

## Pembuatan Trigliserida Kaya Asam Lemak $\omega$ -3 dari Minyak Hasil Samping Pengalengan Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

Oleh:  
Teti Estiasih<sup>1)</sup> dan Kgs. Ahmadi<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Staf Pengajar Jur. Teknologi Hasil Pertanian-FTP- Universitas Brawijaya

<sup>2)</sup> Staf Pengajar Jur. Tek. Industri Pertanian – Univ. Tribhuwana Tunggaladewi

### Abstract

Omega-3 fatty had beneficial effect for health. Fish oil from by product of lemuru canning process was a potential source of  $\omega$ -3 fatty acids. This fish oil had to be refined by alkali to fulfill the standar of crude fish oil. The  $\omega$ -3 fatty acids content in this fish oil (in the triglyceride form) could be enhanced by rapid solidification. Modification to this process was done therefore the process was easier to handle and cheaper. Modified rapid solidification could enrich the  $\omega$ -3 fatty acids content in the triglyceride form 1,87. The residue of this process could be used as raw material of the rapid solidification.

Key words:  $\omega$ -3 fatty acids, triglyceride, alkali refining, rapid solidification.

### Abstrak

Asam lemak  $\omega$ -3 merupakan asam lemak yang penting bagi kesehatan. Minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru merupakan sumber asam lemak  $\omega$ -3 yang potensial. Minyak ikan ini harus dimurnikan dahulu dengan alkali, sehingga memenuhi standar minyak ikan kasar. Kadar asam lemak  $\omega$ -3 dalam minyak ikan (bentuk trigliserida) dapat ditingkatkan dengan proses pemadatan cepat. Modifikasi proses ini dilakukan sehingga proses lebih murah dan mudah ditangani. Proses pemadatan cepat yang dimodifikasi berhasil meningkatkan kadar asam lemak  $\omega$ -3 dalam bentuk trigliserida sebesar 1,87 kali. Residu proses pemadatan cepat dapat didaur ulang sebagai bahan baku proses pemadatan cepat kembali.

Kata kunci: asam lemak  $\omega$ -3, trigliserida, pemurnian alkali, proses pemadatan cepat.

### Pendahuluan

Asam lemak  $\omega$ -3 merupakan asam lemak yang penting bagi kesehatan dan pencegahan penyakit. Penelitian epidemiologis pada awal tahun 1970-an menunjukkan bahwa kejadian penyakit jantung yang rendah pada orang Eskimo kemungkinan berhubungan dengan pola makan dan konsumsi ikan yang kaya dengan asam lemak tidak jenuh banyak ikatan rangkap (PUFA=*Polyunsaturated Fatty Acids*)

Asam lemak  $\omega$ -3 sebagai bagian dari PUFA yang berasal dari minyak ikan mempunyai kemampuan menurunkan kadar trigliserida dan kolesterol darah serta meningkatkan ekskresinya, meningkatkan fluiditas membran sel, membentuk eikosanoid yang menurunkan trombosis, dan penting bagi perkembangan otak dan retina

(Sinclair, 1993; Ikeda *et al.*, 1994; Spector, 1999; Harris, 1997; Prisco *et al.*, 1996).

Konsentrat asam lemak  $\omega$ -3 yang mengandung asam lemak jenuh yang rendah lebih baik dari minyak ikan asli karena menjaga asupan lipida total sehari-hari serendah mungkin (Haag-sma *et al.* 1982). Dengan meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap pentingnya konsumsi konsentrat asam lemak  $\omega$ -3, pasar dari produk ini di-perkirakan akan meningkat (Wanasun-dara dan Shahidi, 1999).

Di Indonesia, konsentrat asam lemak  $\omega$ -3 dikonsumsi dalam bentuk suplemen/kapsul. Pada produk makanan tertentu, seperti susu bubuk, telah ditambahkan asam lemak  $\omega$ -3 dalam bentuk mikrokapsul. Sayangnya, semua

bentuk asam lemak  $\omega$ -3 tersebut masih diimpor dan belum diproduksi di Indonesia. Pada dasarnya sumber utama asam lemak  $\omega$ -3 adalah ikan atau mikroalga yang berasal dari perairan dingin seperti subtropik dan kutub (Harris, 1997). Di Indonesia sendiri terdapat ikan yang berpotensi sebagai sumber asam lemak  $\omega$ -3 seperti ikan tuna dan lemuru. Karena kadar asam lemak  $\omega$ -3 lebih rendah dari ikan yang berasal dari perairan dingin, maka kadar asam lemak  $\omega$ -3 minyak ikan yang berasal dari perairan di Indonesia harus ditingkatkan kadarnya.

Beberapa teknik telah dikembangkan untuk membuat konsentrat asam lemak  $\omega$ -3, yaitu teknik pembuatan kompleks dengan urea (*urea complexation*) (Wanasundara dan Shahidi, 1999); kristalisasi pelarut suhu rendah, ekstraksi oleh pelarut selektif, *supercritical fluid extraction* (SFE), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC), reaksi enzimatik (Chen dan Ju, 2001), dan proses pemadatan cepat (Moffat *et al.*, 1993).

Teknik pembuatan kompleks dengan urea merupakan teknik yang sederhana, menggunakan pelarut yang murah, dapat dibuat dalam jumlah besar, dan murah (Guerrero dan Belarbi, 2001). Sayangnya konsentrat asam lemak  $\omega$ -3 yang dihasilkan dari teknik ini adalah bentuk asam lemak bebas atau metil ester asam lemak. Asam lemak bebas walaupun daya serapnya dalam pencernaan tinggi (Nettleton, 1995), tetapi sangat tidak stabil dan mudah teroksidasi. Bentuk metil ester asam lemak mempunyai stabilitas yang lebih baik dari bentuk asam lemak bebas (Cho *et al.*, 1987), tetapi daya serapnya sangat rendah (Nettleton, 1995).

