

OPTIMASI KONDISI PEMURNIAN ASAM LEMAK OMEGA-3 DARI MINYAK HASIL SAMPING PENEPUANGAN TUNA (*Thunnus sp*) DENGAN KRISTALISASI UREA

[Optimizing Conditions for the Purification of Omega-3 Fatty Acids from By-product of Tuna (*Thunnus sp*) Meal Processing by Urea Crystallization

Teti Estiasih¹⁾*, Kgs. Ahmadi²⁾, Fithri Choirun Nisa¹⁾, dan Fitriyah Kusumastuti¹⁾

¹⁾Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Jl Vetera Malang

²⁾Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Tribhuwana, Jl. Tlogowarna, Tlogomas Malang

Diterima 29 Januari 2009 / Disetujui 27 Desember 2009

ABSTRACT

Omega-3 fatty acids (ω -3) are proven to have health beneficial effects. Some effort had been done to obtain oil high in ω -3 fatty acids. Among the methods developed, urea crystallization was preferred because it is simple, economic, and result in high purity of fatty acids. A source that had not been widely explored for ω -3 fatty acids production is the by-product of tuna meal processing. This research studied the optimization condition for separation and purification of ω -3 fatty acids from the by-product of tuna meal processing by urea crystallization. Crystallization reaction conditions of urea inclusion were optimized using the response surface methodology, and the model was developed. Optimization result showed a quadratic polynomial regression equation of $Y = 140,52677X_1 + 8,38203X_2 - 19,85850X_1^2 - 0,12173X_2^2 - 0,74000X_1X_2 - 240,33546$ with X_1 =urea to fatty acid ratio and X_2 =crystallization time. Maximum response was obtained at urea to fatty acid ratio of 3,07:1, crystallization time of 25,10 hours, and predicted response was 80,60%. Analysis of variance showed that urea to fatty acid ratio and crystallization time affected response. Under optimal conditions, the product was 3.89 times concentrated and the purity of ω -3 fatty acids was 81,98%. Verification result revealed that the predicted value from this model was reasonably close to the experimentally observed value. Urea crystallization process changed quality parameters that were oxidation level (peroxide value, anisidin value, and totox value), Fe and Cu content, P content, and water content. The changes were caused by adsorption of primary and secondary oxidation products, part of metals, and phosphoric compound onto unsaponifiable matters or soluble into water.

Key words : ω -3 fatty acids, concentrate, urea crystallization, optimization

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara pengimpor asam lemak ω -3, walaupun sebenarnya mempunyai potensi lokal sumber asam lemak ω -3 yang belum dimanfaatkan optimum. Salah satu sumber asam lemak ω -3 tersebut adalah minyak hasil samping penepungan tuna. Produksi tuna di Indonesia mencapai 2.163.880,056 ton pada tahun 2007 (Suseno dan Perbowo, 2009). Pada penepungan tersebut dihasilkan minyak ikan sebagai hasil samping proses yang masih mengandung asam lemak ω -3 tinggi (Estiasih *et al.*, 2006).

Minyak tinggi asam lemak ω -3 dapat dibuat dengan berbagai metode yaitu kristalisasi pelarut suhu rendah (Ahmadi, 2006), pemadatan cepat (Moffat *et al.*, 1992; Estiasih *et al.*, 2005, 2006), ekstraksi cairan superkritik (Tatum and Chow, 2000), kromatografi (Bimbo, 1998), enzimatik (Sridhar dan Lakhsmi, 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). Diantara berbagai teknik pembuatan konsentrat asam lemak ω -3, teknik yang paling sederhana dan

efisien adalah kristalisasi urea. Konsentrat asam lemak ω -3 yang dihasilkan ada dalam struktur kimia asam lemak bebas.

Kristalisasi urea merupakan teknik yang efektif untuk mendapatkan konsentrat PUFA dalam bentuk asam lemak bebas. Teknik dapat menghilangkan asam lemak jenuh dan asam monoenoat (Wu *et al.*, 2008). Asam lemak yang jenuh dan tidak jenuh dapat dipisahkan dengan kristalisasi urea karena perbedaan linearitas rantai alkil keduanya. Asam lemak jenuh mempunyai rantai alkil yang lurus. Asam lemak yang tidak jenuh karena mempunyai ikatan rangkap mempunyai lekukan pada ikatan rangkap (Guil-Guerrero and Belarbi, 2001; Hayes, 2002).

Yeo dan Harris (1999) menyebutkan bahwa pada kompleks inklusi urea, molekul urea yang berikatan hidrogen membentuk saluran (*tunnel*) yang paralel. Struktur saluran urea tersebut bersifat stabil jika saluran tersebut diisi oleh senyawa tamu (*guest compound*) dengan susunan yang rapat. Saluran urea tersebut mempunyai diameter berdasarkan radius ikatan van der Waals yang bervariasi yaitu antara 5,5 dan 5,8 Å. Hanya molekul yang sesuai yang dapat menjadi senyawa tamu membentuk kompleks inklusi.

Beberapa faktor yang mempengaruhi proses kristalisasi urea dengan asam lemak adalah suhu kristalisasi, rasio urea:asam lemak, dan lama proses. Ketiga faktor tersebut mempengaruhi pembentukan kompleks inklusi urea-asam lemak sehingga

* Korespondensi penulis : HP. 08123304966
Email : teties@yahoo.co.id

mempengaruhi kadar asam lemak ω -3 dalam konsentrat yang dihasilkan (Wanasundara and Shahidi, 1999; Hwang and Liang, 2001).

