

OPTIMASI PEMADATAN CEPAT PADA PENGAYAAN MINYAK IKAN HASIL SAMPING PENGALANGAN LEMURU DENGAN ASAM LEMAK ω -3 MENGGUNAKAN METODE PERMUKAAN RESPON

[Optimization of Rapid Solidification to Enrich Fish Oil from by-Product of Lemuru Canning Processing with ω -3 Fatty Acids by Response Surface Method]

Teti Estiasih¹⁾, Fithri Choirun Nisa¹⁾, Kgs. Ahmadi²⁾, dan Umiatun³⁾

¹⁾ Staf Pengajar Jurusan THP – FTP – Universitas Brawijaya - Malang

²⁾ Staf Pengajar Jurusan TIP – FP – Universitas Tribhuwana Tungadewi – Malang

³⁾ Alumni Jurusan THP – FTP – Universitas Brawijaya – Malang

Diterima 28 November 2005 / Disetujui 31 Januari 2006

ABSTRACT

Oil from by-product of lemuru canning processing was a source of ω -3 fatty acids but its characteristic had not been known. The content of ω -3 fatty acids of this oil had to be increased. Various methods are available to enhance ω -3 fatty acids concentration. Rapid solidification was one of limited methods to enrich fish oil by ω -3 fatty acids- containing triglycerides.

This research was conducted to optimize rapid solidification condition to enrich fish oil from by product of lemuru canning processing with ω -3 fatty acids and characterize the enriched oil compared to International Association of Fish Meal and Oil Manufacturers standard. In optimization process, the content of EPA+DHA and yield was maximized. A two-factors central composite design in Response Surface Method was used to study the effect of solvent-to-oil ratio (X_1) and extraction time (X_2). The response (Y) is the multiplication of EPA+DHA content by yield.

The results showed that under optimum conditions the maximum response were obtained at a solvent-to-oil ratio of 3,95:1 (v:w) and extraction time of 24,93 hours. The ω -3 fatty acids enriched fish oil had EPA+DHA content of 33,33% and yield of 9,40% (w/w). The produced ω -3 fatty acids enriched fish oil had good quality based on food grade fish oil standard, unless Fe and Cu content. Chelation could reduce these oxidizing metals.

Key words : ω -3 fatty acids, rapid solidification, response surface method, central composite design.

PENDAHULUAN

Penggunaan asam lemak ω -3 dalam pangan fungsional terus mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya kesadaran publik akan pentingnya asam lemak ini. Asam lemak ω -3 terutama EPA (C20:5 ω -3, *eicosapentaenoic acid*) dan DHA (C22:6 ω -3, *docosahexaenoic acid*) mempengaruhi kesehatan dalam kisaran luas. Asam lemak ini diperlukan pada perkembangan otak dan retina (Spector, 1999; Crawford et al., 1999; Rotstein et al., 1999), perkembangan otak bayi prematur (Jauy dan Hoffman, 2000), mencegah berbagai penyakit kanker (Terry et al., 2003; Hardman et al., 2004), meningkatkan keberhasilan dan menurunkan efek samping kemoterapi pada penderita kanker (Hardman et al., 2002), mencegah aterosklerosis dan berefek positif pada metabolisme lipida (Mori et al., 1999), menurunkan gejala depresi (Tiemeier et al., 2003), memperbaiki toleransi terhadap glukosa pada penderita diabetes (Mori et al., 1999), serta memperbaiki harapan hidup penderita penyakit autoimun seperti lupus dan artritis (Jolly et al., 2001).

Sumber asam lemak ω -3 yang utama adalah minyak ikan dengan penggunaan paling banyak dalam

bentuk konsentrat. Bentuk konsentrat ini lebih disukai karena dapat memenuhi kebutuhan asam lemak ω -3 dengan asupan lemak yang rendah. Seiring dengan meningkatnya kesadaran masyarakat, diperkirakan pasar produk konsentrat asam lemak ω -3 ini akan terus tumbuh (Baik et al., 2004). Sayangnya Indonesia masih menggunakan konsentrat asam lemak ω -3 impor untuk pemenuhan kebutuhan pasar produk asam lemak ω -3 baik untuk pangan maupun farmasi.

Walaupun sebagian besar sumber asam lemak ω -3 adalah ikan dari perairan dingin, telah diketahui ikan lokal Indonesia yaitu ikan lemuru mengandung asam lemak tersebut dalam jumlah tinggi (Estiasih, 1996; Estiasih, 2003). Minyak ikan lemuru yang merupakan hasil samping pengolahan ikan, baik penepungan maupun pengalengan, belum dimanfaatkan secara optimal sebagai sumber asam lemak ω -3 untuk kebutuhan pangan. Jumlah minyak ikan ini pada tahun 2004 mencapai 5.209,88 ton (Anonim, 2005).

Mutu minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru cukup baik jika ditangani segera (Estiasih, 2003). Penelitian mengenai pengayaan minyak ikan ini dengan asam lemak ω -3 telah dilakukan di antaranya

dengan metode inklusi urea (Estiasih, 1996) dan pemadatan cepat (Estiasih dan Ahmadi, 2004). Metode inklusi urea merupakan metode yang sederhana, dapat dibuat dalam jumlah besar, dan murah (Guerrero dan Belarbi, 2001). Metode ini berhasil meningkatkan kadar asam lemak ω -3 dalam minyak ikan lemuru menjadi 70,22% (Estiasih, 1996) dan kondisi proses yang optimum telah diteliti oleh Wanasundara dan Shahidi (1999) dengan minyak yang digunakan adalah *seal bubbler oil*. Sayangnya asam lemak ω -3 yang dihasilkan dalam bentuk asam lemak bebas.

