



## Optimalisasi Kondisi Pemurnian Asam Lemak Tak Jenuh dari Minyak Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias batracus*) dengan Metode Kristalisasi Urea

### Optimization Conditions Unsaturated Fatty Acid Purification of Fish Oil Sangkuriang Catfish (*Clarias batracus*) with Urea Crystallization Method

Aini Hoiriyah<sup>1\*</sup>, Mappiratu<sup>2</sup>, Ahmad Ridhay<sup>3</sup>

<sup>1</sup>)Mahasiswa Penelitian Jurusan Kimia FMIPA Universitas Tadulako, Palu

<sup>2</sup>) Lab Penelitian Jurusan Kimia FMIPA Universitas Tadulako, Palu

<sup>3</sup>) Lab Kimia Organik dan Biokimia Jurusan Kimia FMIPA Universitas Tadulako, Palu

#### ABSTRACT

The research about optimization conditions of unsaturated fatty acid from oil catfish (*Clarias batracus*) has been done . The aim of research is to determine the best ratio of urea and fatty acids which produced the unsaturated fatty acid concentrates from oil catfish by urea crystallization method either at process of crystallization or at time of crystallization. The effect treatment of ratio of urea and fatty acid was at 1.5: 1, 2: 1, 2.5: 1, 3: 1, 3.5: 1 and the variation of crystallization time was at 24, 30 and 36 hours. Each treatment was repeated three times The levels of unsaturated fatty acid ratio of urea crystallization results were analysed by gas chromatography method. The results showed that the ratio of urea to fatty acid at 2.5: 1 produced the highest unsaturated fatty acids up to 85.59% with the crystallization time at 24 hours.

**Keywords :** *Fish Oil catfish, Polyunsaturated Fatty Acid, Crystallization Urea*

#### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang optimalisasi kondisi pemurnian asam lemak tak jenuh dari minyak ikan lele (*Clarias batracus*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rasio urea terhadap asam lemak baik pada proses kristalisasi yang menghasilkan konsentrat asam lemak tak jenuh tinggi maupun pada waktu kristalisasi yang menghasilkan asam lemak tak jenuh tinggi. Perlakuan pengaruh rasio urea terhadap asam lemak adalah dengan lima tingkatan rasio masing-masing 1,5:1, 2:1, 2,5:1, 3:1, 3,5:1 dan perlakuan waktu kristalisasi yang terdiri atas tiga taraf masing-masing waktu kristalisasi 24, 30, dan 36 jam. Tiap perlakuan diulang tiga kali. Kadar asam lemak tak jenuh hasil kristalisasi rasio urea dianalisis menggunakan metode kromatografi gas. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa rasio urea terhadap asam lemak (2,5:1) menghasilkan asam lemak tak jenuh tertinggi, yakni mencapai 85,59% dengan waktu kristalisasi 24 jam.

**Kata Kunci :** *Minyak Ikan Lele, Asam Lemak Tak Jenuh, Kristalisasi urea*

\*)Corresponding Author : [khoiriyah.aini@yahoo.co.id](mailto:khoiriyah.aini@yahoo.co.id)

## LATAR BELAKANG

Ikan lele (*Clarias batracus*) termasuk salah satu jenis ikan air tawar yang dapat hidup di tempat-tempat kritis, seperti rawa, sungai, sawah, bahkan ditempat berlumpur yang kekurangan oksigen. Kelebihan lain yang dimiliki ikan lele adalah minyak ikan lele mengandung asam lemak omega-3 EPA dan DHA yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan ikan air tawar lainnya (Suryaningrum, 2010). Kandungan asam lemak tak jenuh dan asam lemak omega-3 EPA dan DHA minyak ikan lele dipengaruhi oleh umur dan berat ikan. Ningsih (2013) menemukan kandungan asam lemak tak jenuh tinggi (60,725%) terdapat pada ikan berukuran berat 140 – 170 g/ekor, dan kandungan asam lemak jenuh terendah (34,47%) terdapat pada ikan berukuran berat 1000 g/ekor. Kandungan asam lemak omega-3 EPA tertinggi (0,96%) terdapat pada ikan berukuran berat 200 – 250 g/ekor, dan terendah (0,84%) terdapat pada ikan berukuran berat 1000 g/ekor. Kandungan DHA tertinggi (3,14%) terdapat pada ikan berukuran berat 1000 g/ekor, dan terendah (2,27%) terdapat pada ikan berukuran berat 140 – 170 g/ekor.