Untuk minyak hasil samping pengalengan tuna, hasil terbaik yang diperoleh dari penelitian Elizabeth (1992) adalah kadar EPA+DHA 46,07% dengan faktor yang dikaji adalah suhu kristalisasi dan rasio urea:minyak. Konsentrat asam lemak ω -3 yang dihasilkan bukan pada kondisi proses optimum. Adapun minyak hasil samping penepungan tuna sebagai bahan baku pembuatan konsentrat asam lemak ω -3 dengan metode kristalisasi urea belum pernah dikaji. Oleh karena itu, belum diketahui kondisi proses kristalisasi yang dapat menghasilkan kadar EPA+DHA maksimum. Pendekatan metodologi permukaan respon (RSM, *response surface methodology*) dapat menentukan secara simultan kondisi proses optimum dari berbagai faktor yang dikaji sehingga penentuannya bersifat efisien (Wanasundara dan Shahidi, 1999).

Oleh karena itu penting untuk menentukan kondisi optimum proses kristalisasi urea pada pemurnian asam lemak ω -3 dari minyak hasil samping penepungan tuna. Kondisi optimum penting ditentukan supaya proses kristalisasi efisien dalam menghasilkan konsentrat asam lemak ω -3 dengan kadar asam lemak ω -3 tertinggi.

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan baku terdiri limbah padat pengolahan tuna yang digunakan untuk penepungan tuna (*Thunnus sp*) dari PT Maya Muncar – Banyuwangi. Adapun minyak hasil samping penepungan tuna diperoleh dengan cara pengukusan limbah padat suhu 100°C selama 15 menit dilanjutkan dengan pengepresan mekanis dan dekantasi.

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

Prosedur pembuatan konsentrat asam lemak ω -3 (Haagsma et al., 1982)

Saponifikasi

Sebanyak 1000 g minyak hasil samping pengolahan ikan dicampur dengan 2000 ml larutan NaOH dalam air/etanol dan

diaduk selama 30 menit pada suhu 60°C. Setelah saponifikasi ditambahkan 400 ml air. Larutan NaOH disiapkan dengan cara melarutkan 480 g NaOH dan 5 g Na₂EDTA dalam 1600 ml air. Ke dalam larutan ini ditambahkan 1600 ml etanol.

Ekstraksi asam lemak

Heksana sebanyak 4000 ml ditambahkan dan diaduk selama 1 jam. Lapisan atas (sekitar 1600 ml) mengandung bahan tidak tersabunkan dan dibuang. HCl pekat ditambahkan pada lapisan bawah dan diaduk sampai pH mencapai 1. Dua lapisan akan terbentuk. Lapisan bawah dibuang dan lapisan atas (lapisan heksana) diambil dan dievaporasi sampai semua pelarut habis pada suhu 30°C.

Kristalisasi urea

Asam lemak ditambahkan pada larutan urea panas (suhu 60-65°C) dalam metanol dengan diaduk pada kecepatan konstan. Jumlah urea yang dilarutkan sesuai dengan perbandingan urea:asam lemak menurut perlakuan. Volume metanol yang digunakan adalah 200 ml untuk minyak ikan asal sejumlah 25 g. Pada tahap ini dilakukan optimasi rasio urea:asam lemak bebas. Jika diperlukan larutan dipanaskan sampai jernih. Urea dibiarkan membentuk kristal dengan asam lemak pada lama kristalisasi sesuai perlakuan. Pada tahap kristalisasi urea ini dilakukan optimasi lama kristalisasi sesuai dengan rancangan percobaan yang akan digunakan. Kristal urea yang terbentuk dipisahkan dari larutan induk dengan penyaringan. Asam lemak dalam filtrat kemudian diekstraksi.

Ekstraksi asam lemak ω -3

Untuk setiap 3 liter filtrat, ditambahkan 1 liter heksana dan 0,5 liter HCl pekat. Campuran diaduk selama 1 jam. Lapisan heksana dipisahkan. Sebanyak 1,5 liter air ditambahkan pada lapisan bawah. Lapisan ini kemudian diekstrak kembali dengan 1 liter heksana. Kedua ekstrak tersebut kemudian dicampurkan. Heksana dipisahkan dengan asam lemak melalui evaporasi pada suhu 30°C.

Optimasi dengan metodologi permukaan respon

Teknik optimasi dengan menggunakan metode permukaan respon diaplikasikan pada kristalisasi urea dengan tujuan mendapatkan konsentrat asam lemak ω -3 dengan kadar EPA+DHA tertinggi. Faktor yang diteliti pada penelitian ini adalah rasio urea:minyak (X_1) dan lama kristalisasi (X_2) dengan respon (Y) kadar EPA+DHA dalam konsentrat asam lemak ω -3 yang dihasilkan. Respon yang dioptimasi untuk semua jenis minyak ikan adalah kadar EPA+DHA. Kombinasi dari perlakuan (X_1 dan X_2) (Tabel 2) sesuai dengan rancangan Komposit Pusat Ordo Dua dengan dua kali ulangan.

Pengulangan dua kali dilakukan untuk semua kombinasi perlakuan kecuali untuk titik pusat (0,0) dilakukan ulangan 5 kali. Seluruh percobaan dilakukan dengan cara acak untuk meminimumkan bias. Model regresi polinomial kuadratik diasumsikan untuk memprediksi respon. Dugaan model tersebut digambarkan dengan persamaan:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \sum \beta_{ij} X_i X_j$$

Dengan β_0 , β_i , β_{ii} , β_{ij} merupakan intersep, koefisien regresi linear, kuadratik dan interaksi, sedangkan X_i dan X_j merupakan variabel bebas. Analisis data dilakukan dengan program *Design Expert DX 6.0.10 (trial version)*. Analisis statistik yang digunakan adalah analisis regresi atau pemilihan model, analisis ragam, dan analisis kanonik.

