

OPTIMASI METODE KRISTALISASI UREA DALAM PEMBUATAN KONSENTRAT OMEGA-3 IKAN TUNA (*Thunnus spp.*)

DHANURENDRA IZZA DEWANGGA



**DEPARTEMEN TEKNOLOGI HASIL PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Optimasi Metode Kristalisasi Urea dalam Pembuatan Konsentrat Omega 3 Ikan Tuna (*Thunnus spp.*)” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam daftar pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Agustus 2026

Dhanurendra Izza Dewangga
C3401201102



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



ABSTRAK

DHANURENDRA IZZA DEWANGGA. Optimasi Metode Kristalisasi Urea dalam Pembuatan Konsentrat Omega 3 Ikan Tuna (*Thunnus spp.*) Dibimbing oleh SUGENG HERI SUSENO dan PURNAMA ARAFAH.

Minyak ikan berpotensi dikembangkan menjadi konsentrat omega-3 dengan menghilangkan komponen selain omega-3 yang kurang baik bagi kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk menilai efektivitas metode kristalisasi urea berdasarkan parameter bilangan iod serta peningkatan total asam lemak omega-3 pada proses pembuatan konsentrat omega-3 dari minyak ikan tuna dengan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM). Konsentrat omega-3 dengan metode kristalisasi urea dilakukan menggunakan minyak murni etil ester yang diberikan campuran urea dan didiamkan di suhu rendah dengan perbandingan rasio dan waktu yang sudah ditentukan oleh RSM. Total omega-3 minyak kasar diperoleh hasil sebesar 19,51%, minyak murni trigliserida sebesar 32,90% dan konsentrat omega-3 ikan tuna dihasilkan sebesar 32,72%. Waktu penyimpanan selama 33 jam 47 menit dengan perbandingan rasio urea:minyak 2:1 terbukti efektif untuk menurunkan kandungan lemak jenuh.

Kata kunci: minyak ikan tuna, konsentrat omega-3, kristalisasi suhu rendah, *response surface methodology*



ABSTRACT

DHANURENDRA IZZA DEWANGGA. Optimization of the Urea Crystallization Method for the Production of Omega-3 Concentrate from Tuna Fish Oil (*Thunnus* spp.). Supervised by SUGENG HERI SUSENO and PURNAMA ARAFAH.

Fish oil has the potential to be developed into an omega-3 concentrate by removing non-omega-3 components that are considered less beneficial to human health. This study aimed to evaluate the effectiveness of the urea crystallization method based on the iodine value and the increase in total omega-3 fatty acids during the production of omega-3 concentrate from tuna fish oil using the Response Surface Methodology (RSM). The omega-3 concentrate was produced from refined ethyl ester fish oil mixed with urea and crystallized at low temperature under urea-to-oil ratios and storage times determined by RSM. The total omega-3 content of crude fish oil, refined triglyceride oil, and the resulting omega-3 concentrate were 19.51%, 32.90%, and 32.72%, respectively. A storage time of 33 h 47 min with a urea-to-oil ratio of 2:1 was found to be effective in reducing the saturated fatty acid content.

Keywords: tuna fish oil, omega-3 concentrate, low-temperature crystallization, response surface methodology



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

OPTIMASI METODE KRISTALISASI UREA DALAM PEMBUATAN KONSENTRAT OMEGA-3 IKAN TUNA (*Thunnus spp.*)

DHANURENDRA IZZA DEWANGGA

Skripsi

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana pada

Program Studi Teknologi Hasil Perairan

**DEPARTEMEN TEKNOLOGI HASIL PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2026**



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:

1. Dr. Ir. Bustami Ibrahim, M.Sc.
2. Bambang Riyanto, S.Pi.,M.Si.



Judul Skripsi : Optimasi Metode Kristalisasi Urea dalam Pembuatan Konsentrat
Omega 3 Ikan Tuna (*Thunnus* spp.)

Nama : Dhanurendra Izza Dewangga

NIM : C3401201102

Disetujui oleh

Pembimbing 1:

Prof. Dr. Sugeng Heri Suseno, S.Pi., M.Si.

Pembimbing 2:

Purnama Arafah, S.Pi., M.Agr.Sc.

Diketahui oleh

Ketua Departemen Teknologi Hasil Perairan:

Roni Nugraha, S.Si., M.Sc., Ph.D.

NIP. 198304212009121003

Tanggal Ujian:

Rabu, 22 Juli 2026

Tanggal Lulus:



@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

PRAKATA

Puji Syukur kehadiran Allah Subhanahu Wa Ta'ala yang telah memberikan rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Optimasi Metode Kristalisasi Urea dalam Pembuatan Konsentrat Omega 3 Ikan Tuna (*Thunnus* sp.)”

Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan proposal penelitian ini, antara lain kepada:

1. Prof. Dr. Sugeng Heri Suseno, S.Pi., M.Si., selaku dosen pembimbing 1 atas segala bimbingan, motivasi, saran, serta arahan yang telah diberikan kepada penulis.
2. Purnama Arafah, S.Pi., M.Agr.Sc., selaku dosen pembimbing 2 atas segala bimbingan, motivasi, saran, serta arahan yang telah diberikan kepada penulis.
3. Dr. Eng. Safrina Dyah Hardiningtyas., S.Pi., M.Si selaku Ketua Program Studi Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
4. Dr. Roni Nugraha, S.Si., M.Sc. selaku Ketua Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
5. Seluruh dosen, staf akademik dan laboran Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor atas segala arahan, bimbingan, serta motivasi yang telah diberikan kepada penulis.
6. Kedua orang tua penulis serta seluruh keluarga atas dukungan moril, material serta doa yang selalu diberikan kepada penulis.
7. Teman-teman THP dan departemen lain yang telah memberikan bantuan pikiran, tenaga, motivasi, dukungan, saran dan kebersamaan dalam suka duka.

Penulis menyadari bahwa masih ada kekurangan dalam penulisan skripsi ini, sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran yang dapat membangun dalam meningkatkan kualitas penulisan skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat bagi pihak-pihak yang membaca dan membutuhkan.

Bogor, Agustus 2026

Dhanurendra Izza Dewangga



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

DAFTAR ISI

DAFTAR GAMBAR	ii
DAFTAR TABEL	ii
DAFTAR LAMPIRAN	ii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Ruang Lingkup	3
II METODE	4
2.1 Waktu dan Tempat	4
2.2 Alat dan Bahan	4
2.3 Prosedur Kerja	4
2.3.1 Karakterisasi Minyak Kasar	6
2.3.2 Pemurnian Minyak Ikan	6
2.3.3 Transesterifikasi Minyak Ikan	6
2.3.4 Pembuatan Konsentrat Omega-3 dengan Kristalisasi Urea	6
2.4 Prosedur Analisis	8
2.4.1 Analisis Profil Asam Lemak	8
2.4.2 Analisis Asam Lemak Bebas	9
2.4.3 Analisis Bilangan Asam	9
2.4.4 Analisis Bilangan Peroksida	10
2.4.5 Analisis Bilangan p-anisidin	10
2.4.6 Analisis Total Oksidasi	11
2.4.7 Rendemen Konsentrat Omega-3	11
2.4.8 Analisis Bilangan Iod (IV) dengan Metode Wijis	11
2.5 Analisis Data	12
III HASIL DAN PEMBAHASAN	13
3.1 Karakteristik Minyak Kasar Ikan Tuna	13
3.1.1 Parameter Oksidasi Minyak Kasar Ikan Tuna	13
3.1.2 Profil Asam Lemak Minyak Kasar Ikan Tuna	14
3.2 Pemurnian Minyak Ikan Tuna	16
3.2.1 Parameter Oksidasi Minyak Murni Ikan Tuna	16
3.2.2 Profil Asam Lemak Minyak Murni Ikan Tuna	17
3.3 Transesterifikasi Minyak Ikan Tuna	19
3.4 Model Respon dengan <i>Response Surface Methodology</i> (RSM)	19
3.4.1 Nilai Bilangan Iod/Iod Value Konsentrat Omega-3 Kristalisasi Urea	21
3.4.2 Rendemen Konsentrat Omega-3 Kristalisasi Urea	24
3.5 Profil Asam Lemak Konsentrat Omega-3 Ikan Tuna	27
3.6 Penentuan Kondisi Optimal dan Validasi Titik Optimal	29
IV SIMPULAN DAN SARAN	31
4.1 Simpulan	31
4.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA	32
LAMPIRAN	37
RIWAYAT HIDUP	41

DAFTAR GAMBAR

1	Diagram alir penelitian	5
2	Kenampakan minyak kasar dan minyak murni	16
3	Grafik kontur pengaruh perbandingan urea dan waktu terhadap respon bilangan iod	23
4	Grafik 3 dimensi pengaruh perbandingan urea dan waktu terhadap respon bilangan iod	24
5	Grafik kontur pengaruh perbandingan urea dan waktu terhadap respon rendemen	26
6	Grafik 3 dimensi pengaruh perbandingan urea dan waktu terhadap respon rendemen	27

DAFTAR TABEL

1	Penentuan variable bebas dan kode perlakuan pada penelitian	7
2	Desain rancangan percobaan RSM	7
3	Parameter oksidasi minyak kasar ikan tuna	13
4	Profil asam lemak minyak kasar ikan tuna	15
5	Parameter oksidasi minyak murni trigliserida ikan tuna	17
6	Profil asam lemak minyak murni ikan tuna	18
7	Parameter oksidasi minyak etil ester ikan tuna	19
8	Hasil pengujian konsentrat omega-3 kristalisasi urea	20
9	Nilai parameter penetapan model bilangan iod	21
10	Nilai parameter penetapan model rendemen	24
11	Profil asam lemak omega-3 kristalisasi urea	28
12	Hasil pengaturan variabel faktor dan respon	29
13	Perbandingan hasil nilai respon aktual dan nilai respon prediksi	29

DAFTAR LAMPIRAN

1	Dokumentasi Penelitian	38
2	Tabel hasil analisis ANOVA respon bilangan iod	39
3	Tabel <i>fit statistic</i> respon bilangan iod	39
4	Tabel hasil analisis ANOVA respon rendemen	40
5	Tabel <i>fit statistic</i> respon rendemen	40

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Minyak ikan adalah salah satu suplemen makanan yang paling banyak dikonsumsi di seluruh dunia. Kandungan asam lemak omega-3 pada minyak ikan tuna tergolong tinggi, terutama EPA (*Eicosapentaenoic acid*) dan DHA (*Docosahexaenoic acid*). Asam lemak EPA dan DHA memiliki fungsi penting dalam perkembangan otak, retina mata serta berperan dalam mencegah penyakit kardiovaskular dan inflamasi (von Schacky 2021). DHA tersusun atas 22 atom karbon dan 6 ikatan rangkap (22:6 ω 3), sedangkan EPA tersusun atas 20 atom karbon dan 5 ikatan rangkap (20:5 ω 3). Perbedaan panjang rantai karbon tersebut menyebabkan kedua asam lemak memiliki karakteristik dan efek metabolisme yang berbeda terhadap kesehatan tubuh (Fard *et al.* 2019). Omega-3, khususnya DHA, berperan sangat penting dalam perkembangan otak selama masa kehamilan. DHA diketahui mampu menurunkan risiko terjadinya resistensi insulin, sindrom metabolik, hiperlipidemia, serta penyakit kardiovaskular (Patel *et al.* 2022).

Di antara berbagai jenis ikan laut, tuna dilaporkan memiliki kandungan DHA yang relatif tinggi sehingga banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku produksi minyak ikan dan konsentrat omega-3. Kandungan DHA tertinggi dilaporkan terdapat pada minyak ikan tuna, yaitu sebesar 27,33% (Apituley *et al.* 2020). Tingginya kadar DHA pada minyak ikan tuna juga diperkuat oleh penelitian Suseno *et al.* (2014) yang melaporkan kandungan DHA sebesar 24,56% pada minyak ikan tuna (*Thunnus sp.*), serta penelitian La Dia *et al.* (2022) yang menemukan kandungan DHA sebesar 33,44% pada minyak yang berasal dari mata ikan tuna. Minyak ikan yang diproduksi di Indonesia umumnya berasal dari produk samping industri penepungan ikan, penepungan ikan, dan pengolahan surimi. Kualitas minyak ikan yang dihasilkan belum memenuhi standar mutu untuk pangan sehingga pemanfaatannya masih terbatas sebagai bahan tambahan pakan ternak (Maulana *et al.* 2014). Peningkatan kualitas minyak ikan dapat dilakukan melalui proses pemurnian yang meliputi tahap netralisasi, degumming, dan bleaching dengan menggunakan magnesol XL (Suseno *et al.* 2020).

Data perdagangan menunjukkan bahwa volume impor minyak ikan di Indonesia mengalami peningkatan yang sangat signifikan, dari 140.802 kg pada tahun 2019 menjadi 1.367.562 kg pada tahun 2021, atau meningkat hampir sepuluh kali lipat dalam kurun waktu dua tahun (UN Commodity Trade Statistics 2022). Kondisi ini menunjukkan bahwa permintaan minyak ikan di Indonesia terus meningkat, sementara kapasitas produksi dalam negeri belum mampu memenuhi kebutuhan tersebut. Peningkatan permintaan ini dipengaruhi oleh meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap manfaat minyak ikan bagi kesehatan. Minyak ikan yang beredar di pasaran umumnya masih berupa minyak ikan murni dengan kandungan asam lemak jenuh yang cukup tinggi. Konsumsi asam lemak jenuh secara berlebihan dapat berdampak negatif bagi kesehatan, seperti meningkatkan risiko penyakit kardiovaskular, obesitas, dan diabetes (Islam *et al.* 2019).