Asam lemak tak jenuh tunggal dan jamak termasuk asam lemak omega-3 EPA dan DHA berperan menurunkan kadar triasilgliserol dan kadar kolestrol darah serta meningkatkan ekskresinya,

meningkatkan fluiditas membran sel, membentuk eicosanoid yang menurunkan trombosis dan berperan penting dalam perkembangan otak dan retina (Sinclair, 1993; Ikeda *et al.*, 1994; Spector, 1999; Harris 1997; Prisco *et al.*, 1996). Asam lemak Omega-3 juga mampu mencegah penyakit kardiovaskuler serta meningkatkan perkembangan fungsi otak dan retina mata pada bayi (Nettleton, 2005).

Minyak ikan termasuk minyak ikan lele selain mengandung asam lemak tak jenuh, juga mengandung asam lemak jenuh terutama asam palmitat. Penurunan kandungan asam lemak jenuh minyak ikan akan meningkatkan peranannya dalam bidang kesehatan seperti penurunan kadar kolesterol darah dan peningkatan perkembangan otak dan retina mata pada bayi. Meningkatnya jumlah masyarakat yang berkolestrol tinggi dan penyakit – penyakit yang menyertainya, maka akan meningkatkan kebutuhan minyak ikan kaya asam lemak tak jenuh. Menurut Haagsma *et al.*, (1982), konsumsi asam lemak tak jenuh dalam bentuk konsentrat lebih baik dibandingkan minyak ikan asalnya. Wanasundara dan Shasidi, (1999) menyatakan kebutuhan konsentrat asam lemak tak jenuh akan meningkat seiring dengan meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya hidup sehat.

Oleh karena itu perlu ada upaya peningkatan asam lemak tak jenuh minyak ikan termasuk asam lemak omega-3 (asam eikosa pentanoat dan asam dokosa heksanoat).

Peningkatan kandungan asam lemak tak jenuh pada minyak ikan dapat dilakukan dengan berbagai cara antara lain cara kristalisasi pelarut suhu rendah (Ahmadi, 2006), pemadatan cepat (Estiasih *et al.*, 2006), ekstraksi cairan superkritik (Tatum dan Chow, 2000) dan kristalisasi urea (Wu *et al.*, 2008; Wanasundara dan Sahidi, 1999; Hwang and Liang, 2001; Liu *et al.*, 2006; Estiasih, 2010). Cara kristalisasi urea didasarkan atas pembentukan inklusi urea asam lemak jenuh yang lebih cepat dibandingkan asam lemak tak jenuh (Hayes, 2002). Cara kristalisasi urea dipengaruhi oleh rasio urea terhadap asam lemak, lama kristalisasi dan suhu kristalisasi. Tulisan ini memaparkan hasil optimalisasi rasio urea asam lemak dan lama kristalisasi. Parameter yang diamati dalam optimalisasi adalah kadar asam lemak tak jenuh menggunakan metode kromatografi gas.

## **BAHAN DAN METODE**

### *Bahan dan Peralatan*

Bahan dasar yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan lele sangkuriang dengan berat ikan  $\pm$  250 g/ekor yang

diperoleh dari desa Lolu, Kab. Sigi Biromaru. Bahan – bahan lain yang diperlukan antara lain: urea, pelarut *n*-heksan, asam klorida, Boron triflorida – metanol, etanol, dan etilen diamin tetraasetat (EDTA).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Kromatografi Gas (GC) tipe Hewlett Packard, GCMS-QP2010S Shimadzu, batang pengaduk, neraca analitik, alat pres, corong pisah alat-alat gelas yang umum digunakan dalam Laboratorium Kimia.

### *Metode*

#### **Ekstraksi Minyak Ikan Lele (Ketaren, 1986)**

Ikan lele yang telah dicuci kemudian ditimbang sebanyak 10 kg, selanjutnya dikukus selama 2 jam. Ikan yang telah dikukus dipres dengan alat pres ulir untuk memisahkan antara minyak dan dagingnya, selanjutnya minyak yang dihasilkan dipisahkan airnya menggunakan corong pisah.

