

## ETIL ESTER MINYAK IKAN TUNA SEBAGAI BAHAN PENYEDIAAN SUPLEMEN OMEGA-3 MENGGUNAKAN PERLAKUAN NaOH DAN SUHU

Agus Yulianto<sup>1\*</sup>, Sugeng Heri Suseno<sup>2</sup>, Roni Nugraha<sup>3</sup>

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University

Diterima: 31 Maret 2022/Disetujui: 24 Juni 2022

\*Korespondensi: [shsuseno@apps.ipb.ac.id](mailto:shsuseno@apps.ipb.ac.id)

**Cara sitasi (APA Style 7<sup>th</sup>):** Yulianto, A., Suseno, S. H. & Nugraha, R. (2022). Etil Ester Minyak Ikan Tuna sebagai Bahan Penyediaan Suplemen Omega-3 menggunakan Perlakuan NaOH dan Suhu. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(2), 294-306. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v25i2.40547>

### Abstrak

Asam lemak omega-3 rantai panjang berperan penting bagi kesehatan manusia namun asam lemak tidak jenuh dalam bentuk trigliserida rentan mengalami oksidasi sehingga perlu dimodifikasi antara lain dengan mengubahnya menjadi etil ester. Transesterifikasi dipengaruhi oleh berbagai faktor, yaitu suhu, kecepatan pengadukan, rasio molar etanol-minyak dan konsentrasi katalis. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan konsentrasi NaOH dan suhu terhadap parameter oksidasi minyak etil ester dari hasil samping minyak ikan tuna hasil pengalengan yang sesuai dengan standar IFOS. Penelitian ini menggunakan metode eksperimen rancangan acak lengkap faktorial (RALF) dengan taraf perlakuan konsentrasi NaOH (0,5; 1; 1,5)%, suhu (60; 70 dan 80)°C. Total asam lemak jenuh (SFA) pada minyak ikan tuna kasar sebesar 31,59%. Adapun asam lemak tak jenuh tunggal (MUFA) sebesar 30,34%, sedangkan asam lemak tak jenuh majemuk (PUFA) adalah sebesar 24,94%. PUFA didominasi DHA (14,15%), sementara kandungan asam lemak EPA sebesar 2,90%. Minyak ikan tuna ditransesterifikasi menjadi etil ester terpilih yakni perlakuan dengan konsentrasi NaOH 0,5% dan suhu 60°C, dengan rendemen 93,90% parameter oksidasi terbaik dan sudah memenuhi standar IFOS (2014) yakni asam lemak bebas (FFA) 0,63±0,02%, bilangan peroksida (PV) 2,38±0,00 mEq/kg, bilangan p-anisidin (p-AnV) 2,37±0,44 mEq/kg; nilai total oksidasi (TOTOKS) 7,14±0,4 mEq/kg.

Kata kunci: etil ester, IFOS, minyak ikan, oksidasi

### Abstract

Long-chain omega-3 fatty acids play an important nutritional role for human health. However, unsaturated fatty acids in the form of triglycerides are susceptible to oxidation, so they need to be modified, among others, by converting them into ethyl esters. Transesterification is influenced by various factors, temperature, stirring speed, ethanol-oil molar ratio and catalyst concentration. The purpose of this study was to determine the effect of NaOH concentration and temperature on the chemical and physical quality of ethyl ester from canned tuna by-product. This study used factorial design with two factor with treatment concentration of NaOH (0.5; 1; 1.5)%, temperature (60, 70 and 80)°C. Total SFA in crude tuna fish oil was 31.59%. The total content of MUFA was 30.34%, while in PUFA was 24.94% with DHA (14.15%) as the dominant fatty acid, while the fatty acid content of EPA was (2.90%). Tuna fish oil was transesterified into selected ethyl esters, treatment with 0.5% NaOH concentration and temperature of 60°C, with yield 93.90% the best oxidation parameters and in accordance with the IFOS (2014) standards, free fatty acids (FFA) 0.63±0.02%, peroxide value (PV) 2.38±0 mEq/kg, p-anisidin value (p-AnV) 2.37±0.44 mEq/kg, total oxidation value (TOTOX) 7.14±0,4 mEq/kg.

Keywords: ethyl ester, fish oil, IFOS, oxidation

## PENDAHULUAN

Minyak ikan mengandung asam lemak tak jenuh majemuk atau *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) omega-3 (n-3), terutama asam eikosapentanoat (C20:5n-3; EPA) dan asam dokosaheksanoat (C22:6n-3; DHA) (Vasile *et al.*, 2017). Kandungan omega-3 pada minyak ikan tuna yang belum dimurnikan masing-masing sebesar EPA 4,25% dan DHA 24,18% (Suseno 2015). Estiasih *et al.* (2013) menunjukkan hasil profil asam lemak terutama DHA dan EPA minyak ikan tuna hasil samping industri pengalengan masing-masing yakni 25,41% dan 6,03%. Kandungan asam lemak tak jenuh memiliki manfaat bagi kesehatan manusia, di antaranya sebagai suplemen makanan (Adeoti & Hawboldt, 2014), sebagai zat anti-inflamasi dan antiaritmia dengan efek menguntungkan pada fungsi jantung (Endo & Arita 2016). Kebutuhan minyak ikan Indonesia masih besar yang ditunjukkan pada volume impor minyak ikan Indonesia tahun 2020 yang mencapai sekitar USD 16.012.000 (KKP 2020). Pada bulan Januari-Februari volume impor minyak ikan yakni 1.476 ton dengan nilai USD 2.180.000 (KKP 2021). Tetapi, minyak ikan yang diimpor ke Indonesia banyak yang belum memenuhi *International Fish Oil Standards* (IFOS). Suseno *et al.* (2018) menemukan dari 8 minyak ikan komersial *softgel capsule* impor yang beredar di Jawa Tengah, hanya satu yang telah memenuhi standar IFOS untuk selanjutnya untuk minyak ikan impor yang beredar di Jawa Timur hanya 1 dari 8 sampel yang telah memenuhi standar IFOS (Suseno *et al.*, 2019). Minyak ikan tuna yang belum dimurnikan didapat dari hasil samping produksi pengalengan namun belum dapat dimanfaatkan untuk pangan karena kualitas yang rendah, sehingga hanya dimanfaatkan sebagai penambah komposisi pada pakan ternak (Maulana *et al.*, 2014). Kualitas dan mutu minyak ikan hasil samping industri dapat ditingkatkan dengan proses pemurnian, sehingga sesuai dengan standar minyak ikan untuk pangan. Pemurnian minyak ikan dapat menggunakan pemurnian bertingkat (Dari *et al.*, 2017), penggunaan berbagai

adsorben dan kecepatan sentrifugasi (Suseno *et al.*, 2014), netralisasi alkali (Feryana *et al.*, 2014); (Bija *et al.*, 2017) atau pemurnian dengan *degumming* dengan NaCl (Hulu *et al.*, 2017).