Salah satu upaya untuk mengatasi permasalahan tersebut adalah dengan mengembangkan minyak ikan murni menjadi konsentrat omega-3. Dari sisi kesehatan, minyak ikan dalam bentuk konsentrat omega-3 dinilai lebih baik

dibandingkan minyak ikan murni. Konsumsi minyak ikan dalam dosis tinggi, yaitu lebih dari 6 g/hari, atau konsumsi konsentrat omega-3 sebesar 4 g/hari, dilaporkan mampu menurunkan risiko penyakit kardiovaskular secara signifikan pada penderita hipertrigliseridemia (Asztalos *et al.* 2016). Konsentrat omega-3 juga terbukti memiliki aktivitas antiinflamasi yang efektif dalam mengurangi peradangan (Giacobbe *et al.* 2020). Prinsip utama dalam pembuatan konsentrat omega-3 adalah memekatkan kandungan asam lemak omega-3 dengan cara menghilangkan komponen lain yang tidak diinginkan, seperti kolesterol dan asam lemak jenuh (Suriani *et al.* 2014). Berbagai metode telah dikembangkan untuk menghasilkan konsentrat omega-3, di antaranya kristalisasi urea, ekstraksi fluida superkritis, kristalisasi suhu rendah, distilasi molekul, serta metode enzimatik menggunakan lipase (Homayooni *et al.* 2014). Metode yang paling banyak diterapkan di industri saat ini adalah distilasi molekul, yang memisahkan asam lemak berdasarkan bobot molekul dengan menggunakan kondisi vakum pada suhu tinggi, yaitu sekitar 140–170°C. Metode ini mampu menghasilkan konsentrat omega-3 dengan kadar total omega-3 berkisar antara 65–75%, namun penggunaan suhu tinggi menjadi salah satu kelemahan utama metode tersebut.

Metode ekstraksi fluida superkritis dan metode enzimatik dinilai lebih ramah lingkungan serta mampu menghasilkan konsentrat omega-3 dengan kadar yang tinggi, namun penerapannya masih terbatas karena memerlukan biaya investasi yang relatif besar (Lembke 2013). Dalam penelitian Estiasih (2010) mengenai pembuatan konsentrat omega-3 dari minyak ikan lemuru menggunakan metode kristalisasi urea menunjukkan bahwa rasio urea terhadap asam lemak sebesar 2,59:1 merupakan kondisi paling optimal dan mampu meningkatkan total EPA dan DHA hingga 2,61 kali lipat. Hasil konsentrat omega-3 yang diperoleh melalui metode kristalisasi urea dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain rasio pelarut terhadap asam lemak, lama proses kristalisasi, dan suhu kristalisasi. Dalam penelitian ini dilakukan evaluasi metode kristalisasi urea berdasarkan parameter bilangan iod serta peningkatan total asam lemak omega-3. Dioptimasi dengan menggunakan metode *response surface methodology* (RSM).

1.2 Rumusan Masalah

Permintaan terhadap minyak ikan di Indonesia terus mengalami peningkatan, namun kapasitas produksinya belum mampu memenuhi kebutuhan tersebut. Produk minyak ikan yang beredar di pasaran umumnya masih berupa minyak ikan murni, yang dinilai kurang baik bagi kesehatan karena kandungan asam lemak jenuhnya yang cukup tinggi. Upaya pengembangan produk minyak ikan menjadi konsentrat omega-3 hingga saat ini belum menunjukkan hasil yang optimal. Variasi kondisi sampel serta rasio pelarut pada metode kristalisasi urea diduga berpotensi meningkatkan kadar asam lemak omega-3 dalam minyak ikan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengevaluasi efektivitas metode kristalisasi urea terhadap peningkatan kualitas minyak ikan.

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk menilai efektivitas metode kristalisasi urea berdasarkan parameter bilangan iod serta peningkatan total asam lemak omega-3 pada proses pembuatan konsentrat omega-3 dari minyak ikan tuna dengan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM).

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah memperoleh informasi mengenai pengaruh variasi kondisi sampel serta rasio urea terhadap minyak ikan murni yang digunakan dalam proses pembuatan konsentrat omega-3. Selain itu, penelitian ini juga memberikan gambaran tentang profil asam lemak pada konsentrat omega-3 ikan tuna, nilai bilangan iod dan peningkatan total asam lemak omega-3 yang dihasilkan dengan menggunakan metode RSM. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait waktu dan perbandingan yang paling efektif dalam menghasilkan konsentrat omega-3. Pembuatan konsentrat omega-3 sendiri memiliki manfaat penting dalam memenuhi kebutuhan asupan omega-3 yang tinggi tanpa meningkatkan total asupan lemak dalam tubuh.

1.5 Ruang Lingkup

Ruang lingkup penelitian ini mencakup tahapan karakterisasi awal minyak ikan tuna, proses pemurnian minyak ikan tuna, serta ekstraksi omega-3 menggunakan metode kristalisasi urea. Selain itu, penelitian ini juga meliputi penentuan kualitas omega-3 ikan tuna melalui optimasi konsentrat omega-3 dengan pendekatan RSM. Parameter analisis yang digunakan meliputi FFA, AV, PV, *p*-AnV, totox, bilangan iod, serta analisis profil asam lemak.

II METODE

2.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan pada bulan April 2025 hingga Desember 2025. Penelitian dilakukan di Laboratorium Minyak Ikan, Departemen Teknologi Hasil Perairan; Laboratorium Biokimia Hasil Perairan, Departemen Teknologi Hasil Perairan; Laboratorium Mikrobiologi dan Fermentasi Hasil Perairan, Departemen Teknologi Hasil Perairan; Laboratorium Terpadu, Departemen Biologi; dan Laboratorium Terpadu, Kampus IPB Baranangsiang.

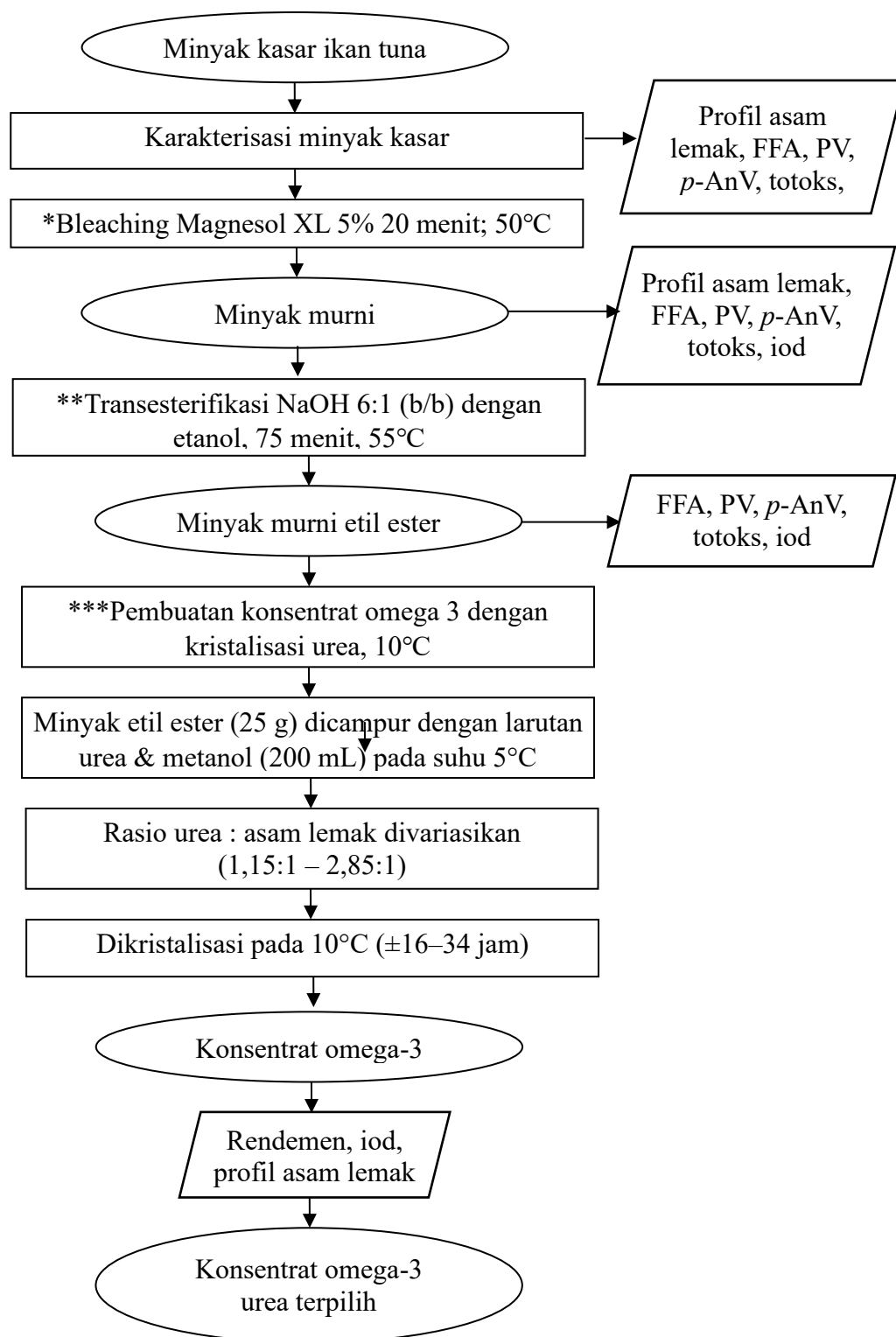
2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain gelas ukur (Iwaki), gelas beaker (Pyrex), tabung erlenmeyer (Pyrex), labu takar (Iwaki), tabung reaksi (Iwaki), botol plastik, botol kaca, sudip, pipet (Iwaki), nilon *mesh*, evaporator (IKA RV10), corong kaca (Iwaki), timbangan analitik (Sartorius BSA323s), termometer, kompor listrik, panci, *stopwatch*, perangkat titrasi (Pyrex), tabung durant (Schott), dan spektrofotometri (Shimadzu spektrofotometer UV Pharmaspec 1700). Perangkat kromatografi gas untuk pengujian profil asam lemak (Shimadzu, Jepang, Model GC2010 dengan kolom cyanopropyl methyl sil (capillary column), Dimensi kolom: P = 60 m, Ø dalam = 0,25 mm, *Film Thickness* = 0,25 µm.

Bahan utama yang digunakan yaitu minyak ikan tuna yang diperoleh dari pengolahan hasil samping yaitu penepungan ikan di UD Samudra Kencana, Kabupaten Jembrana, Bali. Bahan kimia yang digunakan antara lain, yaitu Magnesol XL 5%, kloroform (Merck), urea (Merck), methanol (Merck), asam asetat glasial (Merck), etanol absolute (Merck), kalium iodid (Merck), indikator kanji (Merck), pereaksi wijs (Merck), indikator fenolplatein (Merck), natrium tiosulfat (Merck), p anisidin (Merck), trimetilpentana (Merck), isooctane (Merck), sodium thiosulfate (Merck), n-Hexane (Merck), HCl (Merck), NaOH (Merck) alkohol 95%, KOH 0,1 N, Na₂S₂O₃ 0,01 N akuades dan standar pengujian profil asam lemak (*SupelcoTM37 component fatty acid methyl esters* (FAME) Mix).

2.3 Prosedur Kerja

Tahap penelitian ini dilaksanakan melalui empat tahapan utama. Tahap pertama adalah karakterisasi minyak ikan tuna mentah yang mencakup analisis parameter oksidasi, bilangan iod serta profil asam lemak. Tahap kedua meliputi proses pemurnian minyak ikan melalui metode bleaching. Tahap ketiga dilakukan proses transesterifikasi dengan menggunakan katalis NaOH. Tahap keempat merupakan proses pembuatan konsentrat omega-3 dengan metode kristalisasi urea. Formulasi pada perlakuan ditentukan dengan perangkat lunak *design expert* versi 13. Diagram alir keseluruhan proses penelitian disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1 Diagram alir penelitian, modifikasi metode *Suseno et al. (2021), **Yulianto et.al (2022), ***Estiasih et al. (2009) serta Chamidah dan Wicaksono (2021)

2.3.1 Karakterisasi Minyak Kasar

Karakterisasi awal minyak ikan tuna dilakukan untuk mengetahui mutu minyak sebelum memasuki tahap pemurnian. Analisis yang dilakukan meliputi FFA, AV, PV, *p*-AnV, totox, bilangan iod, serta analisis profil asam lemak.

2.3.2 Pemurnian Minyak Ikan (Suseno *et al.* 2021)

Tahap pemurnian dilakukan melalui proses bleaching, minyak kasar dicampur dengan adsorben Magnesol XL sebesar 5% (b/b) dan diaduk menggunakan magnetic stirrer pada suhu 50°C selama 20 menit. Campuran tersebut kemudian didekantasi selama 24 jam dan disaring hingga diperoleh minyak ikan semi murni.

2.3.3 Transesterifikasi Minyak Ikan (Yulianto *et al.* 2022)

Transesterifikasi dilakukan menggunakan katalis NaOH. Pertama, NaOH 0,7% (b/b) dilarutkan dalam etanol dan diaduk pada kecepatan 850 rpm selama 30 menit. Larutan tersebut kemudian dicampurkan dengan minyak ikan trigliserida murni dengan rasio larutan NaOH : minyak sebesar 6:1 (b/b). Proses pengadukan dilanjutkan pada 850 rpm selama 75 menit pada suhu 55°C. Setelah itu, campuran didiamkan selama 24 jam dalam corong pisah hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan bawah dipisahkan dan diuapkan untuk memperoleh minyak etil ester murni. Produk minyak etil ester yang dihasilkan selanjutnya dianalisis untuk menentukan FFA, AV, PV, AnV dan total oksidasi.

2.3.4 Pembuatan Konsentrat Omega-3 dengan Kristalisasi Urea (Estiasih *et al.* 2009, Chamidah dan Wicaksono 2021)

Minyak etil ester kemudian dicampurkan ke dalam larutan urea-metanol pada suhu 5°C. Volume methanol yang digunakan Adalah 200 mL, sedangkan minyak etil ester sebanyak 25g. Perbandingan urea : asam lemak (v/b) disesuaikan dengan perlakuan, yaitu A (1,15:1), B (1,4:1), C (2:1), D (2,6:1) dan E (2,85:1). Larutan urea dan minyak ikan diaduk selama 30 menit. Campuran tersebut kemudian didiamkan pada suhu 10°C selama beberapa waktu yang berbeda, yaitu 16 jam 48 menit; 19 jam 18 menit; 25 jam 18 menit; 31 jam 18 menit dan 33 jam 47 menit hingga membentuk kristal dan dilakukan penyaringan menggunakan corong kaca untuk memisahkan fraksi padat dan fraksi cair. Fraksi cair kemudian dilakukan recovery asam lemak omega-3 sehingga dapat diperoleh konsentrat omega-3. Kristal dan cairan kemudian dipisahkan menggunakan corong kaca. Fraksi cair selanjutnya diproses untuk memperoleh kembali asam lemak omega-3. Recovery dilakukan dengan mencampurkan fraksi cair dengan n-heksan dan HCl selama 1 jam, kemudian dipindahkan ke corong pisah dan didiamkan 1 jam hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan atas (larutan I) dipisahkan.