Bentuk konsentrat asam lemak ω -3 yang disukai adalah dalam bentuk trigliserida (Shahidi, 2002). Asam lemak bebas walaupun daya serapnya dalam pencernaan tinggi (Nettleton, 1995), tetapi sangat tidak stabil dan mudah teroksidasi (Cho et al., 1987). Bentuk metil ester asam lemak mempunyai stabilitas yang lebih baik dari bentuk asam lemak bebas (Cho et al., 1987), tetapi daya serapnya dalam pencernaan sangat rendah (Nettleton, 1995). Menurut Song et al., (1997) DHA lebih cepat teroksidasi jika ada dalam bentuk trigliserida dibandingkan bentuk etil ester, tetapi menurut hasil penelitian Lee et al., (2003) DHA dalam bentuk etil ester lebih mudah teroksidasi dibandingkan bentuk trigliserida.

Teknik untuk mengkonsentrasikan asam lemak ω -3 dalam bentuk trigliserida masih terbatas. Metode yang telah dikembangkan adalah kristalisasi pelarut, ekstraksi pelarut superkritis (SFE=*supercritical fluid extraction*) (Chen dan Ju, 2001) dan pemadatan cepat (Moffat et al., 1993). Kristalisasi pelarut tidak efisien karena memerlukan penyaringan pada kondisi khusus sedangkan SFE tidak ekonomis.

Teknik pemadatan cepat yang dikembangkan oleh Moffat et al., (1993) terdiri dari pemadatan cepat butiran minyak ikan dalam nitrogen cair, diikuti oleh ekstraksi dengan aseton pada suhu -60°C . Trigliserida yang hanya mengandung asam lemak jenuh atau kombinasi dari asam lemak jenuh dan monoenoat dihilangkan secara total pada proses ini. Proses ini memperkaya minyak ikan dengan trigliserida tidak jenuh secara sederhana dan tidak digunakan modifikasi kimia

Karena pada metode Moffat et al., (1993) digunakan nitrogen cair yang mahal dan sulit ditangani, Estiasih dan Ahmadi (2004) memodifikasi proses tersebut dengan mengganti nitrogen cair dengan es kering. Penelitian tersebut berhasil memperkaya minyak hasil samping pengalengan ikan lemuru dengan asam lemak ω -3 sebanyak 1,87 kali. Sayangnya kondisi proses yang optimal untuk menghasilkan minyak kaya asam lemak ω -3 tersebut belum diteliti.

Teknik optimasi dengan metode permukaan respon (RSM=*Response Surface Method*) merupakan pendekatan sistematis yang memungkinkan sejumlah variabel dipelajari secara simultan. Metode ini efektif untuk mengoptimalkan proses dan telah banyak digunakan dalam penelitian optimasi (Wanasundara dan Shahidi, 1999).

Penelitian ini bertujuan untuk mencari kondisi proses pemadatan cepat yang optimum dengan menggunakan metode permukaan respon. Faktor yang dikaji adalah rasio pelarut:minyak dan lama ekstraksi. Kedua faktor tersebut dipilih karena berimplikasi ekonomi. Respon yang diteliti adalah hasil perkalian antara kadar EPA+DHA dengan rendemen. Kadar EPA+DHA merupakan faktor yang ditingkatkan dan rendemen dijadikan parameter karena mempengaruhi jumlah produk yang dihasilkan sehingga akan berpengaruh terhadap harga produk.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan baku yang digunakan adalah minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) yang diambil dalam bentuk segar (baru dihasilkan) dari PT Blambangan Raya - Muncar Banyuwangi.

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah standar asam lemak (C12:0, C14:0, C16:0, C18:0, C18:1- ω 9, C18:2- ω 6, C18:3- ω 3, C20:0, C20:4- ω 6, C20:5- ω 3, C22:6- ω 3) (Sigma Co.); aseton (teknis); etanol, NaOH, toluena, asam oksalat, asam asetat, kloroform, KI, pati, akuades, p-anisidin, isooktana, asam nitrat, CaCO_3 , larutan Fe, larutan Cu, reagen molibdat-vanadat, fosfat, HCl, heksana, KOH, metanol, Na_2EDTA (*pro analysis*) dari Merck dan Sigma Co.; kertas saring Whatman No.1; gas helium, gas hidrogen, gas nitrogen (PT Aneka Gas, Yogyakarta); dan es kering dari PT Fujigas, Surabaya.

Peralatan yang digunakan adalah *freezer* (Gea), kromatografi gas (GC-14B Shimadzu), integrator (Chromatopac C-R6A Shimadzu), neraca analitik, *color reader* (Minolta), alat-alat gelas, spektroskopi serapan atom, pengaduk magnet, rotavapor (Buchi), spektrofotometer, sentrifusa, labu destilasi *sterling-bidwell*, dan toples palstik bertutup untuk preparasi sampel

Metode

Karakterisasi minyak hasil samping pengalengan

Karakteristik minyak dilakukan untuk mengetahui apakah minyak ikan tersebut masih layak untuk dikonsumsi dan memenuhi standar mutu *International Association of Fish Meal Manufacturers* untuk *food grade fish oil* (Bimbo, 1998). Metode yang digunakan untuk menganalisis parameter mutu tersebut adalah sebagai berikut: kadar Fe, Cu dengan spektroskopi serapan atom (AOAC, 1990), kadar fosfor (IUPAC, 1979), kadar air destilasi toluena (IUPAC, 1979), kadar asam lemak bebas (AOCS, 1989), dan bilangan peroksida (AOAC, 1990).