Kristalisasi pelarut suhu rendah dan ekstraksi dengan pelarut selektif, SFE, HPLC, dan reaksi enzimatik mahal dan tidak efisien.

Konsentrat asam lemak  $\omega$ -3 dalam bentuk trigliserida bersifat lebih efektif dibandingkan bentuk asam lemak bebas atau metil ester asam lemak (Shahidi, 2002). Bentuk tri-gliserida lebih stabil dibandingkan bentuk asam lemak bebas, dan lebih mudah diserap tubuh dibandingkan bentuk metil ester asam lemak (Nettleton, 1995).

Konsentrat asam lemak  $\omega$ -3 dalam bentuk trigliserida yang disebut dengan trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 dapat dibuat dengan metode pemadatan cepat. Teknik ini terdiri dari pemadatan cepat butiran padat minyak ikan dalam nitrogen cair, diikuti oleh ekstraksi dengan aseton pada suhu  $-60^{\circ}\text{C}$ . Butiran padat minyak ikan yang terbentuk diekstraksi dengan aseton pada suhu  $-60^{\circ}\text{C}$ . Setelah ekstraksi, aseton yang mengandung trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 dipisahkan dari butiran padat minyak ikan dengan penyaringan. Aseton diuapkan sehingga diperoleh trigliserida yang mengandung asam lemak  $\omega$ -3 dengan kadar yang lebih tinggi dibandingkan minyak ikan asal (Moffat *et al.*, 1993).

Trigliserida yang hanya mengandung asam lemak jenuh atau kombinasi dari asam lemak jenuh dan monoenoat dihilangkan secara total dari proses ini. Proses ini memungkinkan produksi trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 dalam skala besar. Proses ini memperkaya minyak ikan dengan trigliserida yang kaya dengan asam lemak  $\omega$ -3 secara sederhana dan tidak digunakan modifikasi kimia. Hasil samping proses ini mengandung proporsi PUFA yang rendah dan dapat digunakan secara langsung dalam industri dimana minyak dengan kadar PUFA rendah dibutuhkan (Moffat *et al.*, 1993).

Pada proses pengalengan ikan, seperti ikan sardin atau lemuru, dilakukan proses pemasakan ikan dengan uap air (*steaming*) (Zaitzev *et al.*, 1969). Pada proses ini, dari daging ikan (ikan telah dibersihkan dan kepala dan isi perut telah dibuang), keluar cairan yang masih mengandung minyak. Minyak ini merupakan minyak hasil samping pengalengan ikan. Selain proses pengalengan, proses penepungan ikan juga menghasilkan hasil samping yang mengandung minyak ikan.

Minyak hasil samping pengalengan dan penepungan ikan masih mengandung asam lemak  $\omega$ -3 dalam jumlah tinggi. Minyak ikan ini belum dimanfaatkan secara optimal sebagai sumber asam

lemak  $\omega$ -3, padahal sampai saat ini Indonesia masih mengimpor minyak ikan untuk sumber asam lemak  $\omega$ -3. Sebagai contoh, Estiasih (1996) menunjukkan bahwa minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru yang diambil dari Muncar-Banyuwangi pada bulan Juni 1995 mengandung asam lemak  $\omega$ -3 sebesar 26,79% dengan asam eikosapentaenoat (EPA=*eicosapentaenoic acid*, C20:5 $\omega$ -3) sebesar 13,70% dan asam dokosaheksaenoat (DHA = *docosahexaenoic acids*, C22:6 $\omega$ -3) sebesar 8,91%. EPA dan DHA merupakan jenis asam lemak  $\omega$ -3 yang telah diketahui mempunyai pengaruh positif terhadap kesehatan yang paling potensial.

Menurut Yunizal (2002), pada tahun 1996 ikan lemuru yang dikalengkan adalah 26.600 ton dengan rendemen 5%, dan ikan lemuru yang ditepungkan 32.900 ton dengan rendemen 10%, sehingga dihasilkan minyak hasil samping pengalengan dan penepungan sebesar 4.300 ton.

Karena masih merupakan minyak ikan kasar (*crude fish oil*), minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru masih mengandung bahan-bahan non minyak. Menurut Pigott (1996), fase cair hasil samping pengolahan ikan atau misela (*miscella*) terdiri dari minyak, air, bahan-bahan padatan yang larut dan tersuspensi dalam air. Padatan terlarut adalah senyawa-senyawa dengan berat molekul rendah dan jenis protein yang larut air (seperti protein miofibril) yang keluar dari daging ikan pada saat pemasakan.

Minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru kemungkinan masih mengandung bahan-bahan non minyak. Menurut Bimbo (1998), untuk mendapatkan minyak ikan yang diterima sebagai makanan (*edible oil*), fraksi non minyak harus dihilangkan dari minyak. Menurut Hodgum (1995), pemurnian dengan alkali menghilangkan beberapa jenis kotoran (*impurities*) dalam minyak seperti fosfatida, protein, atau fragmen protein. Pemurnian dengan alkali hampir secara sempurna menghilangkan asam lemak bebas yang diubah menjadi sabun yang tidak larut dalam minyak. Menurut Pigott (1996), pemurnian dengan alkali berperan menghilangkan

kotoran dengan mekanisme sebagai berikut: fraksi tersabunkan mengabsorpsi alkali dan terkoagulasi oleh proses hidrasi; bahan-bahan tidak larut terperangkap pada bahan-bahan yang terkoagulasi; alkali dengan asam lemak bebas membentuk senyawa tidak larut air; dan sebagian besar pigmen terdeg-radasi atau terabsorpsi oleh fraksi tersabunkan.