Lapisan bawah kemudian dicampurkan lagi dengan akuades dan n-heksan selama 30 menit, lalu didiamkan 1 jam hingga kembali terbentuk dua lapisan. Lapisan atas (larutan II) dipisahkan, lalu larutan I dan II digabungkan dan diuapkan untuk menghasilkan konsentrat omega-3. Konsentrat yang diperoleh dianalisis untuk menentukan bilangan iod dan rendemen. Sampel dengan nilai bilangan iod tertinggi kemudian dianalisis lebih lanjut untuk mengetahui profil asam lemaknya. Jumlah formulasi yang digunakan dalam penelitian ini sebanyak 13 kombinasi dengan perbandingan antara urea dan waktu penyimpanan pada suhu 10°C.

Penyusunan formulasi dilakukan menggunakan perangkat lunak Design Expert untuk menghasilkan rancangan percobaan yang terdiri atas 13 perlakuan serta 5 titik tengah (*center point*) dalam metode RSM, yang selanjutnya menghasilkan variabel respon (Y). Rancangan percobaan disusun dengan melibatkan dua variabel bebas, yaitu perbandingan urea:asam lemak sebagai variabel A dan waktu penyimpanan sebagai variabel B. Adapun variabel respon yang diamati meliputi dua parameter, yaitu nilai bilangan iod dan rendemen. Penetapan variabel bebas beserta kode perlakuannya disajikan pada Tabel 1, sedangkan desain rancangan percobaan ditampilkan pada Tabel 2.

Tabel 1 Penentuan variable bebas dan kode perlakuan pada penelitian

Variabel bebas	Simbol	Batas		
		Bawah	Tengah	Atas
Perbandingan urea:asam lemak	A	1,15:1	2:1	2,85:1
Waktu (Menit)	B	1008,88	1518	2027,12

Tabel 2 Desain rancangan percobaan RSM

Run	Faktor 1 A: Perbandingan Urea (Rasio)	Faktor 2 B: Waktu (Menit)
1	1,4 : 1	1158
2	2,6 : 1	1158
3	1,4 : 1	1878
4	2,6 : 1	1878
5	1,15 : 1	1518
6	2,85 : 1	1518
7	2 : 1	1008,88
8	2 : 1	2027,12
9	2 : 1	1518
10	2 : 1	1518
11	2 : 1	1518
12	2 : 1	1518
13	2 : 1	1518

Penentuan kondisi optimum suatu proses menggunakan metode RSM dilakukan melalui beberapa tahapan analisis, meliputi pemilihan model, analisis ragam atau *Analysis of Variance* (ANOVA), serta penentuan titik optimum berdasarkan respon permukaan. Model yang sesuai dengan hasil pengujian akan dihasilkan dari setiap variabel respon. Pemilihan model terbaik didasarkan pada beberapa kriteria, yaitu nilai *sequential model sum of squares* (SMSS) yang harus signifikan ($p < 0,05$), nilai *lack of fit* yang tidak signifikan ($p > 0,05$), nilai *adjusted* R^2 yang tinggi atau mendekati satu, serta nilai *predicted* R^2 yang mendekati nilai *adjusted* R^2 dengan selisih maksimal 20%. Nilai SMSS digunakan untuk mengevaluasi pengaruh model yang direkomendasikan memiliki pengaruh terhadap respon. Sementara itu, nilai *lack of fit* menunjukkan 7 arakte ketidaksesuaian model yang diusulkan. Nilai *adjusted* R^2 berperan dalam

membandingkan kualitas model yang dikembangkan, sedangkan nilai *predicted R²* digunakan untuk menilai kemampuan model dalam memprediksi hasil optimasi (Montgomery 2015).

2.4 Prosedur Analisis

Kualitas dan mutu minyak ikan dapat ditentukan dengan analisis pengujian meliputi analisis profil asam lemak, kadar asam lemak bebas (FFA), bilangan asam (AV), bilangan peroksida (PV), bilangan p-anisidin (AnV), total oksidasi, rendemen dan analisis bilangan iod.

2.4.1 Analisis Profil Asam Lemak (AOAC 2023)

Analisis profil asam lemak dilakukan melalui tahap derivatisasi, yaitu mengonversi asam lemak menjadi senyawa metil ester agar dapat terdeteksi oleh instrumen *gas chromatography* (GC). Data hasil analisis kemudian direkam dalam bentuk kromatogram yang terhubung dengan sistem pencatat. Profil tersebut ditampilkan sebagai beberapa puncak pada waktu retensi tertentu yang mencerminkan karakteristik masing-masing asam lemak, selanjutnya diidentifikasi dengan membandingkannya terhadap standar yang tersedia. Sebelum dilakukan injeksi sampel, perangkat gas kromatografi terlebih dahulu diatur sesuai dengan kondisi operasional sebagai berikut:

- a) Kolom: Cyanopropyl methyl sil (capillary column)
- b) Dimensi kolom: P = 60 m, Ø dalam = 0,25 mm, 0,25 µm film Thickness
- c) Laju alir N₂: 30 mL/menit
- d) Laju alir He: 30 mL/menit
- e) Laju alir H₂: 40 mL/menit
- f) Laju alir udara: 400 mL/menit
- g) Suhu injektor: 220 °C
- h) Suhu detektor: 240 °C
- i) Suhu kolom: suhu program
- j) Volume injek: 1 µL

Analisis asam lemak dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu ekstraksi lemak, pembentukan metil ester (metilasi), injeksi, dan identifikasi kromatogram hasil analisis.

1) Ekstraksi lemak

Tahap ekstraksi lemak pada ikan dilakukan menggunakan pelarut non polar (*petroleum eter*) dengan metode soxhlet. Sampel ditimbang sebanyak 7-10 g untuk memperoleh minyak dan hasilnya dalam bentuk minyak.

2) Pembentukan metil ester

Metilasi dilakukan dengan merefluks lemak menggunakan waterbath dengan menambahkan pereaksi berturut-turut NaOH-metanol 0,5 N, 5 ml BF₃, dan n-heksana. Minyak ikan sebanyak 0,02 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 5 mL NaOH - metanol 0,5 N, lalu dipanaskan pada suhu sekitar 80°C selama 20 menit, kemudian didinginkan pada suhu ruang. Sebanyak 5 mL BF₃ ditambahkan ke dalam tabung dan dipanaskan kembali menggunakan waterbath pada suhu 80 °C selama 20 menit dan selanjutnya didinginkan pada suhu ruang. NaCl jenuh sebanyak 2 mL ditambahkan pada tabung reaksi dan dikocok.

Selanjutnya ditambah 5 mL heksana, kemudian dikocok kembali. Larutan heksana di bagian atas dipindahkan dengan bantuan pipet tetes ke dalam tabung reaksi lain. Sebanyak 1 µL sampel minyak diinjeksikan ke dalam GC. Asam lemak akan diidentifikasi oleh flame ionization detector (FID) atau detektor ionisasi nyala, hasil yang didapat akan tercatat melalui kromatogram (peak).

3) Identifikasi asam lemak

Identifikasi asam lemak dilakukan dengan menginjeksikan metil ester pada GC. Identifikasi dilakukan dengan menyetarakan waktu retensi sampel yang sama dengan waktu retensi standar yang digunakan, yaitu *SupelcoTM 37 Component Fatty Acid Methyl Ester Mix* (Bellefonte, USA). Penyetaraan waktu retensi ini untuk menunjukkan komponen yang sama dengan standar tersebut. Analisis kuantitatif asam lemak dihitung dengan rumus:

$$\text{Asam lemak (\%)} = \frac{\frac{A_x}{A_s} \times C \text{ standar} \times \frac{V \text{ contoh}}{100}}{\text{Bobot contoh (g)}} \times 100\%$$

Keterangan:

A_x : Luas area sampel
 A_s : Luas area standar
 C standar : Konsentrasi Standar
 V contoh : Volume contoh

2.4.2 Analisis Asam Lemak Bebas (FFA) (SNI 8392-1:2017)

Minyak ikan ditimbang sebanyak 2-2,5 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL kemudian ditambah 25 mL alkohol 95%. Minyak dipanaskan dalam penangas air selama 10 menit sambil diaduk, kemudian setelah dingin campuran tersebut ditetesi indikator PP (fenolftalein) sebanyak 2 mL. Minyak ikan setelah itu campuran tersebut dikocok dan dititrasi dengan KOH 0,1 N hingga timbul warna merah muda yang tidak hilang dalam 10 detik. Persentase FFA dihitung berdasarkan persamaan berikut:

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

Keterangan:

FFA : Asam lemak bebas (%)
 A : Jumlah titrasi KOH (mL)
 N : Normalitas larutan KOH
 M : Bobot molekul DHA (328,48 g/mol)
 G : Bobot contoh

2.4.3 Analisis Bilangan Asam (AOCS 2017)

Penentuan bilangan asam dilakukan dengan titrasi KOH terhadap sampel yang menggunakan prinsip jumlah KOH yang diperlukan (mg) untuk menetralkan 1 g lemak. Berikut persamaan untuk mendapatkan nilai bilangan asam mg KOH/g:

$$\text{Nilai Asam} = \frac{V \times N \times 56,1}{G}$$

Keterangan:

V : Jumlah titrasi KOH (mL)
 N : Normalitas KOH (0,1 N)
 $56,1$: Berat Molekul KOH
 G : Berat sampel (g)

2.4.4 Analisis Bilangan Peroksida (PV) (SNI 8392-2:2018)

Analisis PV dilakukan dengan penimbangan sampel sebanyak 2-2,5 g sampel minyak ikan kemudian ditambahkan dengan 30 mL campuran larutan asam asetat glasial dan kloroform (3:2). Larutan ini kemudian ditambahkan dengan 0,5 mL larutan KI jenuh dan 30 mL akuades. Larutan pati sebanyak 0,5 mL ditambahkan kedalam larutan sehingga larutan menjadi berwarna biru kehitaman. Larutan ini kemudian dititrasi menggunakan larutan titran $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 0,01 N hingga tercapai titik ekuivalen yaitu perubahan warna larutan menjadi kuning jernih. Perhitungan nilai bilangan peroksida, yaitu:

$$\text{Nilai Peroksida} = \frac{A \times N \times 1000}{\text{Bobot sampel (g)}}$$

Keterangan:

A : Jumlah titrasi $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (mL)

N : Normalitas $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (N)

2.4.5 Analisis Bilangan p-anisidin (SNI 8392-3:2018)

Analisis bilangan p-anisidin menggunakan larutan uji 1 dan larutan uji 2. Larutan uji 1 dibuat dengan cara melarutkan 1 g sampel ke dalam 25 mL isooktan. Larutan 2 dibuat dengan cara menambahkan 1 mL larutan p-anisidin (2,5 g/L) kedalam 5 mL larutan uji 1. Selanjutnya dibuat larutan referensi 1 dan larutan referensi 2 sebagai larutan pembanding. Larutan referensi 1 berupa larutan trimetilpentana dan larutan referensi 2 dibuat dengan cara menambahkan 1 mL larutan p-anisidin (2,5 g/L) ke dalam 5 mL larutan trimetilpentana. Masing masing larutan uji dikocok hingga larut dan dibungkus dengan alumunium foil. Larutan uji 1 kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada 350 nm dengan larutan referensi 1 sebagai larutan pembanding. Larutan uji 2 tepat 10 menit setelah larutan disiapkan, kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada 350 nm dengan menggunakan larutan referensi 2 sebagai larutan pembanding. Perhitungan nilai bilangan p-anisidin, yaitu:

$$\text{Bilangan } p - \text{anisidine} = \frac{25 \times (1,2A_2 - A_1)}{M}$$

Keterangan:

A1 : Adsorben larutan uji 1

A2 : Adsorben larutan uji 2

M : Massa sampel yang digunakan pada larutan uji 1

2.4.6 Analisis Total Oksidasi (SNI 8467:2018)

Total oksidasi dihitung dari nilai bilangan peroksida dan nilai bilangan *p-anisidin*. Nilai total oksidasi memiliki rumus sebagai berikut:

$$\text{Total oksidasi} = 2 \text{ Nilai peroksida} + \text{nilai } p\text{-anisidin}$$

2.4.7 Rendemen Konsentrat Omega-3

Rendemen konsentrat omega-3 dihitung dengan mengukur berat konsentrat omega-3 dan dibandingkan dengan berat minyak etil ester. Perhitungan rendemen konsentrat omega-3 memiliki rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{Berat konsentrat omega-3}}{\text{Berat minyak etil ester}} \times 100\%$$

2.4.8 Analisis Bilangan Iod (IV) dengan Metode Wijis (AOAC 2023)

Analisis Bilangan Iod dilakukan dengan mengambil sampel sebanyak 0,1-0,5 gr dalam erlenmeyer tertutup, kemudian ditambahkan 20 mL kloroform dan 25 mL pereaksi Wijs, didiamkan selama 30 menit di ruang gelap sambil dikocok-kocok. Langkah selanjutnya ditambahkan 10 mL kalium iodida (KI) 15% dan erlenmeyer dibilas dengan 100 mL akuades. Titrasi dilakukan dengan natrium tiosulfat 0,1 N sampai warna berubah menjadi kuning muda, kemudian ditambahkan indikator kanji 1% dan titrasi lagi hingga warna biru tepat hilang. Analisis terhadap blangko dilakukan dengan cara yang sama, sampel diganti dengan akuades sebagai blangko. Perhitungan nilai bilangan iod sebagai berikut:

$$\text{Bilangani iod (\%)} = \frac{V \text{ titran (blangko - contoh)} \times N \times 12,69}{G}$$

Keterangan:

N : Normalitas natrium tiosulfat

F : Bobot sampel

2.5 Analisis Data

Analisis data merupakan tahapan akhir yang berfungsi untuk menarik kesimpulan dari seluruh rangkaian penelitian yang telah dilakukan. Pada penelitian ini, analisis data dilakukan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM) dengan bantuan perangkat lunak statistik Design Expert versi 13 (DX13). Metode optimasi RSM diterapkan pada proses kristalisasi suhu rendah dengan tujuan memperoleh konsentrat asam lemak omega-3 yang memiliki kandungan EPA dan DHA tertinggi. Menurut Wahyono *et al.* (2018), *Response Surface Methodology* (RSM) merupakan pendekatan statistik yang digunakan untuk menganalisis hubungan antara variabel respon dan sejumlah variabel bebas, serta dimanfaatkan untuk melakukan optimasi dan pengembangan proses baik pada formulasi produk baru maupun produk yang telah diproduksi sebelumnya. Metode RSM dikenal sebagai salah satu teknik optimasi yang paling banyak digunakan dalam bidang teknologi dan rekayasa pangan. Penerapan RSM dalam penelitian ini diharapkan mampu menghasilkan proses pemurnian asam lemak omega-3 yang optimal dan efisien serta memberikan dasar pengembangan lebih lanjut. Rancangan RSM yang digunakan adalah tipe *Central Composite Design* (CCD), yang terdiri atas tiga bagian utama sebagai berikut:

- i. Titik sudut (*corner points*) = n_f dengan $x_i = -1.1$; $i = 1, \dots, k$ membentuk bagian faktorial pada desain
- ii. Titik pusat (*center points*) = n_c dengan $x_i = 0$; $i = 1, \dots, k$
- iii. Titik aksial (*axial points*) = α dengan $x_i = -\alpha, \alpha$; $i = 1, \dots, k$. Nilai ini ditentukan oleh jumlah variabel faktor, di mana $\alpha = (2k)^{1/4}$

Model persamaan yang digunakan pada analisis data sebagai berikut:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^K \beta_i X_i^2 + \sum_i \sum_j \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

- Y = Hasil perkiraan respon yang diinginkan
 X_{ij} = Peubah yang meliputi rasio urea dan waktu
 β_0 = Koefisien model
 β_i = Pengaruh linier peubah terhadap respon
 β_{ij} = Pengaruh interaksi antar peubah terhadap respon
 β_{ii} = Pengaruh kuadratik peubah terhadap respon
 ε_{ij} = Gangguan error

III HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Karakteristik Minyak Kasar Ikan Tuna

Minyak kasar ikan tuna yang digunakan sebagai bahan baku dalam penelitian ini terlebih dahulu dikarakterisasi untuk mengetahui mutu dan komposisinya sebelum dilakukan proses pemurnian dan konsentrasi omega-3. Karakterisasi dilakukan melalui pengujian parameter oksidasi serta analisis profil asam lemak untuk memperoleh informasi mengenai tingkat kestabilan dan kandungan asam lemak yang terdapat dalam minyak. Hasil karakterisasi tersebut digunakan sebagai dasar untuk mengevaluasi perubahan kualitas minyak pada setiap tahapan proses pembuatan konsentrat omega-3.

3.1.1 Parameter Oksidasi Minyak Kasar Ikan Tuna

Minyak kasar ikan tuna yang digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan konsentrat omega-3 terlebih dahulu dilakukan proses karakterisasi. Tahapan ini bertujuan untuk menilai kualitas bahan baku sebelum digunakan lebih lanjut dalam penelitian. Karakterisasi dilakukan melalui analisis beberapa parameter oksidatif, yaitu asam lemak bebas (FFA), bilangan asam (AV), bilangan peroksida (PV), bilangan *p*-anisidin (*p*-AnV), serta total oksidasi (totoks). Nilai karakteristik minyak kasar ikan tuna yang diperoleh selanjutnya dibandingkan dengan standar mutu yang ditetapkan oleh *International Fish Oil Standards* (IFOS) tahun 2014. Hasil karakterisasi minyak kasar ikan tuna tersebut disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3 Parameter oksidasi minyak kasar ikan tuna

Parameter	Minyak kasar	IFOS (2014)
Asam lemak bebas (FFA) (%)	1,45±0,05	≤ 1,50
Bilangan peroksida (PV) (mEq/kg)	5,97±0,33	≤ 5,00
Bilangan <i>p</i> -anisidin (AnV) (mEq/kg)	1,01±1,18	≤ 20,00
Total Oksidasi (Totoks)	12,94±0,84	≤ 26,00

Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 3, dapat diketahui bahwa sebagian besar parameter mutu minyak kasar ikan tuna sudah memenuhi standar *International Fish Oil Standard* (IFOS) (2014), kecuali nilai PV. Kondisi tersebut disebabkan oleh bahan baku yang berasal dari hasil samping industri penepungan ikan, yang umumnya melibatkan penggunaan suhu tinggi selama proses produksi, penyimpanan yang tidak optimal dan pengolahan yang kurang terkontrol. Perlakuan tersebut menyebabkan oksidasi yang cukup tinggi. Hal ini juga didukung oleh (Ketaren 2012) yang menyatakan bahwa tingginya nilai PV pada penelitian ini diduga dipicu oleh paparan suhu tinggi selama proses penepungan yang mempercepat terjadinya oksidasi.

Nilai asam lemak bebas (FFA) minyak kasar ikan tuna yang diperoleh sebesar 1,45% dan sudah memenuhi standar IFOS (2014). Nilai FFA mencerminkan tingkat degradasi asam lemak akibat reaksi hidrolisis dan oksidasi, di mana semakin rendah nilai FFA menunjukkan kualitas minyak yang semakin baik. Proses pengolahan minyak ikan tuna pada suhu tinggi dengan waktu ekstraksi yang optimal dapat menghasilkan nilai asam lemak bebas (FFA) yang lebih rendah.

Kondisi tersebut mampu menekan terjadinya reaksi hidrolisis, yaitu pemecahan molekul lemak menjadi gliserol dan asam lemak bebas akibat keberadaan air serta aktivitas enzim lipase. Selain melalui proses hidrolisis, pembentukan asam lemak bebas juga dapat dipengaruhi oleh reaksi oksidasi yang terjadi pada lemak netral (Nurhasnawati *et al.* 2015).

Nilai PV yang diperoleh sebesar 5,97 mEq/kg dan melebihi standar IFOS (2014). Bilangan peroksida digunakan sebagai indikator awal kerusakan minyak akibat proses oksidasi primer. Minyak ikan dengan nilai bilangan peroksida yang tinggi menunjukkan tingkat kerusakan oksidatif yang lebih besar, sehingga mutu minyak menjadi lebih rendah. Nilai bilangan *p*-anisidin masih berada dalam kisaran yang dapat diterima, yaitu sebesar 1,01 mEq/kg, yang mengindikasikan bahwa oksidasi sekunder belum berlangsung secara signifikan. Bilangan *p*-anisidin mencerminkan tingkat oksidasi sekunder yang ditentukan oleh keberadaan senyawa aldehid dalam minyak. Nilai total oksidasi (Totox) minyak kasar adalah sebesar 12,94. Total oksidasi (totoks) merupakan gabungan dari bilangan peroksida dan bilangan *p*-anisidin. Meskipun nilai bilangan peroksida (PV) tergolong relatif tinggi, rendahnya nilai bilangan *p*-anisidin (AnV) menyebabkan nilai total oksidasi (totoks) tetap berada dalam batas yang dapat diterima. Kondisi ini menunjukkan bahwa proses oksidasi masih dapat dikendalikan dan kualitas minyak ikan belum mengalami penurunan yang signifikan. Dengan demikian, peningkatan nilai FFA, PV, dan *p*-AnV akan secara langsung berkontribusi terhadap kenaikan nilai total oksidasi (Estiasih 2009).

3.1.2 Profil Asam Lemak Minyak Kasar Ikan Tuna

Analisis profil asam lemak dilakukan untuk mengidentifikasi komposisi senyawa asam lemak yang terdapat dalam minyak ikan, meliputi asam lemak jenuh (*saturated fatty acid* atau SFA), asam lemak tak jenuh tunggal (*monounsaturated fatty acid* atau MUFA), serta asam lemak tak jenuh ganda (*polyunsaturated fatty acid* atau PUFA). Pengujian ini juga bertujuan untuk menentukan jenis asam lemak yang dominan dalam minyak ikan tuna kasar. Analisis profil asam lemak dilakukan menggunakan metode *gas chromatography* (GC). Hasil pengujian profil asam lemak minyak kasar ikan tuna selanjutnya disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4 Profil asam lemak minyak kasar ikan tuna

Asam Lemak (% w/w)	Persentase (%)
Asam Butirat (C4:0)	0,09
Asam Miristat (C14:0)	5,39
Asam Pentadekanoat (C15:0)	0,36
Asam Palmitat (C16:0)	13,81
Asam Heptadekanoat (C17:0)	0,38
Asam Stearat (C18:0)	2,46
Asam Arakhidat (C20:0)	0,13
Asam Behenat (C22:0)	0,07
Total Saturated Fatty Acid (SFA)	22,69
Asam Miristoleat (C14:1)	0,03
Asam Palmitoleat (C16:1)	3,82
Cis-10-Asam Heptadesenoat (C17:1)	0,18
Asam Oleat (C18:1n9c)	11,84
Asam Erukat (C22:1n9)	10,53
Asam Nervoniat (C24:1)	0,80
Asam cis-11-eikosenoat (C20:1)	0,53
Asam elaidat (c18:1n9t)	0,40
Total Monounsaturated Fatty Acid (MUFA)	28,13
Asam γ -linolenat (C18:3n6)	0,05
Asam Linolenat (C18:3n3)	0,66
Asam cis-11,14-eikosedienoat (C20:2)	0,22
Asam eikosatrienoat cis-11, 14, 17 (C20:3n-3)	0,71
Asam Arakhidonat (C20:4n6)	0,58
Asam Cis-5,8,11,14,17- Eikosapentaenoat (C20:5n-3)	10,09
Asam Cis-4,7,10,13,16,19- Dokosaheksaenoat (C22:6n-3)	8,05
Total Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA)	20,36
Total Asam Lemak Teridentifikasi	71,18

Hasil analisis profil asam lemak minyak kasar ikan tuna yang disajikan pada Tabel 4 menunjukkan bahwa sampel mengandung sebanyak 24 jenis asam lemak dengan proporsi masing-masing sebesar 22,69% SFA, 28,13% MUFA, dan 20,36% PUFA. Total asam lemak yang berhasil teridentifikasi mencapai 71,18%. Komposisi asam lemak minyak kasar ikan tuna didominasi oleh SFA berupa asam palmitat sebesar 13,81%, MUFA berupa asam oleat dengan kadar 11,84%, serta PUFA yang didominasi oleh asam eikosapentaenoat sebesar 10,09%. Kandungan omega-3 sebesar 19,51%. Perbedaan komposisi asam lemak yang diperoleh pada berbagai penelitian diduga disebabkan oleh proses oksidasi yang terjadi selama penyimpanan (Handayani *et al.* 2014). Selain itu, variasi komposisi asam lemak juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti jenis pakan, spesies ikan, lokasi penangkapan, pola makan, suhu perairan, serta kondisi musim (Insani *et al.* 2017).

3.2 Pemurnian Minyak Ikan Tuna

Pemurnian minyak ikan tuna dilakukan untuk meningkatkan mutu minyak dengan mengurangi berbagai komponen pengotor yang dapat memengaruhi kualitas dan stabilitas produk. Tahapan pemurnian dalam penelitian ini meliputi proses bleaching dan netralisasi yang bertujuan menghilangkan pigmen, asam lemak bebas, serta senyawa lain yang tidak diinginkan. Keberhasilan proses pemurnian dievaluasi melalui pengujian parameter oksidasi dan karakteristik minyak yang dihasilkan sebelum digunakan pada tahap pembuatan konsentrat omega-3.

3.2.1 Parameter Oksidasi Minyak Murni Ikan Tuna

Tahapan pemurnian dilakukan untuk menghasilkan minyak ikan dengan kualitas yang memenuhi standar IFOS 2014, khususnya pada parameter oksidatif. Proses pemurnian minyak ikan dalam penelitian ini meliputi tahap bleaching menggunakan adsorben Magnesol XL sebesar 5% (b/b) serta tahap netralisasi menggunakan NaOH. Proses bleaching bertujuan untuk mengurangi warna yang tidak diinginkan yang masih terdapat dalam minyak ikan, sedangkan netralisasi secara alkali berfungsi untuk memisahkan asam lemak bebas (FFA) dan fosfolipid dari minyak ikan (Ketaren 2012). Perbedaan kenampakan antara minyak kasar dan minyak murni berbasis trigliserida disajikan pada Gambar 2.



Minyak Kasar Minyak Murni Trigliserida

Gambar 2 Kenampakan minyak kasar dan minyak murni

Minyak kasar yang digunakan sebagai bahan baku menunjukkan karakteristik berwarna cokelat gelap, memiliki sedikit aroma amis, serta masih mengandung bahan pengotor. Setelah melalui proses pemurnian, minyak ikan mengalami perubahan menjadi berwarna cokelat muda yang lebih cerah dan tidak lagi berbau amis. Kondisi tersebut sejalan dengan hasil penelitian Dari *et al.* (2017) yang menyatakan bahwa proses bleaching menggunakan Magnesol XL mampu mengadsorpsi berbagai komponen pengotor sehingga warna minyak menjadi lebih jernih. Beberapa jenis pengotor yang dapat diserap oleh Magnesol antara lain pigmen, resin, gum, serta produk degradasi minyak seperti senyawa peroksida (Ketaren 2012). Proses pemurnian juga berperan dalam meningkatkan kualitas minyak ikan, khususnya parameter oksidatif. Hasil analisis parameter oksidatif setelah pemurnian disajikan pada Tabel 5.