Pemadatan cepat

Pemadatan cepat dilakukan dengan metode Moffat et al., (1993) yang dimodifikasi sebagai berikut:

Minyak ikan diteteskan dengan pipet Pasteur pada labu yang berisi campuran aseton (telah didinginkan pada suhu -40°C selama 24 jam) dan es kering (suhu campuran aseton dan es kering $\leq -40^{\circ}\text{C}$). Rasio aseton:es kering adalah 1:1 (v:b), sedangkan rasio pelarut (aseton):minyak ikan (v:b) diatur sesuai perlakuan.

Butiran minyak memadat secara cepat dan membentuk butiran padat minyak ikan. Butiran padat minyak ikan tersebut kemudian diekstraksi dengan aseton pada suhu -40°C . Lama ekstraksi diatur sesuai perlakuan. Butiran padat minyak ikan dipisahkan dari aseton dengan penyaringan menggunakan kertas saring kasar pada suhu -40°C . Aseton dihilangkan dengan evaporator berputar (suhu penangas air 30°C) sehingga diperoleh minyak kaya asam lemak ω -3.

Optimasi dengan metode permukaan respon (RSM)

Rancangan percobaan yang digunakan dalam RSM ini adalah Rancangan Komposit Pusat (*Central Composite Design*). Supaya taraf faktor yang diuji telah mendekati optimum seperti disyaratkan (Montgomery, 1984) maka dilakukan penelitian pendahuluan. Penelitian pendahuluan bertujuan untuk mendapatkan grafik respon yang berbentuk lengkung (*curvature*) sehingga daerah eksplorasi yang digunakan sudah mendekati optimum. Menurut Montgomery (2001) rancangan percobaan dalam RSM yang tepat jika telah terdapat lengkung adalah Rancangan Komposit Pusat. Rancangan percobaan ini dapat dilihat pada Tabel 2 dengan tiga kali ulangan.

Variabel yang diteliti pada penelitian ini adalah rasio pelarut:minyak (v:b) (X_1) dan lama ekstraksi (X_2). Respon yang dioptimasi (Y) adalah hasil perkalian dari kadar EPA+DHA (%) dan rendemen (% b/b) sehingga diperoleh satu respon, karena hasil yang diharapkan adalah satu titik optimum untuk masing-masing variabel yang diteliti. Pemilihan satu respon ini didasarkan pada alasan bahwa jika diaplikasikan hanya ada satu titik optimum untuk masing-masing variabel dan respon yang dioptimasi telah mencakup semua parameter yang ingin dimaksimumkan yaitu kadar EPA, kadar DHA, dan rendemen. Jika masing-masing parameter tersebut dijadikan respon, maka titik optimum untuk setiap variabel akan berbeda sehingga diperoleh beberapa titik optimum untuk setiap variabel.

Analisis data dilakukan dengan program *Design Expert DX6.10.0 (trial version)*. Analisis kadar EPA dan DHA dilakukan dengan kromatografi gas (metilasi metode Christopherson dan Glass, 1969).

Karakterisasi minyak kaya asam lemak ω -3 dan pemurnian

Karakterisasi dilakukan untuk mengetahui mutu minyak yang dihasilkan dengan mengacu pada standar

seperti minyak ikan asal. Jika ada parameter mutu yang melebihi batas standar maka dilakukan proses pemurnian dengan pengkelatan untuk menurunkan kadar Fe atau Cu (Haagsma et al, 1982), pemumian dengan alkali untuk menurunkan kadar asam lemak bebas dan tingkat oksidasi (bilangan peroksida, bilangan anisidin, dan bilangan Totox) (Hogdson, 1995), penghilangan gum (*degumming*) untuk menurunkan kadar fosfor (de Greyt dan Kellens, 2000), dan pemucatan (*bleaching*) untuk memperbaiki warna (Hogdson, 1995).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik mutu minyak hasil samping pengalengan

Karakteristik minyak hasil samping pengalengan ikan lemuru dapat dilihat pada Tabel 1. Secara umum minyak ikan ini memenuhi standar mutu kecuali kadar Fe. Implikasi kadar Fe yang melebihi standar adalah terhadap stabilitas oksidasi minyak sehingga mempengaruhi daya simpan.

Optimasi dengan metode permukaan respon

Data optimasi dengan metode permukaan respon disajikan pada Tabel 2. Pemilihan rancangan ini didasarkan bahwa taraf faktor yang diuji telah mendekati optimum dari hasil penelitian pendahuluan sehingga diduga telah terdapat lengkung (*curvature*). Menurut Montgomery (1984), model yang digunakan untuk percobaan yang telah relatif mendekati optimum adalah model ordo kedua. Rancangan percobaan yang sesuai untuk model ordo kedua adalah Rancangan Komposit Pusat.

Penentuan model yang sesuai

Metode permukaan respon digunakan untuk menentukan model yang sesuai. Model yang dievaluasi mencakup linear, 2FI (interaksi), kuadrat, atau kubik. Menurut Chen et al., (2005), analisis model digunakan untuk menentukan model yang sesuai dalam metode permukaan respon.

Proses pemilihan model dilakukan berdasarkan: uraian jumlah kuadrat (JK) dari urutan model (*sequential model sum of square*), uji simpangan model (*lack of fit test*), dan ringkasan model secara statistik (*model summary statistics*).

Pemilihan model berdasarkan *sequential model sum of square* (Tabel 3) menunjukkan bahwa model yang signifikan adalah model kuadrat atau kubik, dan model linear dan 2FI (interaksi) tidak signifikan. Signifikansi ini dilihat dari nilai P (Prob>F) kurang dari 5% ($P < 5\%$). Menurut Chen et al., (2005), model dengan nilai P ($P > F$) kurang dari 0,05 dinyatakan sebagai signifikan. Model yang dipilih adalah model polinomial dengan ordo tertinggi.