Analisis statistik diawali dengan pemilihan model atau analisis regresi yang sesuai berdasarkan *sequential model sum of square*, uji simpangan model, dan ringkasan model secara statistik. Model yang dievaluasi meliputi model linear, interaksi (2FI), kuadratik, dan kubik. Model yang memenuhi ketiga dasar pemilihan tersebut adalah model yang terpilih. Selanjutnya dilakukan uji analisis ragam untuk mengetahui signifikansi pengaruh kedua faktor yang dikaji terhadap respon.

Berdasarkan model yang terpilih dan persamaan yang diperoleh, dilakukan analisis terhadap permukaan respon dan plot kontur. Titik optimum untuk kedua faktor yang dioptimasi diperoleh berdasarkan analisis kanonik. Verifikasi dilakukan pada kondisi optimum untuk mengetahui ketepatan model.

Karakterisasi minyak, asam lemak hasil hidrolisis, dan konsentrat asam lemak ω -3 dari kondisi kristalisasi urea optimum

Minyak hasil samping penepungan tuna, asam lemak hasil hidrolisis, dan konsentrat asam lemak ω -3 yang dihasilkan pada kondisi proses kristalisasi optimum dianalisis untuk mengetahui karakteristiknya dengan mengacu pada standar *food grade fish oil* dari *International Association of Fishmeal and Oil Manufacturers (IFOMA)* (Tabel 8).

Analisis yang dilakukan meliputi profil asam lemak (metilasi metode Park dan Goin, 1994) dengan kuantifikasi dilakukan berdasarkan persentase relatif dan persentase berat menggunakan standar internal metil ester C19:0; tingkat oksidasi dengan bilangan peroksida (Hiels dan Thiel modifikasi Champan dan Mackey dalam Adnan, 1980), bilangan anisidin (IUPAC, 1979), bilangan totoks

(IUPAC, 1979); kadar air (AOCS, 1990); viskositas; berat jenis; dan rendemen.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil asam lemak minyak hasil samping penepungan tuna

Profil asam lemak minyak hasil samping penepungan tuna dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel 1 menampilkan komposisi asam lemak dengan dua cara yaitu berdasarkan berat (% b/b) dengan perhitungan menggunakan standar internal metil ester C19:0 dan persentase relatif. Perbedaan komposisi dari kedua perhitungan tersebut disebabkan persentase relatif sangat dipengaruhi oleh jumlah dan luas area puncak asam lemak yang muncul pada kromatogram. Penggunaan persentase berat lebih menunjukkan jumlah (dalam berat) asam lemak yang sebenarnya.

Minyak hasil samping penepungan tuna menunjukkan kadar EPA dan DHA sebesar 8,68% dan 27,76% berdasarkan persentase relatif. Visentainer *et al.*, (2007) menyebutkan bahwa minyak ikan tuna (*Thunnus thynnus*) mempunyai kadar EPA dan DHA 4,7% dan 36,3%. Howe *et al.*, (2002) melaporkan bahwa minyak ikan tuna dari limbah penepungan mengandung EPA 4,8% dan DHA 22,4%.

Bahan baku yang digunakan untuk proses penepungan adalah limbah padat pengalengan dan pen-*fillet*-an tuna yaitu *viscera*, daging merah, sirip, ekor, dan kepala. Mata, bantalan mata, dan otak merupakan bagian dari kepala ikan tuna yang kaya dengan asam lemak ω -3 terutama DHA. Yuwono (1993) menunjukkan bahwa minyak ikan yang diekstrak dengan pelarut dari limbah mata dan bantalan mata ikan tuna mempunyai kadar EPA 5,1% dan DHA 26,2% untuk tuna jenis Yellowfin serta kadar EPA 5,9% dan DHA 24,1% untuk tuna jenis Skipjack.

Banyak faktor yang mempengaruhi komposisi asam lemak dalam minyak ikan. Visentainer *et al.*, (2007) menyebutkan bahwa fluktuasi kualitas makanan ikan yaitu fitoplankton mempengaruhi kadar asam lemak ω -3 dalam minyak ikan.

Tabel 1. Profil asam lemak minyak dari hasil samping penepungan tuna dan konsentrat asam lemak ω -3 yang diperoleh dari kondisi kristalisasi urea optimum

Jenis Asam Lemak	MHS Penepungan Tuna		Konsentrat asam lemak ω -3		Tingkat Pengayaan*
	% (b/b)	% relatif	% (b/b)	% relatif	
C14:0	2,51	4,35	0,53	0,51	
C16:0	13,68	23,67	0,06	0,06	
C16:1 ω -9	7,11	12,30	2,96	2,85	
C18:0	0,60	1,03	0	0	
C18:1 ω -9	9,13	15,80	16,48	15,88	
C18:2 ω -6	1,30	2,25	0	0	
C18:3 ω -3	0,25	0,44	1,79	1,73	
C20:0	0,84	1,45	0	0	
C22:1 ω -9	1,31	2,27	0	0	
EPA	5,02	8,68	14,93	14,39	2,97
DHA	16,04	27,76	67,05	64,59	4,18
EPA+DHA	21,06	36,44	81,98	78,98	3,89

Keterangan:

MHS (Minyak Hasil Samping)

% (b/b) menunjukkan berat asam lemak yang diukur dengan membandingkan dengan berat standar internal metil ester C19:0

% relatif merupakan persentase luas area puncak asam lemak terhadap total luas area puncak asam lemak teridentifikasi yang muncul pada kromatogram

*Tingkat pengayaan dihitung dengan cara membagi kadar EPA+DHA dalam konsentrat asam lemak ω -3 dari kondisi kristalisasi urea optimum dengan kadar EPA+DHA dalam minyak hasil samping penepungan tuna

Lebih lanjut dijelaskan bahwa faktor yang mempengaruhi komposisi asam lemak adalah spesies, jenis kelamin, kematangan seksual, ukuran tubuh, lokasi penangkapan, suhu perairan, jenis makanan, dan musim. Faktor-faktor tersebut yang menyebabkan variasi komposisi minyak tuna dibandingkan penelitian-penelitian sebelumnya.