Tabel 5 Parameter oksidasi minyak murni trigliserida ikan tuna

Parameter	Minyak Murni Trigliserida	IFOS (2014)
Asam lemak bebas (FFA) (%)	1,08±0,15	≤ 1,50
Bilangan peroksida (PV) (mEq/kg)	1,22±0,59	≤ 5,00
Bilangan p-anisidin (AnV) (mEq/kg)	3,34±0,34	≤ 20,00
Total Oksidasi (Totoks)	5,75±0,87	≤ 26,00

Nilai asam lemak bebas (FFA) yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 1,08±0,15%, masih berada di bawah batas maksimum yang ditetapkan oleh International Fish Oil Standards (IFOS), yaitu ≤1,50%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa proses pemurnian berhasil menurunkan kadar FFA dibandingkan kondisi minyak kasar sebelumnya yang mencapai 1,45%, yang mengindikasikan berkurangnya asam lemak bebas serta senyawa-senyawa yang tidak diinginkan dalam minyak ikan (Fauziah *et al.* 2024). Selain itu, nilai bilangan peroksida (PV) mengalami penurunan hingga mencapai 1,22±0,59 mEq/kg, sehingga masih berada dalam kisaran aman. Penurunan PV ini menunjukkan efektivitas proses pemurnian dalam menghilangkan senyawa peroksida sebagai produk oksidasi primer. Adsorben Magnesol XL berperan dalam menyerap senyawa peroksida serta logam pro-oksidan yang dapat mempercepat terjadinya reaksi oksidasi.

Nilai bilangan *p*-anisidin (AnV) yang diperoleh sebesar 3,34±0,34 mEq/kg, yang masih jauh di bawah batas maksimum IFOS sebesar ≤20,00 mEq/kg. Peningkatan AnV yang terjadi diduga disebabkan oleh konversi senyawa peroksida menjadi aldehida selama proses pemanasan atau penyimpanan. Hal ini sejalan dengan penjelasan Fauziah *et al.* (2024) bahwa tingginya kandungan asam lemak tak jenuh dalam minyak ikan dapat memicu peningkatan nilai anisidin akibat reaksi oksidatif yang dipengaruhi oleh oksigen, cahaya, dan panas selama proses pemurnian, penyimpanan, serta pengujian, sehingga terbentuk senyawa seperti aldehida, keton, dan turunannya. Nilai total oksidasi (totoks) yang diperoleh sebesar 5,75±0,87 dan masih berada dalam batas aman menurut standar IFOS, yaitu ≤26,00. Nilai totoks ini mencerminkan akumulasi oksidasi primer dan sekunder yang terjadi dalam minyak ikan. Penurunan nilai parameter oksidatif secara keseluruhan dipengaruhi oleh proses bleaching menggunakan Magnesol XL yang mampu menurunkan kandungan peroksida, logam berat, serta memperbaiki warna minyak ikan (Suseno *et al.* 2011).

3.2.2 Profil Asam Lemak Minyak Murni Ikan Tuna

Analisis profil asam lemak dilakukan untuk menentukan komposisi senyawa asam lemak yang terkandung dalam minyak ikan, meliputi asam lemak jenuh (*saturated fatty acid* atau SFA), asam lemak tak jenuh tunggal (*monounsaturated fatty acid* atau MUFA), serta asam lemak tak jenuh ganda (*polyunsaturated fatty acid* atau PUFA). Pengujian ini juga bertujuan untuk mengidentifikasi jenis asam lemak yang mendominasi pada minyak ikan murni. Analisis profil asam lemak dilakukan menggunakan metode *gas chromatography* (GC). Hasil pengujian profil asam lemak minyak ikan tuna disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6 Profil asam lemak minyak murni ikan tuna

Asam Lemak (% w/w)	Persentase (%)
Asam Laurat (C12:0)	0,07
Asam Miristat (C14:0)	10,39
Asam Pentadekanoat (C15:0)	0,49
Asam Palmitat (C16:0)	15,84
Asam Heptadekanoat (C17:0)	0,57
Asam Stearat (C18:0)	2,94
Asam Arakhidat (C20:0)	0,29
Asam Behenat (C22:0)	0,20
Total Saturated Fatty Acid (SFA)	30,79
Asam Palmitoleat (C16:1)	9,45
Cis-10-Asam Heptadesenoat (C17:1)	0,06
Asam Oleat (C18:1n9c)	3,50
Asam Elaidat (C18:1n9t)	0,94
Asam cis-11-eikosenoat (C20:1)	1,01
Asam Nervoniat (C24:1)	0,45
Total Monounsaturated Fatty Acid (MUFA)	15,41
Asam γ -linolenat (C18:3n6)	0,25
Asam Linolenat (C18:3n3)	0,50
Asam cis-11,14-eikosedienoat (C20:2)	0,16
Asam Cis-8,11,14- Eikosetrienat (C20:3n-6)	0,24
Asam Arakhidonat (C20:4n6)	1,90
Asam Cis-5,8,11,14,17- Eikosapentaenoat (C20:5n-3)	23,51
Asam Cis-4,7,10,13,16,19- Dokosaheksaenoat (C22:6n-3)	8,89
Total Polyunsaturated Fatty Acids (PUFA)	35,45
Total Asam Lemak Teridentifikasi	81,65

Hasil analisis profil asam lemak minyak ikan tuna murni yang disajikan pada Tabel 6 menunjukkan bahwa kandungan omega-3 sebesar 32,90%. Komposisi asam lemak hasil pemurnian didominasi oleh kelompok asam lemak tak jenuh ganda (PUFA), khususnya asam eikosapentaenoat (EPA; C20:5n-3) sebesar 23,51%, yang nilainya lebih tinggi dibandingkan dengan asam dokosaheksaenoat (DHA; C22:6n-3) sebesar 8,89%. Asam lemak EPA dan DHA merupakan komponen nutrisi penting yang berperan dalam menjaga kesehatan sistem kardiovaskular, mendukung pertumbuhan, serta menunjang perkembangan kognitif manusia (Mumtaza 2015).

PUFA memiliki struktur rantai panjang dengan beberapa ikatan rangkap sehingga tidak mudah berikatan dengan adsorben yang digunakan selama proses pemurnian. Penambahan adsorben diketahui dapat meningkatkan konsentrasi PUFA dalam minyak ikan karena adsorben menyerap senyawa-senyawa berukuran kecil, seperti produk oksidasi primer dan sekunder, pigmen, serta asam lemak bebas (Suseno *et al.* 2013). Variasi komposisi asam lemak juga dipengaruhi oleh keberadaan ikatan rangkap dalam struktur molekulnya. Menurut Ratih *et al.* (2016), asam lemak tak jenuh muncul lebih awal pada kromatogram dibandingkan asam lemak jenuh, yang disebabkan oleh konfigurasi cis pada asam lemak tak jenuh yang membuat ukuran molekulnya lebih kecil sehingga lebih mudah menguap.

3.3 Transesterifikasi Minyak Ikan Tuna

Tahap transesterifikasi dilakukan untuk meningkatkan kestabilan minyak ikan terhadap proses oksidasi. Transesterifikasi merupakan reaksi antara trigliserida dengan alkohol menggunakan katalis untuk menghasilkan etil ester dan gliserol (Farouk *et al.* 2024). Pada tahap ini digunakan katalis untuk mempercepat laju reaksi, sehingga proses dapat berlangsung pada suhu yang relatif lebih rendah. Dalam penelitian ini, reaksi transesterifikasi dilakukan dengan penambahan katalis NaOH sebesar 0,7% (b/b). Nilai parameter oksidatif minyak hasil transesterifikasi selanjutnya disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7 Parameter oksidasi minyak etil ester ikan tuna

Parameter	Minyak Murni Etil Ester	IFOS (2014)
Asam lemak bebas (FFA) (%)	$0,64 \pm 0,04$	$\leq 1,50$
Bilangan peroksida (PV) (mEq/kg)	$0,83 \pm 0,05$	$\leq 5,00$
Bilangan p-anisidin (AnV) (mEq/kg)	$1,71 \pm 0,20$	$\leq 20,00$
Total Oksidasi (Totoks)	$3,37 \pm 0,22$	$\leq 26,00$

Kadar asam lemak bebas (FFA) setelah proses transesterifikasi mengalami penurunan 40,7%, dari nilai FFA minyak murni trigliserida sebesar 1,08% menjadi 0,64%. Hasil transesterifikasi menunjukkan bahwa FFA dari trigliserida cenderung bereaksi (auto-katalitik) dan berikatan kuat dengan ion katalis, sehingga kadar FFA menurun selama proses (Haryani *et al.* 2023). Nilai bilangan peroksida (PV) pada tahap transesterifikasi menunjukkan penurunan sebesar 31,97%, dari 1,22 mEq/kg pada minyak murni trigliserida menjadi 0,83 mEq/kg setelah reaksi transesterifikasi.

Hasil ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Yulianto (2022) yang melaporkan penurunan PV sebesar 52%, dari 3,57 mEq/kg menjadi 1,73 mEq/kg. Perbedaan nilai bilangan peroksida tersebut diduga dipengaruhi oleh perbedaan tahapan pemurnian yang diterapkan. Penurunan bilangan peroksida setelah proses bleaching diduga terjadi karena bleaching earth mengadsorpsi senyawa hidroperoksida sebagai produk primer oksidasi lipid sehingga jumlah peroksida yang tersisa di dalam minyak berkurang (Almoselhy *et al.* 2020). Untuk bilangan p-anisidin dan bilangan totoks juga mengalami penurunan. Bilangan p-anisidin dari 3,34 mEq/kg pada minyak murni trigliserida menjadi 1,71 mEq/kg setelah reaksi transesterifikasi. Bilangan totoks dari 5,75 pada minyak murni trigliserida menjadi 3,37 setelah reaksi transesterifikasi.

3.4 Model Respon dengan *Response Surface Methodology* (RSM)

Optimasi proses pembuatan konsentrat omega-3 ikan tuna pada penelitian ini dilakukan dengan melibatkan dua variabel bebas, yaitu konsentrasi perbandingan urea dan waktu, serta dua variabel respon berupa bilangan iod dan rendemen. Penentuan kondisi optimum dilakukan melalui analisis respon permukaan menggunakan perangkat lunak Design-Expert versi 13, dengan tujuan memperoleh persamaan matematis dan model polinomial yang paling sesuai dengan data hasil penelitian. *Response Surface Methodology* (RSM) merupakan pendekatan statistika yang efektif untuk menganalisis hubungan antara variabel proses dan respon melalui rancangan percobaan yang telah ditetapkan sebelumnya.

Metode ini memungkinkan penentuan kondisi optimum yang stabil dari faktor perlakuan yang berpengaruh terhadap respon yang diamati, berdasarkan model persamaan yang dihasilkan dari rancangan Central Composite Design (CCD) dalam program Design-Expert. Optimasi variabel bebas dalam suatu proses dapat diterapkan untuk mencapai kondisi operasional yang optimal pada skala industri, sehingga metode ini berperan penting dalam meningkatkan efisiensi dan mutu proses (Akbar, 2021). Selain itu, RSM mampu mengevaluasi respon (y) yang dipengaruhi oleh beberapa faktor secara simultan guna memperoleh kondisi optimum dari respon tersebut (Montgomery, 2009). Hasil pengoperasian perangkat lunak menghasilkan 13 kombinasi perlakuan yang terdiri atas 5 titik tengah. Data hasil pengujian konsentrat omega-3 yang diperoleh melalui proses kristalisasi suhu rendah disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8 Hasil pengujian konsentrat omega-3 kristalisasi urea

Run	Faktor 1 A: Perbandingan Urea (gram)	Faktor 2 B: Waktu (Menit)		Respon 1 Bilangan iod (mg/100g)	Respon 2 Rendemen (%)
1	1,4:1	1158	19 jam 18 menit	145,62	14,16
2	2,6:1	1158	19 jam 18 menit	163,15	16,12
3	1,4:1	1878	31 jam 18 menit	198,28	18,24
4	2,6:1	1878	31 jam 18 menit	152,93	17,16
5	1,15:1	1518	25 jam 18 menit	128,40	15,68
6	2,85:1	1518	25 jam 18 menit	153,66	13,48
7	2:1	1008,88	16 jam 49 menit	164,43	7,16
8	2:1	2027,12	33 jam 47 menit	216,79	18,08
9	2:1	1518	25 jam 18 menit	136,99	8,44
10	2:1	1518	25 jam 18 menit	186,22	9,64
11	2:1	1518	25 jam 18 menit	195,83	8,68
12	2:1	1518	25 jam 18 menit	205,54	9,24
13	2:1	1518	25 jam 18 menit	199,36	8,84

Hasil pengoperasian perangkat lunak menghasilkan 13 perlakuan yang terdiri atas 5 titik tengah. Setelah dilakukan penambahan urea sesuai rancangan gabungan terpusat CCD dengan pendekatan RSM, seluruh perlakuan tersebut dianalisis kualitasnya berdasarkan parameter bilangan iod dan rendemen. Penentuan kondisi proses optimum menggunakan metode RSM dilakukan melalui pemilihan model, analisis ragam (ANOVA), serta evaluasi permukaan respon terhadap parameter oksidasi. Pemilihan model terbaik didasarkan pada beberapa kriteria, antara lain nilai signifikansi ($p < 0,05$) yang menunjukkan kesesuaian model, nilai koefisien determinasi (R^2) yang tinggi sebagai indikator kuatnya hubungan antara variabel bebas dan respon, serta selisih terkecil antara nilai R^2 dan koefisien determinasi yang disesuaikan. Semakin kecil perbedaan antara kedua nilai tersebut, maka tingkat ketepatan model semakin baik (Montgomery, 2009). Tujuan optimasi permukaan respon dalam penelitian ini adalah untuk memperoleh nilai minimum dan maksimum pada parameter bilangan iod dan rendemen.

Sebanyak 13 formulasi menunjukkan hasil yang baik karena seluruhnya menghasilkan nilai bilangan iod yang masih memenuhi standar IFOS (2014). Nilai

bilangan iod terendah diperoleh pada formulasi 5 sebesar 128,40 mg/100g dengan perbandingan urea : asam lemak 1,15:1 dengan penyimpanan selama 25 jam 18 menit. Sementara itu, nilai bilangan iod tertinggi diperoleh pada formulasi 8 dengan perbandingan urea : asam lemak 2:1 dengan penyimpanan selama 33 jam 47 menit. Rendemen terendah sebesar 7,16% diperoleh pada formulasi 7 dengan perbandingan urea : asam lemak 2:1 dengan penyimpanan selama 16 jam 49 menit. Sementara itu, rendemen tertinggi sebesar 18,08% diperoleh pada formulasi 8 dengan perbandingan urea : asam lemak 2:1 dengan penyimpanan selama 33 jam 47 menit.