Tabel 1. Karakteristik minyak hasil samping pengalengan ikan lemuru, minyak kaya asam lemak ω-3, dan hasil pemurnian

Parameter Mutu	Standar	Asal	Minyak Kaya Asam Lemak ω-3	Hasil Pemurnian
Air dan kotoran, %	0,5-1	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi	tidak terdeteksi
Asam lemak bebas, % oleat	1-7	0,53	4,90	4,90
Bilangan peroksida, meq/kg	3-20	8,41	1,79	1,79
Bilangan anisidin	4-60	18	14,20	14,20
Bilangan totox	10-60	34,82	24,00	24,00
Warna, Gardner	<14*	L = 32,63** +a = 19,47** +b = 26,33**	L = 54,68** +a = 15,30** +b = 58,26**	L = 54,68** +a = 15,30** +b = 58,26**
Fe, ppm	0,5-0,7	3,25***	59,14***	0,818***
Cu, ppm	<0,3	tidak terdeteksi	3,50***	1,65***
P, ppm	5-100	0,32	58,95	58,95

* Standar Gardner, alat tidak tersedia

** Pengukuran warna dengan *Color Reader*, L=kecerahan, +a=warna ke arah merah, +b=warna ke arah kuning

*** Melebihi batas standard

Tabel 2. Rancangan Komposit Pusat pada optimasi pematatan cepat

Variabel Asli		Variabel Terkode		EPA* (%)	DHA* (%)	EPA+DHA* (%)	Rendemen (%)	ResponY**
W ₁ Rasio	W ₂ Lama (jam)	X ₁	X ₂					
3:1	12	-1	-1	23,38	10,09	33,77	0,92	33,34
5:1	12	+1	-1	22,62	10,21	32,82	0,54	17,57
3:1	36	-1	+1	20,61	9,19	29,80	2,21	64,47
5:1	36	+1	+1	20,73	8,50	29,23	1,61	45,79
4:1	24	0	0	18,14	10,05	28,19	6,39	187,28
4:1	24	0	0	20,29	11,40	31,69	5,85	185,43
4:1	24	0	0	18,26	10,39	28,65	6,29	180,70
4:1	24	0	0	20,90	10,39	31,29	6,14	187,28
4:1	24	0	0	19,76	11,91	31,67	5,71	182,05
2,586:1	24	-1,414	0	14,98	6,73	21,71	0,72	15,48
5,414:1	24	+1,414	0	14,10	6,85	20,95	0,55	11,42
4:1	7,032	0	-1414,	17,56	7,65	25,21	0,40	9,95
4:1	40,968	0	+1,414	14,93	6,93	21,86	0,77	16,90

* Berdasarkan persentase luas area puncak asam lemak yang diidentifikasi terhadap total luas area semua puncak asam lemak yang muncul pada kromatogram

** Hasil perkalian antara rendemen (%) dan kadar EPA+DHA (%)

Tabel 3. Uraian jumlah kuadrat dari urutan model (*Sequential Model Sum of Square*)

Sumber	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	Fhit	Prob>F	Keterangan
Rata-rata	1,193 X 10 ⁵	1	1,193 X 10 ⁵			
Linear	1324,43	2	662,22	0,10	0,9029	
2FI	2,12	1	2,12	2,968 X 10 ⁻⁴	0,9866	
Kuadratik	64012,16	2	32006,08	1218,15	<0,00001	Suggested
Kubik	147,13	2	73,57	10,00	0,01789	Aliased
Residu	36,79	5	7,36			

Model ordo tertinggi berdasarkan *sequential model sum of square* ini adalah kubik, tetapi model ini dinyatakan tidak dianjurkan (*aliased*) karena model tersebut terlalu kompleks. Montgomery (2001) menyatakan bahwa Rancangan Komposit Pusat sebagai rancangan ordo kedua tidak memiliki data yang cukup untuk mendukung model kubik secara sempurna.

Berdasarkan analisis ini maka model yang terpilih adalah model kuadratik.

Pemilihan model yang kedua adalah berdasarkan uji simpangan model seperti ditunjukkan Tabel 4. Model dianggap tepat jika nilai P>0,05 (P>5%) yang berarti ketidaktepatan model berpengaruh tidak nyata. Model linear dan 2FI menunjukkan tidak tepat. Model yang tepat adalah kuadratik dan kubik, tetapi kubik tidak

dianjurkan (*aliased*) sehingga model yang terpilih adalah model kuadratik.

Proses pemilihan model selanjutnya adalah berdasarkan ringkasan model secara statistik (Tabel 5). Parameter yang digunakan untuk memilih model yang tepat adalah standar deviasi terendah, *R-square* tertinggi, *Adjusted R-square* tertinggi, *Predicted R-square* tertinggi, dan PRESS (*Prediction Error Sum of Square*) terendah. Diantara model yang memenuhi kriteria tersebut adalah model kuadratik.

Berdasarkan tiga proses pemilihan model tersebut model yang sesuai untuk minyak hasil samping pengalengan adalah model kuadratik. Hasil analisis ragam dari permukaan respon kuadratik menunjukkan model kuadratik mempunyai pengaruh yang nyata terhadap respon.