Pada penelitian ini akan dilihat potensi minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru sebagai sumber asam lemak  $\omega$ -3. Minyak ikan tersebut akan dikarakterisasi dan dimurnikan sehingga memenuhi standar minyak ikan kasar. Kadar asam lemak  $\omega$ -3 dalam minyak tersebut akan ditingkatkan dengan metode pemadatan cepat yang dimodifikasi sehingga lebih murah dan mudah ditangani. Konsentrat asam lemak  $\omega$ -3 yang dihasilkan dalam bentuk trigliserida ini diharapkan memenuhi standar minyak ikan kasar dan dapat digunakan secara luas sebagai suplemen yang dikapsulkan atau bahan pengayaan produk makanan melalui proses mikroenkapsulasi juga untuk mengurangi ketergantungan terhadap impor minyak ikan sumber asam lemak  $\omega$ -3.

#### **Metode Penelitian**

##### **Bahan**

Bahan meliputi minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru diambil dari Muncar-Banyuwangi, aseton teknis dan es kering sebagai limbah industri pupuk. Bahan kimia terdiri dari standar asam lemak (Sigma Co.), KOH, metanol, NaOH, benzena, amonium tiosianat, BaCl<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>.6H<sub>2</sub>O, HCl, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (p.a. Merck), gas hidrogen, gas nitrogen, dan kertas lakmus.

##### **Alat**

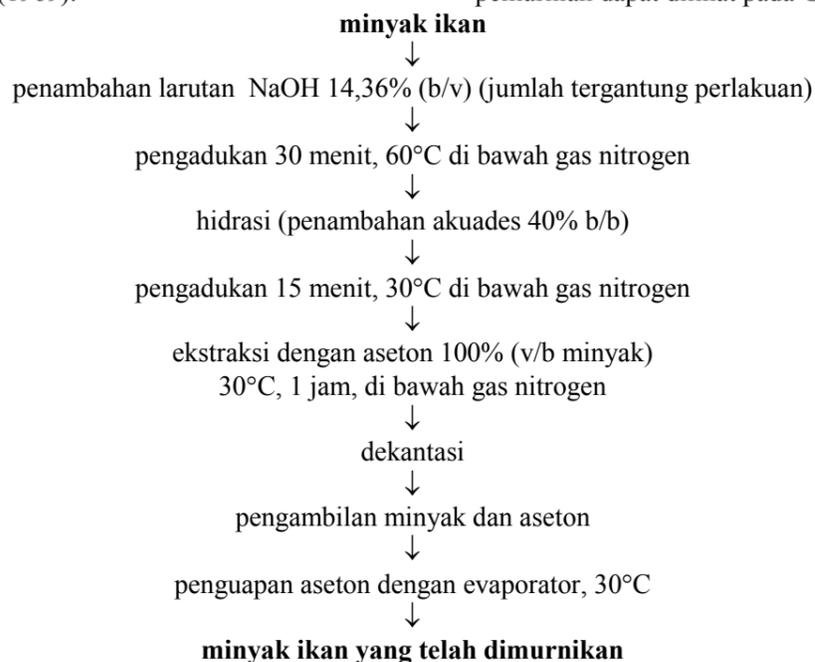
Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah kromatografi gas (GC-14B, Shimadzu), integrator (Chromatopac C-RGA), rotavapor (Buchi), freezer (Deaby), neraca analitik (HR-300, AND), pengaduk mag-net (Nouvo II), dan peralatan gelas.

**Karakterisasi minyak ikan**

Minyak ikan dilihat secara visual dan dibau. Kadar asam lemak bebas dan bilangan peroksida dianalisis dengan metode AOAC (1990) dan Hills dan Thiel yang dimodifikasi oleh Chapman dan Mackay (cit Adnan, 1980). Komposisi asam lemak dianalisis dengan kromatografi gas dengan metilasi berdasarkan metode Christo-pherson dan Glass (1969).

**Pemurnian minyak ikan**

Jika kadar asam lemak bebas dan bilangan peroksida minyak ikan melebihi standar minyak ikan kasar (*crude fish oil*) dari *International Association of Fish Meal Manufac-turers* yaitu kadar asam lemak bebas 1-7% dan bilangan peroksida 3-20 meq/kg (Bimbo, 1998), dilakukan proses pemurnian dengan alkali. Proses pemurnian dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Pemurnian minyak ikan dengan alkali

Tabel 1. Kebutuhan larutan NaOH untuk pemurnian minyak sistem *batch* (Hodgum, 1995)

Minyak	Derajat Baumé	Kelebihan ( <i>Excess</i> ) Larutan NaOH (%)
Minyak hewani kualitas baik	12-16	0,10-0,20
Minyak sayur kadar gum rendah	12-16	0,10-0,20
Minyak biji kapas kualitas baik	14-18	0,25-0,60
Minyak kualitas buruk		
ALB <sup>a</sup> = 4%	18	0,75
ALB = 15%	26	1,30
Minyak ikan		
ALB = 5%	20	0,20
Minyak kedelai kualitas baik	12-14	0,10-0,20
Minyak kacang tanah		
ALB = 3%	14	0,25-0,47
ALB = 10%	20	0,55
Minyak jagung	16-20	0,25-0,36
Minyak kelapa	16	0,10

<sup>a</sup> ALB = asam lemak bebas

Tabel 2. Konsentrasi NaOH dengan berbagai derajat Baumé (Hodgum, 1995)

Derajat Baumé pada suhu 15°C	Konsentrasi larutan NaOH (%)
10	6,57
12	8,00
14	9,50
16	11,06
18	12,68
20	14,36
22	16,09
24	17,87
26	19,70

Pemurnian dilakukan dengan menggunakan larutan NaOH yang jumlahnya (disebut perlakuan) tergantung dari kadar asam lemak bebas (ALB, dalam %).