3.4.1 Nilai Bilangan Iod/Iod Value Konsentrat Omega-3 Kristalisasi Urea

Bilangan iod digunakan untuk menggambarkan jumlah ikatan rangkap atau tingkat ketidakjenuhan asam lemak yang terkandung dalam suatu minyak atau lemak. Parameter ini umum dimanfaatkan sebagai indikator derajat ketidakjenuhan, di mana minyak dengan nilai bilangan iod yang tinggi cenderung memiliki bentuk fisik cair (Apituley *et al.* 2020). Pengujian bilangan iod dilakukan untuk mengetahui banyaknya ikatan rangkap yang terdapat pada sampel, sehingga penting dalam mengevaluasi efisiensi proses pembuatan konsentrat omega-3. Berdasarkan hasil analisis respon bilangan iod menggunakan perangkat lunak Design-Expert versi 13 (DX13), model yang direkomendasikan adalah model kuadratik. Pemilihan model tersebut didasarkan pada beberapa kriteria statistik, meliputi nilai *Sequential p-value* ($p < 0,05$), uji *Lack of Fit p-value* dengan nilai $p > 0,05$, *Adjusted R²*, serta koefisien *Predicted R²*. Penetapan model untuk respon bilangan iod selanjutnya disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9 Nilai parameter penetapan model bilangan iod

Model	<i>Sequential p-value</i>	<i>Lack of Fit p-value</i>	<i>Adjusted R²</i>	<i>Predicted R²</i>	Keterangan
Linier	0,3925	0,4695	0,0047	-0,4418	Disarankan
2FI	0,2981	0,4719	0,0261	-0,4136	
Kuadratik	0,0914	0,8409	0,3680	0,0729	
Kubik	0,6259	0,9654	0,2664	0,5122	

Berdasarkan hasil analisis Response Surface Methodology (RSM), model kuadratik disarankan sebagai model terbaik untuk respon bilangan iod. Pemilihan model ini didasarkan pada nilai *Sequential p-value* sebesar 0,0914 yang menunjukkan bahwa model memiliki pengaruh yang cukup signifikan ($p < 0,1$). Nilai *Lack of Fit p-value* sebesar 0,8409 menunjukkan bahwa model tidak signifikan ($p > 0,05$), yang berarti tidak terdapat ketidaksesuaian model (*lack of fit*) sehingga model yang dihasilkan dapat dianggap sesuai dengan data eksperimen. Nilai *Adjusted R²* sebesar 0,3680 dan *Predicted R²* sebesar 0,0729 menunjukkan bahwa model kuadratik mampu menjelaskan sebagian variabilitas data, meskipun kemampuan prediksi model masih relatif terbatas. Dengan demikian, model kuadratik dipilih dan direkomendasikan untuk digunakan pada analisis lanjutan melalui uji ANOVA.

Hasil ANOVA pada respon bilangan iod (Lampiran 2) menunjukkan bahwa model kuadratik memiliki nilai F sebesar 2,40 dengan *p-value* 0,1427 ($>0,05$), yang menunjukkan bahwa model tidak signifikan. Faktor perbandingan (A) dan waktu (B) tidak berpengaruh signifikan terhadap respon bilangan iod, dengan masing-masing *p-value* sebesar 0,7967 dan 0,1207 ($p > 0,05$). Interaksi antara faktor A dan B (AB) juga tidak berpengaruh signifikan dengan *p-value* sebesar 0,2128. Namun, faktor kuadratik A^2 menunjukkan pengaruh signifikan terhadap respon bilangan iod dengan *p-value* sebesar 0,0387 ($<0,05$), sedangkan faktor B^2 tidak berpengaruh signifikan dengan *p-value* sebesar 0,7665 ($p > 0,05$). Nilai *lack of fit* sebesar 0,8409 ($>0,05$) menunjukkan bahwa model tidak mengalami ketidaksesuaian (*lack of fit*), sehingga model masih dapat dianggap sesuai dengan data eksperimen. Meskipun model kuadratik tidak signifikan secara keseluruhan, model ini masih dapat digunakan untuk menggambarkan hubungan antara variabel proses dan respon bilangan iod pada kondisi penelitian. Persamaan kuadratik yang diperoleh untuk mengoptimalkan respon bilangan iod disajikan sebagai berikut:

$$Y = 187,916 - 3,20063A + 18,9159B - 26,8787AB - 44,2069A^2 + 3,91234B^2$$

Keterangan:

Y = Nilai respon iod

A = Efek linier perbandingan urea

B = Efek linier waktu

AB = Efek interaksi konsentrasi perbandingan urea dan waktu

A^2 = Efek kuadratik konsentrasi perbandingan urea

B^2 = Efek kuadratik waktu

Nilai koefisien menunjukkan arah pengaruh masing-masing faktor terhadap respon, baik positif maupun negatif. Berdasarkan nilai *p-value*, hanya faktor kuadratik A^2 yang berpengaruh signifikan terhadap respon ($p < 0,05$), sedangkan faktor lainnya tidak signifikan ($p > 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa perubahan respon lebih dipengaruhi oleh efek kuadratik dari faktor A. Visualisasi pengaruh perbandingan urea dan waktu terhadap respon bilangan iod ditampilkan dalam bentuk grafik kontur dan grafik permukaan tiga dimensi (*3D surface*) yang disajikan pada Gambar 3 dan Gambar 4.

Factor Coding: Actual

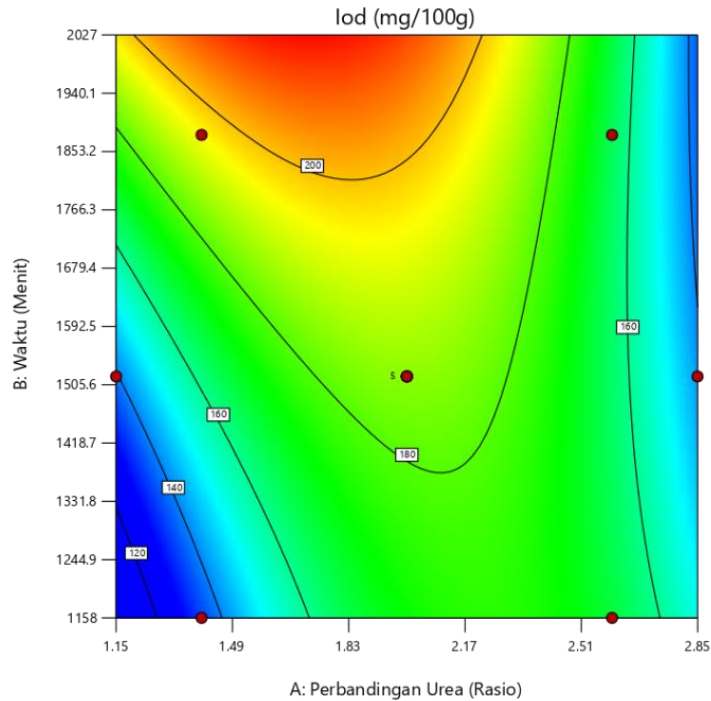
Iod (mg/100g)

● Design Points

128.4 216.79

X1 = A

X2 = B

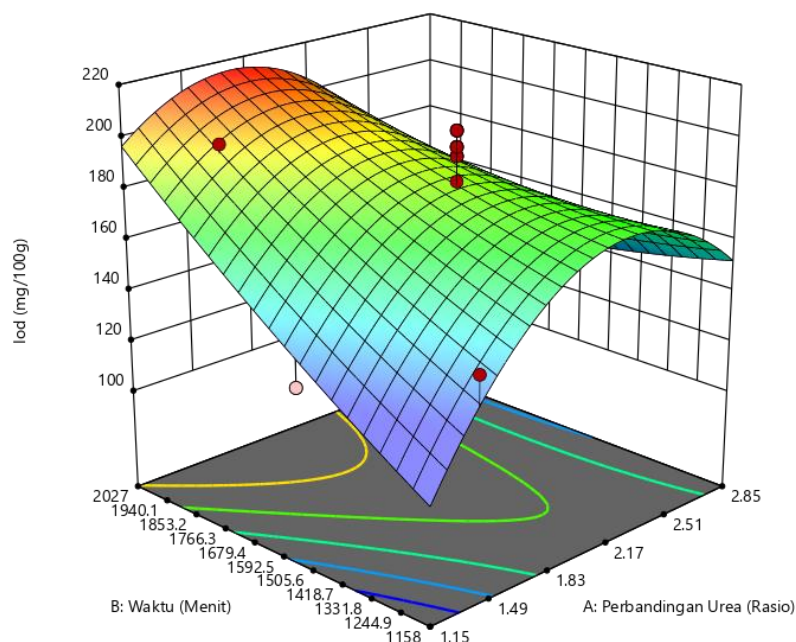


Gambar 3 Grafik kontur pengaruh perbandingan urea dan waktu terhadap respon bilangan iod

Grafik kontur pada gambar 3 menunjukkan pengaruh interaksi antara perbandingan urea (rasio) dan waktu penyimpanan (menit) terhadap respon bilangan iod (mg/100g) pada konsentrat omega-3. Skala warna menunjukkan kisaran nilai bilangan iod, dimana warna merah – oranye menggambarkan nilai tertinggi sekitar (200 – 216 mg/100g), warna kuning – hijau menunjukkan nilai sedang (160 – 190 mg/100g), sedangkan warna biru muda – biru tua menggambarkan nilai terendah (128 – 160 mg/100g). Berdasarkan pola kontur, nilai bilangan iod tertinggi diperoleh pada kombinasi perbandingan urea 1,49:1 – 2,17:1 dengan waktu penyimpanan 1853,2 menit (30 jam 53 menit) – 2027 menit (33 jam 47 menit). Hasil ini menunjukkan bahwa proses pemisahan fraksi jenuh dilakukan optimal sehingga fraksi tidak jenuh (PUFA) dapat dipertahankan pada konsentrat. Perbandingan urea lebih tinggi ($>2,17:1$) dan waktu penyimpanan lebih rendah ($<1853,2$ menit (30 jam 53 menit)) pada nilai bilangan iod menurun signifikan, yang menunjukkan bahwa sebagian PUFA ikut terendapkan bersama fraksi jenuh, sehingga konsentrat yang dihasilkan memiliki tingkat ketidakjenuhan lebih rendah.

Factor Coding: Actual

Iod (mg/100g)
Design Points:
● Above Surface
○ Below Surface
128.4 216.79
X1 = A
X2 = B



Gambar 4 Grafik 3 dimensi pengaruh perbandingan urea dan waktu terhadap respon bilangan iod

3.4.2 Rendemen Konsentrat Omega-3 Kristalisasi Urea

Rendemen dinyatakan sebagai persentase hasil konsentrat omega-3 yang diperoleh berdasarkan konsentrasi pelarut urea, sehingga dapat digunakan sebagai indikator untuk menilai nilai ekonomis dan tingkat efisiensi pemanfaatan bahan baku. Pengukuran rendemen diperlukan untuk mengevaluasi keberhasilan dan efisiensi proses produksi konsentrat omega-3. Berdasarkan hasil analisis respon bilangan iod menggunakan perangkat lunak Design-Expert versi 13 (DX13), model yang direkomendasikan adalah model kuadratik. Pemilihan model tersebut didasarkan pada beberapa kriteria statistik, meliputi nilai *Sequential p-value* ($p < 0,05$), uji *Lack of Fit p-value* dengan nilai $p > 0,05$, *Adjusted R²*, serta koefisien *Predicted R²*. Penetapan model untuk respon bilangan iod selanjutnya disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10 Nilai parameter penetapan model rendemen

Model	<i>Sequential p-value</i>	<i>Lack of Fit p-value</i>	<i>Adjusted R²</i>	<i>Predicted R²</i>	Keterangan
Linier	0,2188	0,0002	0,1145	-0,2738	
2FI	0,7167	0,0002	0,0312	-1,2978	
Kuadratik	0,0048	0,0015	0,7290	-0,0987	Disarankan
Kubik	0,2001	0,0011	0,8007	-4,0380	

Berdasarkan hasil analisis Response Surface Methodology (RSM), model kuadratik disarankan sebagai model terbaik untuk respon rendemen. Pemilihan model ini didasarkan pada nilai *Sequential p-value* sebesar 0,0048 yang menunjukkan bahwa model berpengaruh signifikan ($p < 0,05$). Namun, nilai *Lack*

of Fit p -value sebesar 0,0015 menunjukkan bahwa model signifikan ($p < 0,05$), yang berarti terdapat ketidaksesuaian model (*lack of fit*) sehingga model yang dihasilkan kurang mampu merepresentasikan data eksperimen secara sempurna. Nilai *Adjusted* R^2 sebesar 0,7290 menunjukkan bahwa model mampu menjelaskan 72,90% variabilitas data, sedangkan nilai *Predicted* R^2 sebesar -0,0987 menunjukkan bahwa kemampuan prediksi model relatif rendah. Dengan demikian, meskipun model kuadratik disarankan, model ini masih memiliki keterbatasan dalam hal kesesuaian dan kemampuan prediksi terhadap respon rendemen.