Berdasarkan ringkasan statistik pada Tabel 5 model kuadratik mempunyai standar deviasi terkecil dibandingkan model lain dengan nilai *Adj.R²* tertinggi sebesar 0,9952. Berarti variabel rasio pelarut: minyak dan lama ekstraksi berpengaruh terhadap keragaman respon sebesar 99,52% sedangkan sisanya sebesar 0,48% dipengaruhi faktor lain yang tidak dijadikan variabel yang diteliti.

Persamaan polinomial kuadratik yang diperoleh adalah: $Y = 589,61378X_1 - 23,74709X_2 - 72,12877X_1^2 - 0,50089X_2^2 - 0,060625X_1X_2 - 129,543784$ dimana X_1 = rasio pelarut: minyak dan X_2 = lama ekstraksi.

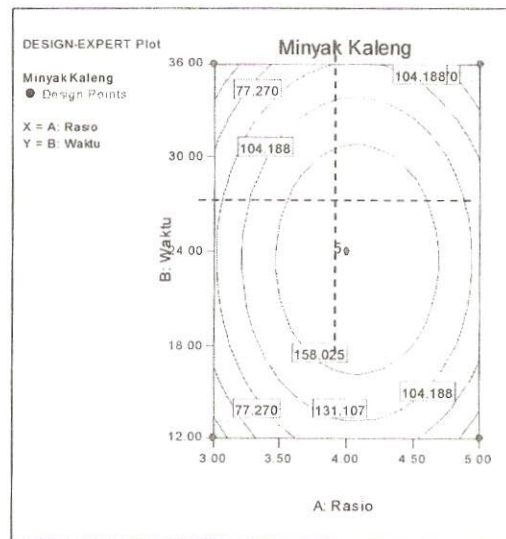
Permukaan respon dan titik optimum

Permukaan respon dari minyak hasil samping pengalengan berbentuk maksimum yang dapat dilihat dari tanda - (minus) untuk koefisien X_1^2 dan X_2^2 dari persamaan dari persamaan polinomial kuadratik yang diperoleh. Grafik respon pada Gambar 1 yang digambarkan oleh garis putus-putus sejajar sumbu X dan Y menunjukkan bahwa untuk kedua variabel peningkatan variabel menyebabkan respon meningkat

sampai tercapai titik optimum dan peningkatan lebih lanjut menyebabkan respon menurun.

Kurva permukaan respon dapat dilihat pada Gambar 2 yang memperjelas hubungan antara rasio pelarut: minyak dan lama ekstraksi dengan respon yang berbentuk kuadratik.

Dari Tabel 2 terlihat bahwa proses pemadatan cepat pada rasio pelarut: minyak dan lama ekstraksi yang bervariasi meningkatkan kadar EPA+DHA. Peningkatan tersebut dalam kisaran yang sama untuk variasi rasio pelarut: minyak 3:1 sampai 5:1 dan lama ekstraksi 12 sampai 36 jam. Pada variasi yang jauh dari titik pusat, baik untuk rasio pelarut: minyak maupun lama ekstraksi, peningkatan kadar EPA+DHA lebih rendah.



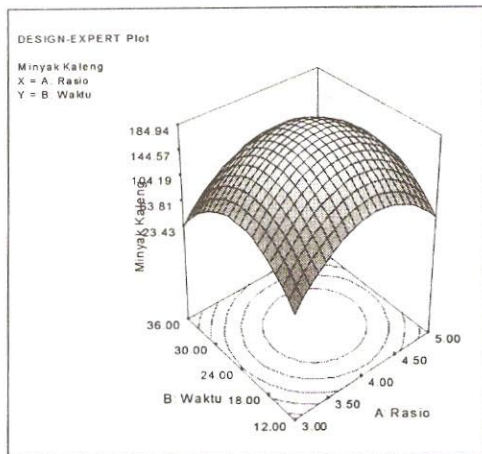
Gambar 1. Grafik respon

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

Sumber	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	Fhit	Prob>F	Keterangan
Linear	64161,41	6	10693,57	1162,71	<0,0001	Signifikan
2FI	64159,29	5	12831,86	1395,21	<0,0001	Signifikan
Kuadratik	147,13	3	49,04	5,33	0,0628	Suggested
Kubik	3,090 X 10 ⁵	1	3,098 X 10 ⁵	3,366 X 10 ⁶	0,9986	<i>Aliased</i>
Galat	36,79	4	9,20			

Tabel 5. Ringkasan model secara statistik (*model summary statistics*)

Sumber	Standar deviasi	R-Squared	Adjusted R Squared	Predicted R-Squared	PRESS	KETERANGAN
Linear	80.12	0.0202	-0.1757	-0.5407	1.009E+005	
2FI	84.46	0.0202	-0.3063	-1.1800	1.428E+005	
Kuadratik	5.13	0.9972	0.9952	0.9832	1103.75	Suggested
Kubik	2.71	0.9994	0.9987	0.9991	57.48	<i>Aliased</i>



Gambar 2. Kurva permukaan respon

Pada Tabel 2 terlihat bahwa proses pemadatan cepat pada rasio pelarut:minyak dan lama ekstraksi yang bervariasi meningkatkan kadar EPA+DHA. Peningkatan tersebut dalam kisaran yang sama untuk variasi rasio pelarut minyak 3:1 sampai 5:1 dan lama ekstraksi 12 sampai 36 jam. Pada variasi yang jauh dari titik pusat, baik untuk rasio pelarut:minyak maupun lama ekstraksi, peningkatan kadar EPA+DHA lebih rendah.

Pada lama ekstraksi yang pendek dan rasio pelarut:minyak yang rendah rendemen cenderung rendah. Rendemen mencapai optimum pada titik tertentu dan perluasan lama ekstraksi dan rasio pelarut:minyak cenderung menurunkan rendemen. Faktor yang membentuk hubungan kuadrat dari respon yang diteliti (kadar EPA+DHA dan rendemen) adalah rendemen.