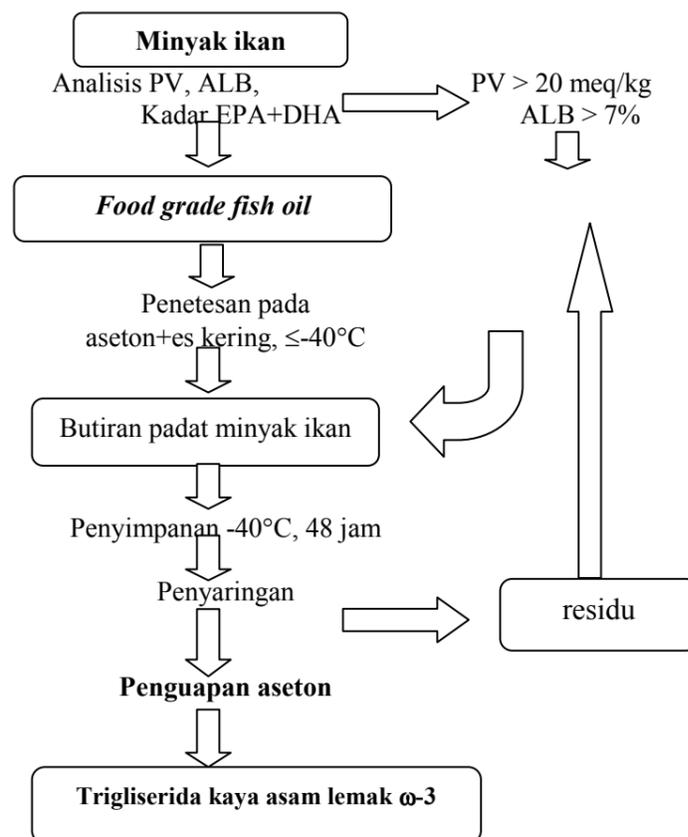
$$\text{Perlakuan} = \frac{(0,142 \times \text{kadar ALB}) + \text{excess}}{\% \text{NaOH}/100}$$

Jumlah konsentrasi NaOH yang digunakan adalah 14,36% (derajat Baume 20) dengan kelebihan (*excess*) 0,20, berdasarkan Tabel 1 dan 2, sehingga:  
 $(0,142 \times \text{kadar ALB}) + 0,20$

$$\text{Perlakuan} = \frac{14,36}{100}$$

**Pembuatan trigliserida kaya asam lemak ω-3**

Trigliserida kaya asam lemak ω-3 dibuat dengan metode pemadatan cepat Moffat *et al* (1993) yang dimodifikasi. Pada metode Moffat *et al.* (1993) digunakan nitrogen cair untuk membentuk butiran padat minyak. Nitrogen cair sangat mahal dan sangat sulit ditangani, oleh karena itu pada penelitian ini digunakan es kering yang merupakan limbah dari proses pembuatan pupuk. Pembuatan trigli-serida kaya asam lemak ω-3 adalah sebagai berikut:



Gambar 2. Skema pembuatan trigliserida kaya asam lemak ω-3 yang dimodifikasi

Minyak ikan (200 g) diteteskan dengan pipet pasteur pada labu yang berisi campuran 1 liter aseton (telah didinginkan pada suhu  $-40^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam) dan 1 kg es kering (suhu campuran aseton dan es kering  $\leq -40^{\circ}\text{C}$ ), sehingga terbentuk butiran minyak dengan ukuran sebesar tetesan minyak dengan menggunakan pipet pasteur. Butiran minyak segera memadat dan membentuk butiran padat minyak ikan.

Es kering diuapkan dengan cara dibiarkan pada suhu ruang. Butiran padat minyak ikan dalam aseton disimpan pada suhu  $-40^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam dan sekali-sekali diaduk. Butiran padat minyak ikan dipisahkan dari aseton dengan penyaringan dengan kertas saring kasar pada suhu  $-40^{\circ}\text{C}$ . Aseton dihilangkan dengan evaporator berputar (suhu penangas air  $30^{\circ}\text{C}$ ) dan sisa aseton dihilangkan dengan gas nitrogen. Secara skematis pembuatan trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 dapat dilihat pada Gambar 2. Jika residu pemadatan cepat masih mengandung asam lemak  $\omega$ -3 dalam kadar yang tinggi, dilakukan proses pemadatan cepat kembali dari residu.

#### **Pemurnian trigliserida kaya asam lemak $\omega$ -3**

Jika trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 yang dihasilkan mempunyai kadar asam lemak bebas dan bilangan peroksida lebih tinggi dari standar minyak ikan kasar *International Association of Fish Meal Manufacturers*, dilakukan proses pemurnian kembali terhadap trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 dengan cara yang sama dengan pemurnian terhadap minyak ikan.

#### **Hasil dan Pembahasan**

##### **Bahan baku minyak ikan dan proses pemurnian**

Minyak ikan yang digunakan mempunyai karakteristik berwarna coklat tua, berbau amis dan busuk, dengan bilangan peroksida 39,97 meq/kg dan kadar asam

lemak bebas 8,97% (Tabel 3). Komposisi asam lemak minyak ikan yang telah dimurnikan dapat dilihat pada Tabel 4.

Minyak ikan masih mengandung bilangan peroksida dan kadar asam lemak bebas yang lebih tinggi dari standar yang ditetapkan oleh *International Association of Fish Meal Manufacturers* untuk minyak ikan kasar (*crude fish oil*) yaitu bilangan peroksida 3-20 meq/kg dan kadar asam lemak bebas 1-7% (Bimbo, 1998). Oleh karena itu, dilakukan proses pemurnian (*refining*) dengan alkali.