Secara umum minyak ikan mudah mengalami oksidasi karena kandungan PUFA yang tinggi. Minyak ikan tersedia dalam bentuk asam lemak bebas, trigliserida, dan etil ester. Minyak ikan trigliserida lebih mudah diserap oleh tubuh. Kelemahan dari etil ester adalah rendahnya kemampuan struktur kimia ester asam lemak untuk diabsorpsi pada sistem pencernaan (Estiasih 2009). Selain dalam bentuk trigliserida, juga disajikan dalam bentuk struktur kimia etil ester yang mempunyai kestabilan oksidasi yang lebih baik dibandingkan trigliserida. Etil ester asam lemak n-3 saat ini telah banyak dijual sebagai suplemen kesehatan (Ritter *et al.*, 2015). Yoshi *et al.* (2002) melaporkan etil ester jauh lebih tahan terhadap oksidasi dibandingkan trigliserida. Perez *et al.* (2015) melaporkan bahwa untuk memperkaya kandungan PUFA, EPA dan DHA, minyak ikan dimurnikan dan distabilkan sebagai etil ester. Kandungan omega-3 yang tinggi pada trigliserida menyebabkan minyak tersebut cenderung tidak stabil terhadap kerusakan oksidasi, oleh karena itu perlu dilakukan proses transesterifikasi untuk mengubah struktur trigliserida menjadi bentuk etil ester yang lebih tahan terhadap oksidasi. Moser (2009) menyatakan bahwa senyawa ikatan rangkap dengan berat molekul yang lebih rendah lebih stabil dari oksidasi daripada senyawa ikatan rangkap yang memiliki berat molekul tinggi. Faktor suhu, rasio molar metanol-minyak, kecepatan pengadukan, dan konsentrasi katalis akan memengaruhi proses transesterifikasi (Sudrajat *et al.*, 2010).

Penggunaan katalis bertujuan untuk mempercepat proses transesterifikasi. Katalis basa natrium hidroksida (NaOH), merupakan katalis yang dapat digunakan pada suhu yang rendah dan memiliki kemampuan katalisator yang tinggi. Penelitian ini akan menentukan penggunaan konsentrasi katalis dan suhu yang berbeda untuk mendapatkan minyak ikan etil ester yang sesuai dengan standar IFOS.

## BAHAN DAN METODE

### Alat dan Bahan

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini meliputi minyak ikan tuna hasil samping pengalengan ikan tuna didapatkan dari UD Samudra Kencana. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini adalah etanol *food grade*, natrium hidroksida (NaOH) (Merck), indikator fenolftalein (indikator PP) (Merck), kloroform (Merck), (KOH) (Merck), asam asetat glasial (Merck), larutan kalium iodida (KI) (Merck), air suling, amilum (Merck), natrium tiosulfat ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) (Merck), isooktan (Merck), p-anisidin (Sigma Aldrich), n-heksana (Merck), dan Magnesol XL. Alat yang digunakan untuk karakterisasi dan analisis kualitas minyak adalah timbangan digital (Quattro), spektrofotometer UV-VIS (Agilent 8453), pengaduk (Corning PC-420 D), perangkat kromatografi gas merk Shimadzu GC2010 Plus menggunakan standar Supelco<sup>TM</sup> 37 Component FAME Mix, Brookfield Viscometer, *high speed refrigerated centrifuge* merk HITACHI Himac CR 21G dan evaporator vakum putar.

### Metode Penelitian

Sampel minyak ikan kasar didapatkan dari UD Samudra Kencana. Penelitian dilakukan pada beberapa tahap yakni karakterisasi minyak ikan tuna kasar, pemurnian minyak ikan tuna, penelitian untuk mengetahui konsentrasi katalis NaOH dan suhu yang tepat pada proses transesterifikasi. Transesterifikasi minyak ikan tuna terpilih mengacu pada (Klinkesorni *et al.*, 2004) dengan sedikit modifikasi. Langkah pertama yakni adalah NaOH ditimbang dan ditambahkan ke dalam etanol *pharma grade* 15 mL, diaduk menggunakan pengaduk dengan kecepatan 850 rpm dengan waktu 30 menit kemudian ditambahkan minyak ikan 50 mL dan dilakukan pengadukan menggunakan pengaduk dengan kecepatan 850 rpm selama 75 menit. Hasil reaksi didiamkan selama 24 jam dan membentuk lapisan dengan dekantasi dan dipisahkan residu etanol dengan evaporasi. Perlakuannya adalah konsentrasi katalis NaOH (0,5%; 1,0%, dan 1,5% b/v dari reaktan) dan suhu (60; 70; 80 °C). Analisis logam berat, parameter oksidasi pengujian

meliputi (FFA, PV, p-AnV, TOTOX), dan profil asam lemak.

### Analisis asam lemak bebas (FFA) (Association of Official Analytical Chemists [AOAC], 2005)

Minyak ikan tuna ditimbang 2-2,5 g kemudian ditambah 25 mL alkohol 95% lalu dipanaskan dalam penangas air selama 10 menit, selanjutnya campuran tersebut ditetesi indikator fenolftalein (PP) sebanyak 2 mL. Campuran dikocok dan dititrasi dengan kalium hidroksida (KOH) 0,1 N sampai muncul warna merah muda yang tidak hilang dalam 10 detik. Persentase FFA dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{FFA (\%)} = \frac{A \times N \times M}{10G}$$

Keterangan:

- FFA = Asam lemak bebas (%)
- A = Jumlah titrasi KOH (mL)
- N = Normalitas larutan KOH (0,1 N)
- M = Bobot molekul asam lemak dominan asam oleat (256,4 g/mol)
- G = Bobot contoh (g)

### Analisis bilangan peroksida (PV) (AOAC, 2005)

Sampel minyak ikan tuna ditimbang sebanyak 2-2,5 g kemudian ditambah 30 mL larutan asam asetat glasial dan kloroform (3:2), selanjutnya ditambah 0,5 mL larutan kalium iodida (KI), larutan dikocok dengan hati-hati agar tercampur, ditambah 30 mL akuades. Larutan indikator pati 1% sebanyak 0,5 mL ditambahkan yang ditandai dengan perubahan warna larutan menjadi biru. Tahap selanjutnya dilakukan titrasi larutan 0,01 N sodium tiosulfat hingga larutan berubah warna menjadi kuning. Perhitungan bilangan peroksida dilakukan dengan persamaan berikut::

$$\text{PV} = \frac{S \times N \times 1000}{G}$$

Keterangan:

- S = Volume titrasi sodium tiosulfat (mL)
- N = Normalitas sodium tiosulfat (0,01)
- G = Berat sampel minyak ikan (g)

### Analisis bilangan p-anisidin (p-AnV) (Watson, 1994)

Pengujian nilai p-anisidin memerlukan dua nilai absorbansi dari dua larutan uji yang berbeda. Larutan uji 1 dibuat dengan cara melarutkan 1-1,5 g sampel minyak ikan ke dalam 25 mL trimetilpentana (isooktan) dengan blangko yaitu isooktan. Larutan uji 2 dibuat dengan cara dipipet 5 mL larutan uji 1, kemudian ditambah 1 mL larutan anisidin lalu dikocok. Larutan anisidin dibuat dengan cara melarutkan 0,1 g anisidin dalam 40 mL asam etanol. Blangko larutan uji 2 yaitu larutan anisidin. Larutan uji 1 dan 2 diukur pada panjang gelombang 350 nm. Nilai anisidin ditetapkan dengan persamaan sebagai berikut:

Keterangan:

$$\text{Nilai Anisidin} = \frac{25 \times (1,2 A_2 - A_1)}{G}$$

A1 = Nilai absorbansi larutan uji 1

A2 = Nilai absorbansi larutan uji 2

G = Berat sampel pada larutan uji 1 (g)

### Analisis nilai total oksidasi/TOTOKS

Nilai total oksidasi merupakan penentu dari semua parameter oksidasi minyak. TOTOKS ditentukan dari jumlah dua kali oksidasi primer dan sekunder pada minyak. Persamaan nilai total oksidasi adalah:

Keterangan:

$$\text{Nilai Total Oksidasi} = (2PV + AV)$$

PV = Nilai peroksida (mEq/kg)

AV = Nilai p-anisidin (mEq/kg)

### Analisis bogam Berat (Badan Standardisasi Nasional [BSN] 2009)

Sampel minyak ikan sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam labu destruksi 100 mL kemudian ditambah 15 mL HNO<sub>3</sub> pekat dan 5 mL HClO<sub>4</sub>, didiamkan 24 jam, sampel didestruksi hingga jernih, didinginkan dan ditambah 10-20 mL air bebas ion. Sampel selanjutnya dipanaskan pada suhu 120°C dengan waktu 10 menit, diangkat, dan didinginkan. Larutan dipindahkan ke dalam labu takar 100 mL (labu dekstruksi dibilas dengan air bebas ion dan dimasukkan ke dalam labu takar). Larutan ditambah air

sampai batas tanda tera. Larutan dikocok dan disaring dengan kertas saring Whatman No.4. Sampel dipreparasi dan dianalisis sesuai dengan pengujian logam berat (Cd, Pb, Hg, Ni, As) pada analisis air (APHA 3110 untuk logam Cd, Pb, dan Cu; metode 3114 untuk As; dan metode 3112 untuk Hg).

$$\text{Kadar logam (PPM)} = \frac{A \times B}{BS}$$

Keterangan:

A = Konsentrasi logam dari kurva rendah (µg/ mL)

B = Volume pelarutan (mL)

BS = Bobot sampel

### Asam lemak (AOAC, 2005)

Analisis asam lemak terdiri dari tiga tahapan yaitu preparasi contoh (hidrolisis dan esterifikasi), analisis komponen asam lemak sebagai FAME, dan perhitungan jumlah komponen dalam contoh. Prosedur preparasi contoh yaitu sampel 20-30 g ditimbang dalam tabung bertutup teflon, ditambah 1 mL NaOH 0,5 N dalam metanol, kemudian didorong dengan nitrogen lalu dipanaskan dalam penangas air selama 20 menit. Katalis BF 20% sebanyak 2 mL ditambahkan, kemudian dipanaskan selama 20 menit, didinginkan lalu ditambah 2 mL NaCl jenuh dan 1 mL isooktan atau heksan. Lapisan heksana dipipet ke dalam tabung yang berisi 0,1 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat dan didiamkan selama 15 menit. Fase cair dipisahkan dan selanjutnya fase organik diinjeksikan ke kromatografi gas. Prosedur analisis komponen asam lemak sebagai FAME yaitu kondisi alat diatur kemudian diinjeksikan 1 µL kemudian diukur waktu retensi dan puncak masing-masing komponen. Waktu retensinya dibandingkan dengan standar Supelco<sup>TM</sup> 37 Component FAME Mix untuk mendapatkan informasi mengenai jenis dari komponen-komponen dalam contoh. Jumlah komponen dalam contoh dapat dihitung sebagai berikut:

$$\text{FAME (\% b/b)} = \frac{Ax \div C \times V \div (100) \times 100}{g}$$

$$\text{Asam lemak (\% b/b)} = \frac{BM \text{ FA}}{BM \text{ FAME}} \times \% \text{ FAME}$$

## Penentuan rendemen minyak etil ester

Rendemen minyak etil ester ditentukan dengan menghitung persen jumlah minyak etil ester yang dihasilkan dari minyak ikan awal. Sampel minyak ikan sebelum transesterifikasi ditimbang terlebih dahulu dan dinyatakan sebagai M1. Minyak etil ester yang terbentuk ditimbang dan dinyatakan sebagai M2. Hasil rendemen minyak etil ester dihitung berdasarkan persamaan berikut:

$$\% \text{ Rendemen minyak etil ester} = \frac{M2 \times 100\%}{M1}$$

Keterangan:

M1 = Berat awal minyak ikan (g)

M2 = Berat etil ester (g)

## Analisis Data

Analisis data yang dilakukan terhadap hasil penelitian pada tahap transesterifikasi dengan pemilihan suhu dan katalis yang tepat menggunakan minyak ikan murni adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Jika terdapat perbedaan nyata di antara perlakuan maka analisis akan dilanjutkan menggunakan Uji Beda Tukey.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik Minyak Ikan Tuna Kasar Residu logam berat

Dampak lingkungan antropogenik (industri, pertanian, pertambangan) secara signifikan meningkatkan jumlah logam berat yang terjadi secara alami di lingkungan, termasuk ekosistem laut. Hasil pengujian residu logam berat sudah di bawah batas ambang BSN (2009) yakni timbal (Pb)  $\leq 0,5$  ppm dan merkuri (Hg)  $\leq 0,005$  ppm.

Ikan rentan terhadap pencemaran bahan kimia, dan salah satu ancaman yang mengancam adalah adanya pencemaran logam berat. Kontaminasi logam merupakan salah satu pencemaran lingkungan yang berbahaya karena toksisitas pada organisme dan lingkungannya. Residu logam berat dalam minyak ikan tuna kasar menunjukkan hasil yang sudah memenuhi persyaratan

(BSN 2009). Sehingga minyak ikan tuna pada penelitian ini sudah aman dari cemaran logam berat.

### Profil asam lemak

Profil asam lemak meliputi *saturated fatty acid* (SFA), *monounsaturated fatty acid* (MUFA) dan *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) (Suseno *et al.*, 2014). Profil asam lemak minyak ikan tuna kasar disajikan pada Tabel 1.