Titik optimum untuk rasio pelarut:minyak dan lama ekstraksi diperoleh dari hasil analisis kanonik yaitu rasio pelarut:minyak 3,95:1 dan lama ekstraksi 24,93 jam atau 24 jam 55 menit 48 detik. Respon pada kondisi optimum ini diprediksi sebesar 184,54.

Pada lama ekstraksi yang pendek dan rasio pelarut:minyak yang rendah rendemen cenderung rendah. Rendemen mencapai optimum pada titik tertentu dan perluasan lama ekstraksi dan rasio pelarut:minyak cenderung menurunkan rendemen. Faktor yang membentuk hubungan kuadrat dari respon yang diteliti (kadar EPA+DHA dan rendemen) adalah rendemen.

Titik optimum untuk rasio pelarut:minyak dan lama ekstraksi diperoleh dari hasil analisis kanonik yaitu rasio pelarut:minyak 3,95:1 dan lama ekstraksi 24,93 jam atau 24 jam 55 menit 48 detik. Respon pada kondisi optimum ini diprediksi sebesar 184,54.

Minyak kaya asam lemak ω-3 yang dihasilkan pada kondisi proses optimum

Kadar EPA+DHA minyak kaya asam lemak ω-3 yang dihasilkan pada rasio pelarut:minyak dan lama

ekstraksi yang optimum dapat dilihat pada Tabel 6. Tingkat pengayaan EPA+DHA (rasio kadar EPA+DHA minyak kaya asam lemak ω-3 dengan kadar EPA+DHA minyak asal) adalah 1,60. lebih rendah dari hasil penelitian sebelumnya (Estiasih dan Ahmadi, 2004) yaitu 1,87 kali. Perbedaan tersebut disebabkan pada penelitian sebelumnya rasio pelarut:minyak yang digunakan adalah 5:1 dan lama ekstraksi 48 jam. Pada penelitian tersebut rendemen yang diperoleh 9,73% dengan kadar EPA+DHA 36,37% yang berasal dari minyak ikan dengan kadar EPA+DHA 19,69%. Hasil tersebut tidak berbeda jauh dengan hasil penelitian ini, tetapi pada penelitian ini kondisi proses lebih ekonomis dilihat dari lama ekstraksi lebih pendek dan rasio pelarut:minyak lebih rendah.

Dari Tabel 6 terlihat bahwa tingkat pengayaan EPA lebih tinggi dibandingkan DHA. Dilihat dari ketidakjenuhan dan titik leleh, DHA lebih tidak jenuh dan mempunyai titik leleh yang lebih rendah dibandingkan DHA (Gunstone, 1996).

Tabel 6. Minyak kaya asam lemak ω-3 yang dihasilkan pada kondisi optimum

Parameter	Minyak Asal	Minyak Kaya Asam Lemak ω-3
Kadar EPA (%)	11,71	21,24
Kadar DHA (%)	9,11	11,99
Kadar EPA+DHA (%)	20,82	33,23
Pengayaan EPA	-	1,81 kali
Pengayaan DHA	-	1,32 kali
Pengayaan EPA+DHA	-	1,60 kali
Rendemen		9,40%

Pada proses pengayaan ini faktor yang mempengaruhi pelarutan asam lemak dalam aseton selama ekstraksi tidak hanya ketidakjenuhan dan titik leleh saja, EPA dan DHA diekstrak tidak dalam bentuk asam lemak bebas tetapi dalam bentuk trigliserida. Jenis asam lemak lain dan posisi asam-asam lemak dalam kerangka gliserol trigliserida ikut mempengaruhi titik leleh (Gunstone, 1996). Kemungkinan sebagian besar EPA ada dalam trigliserida yang mempunyai titik leleh yang lebih rendah dibandingkan trigliserida yang mengandung DHA.

Penelitian Wanasundara dan Shahidi (1999) mengenai optimasi inklusi urea menunjukkan bahwa pada proses kristalisasi urea ada tendensi peningkatan kadar DHA lebih tinggi dari EPA. Grafik respon kadar DHA menunjukkan maksimum sedangkan EPA minimum. Perbedaan tersebut disebabkan perbedaan kemampuan kedua jenis asam lemak tersebut dalam membentuk kompleks dengan urea.

Dari penelitian ini dan penelitian sebelumnya (Wanasundara dan Shahidi, 1999) dapat disimpulkan bahwa pada pembuatan konsentrat asam lemak ω-3 ada preferensi jenis asam lemak ω-3 tertentu yang

meningkat. Preferensi tersebut tergantung dari metode yang digunakan.

Jika dibandingkan dengan produk minyak ikan komersial, minyak kaya asam lemak ω -3 yang dihasilkan dari penelitian ini dilihat dari kadar EPA+DHA setara dengan minyak ikan komersial yang berasal dari ikan perairan subtropik (Tabel 7). Produk hasil penelitian ini tidak dapat digolongkan ke dalam konsentrat asam lemak ω -3. Kadar EPA+DHA yang lebih rendah dari konsentrat asam lemak ω -3 komersial disebabkan kadar EPA+DHA dari minyak ikan asal sangat rendah dibandingkan minyak ikan dari perairan subtropik. Hasil penelitian Moffat et al., (1993) menunjukkan bahwa metode pemadatan cepat dengan bahan baku ikan sejenis lemuru yaitu sardin (*Sardina pilchardus*) dengan kadar EPA+DHA 33% dapat meningkatkan kadar asam lemak tersebut menjadi 54%.