Pemurnian dilakukan dengan cara saponifikasi pada suhu  $60^{\circ}\text{C}$  selama 30 menit dengan diberi gas nitrogen pada bagian atas minyak ikan untuk mencegah oksidasi. Jumlah larutan NaOH 14,36% yang ditambahkan pada proses pemurnian ini adalah 10,26% (b/b minyak ikan). Jumlah dan konsentrasi NaOH yang digunakan harus tepat untuk mencegah hidrolisis trigliserida oleh NaOH yang terlalu kuat dan membentuk sabun yang berlebihan.

Hasil pemurnian menghasilkan minyak dengan bilangan peroksida 13,32 meq/kg dan kadar asam lemak bebas 2,63% (Tabel 3). Proses pemurnian berhasil menurunkan kadar asam lemak bebas, karena asam lemak bebas tersabunkan oleh NaOH. Penurunan bilangan peroksida disebabkan oleh sebagian peroksida hasil oksidasi teremulsikan atau terserap pada fraksi tersabunkan. Pada proses pemurnian ini fraksi tersabunkan dipisahkan dari bagian yang tidak tersabunkan (trigliserida).

Rendemen yang dihasilkan pada proses pemurnian ini adalah 50% dari berat minyak ikan asal. Rendemen yang rendah yang dihasilkan kemungkinan disebabkan oleh tingginya fraksi non minyak dalam minyak hasil samping pengalengan yang ikut pada fraksi tersabunkan.

Tabel 3. Beberapa sifat minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru dan yang telah dimurnikan

Sifat	Minyak ikan asal	Minyak ikan yang dimurnikan
Bilangan peroksida (meq/kg)	39,97	13,32
Asam lemak bebas (%)	8,97	2,63
Rendemen (%)	-	50
Penampakan dan bau	bau amis dan busuk, warna coklat tua, agak keruh	bau amis dan agak busuk, warna coklat tua

Tabel 4. Komposisi asam lemak minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru yang telah dimurnikan

Jenis asam lemak	Persentase <sup>a</sup>
C16:0	33,91
C18:0	0,44
C18:1 $\omega$ -9	20,92
C18:2 $\omega$ -6	td <sup>b</sup>
C18:3 $\omega$ -3	1,54
C20:0	3,84
C20:4 $\omega$ -6	2,12
C24:0	td <sup>b</sup>
EPA	9,60
DHA	10,09
EPA + DHA	19,69
Total asam lemak $\omega$ -3	21,23

<sup>a</sup> berdasarkan persentase luas area puncak asam lemak yang diidentifikasi terhadap total luas area puncak asam lemak yang muncul pada kromatogram

<sup>b</sup> tidak terdeteksi

Menurut Hodgum (1995), pemurnian dengan alkali menghilangkan beberapa jenis kotoran (*impurities*) dalam minyak seperti fosfatida, pro-tein, atau fragmen protein. Pemurnian dengan alkali hampir secara sempurna menghilangkan asam lemak bebas, yang diubah menjadi sabun yang tidak larut dalam minyak. Seluruh bahan-bahan yang tidak larut dalam fraksi minyak akan keluar dari fraksi minyak pada saat proses hidrasi. Hidrasi terjadi dengan menggunakan air dari larutan alkali.

#### Trigliserida kaya asam lemak $\omega$ -3 dan proses pemurnian

Trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 dibuat dengan metode pemadatan cepat Mof-fat *et al.* (1993) yang dimodifikasi. Pada penelitiannya, Moffat *et al.* (1993) menganalisis minyak hasil pemadatan cepat yang disebut trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 dengan metode Ag<sup>+</sup>HPLC. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa minyak yang dihasilkan dari proses pemadatan cepat adalah trigliserida yang kaya dengan PUFA. Dengan mengacu pada penelitian tersebut, karena menggunakan metode yang sama, dapat dipastikan bahwa asam lemak yang dianalisis pada minyak hasil pemadatan cepat pada penelitian ini, sebagian besar ada dalam bentuk trigliserida.

Metode Moffat *et al.* (1993) menggunakan nitrogen cair untuk menghasilkan butiran padat minyak ikan, sedangkan pada penelitian ini digunakan aseton yang telah didinginkan pada suhu -40°C selama 24 jam dan dicampur es kering (Gambar 2). Penggunaan es kering bertujuan untuk menurunkan suhu aseton. Campuran aseton dan es kering ini mempunyai suhu  $\leq -40^\circ\text{C}$ , sedangkan nitrogen cair mempunyai suhu -60°C (Moffat *et al.*, 1993).

Lama ekstraksi dengan aseton pada penelitian ini dilakukan selama 48 jam pada suhu -40°C, sedangkan pada metode Moffat *et al.* (1993) dilakukan selama 42 jam pada suhu -60°C. Penggunaan

suhu  $-40^{\circ}\text{C}$  disebabkan oleh keterbatasan alat yang tersedia.

Trigliserida dengan asam lemak yang lebih jenuh akan lebih sulit mencair dan larut dalam aseton pada suhu ekstraksi yang lebih rendah. Asam lemak yang lebih jenuh dari EPA dan DHA, yaitu asam arakhi-donat ( $\text{C}_{20:4\omega-6}$ ) dalam bentuk asam lemak bebas mempunyai titik leleh  $-49,5^{\circ}\text{C}$  (Gunstone, 1996). EPA dan DHA dalam bentuk asam lemak bebas dipastikan mempunyai titik leleh kurang dari  $-49,5^{\circ}\text{C}$  karena bersifat lebih tidak jenuh dibandingkan asam arakhidonat. Titik leleh untuk trigli-serida yang mengandung asam lemak  $\omega$ -3 tidak dapat dipastikan karena tergantung dari posisi asam lemak  $\omega$ -3 pada atom C gliserol (*stereospecific number*). Menurut Stansby (1982), titik leleh trigliserida yang mengandung asam lemak tidak jenuh tergantung tidak hanya pada panjang rantai, tetapi juga pada posisi asam lemak tidak jenuh tersebut.