Respon kadar EPA+DHA pada optimasi dengan metodologi permukaan respon

Minyak hasil samping penepungan tuna mempunyai kadar EPA+DHA sebesar 21,06% (b/b). Hasil analisis respon terhadap konsentrasi asam lemak ω -3 dari hasil samping penepungan tuna dengan menggunakan Rancangan Komposit Pusat dapat dilihat pada Tabel 2 dengan kadar EPA+DHA antara 61,16-82,77%. Tingkat pengayaan EPA+DHA dari minyak ikan asal, yaitu kadar EPA+DHA dalam konsentrasi asam lemak ω -3 dibagi kadar EPA+DHA dalam minyak ikan hasil samping penepungan tuna, adalah 2,90-3,93 kali.

Hasil penelitian Yuwono (1993) menunjukkan kadar EPA+DHA yang diperoleh dalam konsentrasi minyak mata dan bantalan mata tuna sebesar 83,9% dengan kadar EPA+DHA awal 31,3% sehingga tingkat pengayaan 2,62 kali. Adapun optimasi minyak kepala tuna hasil hidrolisis enzim oleh Liu *et al.*, (2006) menunjukkan kadar 85,02% (persentase relatif) tetapi kadar asam lemak ω -3 awal tidak disebutkan. Hasil penelitian ini menunjukkan tingkat pengayaan yang lebih tinggi dari penelitian Yuwono (1993) yang diduga disebabkan kadar EPA+DHA dalam minyak hasil samping penepungan tuna yang lebih rendah. Kadar EPA dan DHA yang rendah berarti asam lemak yang lebih jenuh yang mempunyai preferensi membentuk kompleks lebih tinggi sehingga pembentukan kompleks inklusi urea lebih banyak. EPA dan DHA

merupakan asam lemak yang mempunyai preferensi rendah untuk membentuk kompleks inklusi sehingga tetap berada dalam filtrat. Akibatnya, pengayaan EPA dan DHA lebih tinggi.

Model yang sesuai

Metode permukaan respon digunakan untuk menentukan model yang sesuai. Model yang dievaluasi mencakup linear, 2FI (interaksi), kuadratik, atau kubik. Pemilihan model berdasarkan *sequential model sum of square* (Tabel 3) menunjukkan bahwa model yang signifikan ($P < 0,05$) adalah kuadratik dan disarankan oleh program. Model lain yaitu linear, interaksi (2FI) dan kubik tidak signifikan ($P > 0,05$), sehingga model terpilih adalah kuadratik.

Proses pemilihan model berikutnya berdasarkan ringkasan model secara statistik (*model summary statistics*) (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 yang disarankan adalah model kuadratik.

Berdasarkan ringkasan statistik, model kuadratik mempunyai standar deviasi terkecil dibandingkan model lain dengan nilai *Adj.R²* tertinggi sebesar 0,7574. Berarti variabel rasio pelarut: minyak dan lama ekstraksi berpengaruh terhadap keragaman respon sebesar 75,74% sedangkan sisanya sebesar 25,26% dipengaruhi faktor lain yang tidak dijadikan variabel yang diteliti.

Berdasarkan tiga proses pemilihan model tersebut model yang sesuai untuk minyak hasil samping penepungan tuna adalah model kuadratik. Hasil analisis ragam dari permukaan respon kuadratik menunjukkan model kuadratik mempunyai pengaruh yang nyata terhadap respon (Tabel 6).

Tabel 2. Rancangan komposit pusat ordo kedua untuk kristalisasi urea pada pembuatan konsentrasi asam lemak ω -3 dari minyak hasil samping penepungan tuna dan respon kadar EPA+DHA

No.	Variabel Kode		Variabel Asli		Respon Kadar EPA+DHA (% b/b)
	X1	X2	Rasio urea:asam lemak	Lama (jam)	
1	-1	-1	2,5:1	18	61,16
2	-1	1	2,5:1	30	70,51
3	1	-1	3,5:1	18	72,28
4	1	1	3,5:1	30	72,75
5	0	0	3:1	24	80,65
6	0	0	3:1	24	82,33
7	0	0	3:1	24	77,77
8	0	0	3:1	24	80,22
9	0	0	3:1	24	80,51
10	-1,414	0	2,293:1	24	71,75
11	1,414	0	3,707:1	24	72,53
12	0	-1,414	3:1	15,516	71,36
13	0	1,414	3:1	31,07	75,25

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

Sumber	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	hit	Prob>F	Keterangan
Rata-rata	72232,99	1	72232,99			
Linear	55,49	2	27,75	0,80	0,4761	
2FI	19,71	1	19,71	0,54	0,4802	
Kuadratik	<u>270,16</u>	<u>2</u>	<u>135,08</u>	<u>16,61</u>	<u>0,0022</u>	<i>Suggested</i>
Kubik	21,11	2	10,56	1,47	0,3140	<i>Aliased</i>
Residu	35,82	5	7,16			

Tabel 4. Uji simpangan model (*lack of fit test*) untuk kristalisasi urea minyak hasil samping penepungan tuna