Karakteristik mutu minyak kaya asam lemak ω -3 dan pemurnian

Karakteristik mutu minyak kaya asam lemak ω -3 yang dihasilkan pada kondisi proses yang optimum dapat dilihat pada Tabel 1. Secara umum mutu minyak tersebut memenuhi standar, kecuali kadar Fe dan Cu.

Pemadatan cepat menyebabkan peningkatan kadar asam lemak bebas. Asam lemak bebas karena mempunyai titik leleh yang lebih rendah dari trigliserida dan bersifat larut dalam aseton menyebabkan terakumulasi dalam minyak kaya asam lemak ω -3 yang dihasilkan. Peningkatan jumlah asam lemak bebas juga konsisten dengan hasil penelitian Moffat et al., (1993) serta Estiasih dan Ahmadi (2004).

Indikator tingkat oksidasi yaitu bilangan peroksida, anisidin, dan totox mengalami penurunan dibandingkan minyak ikan asal. Penurunan tersebut kemungkinan disebabkan produk-produk oksidasi tersebut kurang larut dalam aseton atau mengalami penguapan selama proses evaporasi. Penelitian sebelumnya (Estiasih dan Ahmadi, 2004) menunjukkan fenomena yang berbeda yaitu bilangan peroksida mengalami peningkatan pada minyak kaya asam lemak ω -3 yang dihasilkan. Perbedaan tersebut disebabkan perbedaan sifat bahan yang digunakan. Pada penelitian

ini digunakan bahan segar dengan bilangan peroksida yang rendah sedangkan pada penelitian sebelumnya digunakan minyak yang telah mengalami oksidasi yang intensif yang ditunjukkan oleh bilangan peroksida 39,97 meq/kg. Perbedaan jenis peroksida yang terbentuk kemungkinan mempengaruhi sifat pelarutan dalam aseton selama ekstraksi.

Karena kadar Fe dan Cu melebihi batas standar maka dilakukan pemurnian dengan pengkelatan dengan menggunakan Na_2EDTA . Jumlah Na_2EDTA yang digunakan didasarkan pada 1 mol EDTA bereaksi dengan 1 mol logam (Harjadi, 1992). Pengkelatan berhasil menurunkan keduanya, tetapi kadarnya masih melebihi batas mutu. Kemungkinan jenis pengkelat mempengaruhi keberhasilan proses pembentukan kompleks dengan logam ini.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Minyak hasil samping pengalengan ikan lemuru secara umum mempunyai mutu sesuai standar *food grade fish oil* sehingga layak untuk dikonsumsi. Hubungan antara rasio pelarut:minyak dan lama ekstraksi dengan respon kadar EPA+DHA dan rendemen menunjukkan hubungan polinomial kuadratik. Kondisi proses untuk menghasilkan kadar EPA+DHA serta rendemen yang optimum pada pemadatan cepat adalah rasio pelarut:minyak 3,95:1 dan lama ekstraksi 24,93 jam atau 24 jam 55 menit 48 detik. Pada kondisi optimum ini kadar EPA+DHA meningkat 1,60 kali menjadi 33,33% dan rendemen 9,40%. Mutu minyak kaya asam lemak ω -3 secara umum memenuhi standar kecuali kadar Fe dan Cu. Pengkelatan berhasil menurunkan kadar kedua jenis logam tersebut.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai jenis pengkelat yang digunakan dan kondisi pengkelatan yang paling optimum untuk menurunkan kadar Fe dan Cu.

Tabel 7. Perbandingan minyak kaya asam lemak ω -3 dengan produk komersial

Jenis	Kategori	Kadar EPA (%)	Kadar DHA (%)	Total EPA+DHA (%)
Minyak hati ikan kod (<i>cod liver oil</i>)*	Minyak ikan	7-9	9-11	20
<i>Fish body oil</i> *	Minyak ikan	18	12	30
Standar konsentrat*	Konsentrat	30-33	20-22	60
Konsentrat DHA*	Konsentrat	10	50	60
Konsentrat EPA*	Konsentrat	50	10	60
Minyak kaya asam lemak ω -3	Minyak ikan	21,24	11,99	33,33

*Sumber: Anonim (2004)