Waktu ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini lebih lama dibandingkan yang digunakan oleh Moffat *et al.* (1993) dengan tujuan meningkatkan rendemen. Diperkirakan rendemen dari minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru akan lebih rendah dibandingkan minyak ikan murni (bukan hasil samping) karena fraksi non minyak yang lebih tinggi, sehingga untuk meningkatkan rendemen lama ekstraksi diperpanjang

Proses pemadatan cepat dari minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru yang telah dimurnikan menghasilkan trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 (Trigliserida I) dengan bilangan peroksida 32,90 meq/kg dan kadar asam lemak bebas

7,84% (Tabel 5). Pada proses ini terjadi peningkatan bilangan peroksida dan kadar asam lemak bebas sebesar 2,47 dan 2,98 kali. Peningkatan bilangan peroksida terjadi karena produk-produk oksidasi lemak berupa peroksida lebih mudah larut dalam aseton daripada dalam minyak dan pada suhu  $-40^{\circ}\text{C}$  bersifat cair. Produk-produk peroksidasi lemak seperti hidroperoksida lebih bersifat polar dibandingkan trigliserida, sehingga lebih larut dalam aseton yang polaritasnya lebih tinggi dibandingkan trigliserida

Asam-asam lemak mempunyai titik leleh yang lebih rendah dibandingkan trigliserida (Gunstone, 1996). Kemungkinan pada suhu  $-40^{\circ}\text{C}$ , asam-asam lemak bebas dalam minyak ikan yang digunakan pada penelitian ini bersifat cair dan larut dalam aseton. Asam-asam lemak bebas ini terakumulasi dalam aseton yang juga melarutkan trigliserida yang mengandung asam lemak  $\omega$ -3, sehingga kadar asam lemak bebas dalam trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 yang dihasilkan mengalami peningkatan.

Trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 yang dihasilkan dari proses pemadatan cepat dari minyak ikan yang mempunyai bilangan peroksida dan kadar asam lemak bebas yang lebih tinggi dari standar bilangan peroksida dan kadar asam lemak bebas *International Association of Fish Meal Manufacturers* untuk minyak ikan kasar (Bimbo, 1998). Minyak ini dimurnikan lebih lanjut dengan proses saponifikasi. Jumlah larutan NaOH yang digunakan adalah 9,15% (b/b minyak ikan) dengan konsentrasi 14,36% (b/v).

Tabel 5. Beberapa sifat trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 dan residu hasil pemadatan cepat dari minyak ikan yang telah dimurnikan

Jenis Minyak	Bilangan Peroksida (meq/kg)	Asam Lemak Bebas (%)	Rendemen (%)	Penampakan dan Bau
Trigliserida I	32,90	7,84	9,73	jingga kecoklatan, bening, bau agak amis
Trigliserida I yang dimurnikan	17,11	0,42	75,20	jingga bening, bau agak amis
Residu I	20,94	2,03	-	-
Trigliserida II	49,64	5,67	5,90	jingga kecoklatan, bening, bau agak amis
Trigliserida II yang dimurnikan	19,53	0,91	72,85	jingga, bening, bau agak amis
Residu II	12,86	0,50	-	-
Trigliserida III <sup>a</sup> (Trigliserida Kaya Asam Lemak $\omega$ -3)	17,75	0,62	-	jingga bening, bau agak amis

<sup>a</sup> campuran dari 75,76% Trigliserida I dan 24,24% Trigliserida II (yang telah dimurnikan)

Hasil pemurnian menghasilkan trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 dengan bilangan peroksida 17,11 meq/kg dan kadar asam lemak bebas 0,42%. Rendemen yang dihasilkan dari proses ini adalah 75,20%. Penurunan jumlah minyak terjadi karena sebagian minyak tersabunkan dan pada proses ini fraksi tersabunkan yang mengandung sebagian besar peroksida dan asam lemak bebas dibuang.

Komposisi asam lemak trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 yang telah dimurnikan dari minyak ikan adalah kadar EPA 18,30%, DHA 18,49%, EPA+DHA 36,80%, dan total asam lemak  $\omega$ -3 38,67% (Tabel 6). Proses pemadatan cepat menghasilkan pengayaan EPA+DHA 1,87 kali. Rendemen yang dihasilkan pada proses ini adalah 9,73% (b/b) dari minyak ikan yang telah dimurnikan. Moffat *et al.* (1993) melaporkan bahwa proses pemadatan cepat minyak ikan sardin (*Sardina pilchardus*) menghasilkan tingkat pengayaan 1,54 kali dan rendemen 26,0%. Moffat *et al.* (1993) tidak menyebutkan batasan minimum kadar asam lemak  $\omega$ -3 dalam trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3. Metode Moffat *et al.* (1993) menunjukkan bahwa dengan proses pemadatan cepat, trigliserida yang dihasilkan menjadi kaya akan asam lemak  $\omega$ -3.

Pada penelitian ini, kadar asam lemak bebas dalam trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 yang telah dimurnikan cukup rendah (Tabel 5) dengan kadar asam lemak  $\omega$ -3 tinggi (Tabel 6), sehingga sebagian besar asam lemak  $\omega$ -3 kemungkinan besar ada dalam bentuk trigliserida.