Profil asam lemak (Tabel 1) menunjukkan bahwa minyak ikan tuna kasar mempunyai rasio nilai SFA>MUFA>PUFA yakni 31,59%; 30,40%; 29,94%. Asam lemak tak jenuh omega-3 dan omega-6 merupakan sumber utama yang terdapat pada ikan laut, seperti ikan cakalang, tongkol dan tuna. Rasio optimum omega-3 dan omega-6 harus mendekati 1:4-1:5 (Candela *et al.*, 2011). Kandungan asam lemak SFA pada minyak ikan tuna kasar didominasi oleh asam palmitat yakni 20,73%. Budiadnyani *et al.* (2015) menemukan total kandungan SFA didominasi oleh asam palmitat pada minyak ikan tuna hasil samping pengalengan yakni 20,96%. Suseno *et al.* (2019) melaporkan total asam lemak pelmitat pada ikan tuna sebesar 16,68%. Nazir *et al.* (2017) melaporkan bahwa kandungan asam SFA pada minyak ikan tuna yang diekstraksi dengan metode *wet rendering* didominasi oleh asam palmitat yakni 10,80%.

Kandungan asam lemak MUFA pada minyak ikan tuna kasar pada penelitian ini didominasi oleh asam oleat yaitu 23,88%. Suseno *et al.* (2019) melaporkan bahwa asam lemak MUFA ikan tuna kasar didominasi oleh asam lemak oleat sebesar 12,96%. Nazir *et al.* (2017) melaporkan bahwa kandungan asam MUFA pada minyak ikan tuna yang diekstraksi dengan metode *wet rendering* didominasi oleh asam oleat yakni 20,45%. Budiadnyani *et al.* (2015) melaporkan total MUFA pada minyak ikan tuna hasil samping pengalengan didominasi oleh asam oleat yakni 22,31%.

Kandungan omega-3 minyak ikan tuna hasil samping lebih didominasi oleh DHA hal ini dibuktikan dari penelitian ini bahwa kandungan asam lemak PUFA didominasi

Tabel 1 Profil asam lemak minyak ikan tuna kasar

Asam Lemak	Asam Lemak (%w/w)
Asam laurat (C12:0)	0,12
Asam tridekanoat (C13:0)	0,02
Asam miristat (C14:0)	2,77
Asam pentadekanoat (C15:0)	0,61
Asam palmitat (C16:0)	20,73
Asam heptadekanoat (C17:0)	0,44
Asam stearate (C18:0)	4,98
Asam arakidat (C20:0)	0,29
Asam heneikosanoat (C21:0)	0,05
Asam behenat (C22:0)	0,14
Asam trikosanoat (C23:0)	1,32
Asam lognoserat (C24:0)	0,12
<b>Total Saturated Fatty Acid (SFA)</b>	<b>31,59</b>
Asam miristoleat (C14:1)	0,07
Asam palmitoleat (c16:1)	4,14
Asam cis-10-heptadekanoat (C17:1)	0,60
Asam Elaidat (C18:1n-9t)	0,52
Asam Oleat (C18:1n-9c)	23,88
Asam Erukat Metil Ester (C22:1n-9)	0,30
Asam nervonoat (C24:1)	0,83
<b>Total Mono Unsaturated Fatty Acid (MUFA)</b>	<b>30,34</b>
Asam Linoleat (C18:2n-6)	2,69
Asam Linolenat (C18:3n-3)	3,45
Asam V-Linolenat (C18:3n-6)	0,09
Asam cis-11,14- eikosedieoat (c20:2)	0,30
Asam Cis-8,11,14- Eikosantrienoat (C20:3n-6)	0,12
Asam Arakidonat (C20:4n-6)	1,17
Asam Cis-5,8,11,14,17- Eikosapentaenoat (C20:5n-3)	2,90
Asam cis-13,16- dokosadinoat (C22:2)	0,07
Asam Cis-4,7,10,13,16,19-Dekosaheksaenoat (C22:6n-3)	14,15
<b>Total Poli Unsaturated Fatty Acid (PUFA)</b>	<b>24,94</b>
<b>Total asam lemak</b>	<b>86,87</b>

oleh DHA yakni (14,15%) sedangkan EPA lebih sedikit yakni 2,90%. Hasil ini didukung oleh penelitian Suriani & Komansilan (2019) kandungan DHA pada minyak ikan tuna hasil samping pengalengan yakni 21,4% dan EPA yakni 4,2%. Nazir *et al.* (2017) melaporkan bahwa kandungan asam PUFA pada minyak ikan tuna yang diekstraksi dengan metode *wet rendering* didominasi oleh DHA yakni 8,65% dan EPA 6,12%, selanjutnya penelitian dari Budiadnyani *et al.* (2015) melaporkan bahwa kandungan DHA 14,60% dan EPA lebih kecil yakni 8,35%.

### Proses pemurnian minyak ikan tuna

Proses pertama yang dilakukan sebelum proses transesterifikasi adalah pemurnian minyak ikan tuna. Minyak ikan tuna kasar dimurnikan terlebih dahulu sebelum ditransesterifikasi untuk mendapatkan kadar asam lemak bebas, bilangan peroksida dan bilangan p-anisidin yang rendah. Proses pemurnian meliputi degumming  $H_2O$ , *degumming* NaCl dan terakhir proses *bleaching* dengan adsorben Magnesol XL. Ketampakan minyak ikan tuna kasar dan minyak ikan murni disajikan pada Gambar 1.

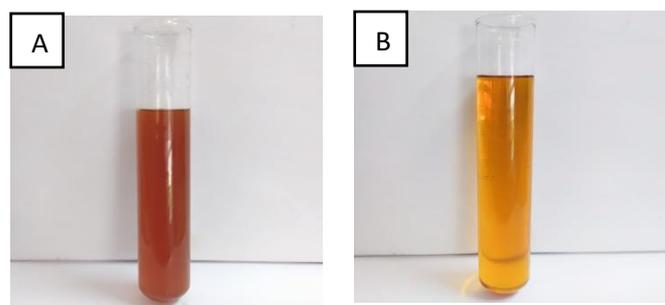
Minyak kasar tuna memiliki warna cokelat kehitaman dan berbau tengik. Warna gelap dapat disebabkan oleh minyak kasar yang masih mengandung banyak pengotor, yang berupa fosfatida dalam minyak dapat menyebabkan minyak berwarna cokelat ketika dipanaskan (Estiasih, 2009). Bau tengik pada minyak disebabkan oleh senyawa aldehid dan turunannya (Kusnandar, 2010). Kualitas minyak kasar tuna ditentukan dengan parameter oksidasi dan kandungan profil asam lemaknya, yang meliputi nilai asam

lemak bebas, bilangan peroksida, bilangan p-anisidin, dan total oksidasi. Karakteristik minyak ikan tuna kasar dan murni disajikan pada Tabel 2.

Hasil karakterisasi pada Tabel 2 memberikan informasi bahwa minyak ikan tuna kasar memiliki kualitas rendah. Parameter oksidasi yakni peroksida, p-anisidin dan total oksidasi belum memenuhi standar IFOS (2014). Hal ini diduga minyak yang terpapar udara, penggunaan suhu tinggi pada saat proses pengolahan, dan penyimpanan yang tidak baik. Hasil minyak ikan murni pada Tabel 2 menunjukkan hasil yang baik setelah proses pemurnian dan sudah memenuhi standar IFOS.