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada DP3M-Dikti atas dana Penelitian Hibah Bersaing XIII-1 dan Lembaga Penelitian Universitas Brawijaya yang telah mengakomodasikan kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2004. Fish oil concentrates. <http://www.croda.com/home.aspx?s=53&r=62&p=382>.
- Anonim. 2005. Lemuru. Ditjen Perikanan Tangkap. Departemen Kelautan dan Perikanan. <http://www.pelabuhanperikanan.or.id/sdi-spec.html?id-spec= IKN 020204>.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Vol 2. Virginia, USA.
- AOCS. 1989. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemistry Society. 4th ed. Broadmaker Drive, Champaign, Illinois.
- Baik, M-Y., Suhendro, E.L., Nawar, W.W. McClements, D.J., Dekker, E.A., and P. Chinachoti. 2004. Effects of antioxidants and humidity on the oxidative stability of microencapsulated fish oil. *JAOCS* 81(4): 355-360.
- Bimbo, A.P. 1998. Guidelines for characterizing food-grade fish oil. *INFORM* 9(5): 473-483.
- Chen, K-N., Chen, M-J., Liu, J-R., Lin, C-W., and H-Y. Chiu. 2005. Optimization of incorporated prebiotics as coating materials for probiotic microencapsulation. *J. Food Sci.* 70(5): M260-M266.
- Chen, T-C. and Y-H. Ju. 2000. Enrichment of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid in saponified menhaden oil. *JAOCS* 77(4): 425-428.
- Christopherson, L.W. and R.L. Glass. 1969. Preparation of milk fat methyl ester by alcoholysis in an essentially non alcoholic solution. *J. Dairy Sci.* 52: 1289.
- Crawford, M.A., Bloom, M., Broadhurst, C.I., Schmidt, W.F., Cunnane, S.C., Galli, C., Gehbremeskel, K., Linseisen, F., Llyod-Smith, J., and J. Parkington. 1999. Evidence for the unique function of docosahexaenoic acid during the evolution of the modern hominid brain. *Lipids* 34: S39-S45.
- De Greyt, W. and M. Kellens. 2000. Refining Practice. In W. Hamm and R.J. Hamilton (eds.). *Edible Oil Processing*. Sheffield Academic Press Ltd., England.
- Estiasih, T. 1996. Mikroenkapsulasi Konsentrat Asam Lemak ω -3 dari Limbah Cair Pengalengan Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*). Thesis. Program Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Estiasih, T. 2003. Peran Natrium Kaseinat dan Fosfolipida dalam Emulsifikasi dan Mikroenkapsulasi Triglisierida Kaya Asam Lemak ω -3. Disertasi S₃. Program Pascasarjana – UGM, Yogyakarta.
- Estiasih, T. dan K. Ahmadi. 2004. Pembuatan triglisierida kaya asam lemak ω -3 dari minyak hasil samping pengalengan ikan lemuru (*Sardinella longiceps*). *Jurnal Teknologi Pertanian* 5(3): 116-128.
- Guerrero, G.J.L. and E.H. Belarbi. 2001. Purification process for cod liver oil polyunsaturated fatty acids. *JAOCS* 78(5): 477-484.
- Gunstone, F.D. 1996. Fatty Acid and Lipid Chemistry. Blackie Academic & Professional, Glasgow
- Haagsma, N., van Gent, C.M., Luten, J.B., de Jong, R.W., and E. van Doorn. 1982. Preparation of an n-3 fatty acids concentrate from cod liver oil. *JAOCS* 59(3): 117-118.
- Hardman, W.E. 2002. Omega-3 fatty acids to augment cancer therapy. *J. Nutr.* 132:3508S-3512S.
- Hardman, W.E. 2004. (n-3) fatty acids and cancer therapy. *J. Nutr.* 134:3427S-3430S.
- Harjadi, W. 1992. Ilmu Kimia Analitik Dasar. PT Gramedia, Jakarta.
- Hodgson, A.S. 1995. Refining and Bleaching. In Y.H. Hui (ed.). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Edible Oil and Fat Products: Processing Technology*. John Wiley & Sons Inc., New York.
- IUPAC. 1979. Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats, and Derivatives. 6th ed. Pergamon Press, British.
- Jolly, C.A., Muthukumar, A., Avula, C.P.R., Troyer, D., and G. Fernandes. 2001. Autoimmune-prone (NZBXNZW) (1) mice fed a diet enriched with (n-3) fatty acids. *J. Nutr.* 131: 2753-2760.
- 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.

- Moffat, C.F., McGill, A.S., Hardy, R., and R.S. Anderson. 1993.** The production of fish oils enriched in polyunsaturated fatty acid-containing triglycerides. *JAOCS* 70(2): 133-138.
- Montgomery, D.C. 1984.** Design and Analysis of Experiments. 2nd edition. John Wiley & Sons, Singapore.
- Montgomery, D.C. 2001.** Design and Analysis of Experiments. 5th edition. John Wiley & Sons, Singapore
- Mori, T.A., Bao, D.Q., Burke, V., Puddey, I.E., Watts, G.F., and L.J. Beilin, 1999.** Dietary fish as a major component of a weight-loss diet: effect on serum lipids, glucose, and insulin metabolism in overweight hypertensive subjects. *Am. J. Clin. Nutr.* 70(5): 817-825.
- Nettleton, J.A. 1995.** Omega-3 Fatty Acids and Health. Chapman & Hall, New York.
- Rotsstein, N.P., Avedalno, M.I., and L.E. Politi. 1999.** Essentiality of docosahexaenoic acid in retina photoreceptor cell development. *Lipids* 34: S115.
- Shahidi, F. 2002.** Marine nutraceutical. *INFORM* 13: 57-63.
- Song, J-H., Inoue, Y., and T. Miyazawa. 1997.** Oxidative stability of docosahexaenoic acid-containing oils in the form of phospholipids, triacylglycerols, and ethyl esters. *Biosci.Biotech.Biochem.* 61(12): 2085-2088.
- Spector, A.A. 1999.** Essentiality of fatty acids. *Lipids* 34: S1-S3.
- Terry, P.D., Rohan, T.E., and A. Wolk. 2003.** Intakes of fish and marine fatty acids and the risks of cancer of the breast and prostate and of other hormone-related cancers: a review of the epidemiologic evidence. *Am. J. Clin. Nutr.* 77(3): 532-543.
- Tiemeier, H., van Tuije, H.R., Hofman, A., Kilian, A.J., and M.M.B. Breteler. 2003.** Plasma fatty acid composition and depression are associated in the elderly: the Rotterdam study. *Am. J. Clin. Nutr.* 78(1): 40-46.
- Uauy, R. and D.R. Hoffman. 2000.** Essential fat requirements of preterm infants. *Am. J. Clin. Nutr.* 71(1): 245S-250S.
- Wanasundara, U.N. and F. Shahidi. 1999.** Concentration of omega-3 polyunsaturated fatty acids of seal bubbler oil by urea complexation: optimization of reactions conditions. *Food Chemistry* 65: 41-49