Rendemen yang rendah yang dihasilkan disebabkan bahan baku minyak ikan ini mengandung fraksi non minyak seperti protein dan fragmen protein, yang tetap beku pada suhu -40°C. Fraksi non minyak tersebut tetap berada pada butiran padat minyak ikan dan tidak larut dalam aseton. Perbedaan tingkat pengayaan dari hasil penelitian Moffat *et al.* (1993) kemungkinan disebabkan oleh perbedaan komposisi asam lemak selain asam lemak  $\omega$ -3 dan posisi asam lemak  $\omega$ -3 pada kerangka atom C gliserol, yang mempengaruhi pelarutan asam lemak  $\omega$ -3 dalam aseton. Pada penelitian ini tingkat pengayaan lebih tinggi dibandingkan hasil Moffat *et al.* (1993) walaupun suhu yang digunakan untuk ekstraksi lebih tinggi.

Residu pemadatan cepat mempunyai komposisi asam lemak  $\omega$ -3 seperti terlihat pada Tabel 6 (Residu I) dengan kadar EPA 9,00%, DHA 8,91%, EPA+DHA

17,91%, dan total asam lemak  $\omega$ -3 19,51%. Residu ini masih mengandung asam lemak  $\omega$ -3 yang cukup tinggi. Diduga pada proses ekstraksi asam lemak  $\omega$ -3 dari butiran padat minyak ikan, tidak semua trigliserida yang mengandung asam lemak  $\omega$ -3 larut dalam aseton. Mekanisme pelarutan trigliserida yang mengandung asam lemak  $\omega$ -3 tidak diteliti pada penelitian ini. Kemungkinan mekanisme pelarutan ini sangat dipengaruhi oleh posisi asam lemak  $\omega$ -3 pada kerangka atom karbon gliserol, jenis asam lemak lain, posisi trigliserida yang mengandung asam

lemak  $\omega$ -3 (pada bagian permukaan atau bagian dalam butiran padat minyak ikan) dan ukuran butiran padat minyak ikan.

Residu pemadatan cepat masih mengandung asam lemak  $\omega$ -3 yang cukup tinggi, sehingga dilakukan proses pemadatan cepat kembali dengan cara yang sama dengan bahan baku minyak ikan yang telah dimurnikan. Residu ini (Residu I) mempunyai bilangan peroksida sebesar 20,94 meq/kg dan kadar asam lemak bebas sebesar 2,03% (Tabel 5).

Tabel 6. Komposisi asam lemak<sup>a</sup> dari minyak ikan, trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 dan residu hasil pemadatan cepat

Jenis Asam Lemak	Minyak Ikan Asal	Trigliserida I	Residu I	Trigliserida II	Residu II	Trigliserida III <sup>b</sup>
C16:0	33,91	22,92	34,27	23,37	35,21	23,32
C18:0	0,44	0,90	0,43	1,10	0,39	1,06
C18:1 $\omega$ -9	20,92	13,25	22,84	13,12	21,99	13,44
C18:2 $\omega$ -6	td <sup>c</sup>	2,46	td <sup>c</sup>	2,83	td <sup>c</sup>	2,66
C18:3 $\omega$ -3	1,54	1,79	1,60	1,88	1,54	1,88
C20:0	3,84	1,79	4,06	1,04	4,36	1,65
C20:4 $\omega$ -6	2,12	3,50	2,12	3,65	1,97	3,41
EPA	9,60	18,30	9,00	18,05	7,95	18,03
DHA	10,09	18,49	8,91	16,38	9,06	17,34
EPA+DHA	19,69	36,80	17,91	34,43	17,01	35,37
Total asam Lemak $\omega$ -3	21,23	38,67	19,51	36,31	18,55	37,25
Pengayaan <sup>d</sup>		1,87		1,92		

<sup>a</sup> berdasarkan persentase luas puncak asam lemak terhadap total luas puncak asam-lemak yang muncul pada kromatogram

<sup>b</sup> campuran dari 75,76% Trigliserida I dan 24,24% Trigliserida II

<sup>c</sup> tidak terdeteksi

<sup>d</sup> pengayaan = (kadar EPA+DHA dalam trigliserida)/(kadar EPA+DHA dalam minyak ikan asal)

Hasil pemadatan cepat dari Residu I menghasilkan trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 (Trigliserida II) dengan bilangan peroksida 49,64%, kadar asam lemak bebas 5,67%, dan rendemen 5,90% (berdasarkan berat Residu I) (Tabel 5). Proses pemadatan cepat dari Residu I menghasilkan peningkatan bilangan peroksida 2,37 kali dan kadar asam lemak bebas 2,79 kali. Peningkatan ini terjadi karena sebagian besar peroksida dan asam lemak bebas larut dalam aseton. Rendemen yang dihasilkan lebih rendah dari Trigliserida I, yang disebabkan kadar asam lemak  $\omega$ -3 lebih rendah dibandingkan minyak ikan yang telah dimurnikan.

Trigliserida II mempunyai kadar asam lemak bebas dan bilangan peroksida yang lebih tinggi dari standar bilangan peroksida dan kadar asam lemak bebas untuk minyak ikan kasar (Bimbo, 1998). Untuk menurunkan kadar asam lemak bebas dan bilangan peroksida dilakukan proses pemurnian dengan saponifikasi. Jumlah larutan NaOH yang digunakan adalah 7,0% (b/b) dengan konsentrasi 14,36% (b/v). Hasil pemurnian menghasilkan Trigliserida II dengan bilangan peroksida 19,53 meq/kg, kadar asam lemak bebas 0,91%, dan rendemen 72,85% (Tabel 5).

