration of omega-3 polyunsaturated fatty acid of seal bubbler oil by urea complexation: optimization of reactions conditions. *Food Chemistry* 65:41-45
- Yamane, T., T. Suzuki, Sahashi, L. Vikersveen, and T. Hoshino. 1992. Production of n-3 polyunsaturated fatty acid-enriched fish oil by lipase-catalyzed acidolysis without solvent. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 69(11): 1104-1107