Sumber	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	Fhit	Prob>F	Keterangan
Linear	336,09	6	56,01	20,90	0,0055	
2FI	316,37	5	63,27	23,61	0,0045	
Kuadratik	46,21	3	15,40	5,75	0,0621	Suggested
Kubik	25,10	1	25,10	9,37	0,0376	Aliased
Galat	10,72	4	2,68			

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

Sumber	Standar deviasi	R-Squared	Adjusted R Squared	Predicted R-Squared	PRESS	Keterangan
Linear	5.89	0.1379	-0.0345	-0.4503	583.44	
2FI	6.03	0.1869	-0.0841	-1.3984	964.84	
Kuadratik	2.85	0.8585	0.7574	0.1416	345.35	Suggested
Kubik	2.68	0.9110	0.7863	-3.0345	1623.06	Aliased

Tabel 6. Analisis ragam untuk kristalisasi urea minyak hasil samping penepungan tuna

Sumber	Jumlah Kuadrat	db	Kuadrat Tengah	Nilai F	p-value Prob > F	Keterangan
Model	345,37	5	69,07	8,49	0,0069	Signifikan
A-Rasio	26,15	1	26,15	3,22	0,1161	
B-Lama	29,34	1	29,34	3,61	0,0993	
AB	19,71	1	19,71	2,42	0,1634	
A ²	171,46	1	171,46	21,08	0,0025	Signifikan
B ²	133,59	1	133,59	16,43	0,0049	Signifikan
Residual	56,93	7	8,13			
Lack of Fit	46,21	3	15,40	5,75	0,0621	Tidak signifikan

Permukaan respon dan titik optimum

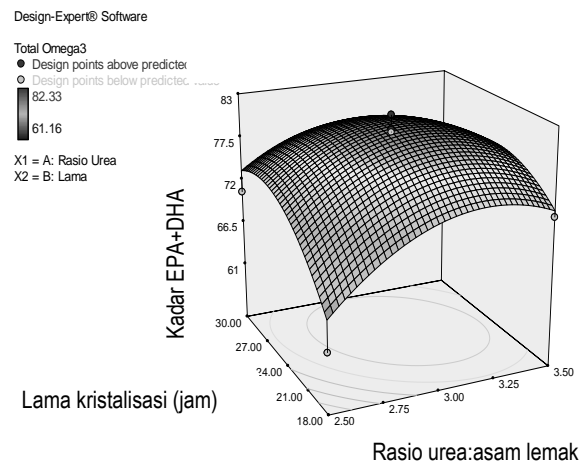
Persamaan kuadratik dapat digunakan untuk memprediksi respon dari berbagai taraf rasio urea:asam lemak dan lama kristalisasi. Persamaan kuadratik yang diperoleh adalah: $Y = 140,52677X_1 + 8,38203X_2 - 19,85850X_1^2 - 0,12173X_2^2 - 0,74000X_1X_2 - 240,33546$ dengan X_1 = rasio urea:asam lemak dan X_2 =lama kristalisasi.

Tanda - (minus) dari variabel X_1^2 dan X_2^2 menunjukkan bahwa grafik respon yang diperoleh adalah maksimum seperti dapat dilihat pada Gambar 1. Berdasarkan analisis ragam (Tabel 6), rasio urea:asam lemak (kuadrat) dan lama kristalisasi (kuadrat) berpengaruh nyata terhadap respon.

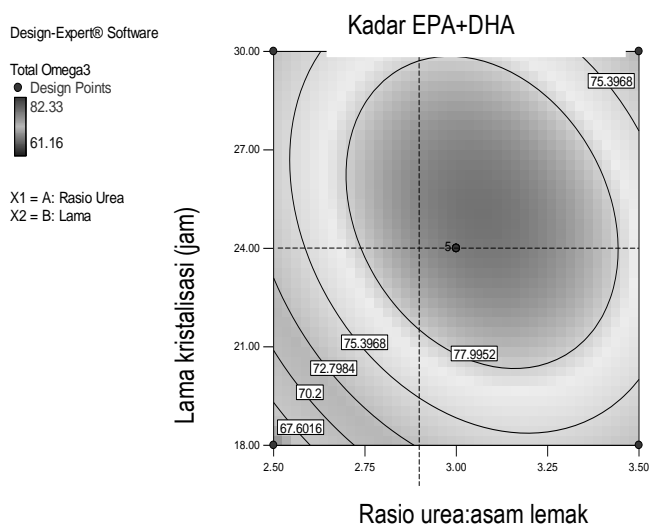
Pengaruh variabel rasio urea:asam lemak terhadap respon dapat dilihat dengan mengikuti garis horizontal putus-putus sejajar sumbu X (Gambar 2). Respon akan terus meningkat dengan meningkatnya rasio urea:asam lemak sampai diperoleh respon tertinggi. Jika rasio urea:asam lemak terus ditingkatkan, respon akan mengalami penurunan. Pada rasio urea:asam lemak yang lebih tinggi dari titik maksimum terjadi penurunan respon.

Rasio urea:asam lemak rendah (jumlah urea terbatas dan jumlah asam lemak banyak) menyebabkan kadar EPA dan DHA yang rendah. Menurut Hayes (2002), pembentukan kompleks inklusi urea terjadi karena urea membentuk struktur kristal heksagonal yang terdiri dari enam molekul urea. Akibatnya pada jumlah urea yang terbatas pembentukan struktur heksagonal urea yang memerangkap senyawa tamu menjadi terbatas. Hal ini yang menyebabkan pada rasio urea:asam lemak yang rendah, sebagian asam lemak tidak dapat membentuk kompleks inklusi dengan urea. Dampaknya adalah kadar EPA+DHA dalam konsentrat menjadi rendah.