Upaya peningkatan mutu minyak ikan dapat dilakukan melalui proses mekanis, kimiawi, atau kombinasi dari metode tersebut. Proses mekanis dapat dilakukan dengan filtrasi, dekantasi, dan sentrifugasi, pada proses pemurnian kimia menggunakan netralisasi, *degumming* (penghilangan gom) menurut Ketaren (2012), *degumming* dapat memisahkan lendir yang terdiri dari fosfaida, air, protein, dan karbohidrat, dan *bleaching* (pemucatan warna).

Proses pemurnian yang dilakukan berhasil menurunkan nilai oksidasi pada minyak ikan dan semua parameter sudah memenuhi standar IFOS. *Bleaching* merupakan proses adsorpsi yang akan membuat warna minyak ikan menjadi lebih jernih dengan menggunakan adsorben Magnesol XL yang difungsikan untuk menghilangkan kandungan asam lemak bebas, pigmen, serta pengotor lainnya (Suseno *et al.*, 2011). Minyak ikan yang telah dimurnikan pada Tabel 2 sudah memenuhi standar IFOS.



Gambar 1 Minyak ikan tuna kasar (A) minyak ikan tuna murni (B)

Tabel 2 Karakteristik minyak ikan tuna kasar dan murni

Parameter	Minyak Ikan Tuna Kasar	Minyak Ikan Tuna Murni	Reduksi (%)	IFOS Standar (2014)
Asam lemak bebas (FFA) (%)	1,36±0,09	1,00±0,07	26,47	≤ 1,5
Bilangan peroksida (PV) (meq/kg)	18,87±1,76	3,57±1,10	81,08	≤ 5
Bilangan anisidin (AnV) (meq/kg)	8,81±2,45	6,69±1,60	24,06	≤ 20
Total oksidasi (Totoks) (meq/kg)	46,54±5,92	13,82±3,00	70,31	≤ 26

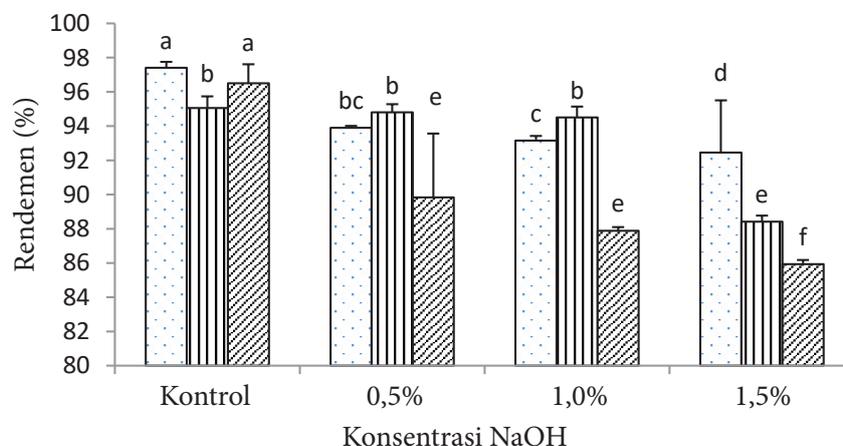
### Transesterifikasi minyak ikan tuna dengan katalis NaOH dan suhu yang berbeda

Transesterifikasi mereaksikan minyak dengan alkohol untuk menghasilkan etil ester yang mengandung produk samping gliserol (Anastopoulos *et al.*, 2009). Transesterifikasi bertujuan agar minyak ikan lebih stabil dengan mengubah asam lemak bebas dan trigliserida menjadi etil ester dan gliserol. Proses transesterifikasi dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor: suhu, laju agitasi, rasio molar metanol terhadap minyak, dan konsentrasi katalis. Penggunaan katalis NaOH dimaksudkan untuk mempercepat proses transesterifikasi. Proses transesterifikasi tanpa katalis dapat bekerja namun membutuhkan suhu dan tekanan yang cukup tinggi sehingga dapat merusak kualitas minyak ikan (Andriyani *et al.*, 2017). Pada penelitian ini digunakan katalis NaOH dengan konsentrasi (0,5; 1; 1,5)% direaksikan dengan suhu (60, 70,80)<sup>o</sup>C selama 75 menit.

### Rendemen

Rendemen adalah persentase keseluruhan etil ester dari hasil transesterifikasi minyak ikan yang dapat menjadi parameter untuk mengetahui nilai ekonomis dan efektifitas suatu bahan baku. Rendemen minyak ikan tuna etil ester disajikan pada Gambar 2.

Hasil rendemen tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi katalis 0,5% dengan suhu 70<sup>o</sup>C dan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi katalis NaOH 0,5% adalah konsentrasi paling efektif yang mengakibatkan asam lemak pada minyak ikan dapat dikonversi sempurna menjadi etil ester. Hasil pada penelitian ini mendukung hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Andriyani *et al.* (2017) bahwa suhu terbaik dengan rendemen tertinggi yakni suhu 70<sup>o</sup>C. Hal ini menunjukkan bahwa oksidasi termal pada reaksi transesterifikasi belum terjadi karena pada suhu 70<sup>o</sup>C suhu mendekati titik didih etanol yakni 78,4<sup>o</sup>C yang mengakibatkan aktivitas antar reaktan meningkat sehingga laju reaksi transesterifikasi



Gambar 2 Rendemen minyak ikan tuna etil ester dengan perlakuan konsentrasi NaOH dan suhu; □ 60<sup>o</sup>C; ▨ 70<sup>o</sup>C; ▩ 80<sup>o</sup>C

berjalan sempurna. Hasil yang tidak berbeda jauh dilaporkan oleh Cardoso *et al.* (2018) dengan menggunakan katalis NaOH 0,7% dan suhu 54°C menghasilkan rendemen tertinggi minyak ikan hasil samping yakni 96,41%.

Kiany *et al.* (2010) menjelaskan bahwa jumlah katalis basa yang sangat tinggi dalam reaksi dapat menginduksi saponifikasi FFA yang ada dalam bahan baku. Hong *et al.* (2013) melaporkan bahwa peningkatan jumlah katalis basa di atas 2% dalam minyak ikan mengganggu pemisahan etil ester setelah reaksi transesterifikasi dan dapat menurunkan rendemen pada minyak tersebut.

### Asam lemak bebas (FFA %)

Asam lemak bebas merupakan indikator pada kerusakan minyak oleh reaksi hidrolisis dan oksidasi. Hasil uji statistik menjelaskan semua perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada penurunan nilai FFA ( $p < 0,05$ ). Nilai FFA etil ester minyak ikan tuna dengan perlakuan konsentrasi katalis NaOH dan suhu disajikan pada Gambar 3.