Komposisi asam lemak dari Trigliserida II yang telah dimurnikan dapat dilihat pada Tabel 6, dengan kadar EPA 18,05%, DHA 16,38%, EPA+DHA 34,43%, dan total asam lemak  $\omega$ -3 36,31%. Pengayaan Trigliserida II adalah 1,92 kali, lebih tinggi dibandingkan Trigliserida I. Hal ini disebabkan butiran padat minyak ikan yang terbentuk pada proses pemadatan cepat berukuran lebih kecil, sehingga trigliserida yang mengandung asam lemak  $\omega$ -3 lebih mudah larut dalam aseton.

Proses pemadatan cepat menghasilkan komposisi asam lemak jenuh yang menurun dan asam lemak tidak jenuh yang semakin meningkat. Re-sidu dari proses pemadatan cepat mempunyai kadar asam lemak jenuh yang meningkat dan asam lemak tidak jenuh yang menurun.

## Kesimpulan

Kadar asam lemak bebas dan bilangan peroksida minyak ikan hasil samping pengalengan ikan lemuru dapat diturunkan dengan pemurnian alkali sehingga memenuhi standar minyak ikan kasar. Modifikasi proses pemadatan cepat yang lebih murah dan mudah berhasil menghasilkan trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3. Pemurnian dengan alkali menghasilkan trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3 dengan kadar asam lemak bebas dan bilangan peroksida yang memenuhi standar minyak ikan kasar. Residu proses pemadatan cepat dapat didaur ulang melalui proses pemadatan cepat kembali untuk menghasilkan trigliserida kaya asam lemak  $\omega$ -3.

## Saran

Minyak hasil samping pengalengan ikan perlu ditangani segera dengan baik setelah dihasilkan untuk meminimalkan kerusakan karena oksidasi, sehingga kadar asam lemak bebas, bilangan peroksida, dan produk-produk hasil oksidasi lainnya dapat ditekan. Semua proses yang dilakukan pada penelitian ini kemungkinan dapat diterapkan pada minyak hasil samping penepungan atau hasil samping pengalengan dengan jenis ikan yang berbeda.

## Daftar Pustaka

- Adnan, M. 1980. *Lipid Properties and Stability of Partially Defatted Peanuts*. PhD Thesis. Univ. of Illinois, Urbana-Champaign.
- AOAC. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15<sup>th</sup> ed. Vol 2. Virginia, USA.
- Bimbo, A.P. 1998. *Guidelines for Characterizing Food-Grade Fish Oil*. INFORM 9(5): 473-483.

- Chen, T-C, and Y-H. Ju. 2001. *Polyunsaturated Fatty Acid Concentrates from Borage and Linseed Oil Fatty Acids*. JAOCS 78(5): 485-488.
- Cho, S.Y., K. Miyashita, T. Miyazama, K. Fujimoto, and T. Kaneda. 1987. *Autooxidation of Ethyl Eicosapentaenoic and Docosahexaenoic*. JAOCS 64(6): 876-879.
- 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.
- Estiasih, T. 1996. *Mikroenkapsulasi Konsentrat Asam lemak Omega-3 dari Limbah Cair Pengalengan Ikan Lemuru*. Thesis S<sub>2</sub>. Program Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada.
- 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., C.M. van Gent, J.B. Luten, R.W. de Jong, and E. van Doorn. 1982. *Preparation of an n-3 Fatty Acids Concentrate from Cod Liver Oil*. JAOCS 59(3): 117-118.
- Harris, W.S. 1997. *n-3 Fatty Acids and Serum Lipoproteins: Human Studies*. Am. J. Clin. Nutr. 65(Supplement): 1645s-1654s.
- Hodgum, 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.
- 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*. J. Nutr. 124: 1898-1906.
- Moffat, C.F., A.S. McGill, R. Hardy, and R.S. Anderson. 1993. *The Production of Fish Oils Enriched in Polyunsaturated Fatty Acid-Containing Triglycerides*. JAOCS 70(2): 133-138.
- Nettleton, J.A. 1995. *Omega-3 Fatty Acids and Health*. Chapman & Hall, New York.
- Pigott, G.M. 1996. *Marine Oils*. In Y.H. Hui (ed.). *Bailey's Industrial Oil and Fat Products. Edible Oil and Fat Products: Products and Application Technology*. Fifth edition, Vol. 3. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Prisco, D., M. Fileppini, R. Paniccia, G.F. Bensini, R. Abzete, and G.G.N. Sernerri. 1996. *Effect of  $\omega$ -3 Polyunsaturated Fatty Acid Intake on Phospholipid Fatty Acid Composition in Plasma and Erythrocytes*. Am. J. Clin. Nutr. 124: 925-932.
- Shahidi, F. 2002. *Marine Nutraceutical*. INFORM 13: 57-63.
- Sinclair, J. 1993. *The Nutritional Significance of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids for Human*. ASEAN Food Journal 8(1): 3-13.
- Spector, A.A. 1999. *Essentiality of Fatty Acids*. Lipids 34: S1-S3.

- Stansby, M.E. 1982. *Properties of Fish Oils and Their Application to Handling of Fish and to Nutritional and Industrial Use*. In R.E. Martin (ed.). *Chemistry and Biochemistry of Marine Product*. AVI Publishing Co., Westport, Connecticut.
- Wanasundara, U.N. and F. Shahidi. 1999. *Concentration of Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids of Seal Blubber Oil by Urea Complexation: Optimatizaton of Reaction Condition*. Food Chem. 65: 41-49.
- Yunizal, 2002. *Konsentrat Asam Lemak Omega-3 dari Minyak Ikan Lemuru*. Makalah Hasil Penelitian. Departemen Peneli-tian Perikanan Laut, Departement of Marine Affairs and Fisheries Republic of Indonesia.
- Zaitzev, V. I. Kizevetteb, L. Lagunov, T. Makarova, L. Minde, and V. Podsevalov. 1969. *Fish Curing and Processing*. MIR Publish-ing, Moscow