Menurut Liu *et al.*, (2006) ada preferensi asam lemak untuk membentuk kompleks inklusi dengan urea. Penghilangan secara sempurna asam lemak jenuh dari minyak pada kristalisasi urea bersifat tidak mungkin karena sebagian asam lemak jenuh tidak dapat membentuk kompleks dengan urea selama kristalisasi. Guil-Guerrero dan Belarbi (2001) menambahkan bahwa penurunan pembentukan kompleks dengan urea terjadi dengan peningkatan ketidakjenuhan dan penurunan panjang rantai. Oleh karena itu, asam lemak jenuh rantai panjang lebih disukai untuk membentuk kompleks dibandingkan asam lemak jenuh rantai pendek. Asam lemak yang mempunyai ketidakjenuhan tinggi mempunyai kecenderungan untuk tidak membentuk kompleks dengan urea.



Gambar 1. Grafik respon kristalisasi urea minyak hasil samping penepungan tuna



Gambar 2. Kurva respon kristalisasi urea minyak hasil samping penepungan tuna

Pada jumlah urea berlebih dan jumlah asam lemak terbatas (rasio urea:asam lemak tinggi) terdapat kemungkinan pembentukan kompleks inklusi yang intensif. Kelebihan urea menyebabkan banyak terbentuk struktur heksagonal urea dalam metanol dengan saluran yang dapat memerangkap senyawa tamu. Ketersediaan struktur heksagonal urea yang tinggi menyebabkan kesempatan asam lemak untuk membentuk kompleks inklusi menjadi tinggi. Ada kemungkinan asam lemak ω -3 membentuk kompleks inklusi dengan urea sehingga kadarnya dalam konsentrat menjadi rendah.

Menurut Liu *et al.*, (2006), EPA mempunyai preferensi yang lebih tinggi untuk membentuk kompleks inklusi dengan urea. Hasil penelitian Hwang dan Liang (2001) menunjukkan bahwa EPA terdapat dalam fraksi yang membentuk kompleks dengan urea (UCF=Urea Complexing Fraction) yang menunjukkan bahwa pada kondisi tertentu, seperti ketersediaan urea yang tinggi, EPA dapat membentuk kompleks dengan urea.

Fenomena yang sama terjadi pada lama kristalisasi urea. Respon meningkat sampai lama kristalisasi urea maksimum. Perpanjangan lama kristalisasi menyebabkan penurunan respon. Pembentukan kompleks inklusi urea merupakan reaksi kesetimbangan yang bersifat reversibel. Kompleks inklusi yang terbentuk dapat terurai menjadi urea heksagonal dan asam lemak. Akan tetapi faktor yang mempengaruhi kesetimbangan tersebut yaitu suhu dibuat konstan sehingga tidak berpengaruh.

Pada minyak hasil samping penepungan tuna, tingkat oksidasi minyak lebih tinggi dibandingkan pengalengan. Adanya produk oksidasi dalam minyak merupakan inisiator proses autooksidasi sehingga dapat terjadi oksidasi terhadap asam lemak ω -3 sebagai asam lemak yang sangat tidak jenuh. Walaupun Stout (1990) melaporkan bahwa kristal urea yang terbentuk berperan melindungi asam lemak dari proses oksidasi, tapi efek protektif tersebut terjadi pada asam lemak yang membentuk kompleks inklusi dengan urea. Akibatnya peningkatan lama kristalisasi sampai batas tertentu menyebabkan penurunan kadar EPA+DHA yang diduga disebabkan oleh oksidasi. Cho *et al.*,(1987) melaporkan bahwa

asam lemak ω -3 dalam bentuk asam lemak bebas sangat mudah teroksidasi walaupun suhu penyimpanan yang digunakan 4°C. Pada penelitian ini, suhu kristalisasi yang digunakan adalah 10°C sehingga memungkinkan proses oksidasi terhadap asam lemak ω -3 terjadi.

Letak titik stasioner dapat diprediksi dari grafik respon. Nilai sebenarnya untuk titik stasioner diperoleh dari hasil analisis kanonik yaitu rasio urea:asam lemak 3,07:1 dan lama kristalisasi 25,10 jam atau 25 jam 6 menit. Respon pada kondisi optimum ini diprediksi sebesar 80,60%.

Verifikasi kondisi optimum

Verifikasi kondisi optimum dilakukan dengan membuat konsentrat asam lemak ω -3 pada rasio urea:asam lemak dan lama kristalisasi optimum yaitu 3,07:1 dan 25,10 jam. Tujuan verifikasi ini adalah untuk mengetahui ketepatan prediksi menggunakan model persamaan kuadratik yang telah diperoleh. Tingkat pengayaan untuk minyak hasil samping penepungan tuna hasil verifikasi (81,98%) hampir sama dengan hasil prediksi berdasarkan perhitungan dengan model yang sudah diperoleh (80,60%), sehingga model polinomial kuadratik yang diperoleh dapat digunakan untuk memprediksi respon. Rendemen yang diperoleh adalah sebesar 30,40% (b/b).