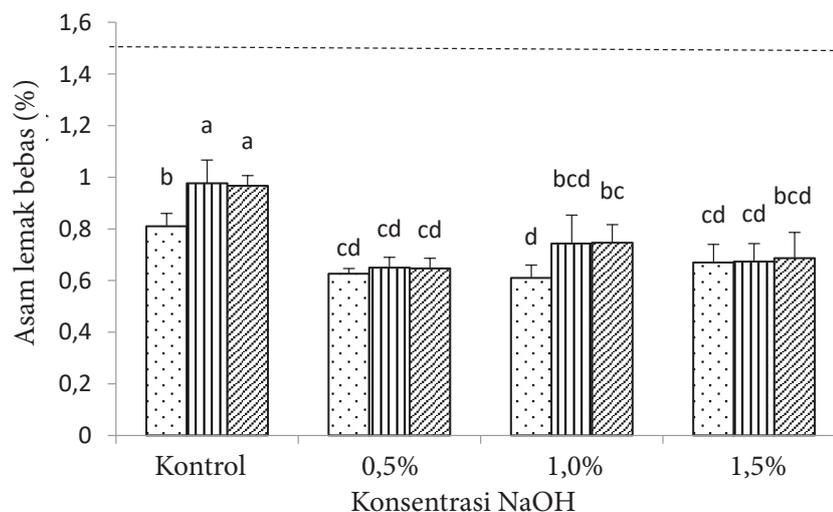
Nilai FFA etil ester (Gambar 3) pada semua perlakuan konsentrasi katalis NaOH dan suhu memenuhi standar IFOS (2014) yaitu  $\leq 1,5\%$ . Nilai FFA etil ester minyak ikan tuna terendah ditunjukkan pada konsentrasi katalis NaOH 1% pada suhu 60°C yaitu  $0,61 \pm 0,05\%$ . Hal ini diduga pada suhu 60°C belum terjadi oksidasi termal pada proses transesterifikasi. Penelitian ini mendukung hasil penelitian

sebelumnya yang dilakukan oleh Andriyani *et al.* (2017) bahwa Suhu dan konsentrasi katalis NaOH dapat meningkatkan nilai FFA minyak ikan etil ester hal ini diduga pada proses transesterifikasi yang menggunakan suhu tinggi akan berpengaruh terhadap parameter oksidasi sehingga konversi reaksi yang belum sempurna menyebabkan masih terdapat sisa asam lemak bebas yang tidak ikut bereaksi dengan ethanol. Cardoso *et al.* (2018) menyatakan bahwa konsentrasi katalis yang digunakan harus seimbang jika terlalu berlebih akan terjadi proses penyabunan yang mengakibatkan reaksi transesterifikasi tidak berjalan dengan baik.

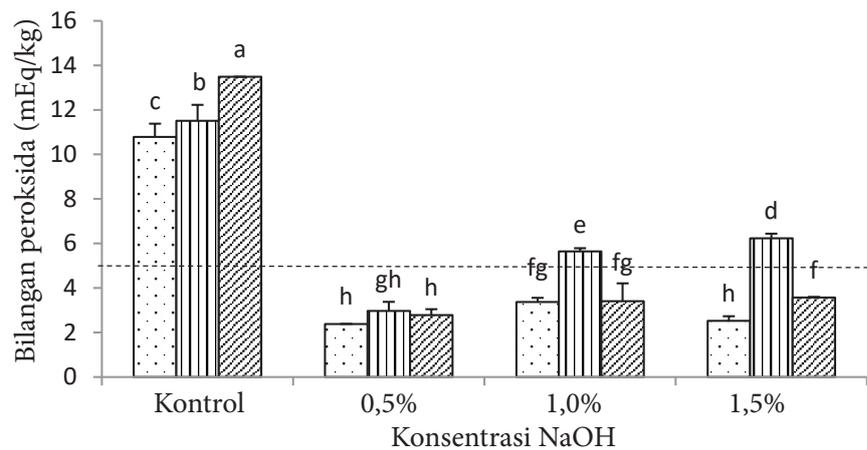
### Bilangan peroksida (PV) (mEq/kg)

Rusaknya kualitas minyak ikan dapat diketahui dengan melakukan uji bilangan peroksida. Hidroperoksida adalah produk oksidasi awal dan senyawa ini tidak stabil sehingga mudah terurai menjadi alkohol, aldehida, asam lemak bebas, dan keton (Wslowicz *et al.*, 2004). Hasil uji statistik menjelaskan bahwa semua perlakuan memberikan pengaruh berbeda nyata pada penurunan bilangan peroksida ( $p < 0,05$ ). Bilangan peroksida etil ester minyak ikan tuna dengan perlakuan konsentrasi katalis NaOH dan suhu disajikan pada Gambar 4.

Hasil uji statistik menjelaskan semua perlakuan memberikan pengaruh yang berbeda nyata pada penurunan bilangan



Gambar 3 Asam lemak bebas minyak ikan tuna etil ester dengan perlakuan konsentrasi NaOH dan suhu; □ 60°C; ▨ 70°C; ▩ 80°C; ----- standar IFOS



Gambar 4 Bilangan peroksida minyak ikan tuna etil ester dengan perlakuan konsentrasi NaOH dan suhu; □ 60°C; ▨ 70°C; ▩ 80°C; ----- standar IFOS

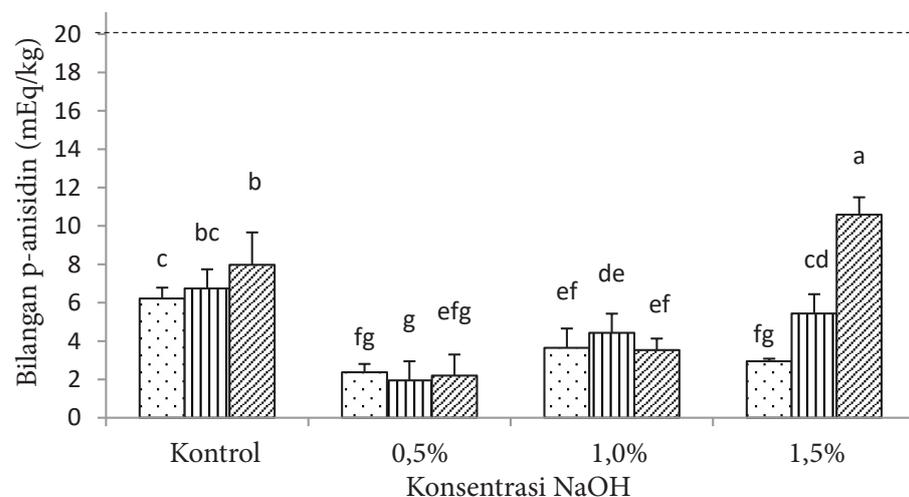
peroksida ( $p < 0,05$ ). Bilangan peroksida terendah (Gambar 4) ditunjukkan pada konsentrasi katalis NaOH 0,5% pada suhu 60°C  $2,38 \pm 0$  mEq/kg dan memenuhi standar IFOS (2014) yaitu  $\leq 5$  mEq/kg. Hasil berbeda ditunjukkan pada kontrol yang tidak memenuhi standar IFOS (2014), hal ini diduga karena suhu dan katalis NaOH sangat berpengaruh pada proses transesterifikasi. Hidroperoksida mungkin dibentuk oleh pengikatan asam lemak tak jenuh dengan oksigen bebas (Memon *et al.*, 2010). Senyawa hidroperoksida yang terdapat pada minyak bisa disebabkan oleh beberapa faktor misalnya kesegaran bahan dan suhu perlakuan (Aidos *et al.*, 2003). Proses ini terjadi secara cepat dengan adanya

faktor pendukung misalnya suhu dan cahaya (Suseno *et al.*, 2015).