Hasil ANOVA pada respon rendemen (Lampiran 4) menunjukkan bahwa model kuadratik memiliki nilai F sebesar 7,46 dengan p -value 0,0100 ($< 0,05$), yang menunjukkan bahwa model berpengaruh signifikan. Faktor perbandingan (A) tidak berpengaruh signifikan terhadap respon rendemen dengan p -value sebesar 0,7237 ($p > 0,05$), sedangkan faktor waktu (B) berpengaruh signifikan dengan p -value sebesar 0,0117 ($p < 0,05$). Interaksi antara faktor A dan B (AB) tidak berpengaruh signifikan terhadap respon rendemen dengan p -value sebesar 0,5018 ($p > 0,05$). Faktor kuadratik A^2 dan B^2 menunjukkan pengaruh signifikan terhadap respon rendemen dengan masing-masing p -value sebesar 0,0035 dan 0,0170 ($p < 0,05$). Nilai *lack of fit* sebesar 0,0015 ($< 0,05$) menunjukkan bahwa model mengalami ketidaksesuaian (*lack of fit*). Kondisi tersebut diduga lebih dipengaruhi oleh variasi selama pelaksanaan eksperimen, khususnya pada pengukuran rendemen yang melibatkan proses kristalisasi, penyaringan, pemindahan filtrat, dan evaporasi, sehingga terdapat kemungkinan kehilangan sebagian sampel. Variasi tersebut menyebabkan data eksperimen memiliki penyebaran yang lebih besar dibandingkan prediksi model. Persamaan kuadratik yang mengoptimalkan respon rendemen sebagai berikut:

$$Y = 8.96997 - 0.39539A + 3.63511B - 1.52265AB + 7.02245A^2 + 5.06733B^2$$

Keterangan:

Y = Nilai respon rendemen

A = Efek linier perbandingan urea

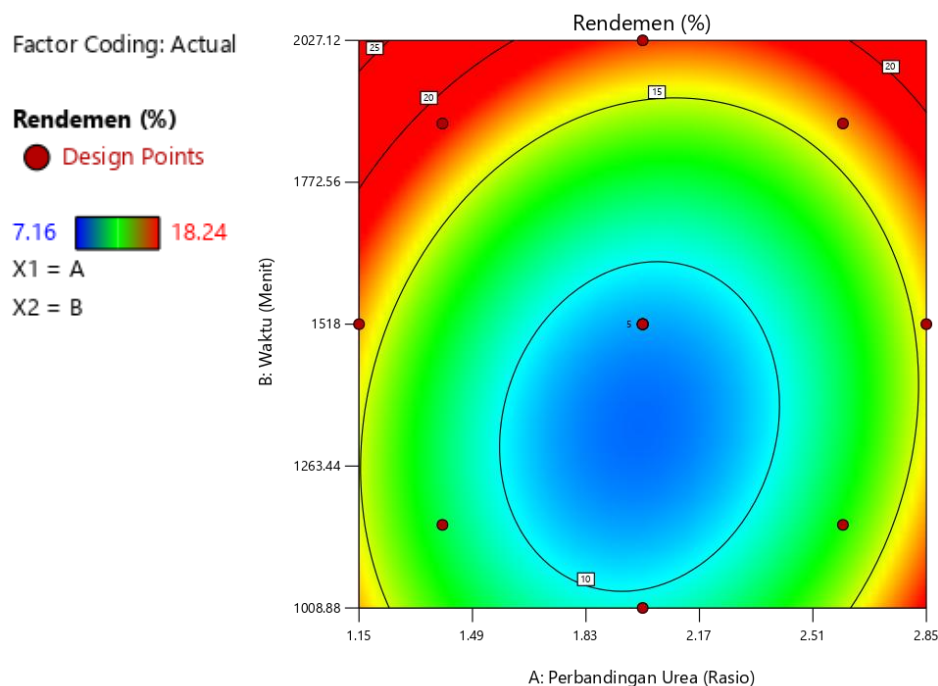
B = Efek linier waktu

AB = Efek interaksi konsentrasi perbandingan urea dan waktu

A^2 = Efek kuadratik konsentrasi perbandingan urea

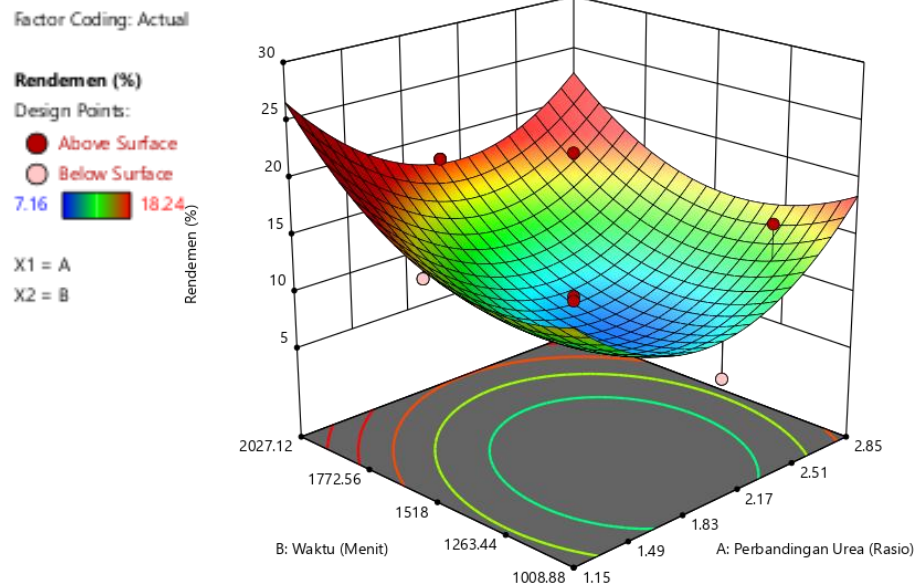
B^2 = Efek kuadratik waktu

Hasil analisis ANOVA menunjukkan bahwa waktu kristalisasi (B) memberikan pengaruh nyata terhadap rendemen ($p < 0,05$), sedangkan rasio perbandingan urea (A) tidak berpengaruh signifikan ($p > 0,05$). Selain itu, komponen kuadratik A^2 dan B^2 juga berpengaruh signifikan, yang mengindikasikan bahwa perubahan rendemen tidak mengikuti hubungan linier sederhana, melainkan dipengaruhi oleh efek kuadratik kedua faktor. Sebaliknya, interaksi antara rasio urea dan waktu kristalisasi tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap rendemen ($p > 0,05$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa perubahan rendemen lebih dipengaruhi oleh pengaruh masing-masing faktor secara individual dibandingkan oleh kombinasi kedua faktor. Pola hubungan antara kedua variabel terhadap respon rendemen selanjutnya divisualisasikan melalui grafik kontur dan grafik permukaan tiga dimensi (3D surface) yang disajikan pada Gambar 5 dan Gambar 6.



Gambar 5 Grafik kontur pengaruh perbandingan urea dan waktu terhadap respon rendemen

Grafik kontur pada gambar 5 menunjukkan pengaruh interaksi antara perbandingan urea (rasio) dan waktu penyimpanan (menit) terhadap respon rendemen (%) pada konsentrat omega-3. Skala warna menunjukkan kisaran nilai rendemen, dimana warna merah – kuning menggambarkan nilai tertinggi sekitar (>16 %), warna hijau menunjukkan nilai sedang (11 – 15 %), sedangkan warna biru muda – biru tua menggambarkan nilai terendah (<10 %). Berdasarkan pola kontur, nilai rendemen tertinggi terjadi hampir diseluruh variasi perbandingan urea yang diuji (1,15:1 – 2,85:1), meskipun nilai tertinggi diprediksi berada pada bagian tepi (*boundary*) daerah percobaan. Dengan waktu penyimpanan >1518 menit (25 jam 18 menit).



Gambar 6 Grafik 3 dimensi pengaruh perbandingan urea dan waktu terhadap respon rendemen

3.5 Profil Asam Lemak Konsentrat Omega-3 Ikan Tuna

Analisis profil asam lemak dilakukan untuk menentukan komposisi senyawa asam lemak dalam minyak ikan, yang meliputi asam lemak jenuh (*saturated fatty acid* atau SFA), asam lemak tak jenuh tunggal (*monounsaturated fatty acid* atau MUFA), serta asam lemak tak jenuh ganda (*polyunsaturated fatty acid* atau PUFA), termasuk kandungan omega-3. Pengujian ini juga bertujuan untuk mengidentifikasi jenis asam lemak yang dominan pada konsentrat omega-3 yang dihasilkan melalui metode kristalisasi suhu rendah. Analisis profil asam lemak dilakukan menggunakan metode *gas chromatography* (GC). Hasil pengujian profil asam lemak konsentrat omega-3 selanjutnya disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11 Profil asam lemak omega-3 kristalisasi urea

Asam Lemak	Persentase (%)
Asam miristat (C14:0)	1,38
Asam pentadekanoat (C15:0)	0,25
Asam palmitat (C16:0)	5,67
Asam heptadekanoat (C17:0)	0,6
Asam stearat (C18:0)	0,71
Asam arakidat (C20:0)	1,26
Total SFA	9,87
Asam palmitoleat (C16:1)	4,42
Asam cis-10-heptadekanoat (C17:1)	0,5
Asam oleat (C18:1n9c)	15,95
Total MUFA	20,87
Asam linoleat (C18:2n6c)	0,86
Asam cis-11,14-eikosadienoat (C20:2)	0,32
Asam arakidonat (C20:4n6)	1,45
Asam eikosapentaenoat (EPA, C20:5n3)	11,4
Asam dokosaheksaenoat (DHA, C22:6n3)	21,32
Total PUFA	35,35
Total Asam Lemak Teridentifikasi	66,09

Hasil analisis profil asam lemak omega-3 kristalisasi urea yang disajikan pada tabel 11 menunjukkan bahwa komposisi asam lemak hasil pemurnian didominasi oleh kelompok asam lemak tak jenuh ganda (PUFA), khususnya Asam dokosaheksaenoat (DHA, C22:6n3) sebesar 21,32%; yang nilainya lebih tinggi dibandingkan dengan Asam eikosapentaenoat (EPA, C20:5n3) sebesar 11,4%. Fraksi omega-3 hasil kristalisasi urea menunjukkan total asam lemak teridentifikasi yang lebih rendah dibandingkan minyak trigliserida, yaitu sebesar 32,72%. Hasil tersebut belum memenuhi standar Codex Alimentarius Commission (CAC) tahun 2024 yaitu sebesar 40 – 60%. Penurunan kadar EPA dan DHA pada fraksi hasil kristalisasi urea menunjukkan adanya kehilangan sebagian asam lemak tak jenuh selama proses fraksinasi. Hal ini dapat disebabkan oleh terjebaknya sebagian PUFA dalam kristal kompleks urea serta hilangnya fraksi cair selama tahap pemisahan dan pencucian; beberapa studi bahkan menunjukkan bahwa EPA cenderung lebih mudah terikat dalam kompleks urea dibandingkan DPA atau DHA. Selain itu, proses kristalisasi urea sangat dipengaruhi oleh kondisi operasional seperti rasio urea terhadap asam lemak, suhu kristalisasi, dan waktu kristalisasi, sehingga apabila kondisi belum optimal dapat menyebabkan rendahnya recovery EPA dan DHA (Liu *et al.* 2006).

3.6 Penentuan Kondisi Optimal dan Validasi Titik Optimal

Penetapan kondisi optimum dilakukan dengan menetapkan target capaian untuk setiap respon, kemudian mengintegrasikannya dengan seluruh variabel yang digunakan agar tetap memenuhi standar yang berlaku. Proses optimasi dilakukan melalui pengaturan nilai faktor dan variabel respon sesuai dengan tujuan yang diharapkan. Kriteria pencapaian ditetapkan berdasarkan standar mutu yang mengacu pada IFOS (2014). Nilai variabel faktor yang diinginkan diarahkan agar tetap berada dalam rentang standar yang ditentukan. Sementara itu, variabel respon berupa bilangan iod dan rendemen ditetapkan berada pada skala yang diinginkan dengan tujuan mencapai nilai maksimum. Hasil pengaturan faktor dan variabel respon tersebut disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12 Hasil pengaturan variabel faktor dan respon

Parameter	Capaian	Terendah	Tertinggi
Perbandingan Urea (Rasio)	Dalam skala	1,15 : 1	2,85 : 1
Waktu (Menit)	Dalam skala	1008,88	2027,12
Bilangani iod (mg/100g)	Maksimal	136,99	216,79
Rendemen (%)	Maksimal	7,16	18,08

Berdasarkan Tabel 12, target capaian yang ditetapkan untuk respon bilangan iod dan rendemen dalam memperoleh kondisi optimum adalah mencapai nilai maksimum. Kedua parameter tersebut merupakan variabel respon utama yang berperan penting dalam menentukan mutu konsentrat omega-3. Pengaturan kriteria capaian ini menghasilkan titik optimum yang ditunjukkan pada bagian *solution*. Nilai hasil optimasi selanjutnya dilakukan proses validasi untuk menilai kesesuaian antara nilai bilangan iod dan rendemen yang diperoleh melalui pemodelan atau nilai prediksi program dengan hasil pengujian secara eksperimental. Perangkat lunak Design-Expert menghasilkan nilai respon prediksi yang disertai dengan selang prediksi sebesar 95%. Selang prediksi tersebut terdiri atas batas bawah (selang prediksi rendah) dan batas atas (selang prediksi tinggi) dari interval nilai yang diperkirakan. Perbandingan antara nilai prediksi dan nilai aktual hasil percobaan disajikan pada Tabel 13.

Tabel 13 Perbandingan hasil nilai respon aktual dan nilai respon prediksi

Respon	Aktual	Prediksi	Selang prediksi 95%	
			Rendah	Tinggi
Bilangan iod (mg/100g)	173,17	121,19	35,96	206,43
Rendemen (%)	12,68	20,17	9,22	31,13

Perbandingan hasil nilai respon aktual dan nilai respon prediksi menunjukkan bahwa uji konfirmasi dilakukan untuk memverifikasi keakuratan model RSM pada kondisi optimum yang diperoleh, yaitu perbandingan urea dengan rasio 2:1 dan waktu penyimpanan selama 2027,12 menit (33 jam 47 menit). Hasil prediksi model kemudian dibandingkan dengan data hasil pengamatan aktual. Nilai prediksi bilangan iod yang diperoleh dari model adalah 121,195; sedangkan nilai aktual hasil pengujian di laboratorium adalah 173,17 mg/100 g. Rentang 95%

Prediction Interval (PI) untuk respon ini adalah 35,96–206,43, sehingga nilai aktual berada di dalam rentang tersebut. Hal ini menunjukkan bahwa model masih dapat digunakan untuk memprediksi respon bilangan iod. Nilai aktual yang lebih tinggi dibandingkan prediksi menunjukkan bahwa pada kondisi optimum, proses pemurnian menghasilkan tingkat ketidakjenuhan yang lebih tinggi dari estimasi model. Peningkatan ini dapat disebabkan oleh efektivitas pembentukan kompleks urea dengan asam lemak jenuh serta kestabilan kondisi selama proses penyimpanan.