Komposisi asam lemak dalam konsentrat yang dihasilkan pada kondisi kristalisasi urea optimum dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel 1 menunjukkan tingkat pengayaan EPA lebih rendah dari DHA. Hal ini berkaitan dengan jumlah urea yang banyak akibat rasio urea:asam lemak yang tinggi sehingga EPA mempunyai kecenderungan membentuk kompleks inklusi setelah asam lemak yang lain membentuk kompleks. Proses kristalisasi urea hampir secara sempurna menghilangkan asam lemak jenuh (C14:0; C16:0; C18:0; C22:0). Asam monoenoat C18:1 mengalami peningkatan, tetapi asam monoenoat yang lain (C16:1 dan C22:1) mengalami penurunan. Hwang dan Liang (2001) menyebutkan bahwa urea dapat membentuk kristal dengan asam lemak jenuh dan asam monoenoat. Peningkatan C18:1 diduga urea mempunyai preferensi membentuk kristal dengan asam lemak yang lebih pendek (Hwang dan Liang, 2001), sehingga asam lemak C16:1 lebih mudah membentuk kompleks inklusi dibandingkan C18:1. Untuk asam lemak C22:1, karena jumlahnya dalam minyak asal sedikit, maka penghilangan asam lemak ini mudah terjadi.

Karakteristik mutu minyak hasil samping penepungan tuna, asam lemak hasil hidrolisis, dan konsentrat asam lemak ω -3 dari kondisi kristalisasi urea optimum

Minyak hasil samping penepungan tuna berwarna coklat tua dan keruh. Minyak hasil samping penepungan diperoleh dari ikan afkir, *viscera*, dan daging merah sehingga warnanya menjadi gelap. Daging merah tuna mengandung protein heme yang berwarna lebih gelap (Karmas, 1982). Lebih lanjut Karmas (1982) menyatakan bahwa pada proses pemasakan terjadi perubahan warna daging merah menjadi lebih gelap. Hal ini yang menyebabkan minyak hasil samping penepungan tuna mempunyai warna gelap.

Minyak hasil samping penepungan tuna berdasarkan parameter mutu yang telah dianalisis mempunyai standar mutu yang memenuhi syarat *food grade fish oil* dari IFOMA sehingga layak

digunakan untuk produk pangan. Asam lemak bebas merupakan produk antara pada proses kristalisasi urea yang diperoleh dari hasil penyabunan.

Penurunan densitas dan viskositas terjadi akibat saponifikasi. Densitas minyak merupakan fungsi berat molekul. Penurunan densitas terjadi karena trigliserida yang mempunyai tiga asam lemak dalam strukturnya mengalami hidrolisis sehingga terjadi penurunan berat molekul. Viskositas minyak dipengaruhi oleh panjang rantai dan kejenuhan. Keduanya menentukan titik leleh (*melting point*) minyak. Titik leleh minyak dalam bentuk trigliserida lebih tinggi dibandingkan bentuk asam lemak bebas (Gunstone, 1996). Pada suhu yang sama, asam lemak yang terikat dengan struktur gliserol dalam trigliserida mempunyai titik leleh yang lebih tinggi dibandingkan asam lemak bebasnya. Berhubung proses saponifikasi menghasilkan asam lemak bebas, minyak dalam bentuk asam lemak bebas mempunyai viskositas yang lebih rendah dibandingkan minyak asal.

Mutu konsentrat asam lemak ω-3 yang dihasilkan dari kondisi proses kristalisasi urea optimum memenuhi standar mutu minyak ikan konsumsi dari IFOMA kecuali untuk kadar Cu (Tabel 7). Dibandingkan minyak ikan asal, proses kristalisasi urea menurunkan tingkat oksidasi minyak, kadar P, dan sebagian logam, serta menghasilkan warna minyak menjadi lebih terang dan jernih. Perubahan tersebut disebabkan produk hasil oksidasi primer maupun sekunder, sebagian logam, pigmen, serta fosfor teradsorpsi pada fraksi tidak tersabunkan atau larut pada fase air pada proses penyabunan dalam tahapan kristalisasi urea. Densitas dan viskositas minyak ikan menurun akibat peningkatan ketidakejenuhan dan perubahan struktur kimia minyak ikan.

KESIMPULAN

Minyak hasil samping penepungan tuna memenuhi standar mutu minyak ikan untuk konsumsi dari IFOMA sehingga layak digunakan untuk bahan pangan. Minyak ikan tersebut mengandung asam lemak ω-3 dalam kadar tinggi dengan keunikan tinggi DHA.

Kadar EPA+DHA pada minyak hasil samping penepungan tuna adalah 21,04%.

Proses kristalisasi urea dapat meningkatkan kadar EPA dan DHA dalam minyak ikan. Proses tersebut dipengaruhi oleh rasio urea:asam lemak dan lama kristalisasi. Model persamaan yang diperoleh untuk memprediksi kadar EPA+DHA berdasarkan rasio urea:asam lemak dan lama kristalisasi adalah kuadratik dengan respon maksimum.

Respon kuadratik yang diperoleh adalah $Y = 140,52677X_1 + 8,38203X_2 - 19,85850X_1^2 - 0,12173X_2^2 - 0,74000X_1X_2 - 240,33546$. Respon pada kondisi kristalisasi optimum, yaitu rasio urea:asam lemak 3,07:1 dan lama kristalisasi 25,10 jam adalah 80,60%. Hasil verifikasi menunjukkan bahwa respon yang diperoleh tidak berbeda jauh dengan repon hasil prediksi yaitu 81,98% (b/b), dengan tingkat pengayaan 3,89 kali

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kementerian Negara Riset Teknologi yang telah membiayai penelitian ini melalui Program Insentif Riset Dasar No. Kontrak 15/RD/Insentif/PPK/III/2008 tanggal 15 Februari 2008.

DAFTAR PUSTAKA

Ackman RG, WMN Ratnayake, 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.

Adnan M. 1980. Lipid Properties and Stability of Partially Defatted Peanuts. PhD Thesis. Univ. of Illinois, Urbana-Champaign.

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.