#### Bilangan p-anisidin (p-AnV) (mEq/kg)

Parameter p-anisidin adalah parameter oksidasi lemak untuk mengetahui produk samping dari oksidasi lemak yang ditandai dengan degradasi lemak yang diinisiasi oleh hidroperoksida untuk membentuk produk sampingan karbonil yang tidak mudah menguap (Aidos *et al.*, 2003). Parameter p-anisidin minyak ikan etil ester dengan perlakuan konsentrasi katalis NaOH dan suhu disajikan pada Gambar 5.

Hasil uji statistik menjelaskan bahwa semua perlakuan memberikan pengaruh



Gambar 5 Bilangan p-anisidin minyak ikan tuna etil ester dengan perlakuan konsentrasi NaOH dan suhu; □ 60°C; ▨ 70°C; ▩ 80°C; ----- standar IFOS

berbeda nyata pada penurunan bilangan p-anisidin ( $p < 0,05$ ). Bilangan p-anisidin terendah (Gambar 5) ditunjukkan pada konsentrasi katalis NaOH 0,5% pada suhu 70°C yakni  $1,95 \pm 0,51$  mEq/kg, dan memenuhi standar IFOS (2014) yaitu  $\leq 20$  mEq/kg. Hal ini menunjukkan bahwa suhu optimal yang digunakan sudah tepat sehingga oksidasi termal pada reaksi transesterifikasi belum terjadi. Menurut penelitian Bija *et al.* (2017) reaksi penyabunan akan menyebabkan hidroperoksida bereaksi dengan sabun yang terbentuk dalam reaksi tersebut. Bilangan p-anisidin tertinggi ditunjukkan pada konsentrasi katalis NaOH 1,5% dengan suhu 80°C yakni  $10,59 \pm 0,91$  mEq/kg. Hal ini diduga terjadi reaksi oksidasi pada proses transesterifikasi dan reaksi penyabunan. Leung *et al.* (2010) melaporkan jika suhu yang digunakan terlalu tinggi akan membuat etanol menguap dan berkurang sehingga reaksi transesterifikasi tidak berjalan sempurna.

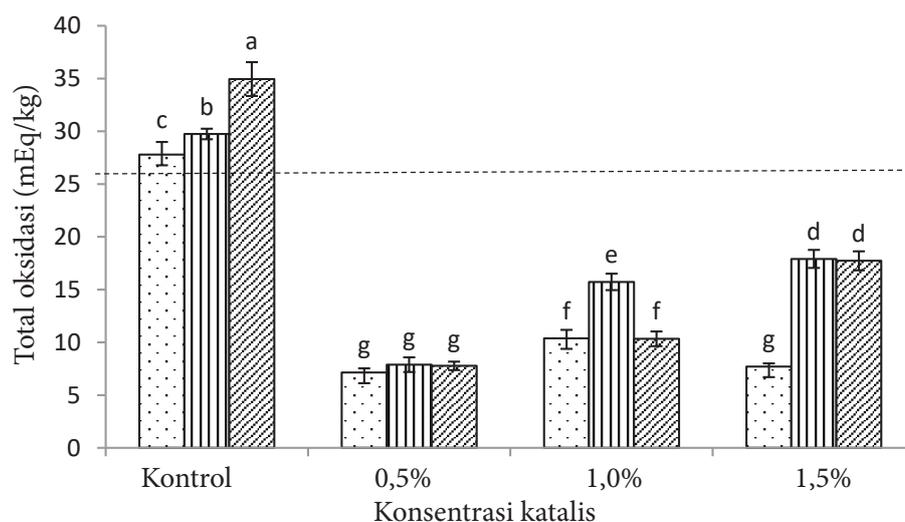
### Total Oksidasi (mEq/kg)

Nilai Total Oksidasi (TOTOKS) didapat dengan menjumlahkan dua kali PV dengan bilangan p-AnV. Nilai TOTOKS digunakan untuk melihat kualitas minyak etil ester secara keseluruhan dari parameter oksidasi primer dan sekunder. Nilai TOTOKS terendah (Gambar 6) ditunjukkan pada konsentrasi katalis 0,5% pada suhu 60°C yaitu

$7,14 \pm 0,4$  mEq/kg dan memenuhi standar IFOS (2014) yaitu  $\leq 26$  mEq/kg. Hasil uji statistik menjelaskan bahwa semua perlakuan memberikan pengaruh berbeda nyata pada penurunan nilai anisidin ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa kondisi tersebut adalah kondisi optimum proses transesterifikasi. Nilai total oksidasi minyak ikan etil ester dengan perlakuan konsentrasi katalis NaOH dan suhu disajikan pada Gambar 6.

Andryani *et al.* (2017) melakukan transesterifikasi minyak ikan sarden dan didapatkan nilai TOTOKS  $2,90 \pm 1,73$  mEq/kg hasil yang berbeda ini diduga karena perbedaan jenis ikan dan kandungan profil asam lemak.

Nilai TOTOKS tertinggi minyak ikan tuna etil ester pada penelitian ini ditunjukkan pada kontrol dengan suhu 80°C yakni  $34,95 \pm 1,7$ . Hal ini diduga karena terjadi oksidasi termal dengan suhu yang tinggi melebihi titik didih etanol yakni 78,4°C sehingga etanol menguap dan reaksi transesterifikasi tidak berjalan sempurna. Oksidasi pada setiap perlakuan terlihat meningkat diduga dipengaruhi oleh nilai PV dan p-AnV. Oksidasi akibat suhu tinggi mempercepat proses autooksidasi pada minyak. Mekanisme oksidasi suhu tinggi melibatkan inisiasi, propagasi, dan terminasi sehingga menghasilkan pentana ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$ ) (Choe & Min, 2007).



Gambar 6 Total oksidasi minyak ikan tuna etil ester dengan perlakuan konsentrasi NaOH dan suhu;  $\square$  60°C;  $\text{||||}$  70°C;  $\text{|||||}$  80°C; ----- standar IFOS

## KESIMPULAN

Minyak ikan etil ester terbaik dan sudah memenuhi standar IFOS (2014) didapatkan dari minyak ikan tuna berdasarkan parameter oksidasi. Perlakuan terbaik dengan konsentrasi NaOH 0,5% dan suhu reaksi 60°C, dengan rendemen 93,90% dan parameter oksidasi yakni asam lemak bebas (FFA) 0,63±0,02%, bilangan peroksida (PV) 2,38±0,00 mEq/kg, bilangan p-anisidin (p-AnV) 2,37±0,44 mEq/kg; nilai total oksidasi (TOTOKS) 7,14±0,4 mEq/kg semua parameter oksidasi sudah memenuhi standar IFOS (2014).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) IPB University, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia, atas bantuan pendanaan project Penelitian Terapan (No 4308/IT3.1.1/PN/2020).