#### **Hidrolisis Minyak Ikan Lele (Haagsma *et al.*, 1982)**

Sebanyak 100 ml minyak ikan lele dicampurkan dengan 10 ml larutan NaOH dalam etanol (Larutan NaOH dibuat dengan cara melarutkan 48 g NaOH dan 0,5 g Na<sub>2</sub>EDTA dalam 160 ml larutan etanol dan

ditambah 15 ml aquadest) dan diaduk selama 30 menit pada suhu 60 °C, selanjutnya ditambahkan 40 ml air dan 400 ml heksan. Campuran dikocok dengan kecepatan 300 rpm selama 1 jam. Lapisan yang mengandung bahan tersabunkan ditambahkan dengan HCl pekat sampai pH mencapai 1. Pada penambahan tersebut terbentuk dua lapisan, lapisan atas diambil dan dievaporasi pada suhu 50 °C hingga pelarut habis, kemudian disimpan untuk pisahkan asam lemak jenuh dari asam lemak tidak jenuh

#### **Kristalisasi Asam Lemak dengan Urea (Haagsma et al., 1982)**

Asam lemak ditambahkan pada larutan urea panas 10% (suhu 60 – 65 °C) dalam metanol (b/v) dengan diaduk pada kecepatan konstan 300 rpm selama 1 jam. Jumlah urea yang dilarutkan sesuai dengan perbandingan urea:asam lemak (sesuai perlakuan) yakni rasio 1,5 : 1, 2 : 1, 2,5 : 1, 3 : 1, dan 3,5 : 1 dengan lama kristalisasi 24 jam pada suhu 5 -6 °C. Rasio urea:asam lemak yang menghasilkan asam lemak dengan kandungan asam lemak tak jenuh tertinggi, digunakan untuk menentukan waktu kristalisasi yang menghasilkan asam lemak tak jenuh tertinggi. Variabel waktu kristalisasi terdiri atas 24, 30 dan 36 jam, kristal yang terbentuk dipisahkan dari larutan induk dengan penyaringan. Asam lemak dalam filtrat selanjutnya diekstraksi.

#### **Ekstraksi Asam Lemak (Haagsma et al., 1982)**

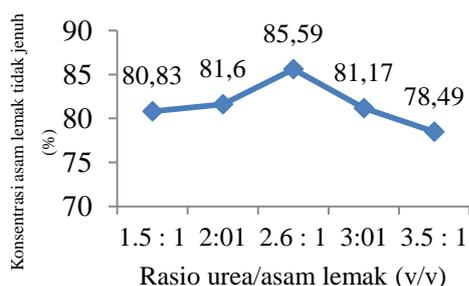
Setiap 3 ml filtrat, ditambahkan 1 ml *n*-heksan dan 1 ml HCl pekat. Campuran diaduk selama 1 jam, kemudian didiamkan sampai terbentuk dua lapisan, lapisan atas diambil dan dianalisis kandungan komposisi asam – asam lemak menggunakan Kromatografi Gas (GC).

#### **Analisis Komponen Asam Lemak**

Sampel sebanyak 100 mikroliter ditambahkan 300 mikroliter larutan BF<sub>3</sub> – metanol. Campuran dipanaskan selama 1 jam pada suhu 60 °C, selanjutnya ditambahkan dengan *n*-heksan sebanyak 300 mikroliter, dikocok dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas diambil kemudian diinjeksikan ke dalam alat Kromatografi Gas (GC)

#### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Asam lemak tak jenuh tertinggi yang diperoleh dari perlakuan rasio urea terhadap asam lemak dengan lima tingkatan dan lama kristalisasi dengan tiga tingkatan, sebagaimana pada Gambar 1 menunjukkan konsentrasi asam lemak tak jenuh tertinggi (85,59 %) pada rasio urea terhadap asam lemak 2,5 : 1. Konsentrasi asam lemak tak jenuh terendah (78,49 %) pada rasio urea terhadap asam lemak 3,5 : 1.