Tabel 7. Karakteristik mutu minyak hasil samping penepungan tuna, asam lemak bebas hasil hidrolisis, dan konsentrat asam lemak ω-3 dari kondisi kristalisasi urea optimum

Parameter Mutu	Standar IFOMA	MHS Penepungan Tuna	Asam Lemak Hasil Hidrolisis	Konsentrat Asam Lemak ω-3
Kadar ALB, % oleat	1-7	2,01	-	-
Air dan kotoran, %	0,5-1	td	-	td
Bilangan peroksida mek/kg	3-20	10,83	0,4775	0,14
Bilangan anisidin	6-40	28,14	28,14	5,39
Bilangan totoks	10-60	41,80	29,10	6,03
Warna, Gardner	<14	-	-	-
Warna (Lovibond)	-	>250	-	2
Fe, ppm	0,5-0,7	0,5652	-	0,0083
Cu, ppm	<0,3	0,0895	-	0,366
P, ppm	5-100	0,15	-	0,0014
Densitas (g/ml)	-	0,8792	0,8259	0,8408
Viskositas (cp)	-	0,235	0,11	0,083

td = tidak terdeteksi

MHS = minyak hasil samping

IFOMA = *International Association of Fishmeal and Oil Manufacturers* (Bimbo, 1998)

- Bimbo AP. 1998. Guidelines for characterizing food-grade fish oil. *INFORM* 9(5): 473-483.
- Carvalho PO, PRB Campos, MD Noffs, DHM Bastos, JG de Oliveira. 2002. Enzymic enhancement of ω -3 polyunsaturated fatty acids content in Brazilian sardine oil. *Acta Farm. Bonaerense* 21(2): 85-88.
- Cho SY, K Miyashita, T Miyazawa, K Fujimoto, T Kaneda. 1987. Autooxidation ethyl eicosapentaenoic and docosahexaenoic. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 64(6): 876-879.
- Elizabeth J. 1992. Isolasi Asam Lemak Omega-3 dari Hasil Limbah Industri Pengalengan Ikan Tuna. Thesis S2. Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Estiasih T, FC Nisa K. Ahmadi. 2005. Optimasi pematatan 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, FC Nisa K. Ahmadi. 2006. Optimasi Pematatan 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, A Valenzuela. 1998. Concentration and stabilization of ω -3 polyunsaturated fatty acids from sardine oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 75(6): 233-235.
- Guil-Guerrero JL, EH Belarbi. 2001. Purification process for cod liver oil polyunsaturated fatty acids. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 78(5): 472-484.
- Gunstone FD. 1996. *Fatty Acid and Lipid Chemistry*. Blackie Academic & Professional, Glasgow.
- Haagsma N, CM van Gent, JB Luten, RW de Jong, E van Doorn. 1982. Preparation of an n-3 fatty acids concentrate from cod liver oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 59(3): 117-118.
- Hayes DG. 2002. Urea inclusion compound formation. *INFORM*, 13: 781-783.
- Hodgson AS. 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.
- Howe PRC, JA Downing, BFS Grenyer, EM Grigonis-Deane, WL Bryden. 2002. Tuna fishmeal as a source of DHA for n-3 PUFA enrichment of pork, chicken, and eggs. *Lipids* 37: 1067-1076.
- Hwang LS, 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 ed. Pergamon Press, Oxford.
- Karmas E. 1982. *Meat, Poultry, and Seafood Technology. Recent Development*. Noyes Data Corporation, New Jersey.
- Lee H, Kizito SA, Weeseem SJ, Craig-Schmidt, MC Lee, Y Wei, CI, HAN. 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, H Ji. 2006. Concentration of docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) of tuna oil by urea complexation: optimization of process parameters. *J. of Food Engineering* 73: 203-209.
- Moffat CF, McGill AS, Hardy R, RS. Anderson. 1993. The production of fish oils enriched in polyunsaturated fatty acid-containing triglycerides. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 70(2): 133-138.
- Park PW, RE Goins. 1994. In situ preparation of fatty acids methyl ester for analysis of fatty acids composition in foods. *J. Food Sci.* 59: 1262-1266.
- Sridhar R, 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 VF, WB Nilsson, J Krzynowek, H Schlenk. 1990. Fractionation of Fish Oil and Their Fatty Acids. In M.E. Stansby (ed.). *Fish Oil in Nutrition*. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Suseno N. Perbowo. 2009. Indonesia Lebih Aktif Turut Mengelola Perikanan Tuna di Samudera Hindia. <http://mukhtar-api.blogspot.com/2009/03/indonesia-lebih-aktif-turut-mengelola-31.html>. Diakses [5 Januari 2010].
- Tatum CK Chow. 2000. *Fat in Food and Their Health Implication* 2nd Edition. Marcell Dekker Inc. New York.
- Visentainer JV, MD Noffs, PO Carvalho, VV de Almeida, CC de Oliveira, NE de Souza. 2007. Lipid content and fatty acid composition of 15 marine fish species from the southeast coast of Brazil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 84: 543-547.
- Wanasundara UN, 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.
- Wu M, H Ding, S Wang, S Xu. 2008. Optimizing conditions for the purification of linoleic acid from sunflower oil by urea complex fraction. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 85(7): 677-684.
- Yamane T, T Suzuki, Sahashi, L Vikersveen, 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.
- Yeo L, KDM Harris. 1999. Temperature-dependent structural properties of a solid urea inclusion compound containing chiral guest molecules: 2-bromotetradecane/urea. *Can. J. Chem.* 77: 2105-2118.
- Yuwono S. 1993. Pemanfaatan Limbah Mata Ikan Tuna sebagai Sumber Asam Lemak Omega-3. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, IPB, Bogor.