## DAFTAR PUSTAKA

- Aidos, I., Jacobsen, C., Jensen, B., Luten, J. B., van der Padt, A., & Boom, R. M. (2002). Volatile oxidation products formed in crude herring oil under accelerated oxidation conditions. *Journal Lipid Science Technology*, 4, 148–161.
- Aidos, I., Schelvus, S. R., Veldnan, M. B., Luten, J., Padt, A. V. D., & Broom, R. M. (2003). Chemical and sensory evaluation of crude oil extracted from Herring by-product from different processing operations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1897-1903.
- Anastopoulos, G., Zannikou, Y., Stournas, S., & Kalligeros, S. (2009). Transesterification of vegetable oils with ethanol and characterization of the key fuel properties of ethyl esters. *Energies*, 2, 362-376.
- Adeoti, I. A., & Hawboldt, K. (2014). A review of lipid extraction from fish processing by-product for use as a biofuel. *Biomass and Bioenergy*, 63, 330–340.
- Budiadnyani, I. G. A., Estiasih, T., & Yunianta. (2015). Characteristics and Fatty Acid Profile of Refined Fish Oil from Byproduct of Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Meal Processing. *Journal of Life Science and Biomedicine*, 5(5), 132-136.
- Bija, S., Suseno, S. H., & Uju. (2016). Pemurnian minyak ikan sardin dengan tahapan degumming dan netralisasi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1), 143-152.
- Choe, E., & Min, D. B. (2007). Chemistry of deep-fat frying oil. *Journal of Food Science*, 72(5), 1-10.
- Cardoso, D. C., Luana, de Almeida, C., Naiara, F., Souza, G. K., Asanome, I. Y., & Pereira, N. C. (2018). Synthesis and Optimization of Ethyl Esters from Fish Oil Waste for Biodiesel Production. *Renewable Energy*
- Dari, D. W., Astawan, M., Wulandari, N., & Suseno, S. H. (2017). Karakterisasi minyak ikan sardin (*Sardinella sp.*) hasil pemurnian bertingkat. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(3), 456-467.
- Endo, J., & Arita, M. (2016). Cardioprotective mechanism of omega-3 polyunsaturated fatty acids. *J Cardiol*, 67(1),22–27.
- Estiasih, T., Ahmadi, K., & Nisa, F. C. (2013). Optimizing conditions for the purification of omega-3 fatty acids from the by-product of tuna canning processing. *Adv Journal Food Science Technology*, 5(5), 522–529.
- Feryana, I., Suseno, S., & Nurjanah. (2014). Pemurnian Minyak Ikan Makerel Hasil Samping Penepungan Dengan Netralisasi Alkali. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(3), 207–214.
- Hulu, D. P. C., Suseno, S. H., & Uju. (2017). Peningkatan Mutu Minyak Ikan Sardin dengan Degumming Menggunakan Larutan NaCl. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20:, 199–210.
- Hong, I. K., Park, J. W., & Lee, S. B. (2013) Optimization of fish-oil-based biodiesel synthesis. *J. Ind Eng Chem*, 19, 764-768.
- Kiany, S. B. C., Penha, M. N. C., Mendonça, K. K. M., Louzeiro, H. C., Vasconcelos, A. C. S., Maciel, A. P., Souza, A. G., & Silva, F. C. (2010). Optimization of transesterification of castor oil with ethanol using a central composite rotatable design (CCRD). *Fuel*, 1172-1176.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2021).

- Produktivitas Perikanan Indonesia.
- Maulana, I. T., Sukraso, & Damayanti, S. (2014). Kandungan Asam Lemak dalam Minyak Ikan Indonesia. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 6(1), 121–130.
- Moser, B. R. (2009). Comparative oxidative stability of fatty acid alkyl esters by accelerated methods. *JAACS, J Am Oil Chem Soc*, 86(7), 699–706.
- Moreno-Perez, S., Luna, P., Señorans, F. J., Guisan, J. M., & Fernandez-Lorente, G. (2015). Enzymatic synthesis of triacylglycerols of docosahexaenoic acid: Transesterification of its ethyl esters with glycerol. *Food Chemistry*, 187, 225–229.
- Suriani, N. W., & Komansilan, A. (2019). *Journal of Physics: Conference Series*, 1317 012056.
- Nazir, Diana, N., & Sayuti, A. (2017). Physicochemical and fatty acid profile of fish oil from head of the tuna (*Thunnus albacares*) extracted from various extraction method. *IJASEIT*, 7, 709–715.
- Suseno, S. H., Jacob, A. M., Yocinta, H. P., & Kamini. (2018). Kualitas minyak ikan (softgel) di wilayah Jawa Tengah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(3), 556–564.
- Suseno, S. H., Jacob, A. M., & Abdulatip, D. (2019). Stabilitas Minyak Ikan Komersial (Soft Gel) Impor di Beberapa Wilayah Jawa Timur. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(3), 589–600.
- Suseno, S. H., Nurjanah, Jacob, A. M., & Saraswati. (2014). Purification of *Sardinella* sp., oil: Centrifugation and bentonite adsorbent. *Adv J Food Sci Technol*, 6(1), 60–67.
- Vasile, F. E., Judis, M. A., & Mazzobre, M. F. (2017). *Prosopis alba* exudate gum as novel excipient for fish oil encapsulation in polyelectrolyte bead system. *Carbohydr Polym*, 166, 309–319.
- Yoshii, H., Furuta, T., Siga, H., Moriyama, S., Baba, T., Maruyama, K., Misawa, Y., Hata, N., & Linko, P. (2002). Autoxidation kinetic analysis of docosahexaenoic acid ethyl ester and docosahexaenoic tri-glyceride with oxygen sensor. *Biosci Biotechnol Biochem*, 66, 749–753.

## FIGURE AND TABLE TITLES

Figure 1 Visualization of crude tuna fish oil (A) refined tuna fish oil (B)

Figure 2 Yield of ethyl ester tuna fish oil with NaOH catalyst concentration treatment and temperature (□ 60 °C; ▨ 70°C; ▩ 80°C)

Figure 3 Free fatty acid values of ethyl ester tuna fish oil with NaOH catalyst concentration treatment and temperature (□ 60 °C; ▨ 70°C; ▩ 80°C)

Figure 4 Peroxide values of ethyl ester tuna fish oil with NaOH catalyst concentration treatment and temperature (□ 60 °C; ▨ 70°C; ▩ 80°C)

Figure 5 *p*-anisidine values of ethyl ester tuna fish oil with NaOH catalyst concentration treatment and temperature (□ 60 °C; ▨ 70°C; ▩ 80°C)

Figure 6 Total oxidation value of ethyl ester tuna fish oil with NaOH catalyst concentration treatment and temperature (□ 60 °C; ▨ 70°C; ▩ 80°C)

Table 1 Fatty acid profile of crude tuna fish oil

Table 2 Characteristics of crude oil and refined tuna fish oil