Gambar 1. Hasil Pengukuran Konsentrasi Asam Lemak Tak Jenuh pada Berbagai Rasio Urea/Asam Lemak

Gambar 1 memperlihatkan pola perubahan konsentrasi asam lemak tak jenuh terhadap rasio urea/asam lemak mengikuti garis kurva para bola dengan kondisi optimum terdapat pada rasio urea terhadap asam lemak 2,5 : 1. Rasio urea/asam lemak dipengaruhi oleh suhu kristalisasi. Semakin rendah suhu kristalisasi semakin tinggi rasio urea terhadap asam lemak. Estiasih (2010) menemukan rasio urea/asam lemak optimum 2,5 : 1 pada suhu 4-5°C (sama dengan yang ditemukan), sedangkan Purwanto *et al.*, (2013) menemukan rasio urea/asam lemak optimum 4 : 1 pada suhu -20°C. Umumnya kelarutan suatu zat dipengaruhi oleh suhu, sehingga penurunan suhu akan menurunkan kelarutan zat dan Kristal yang terbentuk semakin banyak.

Rasio urea kurang dari 2,5 : 1 menunjukkan kadar asam lemak tak jenuh cenderung lebih rendah diduga disebabkan karena kesetimbangan antara jumlah urea

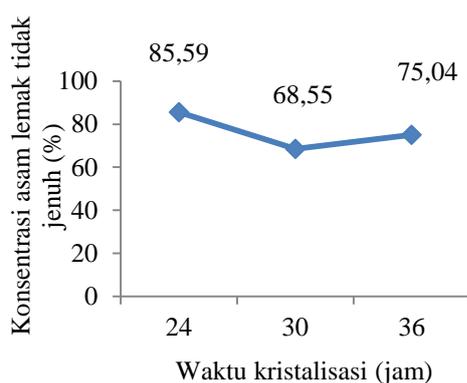
dan jumlah asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh tunggal untuk membentuk inklusi urea asam lemak belum terjadi. Wanasundara dan Shahidi (1999) menyatakan rasio urea terhadap asam lemak mempengaruhi kesempurnaan proses kristalisasi. Dengan demikian rasio urea/asam lemak kurang dari 2,5 : 1 kristalisasinya belum sempurna.

Menurut Hayes (2002), pembentukan inklusi urea-asam lemak terjadi karena urea membentuk struktur kristal heksagonal yang terdiri dari enam molekul urea. Akibatnya pada jumlah urea yang terbatas akan membentuk struktur heksagonal urea yang memerangkap senyawa menjadi terbatas. Hal ini yang menyebabkan pada rasio urea : asam lemak yang rendah masih banyak asam lemak jenuh yang tidak terinklusi yang menyebabkan asam lemak tak jenuhnya rendah.

Rasio urea terhadap asam lemak yang lebih tinggi dari 2,5 : 1, kadar asam lemak cenderung menurun. Hal tersebut diduga disebabkan oleh adanya kelebihan urea yang membentuk inklusi dengan asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh ganda mempunyai kecenderungan yang lebih besar berinklusi dengan urea dibandingkan dengan asam lemak tak jenuh tunggal (Liu *et al.*, 2006). Sehingga semakin banyak urea yang digunakan kadar

asam lemak tak jenuh ganda akan cenderung menurun.

Pengaruh waktu kristalisasi dapat diperoleh dari tiga tingkatan waktu menggunakan rasio urea/asam lemak optimum (2,5 : 1). Hasil yang diperoleh (Gambar 2) menunjukkan lama kristalisasi yang menghasilkan asam lemak tak jenuh tertinggi (85,59 %) ditemukan pada lama kristalisasi 24 jam, dan konsentrasi asam lemak tak jenuh terendah (68,55 %) terdapat pada penggunaan lama kristalisasi 30 jam.



Gambar 2. Kurva Hasil Pengukuran Konsentrasi Asam Lemak Tak Jenuh pada Berbagai Waktu Kristalisasi.

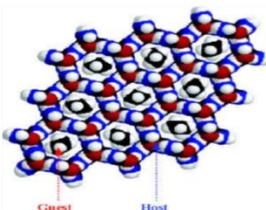
Lama kristalisasi 24 jam yang menghasilkan konsentrasi asam lemak tak jenuh tertinggi diduga disebabkan karena pada waktu tersebut pembentukan inklusi urea-asam lemak mencapai keadaan yang sempurna. Pembentukan inklusi urea-asam lemak membutuhkan waktu tertentu

sampai tercapai pembentukan yang sempurna ( Liu *et al.*, 2006).

Rendahnya konsentrasi asam lemak tak jenuh setelah melewati waktu kristalisasi 24 jam diduga disebabkan oleh pecahnya struktur urea-asam lemak. Peristiwa pecahnya struktur urea yang menyebabkan terlepasnya asam lemak yang menurut Kenneth dan Harris (1997) pelepasan tersebut merupakan proses irreversible. Terdapat praduga asam lemak yang terlepas lebih dulu adalah asam lemak tak jenuh tunggal (asam palmitoleat dan asam oleat) dibandingkan asam lemak jenuh. Lekukan yang terdapat pada asam lemak tak jenuh tunggal pada ikatan gandanya diduga tidak mampu memberikan kesempatan kepada urea untuk membentuk saluran-saluran inklusi yang panjang, sehingga berdampak terhadap energi ikatan total antara inklusi urea dengan asam lemak tak jenuh tunggal menjadi kecil. Hayes (2008) berpendapat rantai alkil yang memiliki ikatan ganda dalam bentuk cis mempunyai energi ikatan total yang kecil. Diduga ikatan hidrogen dan ikatan Vander Walls pada inklusi urea-asam lemak tak jenuh tunggal energinya relative kecil dibandingkan inklusi urea dengan asam lemak jenuh. Dampak dari hal tersebut adalah setelah melewati lama kristalisasi 24 jam asam lemak tak jenuh tunggal terlepas dari inklusi urea-asam lemak dan

menurunkan konsentrasi asam lemak tak jenuh

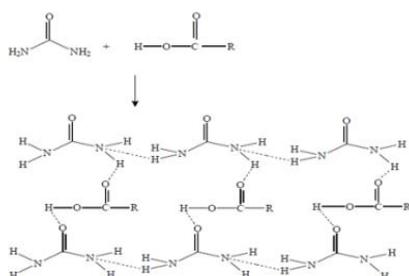
Yeo dan Haris (1999) menyebutkan bahwa pada kompleks inklusi urea, molekul urea yang berikatan hidrogen membentuk saluran (*tunnel*) yang paralel. Struktur saluran urea tersebut bersifat stabil jika saluran tersebut diisi oleh senyawa dengan susunan yang rapat (Gambar 3)



Gambar 3. Struktur Inklusi antara Urea dengan Asam Lemak (J. Marti'-Rujas., *et al*, 2006 dalam Hamzah 2014)

Keterangan ■ Oksigen ■ Nitrogen  
■ Karbon □ Hidrogen

Berdasarkan Gambar 3 dapat dijelaskan bahwa, selama proses kristalisasi, urea bereaksi dengan asam lemak yang akan membentuk senyawa makromolekul, yaitu terjadi pembentukan ikatan hidrogen antara atom H pada urea yang berikatan dengan gugus OH pada asam karboksilat (Gambar 4).



Gambar 4. Inklusi antara Urea dengan Asam Lemak Rantai Panjang (Duengo,2011 dalam Hamzah 2014)

Asam lemak jenuh dan tak jenuh tunggal yang terkristalkan dengan urea, berbentuk seperti jarum – jarum panjang yang dapat dipisahkan melalui proses penyaringan. Asam lemak yang tak jenuh tetap terlarut dalam metanol, yang kemudian diekstraksi dengan *n*-heksan.

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, maka dapat disimpulkan bahwa rasio kristalisasi urea:asam lemak terbaik yaitu pada rasio 2,5:1 dan waktu kristalisasi terbaik diperoleh pada waktu 24 jam dengan konsentrasi asam lemak tak jenuh tertinggi 85,59%.

## DAFTAR PUSTAKA

Ahmadi, K. 2006. *Optimasi Kristalisasi Pelarut Suhu Rendah pada Pembuatan Minyak Kaya Asam Lemak  $\omega$ -3 dari Hasil Sampung Pengalengan Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)*. Agritek 14(3) : 580 – 593.

Estiasih, T. 2010. *Optimalisasi Kristalisasi Urea Pada Pembuatan Konsentrat Asam Lemak  $\omega$ -3 dari Minyak Hasil Sampung Penepungan Ikan Lemuru (*Sardinella Longiceps*)*. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.

Estiasih, T., F.C. Nisa dan K. Ahmadi. 2006. *Optimasi Pemadatan Cepat pada Pembuatan Minyak Kaya Asam Lemak  $\omega$ -3 dari Minyak*

- Hasil Samping Penepungan Ikan Lemuru. Agritek 14(3) : 681 – 694.*
- 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. Journal of The American Oil Chemists Society. 59(3): 117-118.*
- Hamzah. 2014. *Isolasi Asam 9,12 Oktadekadienoat Hasil Hidrolisis Minyak Kemiri dengan Menggunakan Metode Inklusi Urea.* Other Thesis. Universitas Negri Gorontalo.
- Harris, W. S. 1997. *n-3 Fatty Acids and Serum Lipoproteins: Human Studies.* American Journal of Clinical Nutrition. 65(Supplement): 1645s-1654s.
- 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. CRS Press. New York.
- Hwang LS, J-H Liang. 2001. *Fractionation of Urea-Pretreated Squid Visceral Oil Ethyl Ester.* Journal of The American Oil Chemists Society. 78(5): 473-476.
- Ikeda, I., K. Wakamatsu, A. Inayoshi, K. Imaizumi, M. Sugano, and K. Yazawa. 1994.  *$\alpha$  Linolenic, Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic Acids Affect Lipid Metabolism Differently in Rats.* Journal Nutrition. 124: 1898-1906.
- Kenneth D, and Harris. 1997. *Understanding The Properties of Urea and Thiourea Inclusion Compound.* Chemical Society Reviews Vol. 26.
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak Dan Lemak.* Universitas Indonesia. Press. Jakarta.
- Liu, S,C. Zhang, P. Hong, and H. Ji. 2006. *Concentration of Docosahexanoic Acid (DHA) and Eicosapentanoic Acid (EPA) of Tuba Oil by Urea Complexation : Optimization of Process Parameters.* Journal of Food Engineering 73:203 – 209.
- Nettleton, J.A. 2005. *Omega-3 Fatty Acids in Food and Health.* Food Tech. 59:120.
- Ningsih, M. 2013. *Kajian Rendemen dan Kandungan EPA dan DHA Minyak Ikan Lele (Clarias batracus) dari berbagai ukuran berat.* Skripsi Jurusan Kimia FMIPA. Universitas Tadulako. Palu.
- Prisco, D., M. Fileppini, R. Paniccia, G.F. bensini, R. Abzte, and G.GN. Sernerri. 1996. *Effect of  $\omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acid Intake on Phospholipid Fatty Acid Composition in Plasma and Erythrocytes.* American Journal of Clinical Nutrition. 124: 925-932.
- Purwanto., M.G. Marianti dan Nugraha. 2013. *Pengaruh konsentrasi papain, rasio berat urea : minyak, dan suhu kristalisasi dalam kompleksasi omega-3 dari limbah minyak ikan.* Jurnal Ilmiah Sains dan Teknologi, 7(1) 216 – 222.
- Sinclair, J. 1993. *The Nutritional Significance of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acid for Human.* ASEAN Food Journal 8(1):3-13.
- Spector, A.A. 1999. *Essentiality of Fatty Acid.* Lipids 34: S1-S3.

---

**Optimalisasi Kondisi Pemurnian Asam Lemak Tak Jenuh dari Minyak Ikan Lele Sangkuriang (*Clarias batracus*) dengan Metode Kristalisasi Urea**  
(Aini Hoiriyah dkk)

- Suryaningrum, D. 2010. *Optimalisasi Pemanfaatan Ikan Lele Dumbo (Clarias geriepinus) dalam rangka mendukung ketahanan pangan dan budidaya perikanan*. Jakarta.
- Tatum dan C.K. Chow. 2000. *Fat in Food and Their Health Implication 2<sup>nd</sup> Edition*. Marcell Dekker Inc., New York.
- Wanasundara, U.N. and F. Shahidi. 1999. *Concentration of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids of Seal Blubber Oil by Urea Complexation: Optimatization of Reaction Condition*. Food Chem. 65:4149.
- Wu M, H Ding, S Wang S Xu. 2008. *Optimizing Conditions For The Purification Of Linoleic Acid From Sunflower Oil By Urea Complex Fraction*. Journal of The American Oil Chemists Society. 85(7): 677-684.
- Yeo L and Harris. 1999. *Temperature – Dependent Strustural Properties of a Solid Urea Inclusion Compound Containing Chiral Guest Molecules : 2=bromotetradecane/urea*. Canadian journal of Chemistry. 77:2105 – 2118.