Nilai prediksi rendemen yang dihasilkan model adalah 20,17%, sedangkan nilai aktual hasil pengujian di laboratorium adalah 12,68%. Nilai actual yang lebih rendah disebabkan karena faktor kehilangan produk saat pemisahan Kristal urea di laboratorium. Rentang 95% PI untuk respon ini adalah 9,22–31,13%, sehingga nilai aktual masih berada dalam rentang prediksi model. Hal ini menunjukkan bahwa model masih dapat diterima dalam memprediksi rendemen. Namun, perbedaan yang cukup besar antara nilai prediksi dan aktual mengindikasikan bahwa akurasi model terhadap respon rendemen masih terbatas. Secara umum, hasil verifikasi menunjukkan bahwa kondisi optimum yang diperoleh telah memenuhi kriteria yang diinginkan dan model RSM yang dihasilkan masih dapat digunakan untuk menggambarkan hubungan antara variabel proses dan respon.



IV SIMPULAN DAN SARAN

4.1 Simpulan

Kandungan total omega-3 pada minyak kasar sebesar 19,51%, kemudian meningkat menjadi 32,90% setelah proses pemurnian. Pada konsentrat omega-3 ikan tuna, kandungan total omega-3 yang diperoleh adalah sebesar 32,72%. Nilai tersebut belum memenuhi standar Codex Alimentarius Commission (CAC) tahun 2024. Proses pembuatan konsentrat omega-3 melalui metode kristalisasi urea menghasilkan kondisi optimum berdasarkan pendekatan RSM, yaitu pada rasio urea 2:1 dengan waktu penyimpanan selama 207,12 menit (3 jam 47 menit). Penerapan metode kristalisasi urea pada tahap pemisahan minyak ikan tuna terbukti efektif dalam menurunkan kandungan asam lemak jenuh. Penurunan fraksi jenuh tersebut ditunjukkan oleh meningkatnya nilai bilangan iod, namun belum membuktikan optimasi atau pengayaan omega-3 yang berhasil.

4.2 Saran

Konsentrat omega-3 yang dihasilkan disarankan untuk dilakukan pengujian lanjutan terhadap parameter oksidasi selain bilangan iod, meliputi analisis asam lemak bebas (FFA), bilangan peroksida (PV), bilangan p-anisidin (AnV), total oksidasi, serta bilangan asam (AV). Pada penelitian selanjutnya, pengaturan faktor rasio urea dan waktu kristalisasi sebaiknya difokuskan pada rentang nilai tertinggi yang ditunjukkan pada grafik kontur hasil analisis *Design-Expert*. Pendekatan ini diharapkan dapat menghasilkan kondisi optimum yang lebih akurat dan memberikan hasil yang lebih baik.



DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists International. 2023. *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*. 22nd ed. Rockville (MD): AOAC INTERNATIONAL. Official Method 969.33. Preparation of Fatty Acid Methyl Esters.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists International. 2023. *Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL*. 22nd ed. Rockville (MD): AOAC INTERNATIONAL. Official Method 920.159. Iodine Absorption Number of Oils and Fats (Wijs Method).
- [AOCS] American Oil Chemists' Society. 2017. *Official Methods and Recommended Practices of the AOCS*. 7th ed. Urbana (IL): AOCS Press. Official Method Cd 3d-63. Acid Value.
- [CAC] Codex Alimentarius Commission. 2024. *Standard for Fish Oils (CXS 329-2017)*. Adopted in 2017. Amended in 2021. Last modified in 2024. Rome (IT): Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization.
- [IFOS] International Fish Oil Standard. 2014. Fish Oil Purity Standard. Tersedia dari: <https://certifications.nutrasource.ca/en/about/how-certifications-work/ifos>
- Akbar MHA. 2021. Optimasi whey protein dan guar gum untuk emulsifikasi minyak ikan tuna (*Thunnus sp.*) menggunakan response surface methodology. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.
- Almoselhy RIM, Eid MM, Abd-Elmageed SMM, Youness R. 2020. Using Nanotechnology in Bleaching Vegetable Oils. *Egypt J Chem*. 63(7):2699–2706.
- Apituley DA, Sormin RBD, Nanlohy EE. 2020. Karakteristik dan profil asam lemak minyak dari kepala dan tulang ikan tuna (*Thunnus albacares*). AGRITEKNO: Jurnal Teknologi Pertanian. 9(1): 10-19. doi: 10.30598/jagritekno.2020.9.1.10
- Asztalos IB, Gleason JA, Sever S, Gedik R, Asztalos BF, Horvath KV, Dansinger ML, Lamon-Fava S, Schaefer EJ. 2016. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on cardiovascular disease risk factors: a randomized clinical trial. *Metabolism*. doi:10.1016/J.METABOL.2016.07.010.
- Badan Standardisasi Nasional. 2018. SNI 8392-1:2017 Minyak ikan - Bagian 1: Penentuan kadar asam lemak bebas dengan metode titrasi alkalimetri. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Badan Standardisasi Nasional. 2018. SNI 8392-2:2018 Minyak ikan - Bagian 2: Penentuan bilangan peroksida pada minyak ikan dengan metode titrasi iodometri. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Badan Standardisasi Nasional. 2018. SNI 8393-2:2018 Minyak ikan - Bagian 3: Penentuan bilangan p-anisidin. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.

- Badan Standardisasi Nasional. 2018. SNI 8467:2018 Minyak ikan murni (*refined fish oil*) – Syarat mutu dan pengolahan. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- Chamidah A, Wicaksono A. 2021. Pembuatan konsentrat omega-3 dari minyak hati hiu botol dengan metode kristalisasi urea. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*. 23(2):119–125. doi:10.22146/jfs.60352.
- Dari DW, Astawan M, Wulandari N, Suseno SH. 2017. Karakterisasi minyak ikan sardine (*Sardinella* sp.) hasil pemurnian bertingkat. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*. 20(3):456–467. doi: 10.17844/jphpi.v20i3.19766.
- Estiasih T. 2010. Optimasi kristalisasi urea pada pembuatan konsentrat asam lemak ω -3 dari minyak hasil samping penepungan ikan lemuru (*Sardinella longiceps*). *Jurnal Teknologi Pertanian*. 11(1):37–46. <http://repository.ub.ac.id/148203/1/050902815.pdf>.
- Estiasih T, Ahmadi K, Nisa FC, Kusumastuti F. 2009. Optimasi kondisi pemurnian asam lemak omega-3 dari minyak hasil samping penepungan tuna (*Thunnus* sp) dengan kristalisasi urea. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 20(2):135–142. <https://journal.ipb.ac.id/index.php/jtip/article/view/1974>.
- Fard SG, Wang F, Sinclair AJ, Elliott G, Turchini GM. 2019. How does high DHA fish oil affect health? a systematic review of evidence. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 59(11):1684–1727. doi:10.1080/10408398.2018.1425978.
- Farouk SM, Tayeb AM, Abdel-Hamid SMS, Osman RM. 2024. Recent advances in transesterification for sustainable biodiesel production, challenges, and prospects: a comprehensive review. *Environmental Science and Pollution Research*. 31:12722–12747. doi:10.1007/s11356-024-32027-4.
- Fauziah S, Trilaksani W, Nurhayati T. 2024. Efektivitas jenis adsorben pada pemurnian bertingkat minyak mata tuna kaya DHA. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 27(1): 75-88. Doi: 10.17844/jphpi.v27i1.48865
- Giacobbe J, Benoiton B, Zunszain P, Pariante CM, Borsini A. 2020. The anti inflammatory role of omega-3 polyunsaturated fatty acids metabolites in pre clinical models of psychiatric, neurodegenerative, and neurological disorders. *Frontiers in Psychiatry*. 11(122): 1-13. doi:10.3389/fpsyt.2020.00122.
- Handayani A, Alimin, Rustiah WO. 2014. Pengaruh penyimpanan pada suhu rendah (freezer -3°C terhadap kandungan air dan kandungan lemak pada ikan lemuru. *Alkimia*. 2(1): 64-75. doi: 10.24252/al-kimia.v2i1.1639.
- Haryani FR, Hambali E, Kartika IA. 2023. Pengaruh kondisi proses transesterifikasi menggunakan metode sonikasi terhadap rendemen dan mutu etil ester minyak ikan. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*. 33(1):32-40. doi: <https://doi.org/10.24961/j.tek.ind.pert.2023.33.1.32>.
- Homayooni B, Sahari MA, Barzegar M. 2014. Concentrations of omega-3 fatty acids from rainbow sardine fish oil by various methods. *International Food Research Journal*. 21(2):743–748. [http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20\(02\)-](http://www.ifrj.upm.edu.my/21%20(02)-)

%202014/43%20IFRJ%2021%20(02)%202014%20Sahari%202012%20453.pdf.

- Insani SA, Suseno SH, Jacob AM. 2017. Karakteristik squalene minyak hati ikan cucut hasil produksi industri rumah tangga, pelabuhan ratu. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(3): 494-504. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i3.19772>
- Islam MA, Amin MN, Siddiqui SA, Hossain MP, Sultana F, Kabir MR. 2019. Trans fatty acids and lipid profile: a serious risk factor to cardiovascular disease, cancer and diabetes. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* 13(2):1643-1647. doi:10.1016/j.dsx.2019.03.033.
- Ketaren S. 2012. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Depok: UI Press.
- La Dia WONA, Trilaksani W, Ramadhan W. 2022. Purifikasi minyak mata tuna kaya DHA (*Thunnus sp.*) dengan variasi adsorben. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 25(3): 428–440. doi: 10.17844/jphpi.v25i3.42794.
- Lembke P. 2013. *Omega-6/3 Fatty Acids: Functions, Sustainability Strategies and Perspectives*. New York (US): Humana Totowa.
- Liu S, Zhang C, Hong P, Ji H. 2006. Concentration of docosahexaenoic acid (DHA) and eicosapentaenoic acid (EPA) of tuna oil by urea complexation: optimization of process parameters. *Journal of Food Engineering*. 73(3):203-209. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2005.01.020.
- Maulana IT, Sukraso, Damayanti S. 2014. Kandungan asam lemak dalam minyak ikan Indonesia. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 6(1):121–130. <https://media.neliti.com/media/publications/104181-ID-none.pdf>.
- Montgomery DC. 2015. *Design and Analysis of Experiment*. New York (US): John Wiley and Sons.
- Mumtaza HH. 2015. Penggandaan volume pemurnian minyak ikan lemuru (*Sardinella sp.*) *Semirefined* dan *Bleaching*. [Skripsi]. Institut Pertanian Bogor.
- Nurhasnawati H, Supriningrum R, Caesariana N. 2015. Penetapan kadar asam lemak bebas dan bilangan peroksida pada minyak goreng yang digunakan pedagang gorengan di Jl. A.W. Sjahrane Samarinda. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 1(1):25–30. Tersedia dari: <https://jurnal.stiksam.ac.id/index.php/jim/article/view/7>
- Patel A, Desai SS, Mane VK, Enman J, Rova U, Christakopoulos P, Matsakas L. 2022. Futuristic food fortification with a balanced ratio of dietary ω -3/ ω -6 omega fatty acids for the prevention of lifestyle diseases. *Trends in Food Science & Technology*. 120:140–153. doi:10.1016/j.tifs.2022.01.006.
- Ratih RD, Wuriyanti H, Oktavianawati I. 2016. Karakterisasi dan penentuan komposisi asam lemak dari hasil pemurnian limbah pengalengan ikan dengan variasi alkali pada proses netralisasi. *Berkala Sainstek*. 4(1):19–24.

[https://garuda.kemdiktisaintek.go.id/journal/view/5048?issue=Vol+4+No+1+\(2016\)](https://garuda.kemdiktisaintek.go.id/journal/view/5048?issue=Vol+4+No+1+(2016)).

- Suriani NW, Lawalata HJ, Komansilan A. 2014. Urea crystallization on the concentrate making of omega-3 fatty acid from oil of tuna fish (*Thunnus Sp*) canning byproduct. *International Journal of PharmTech Research*. 6(7):1981-1990. [https://sphinxesai.com/2014/ph_vol6_no7/1/\(19811990\)%2-0ND14.pdf](https://sphinxesai.com/2014/ph_vol6_no7/1/(19811990)%2-0ND14.pdf).
- Suseno SH, Izaki AF, Suptijah P, Jacob AM. 2013. Kinetic study of free fatty acid adsorption using adsorbent in sardine (*Sardinella sp.*) oil refining. *Asian Journal of Agriculture and Food Science*. 1(5):286-293. <https://ajouronline.com/index.php/AJAFS/article/view/778>.
- Suseno SH, Jacob AM, Nugraha R, Salia. 2021. Bleaching optimization of tuna (*Thunnus sp.*) oil using response surface methodology. *Food Research*. 5(6):92–103. doi: 10.26656/fr.2017.5(6).099.
- Suseno SH, Rizkon AK, Jacob AM, Nurjanah, Supinah P. 2020. Ekstraksi dry rendering dan karakterisasi minyak ikan patin (*Pangasius sp.*) hasil samping industri filet di Lampung. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(1):38–46. doi: 10.17844/jphpi.v23i1.30722.
- Suseno SH, Saraswati, Hayati S, Izaki AF. 2014. Fatty acid composition of some potential fish oil from production centers in Indonesia. *Oriental Journal of Chemistry*. 30(3):975–980. doi:10.13005/ojc/300308.
- Suseno SH, Tajul AY, Nadiah WA, Noor AF. 2011. Improving the quality of lemuru (*Sardinella lemuru*) oil using magnesol XL filter aid. *International Food Research Journal*. 18:255–264. [http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20\(01\)%202011/\(25\)_IFRJ-2010-047_Tajul_USM\[1\].pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20(01)%202011/(25)_IFRJ-2010-047_Tajul_USM[1].pdf)
- Suseno SH, Tajul, AY, Nadiah WA, Noor AF. 2012. Improved of color properties on *Sardinella lemuru* oil during adsorbent refining using magnesol xl. *International Food Research Journal*. 19(4):1383–1386. https://www.researchgate.net/publication/283344533_Improved_of_color_properties_on_Sardinella_lemuru_oil_during_adsorbent_refining_using_magnesol_xl
- United Nations Statistics Division. 2022. *UN Comtrade Database (United Nations Commodity Trade Statistics Database)*. New York (US): United Nations.
- Von Schacky C. 2021. Importance of EPA and DHA Blood Levels in Brain Structure and Function. *Nutrients*. 13(4):1074. doi:10.3390/nu13041074
- Wahyono A, Kurniawati E, Kasutjaningati, Park KH, Kang WW. 2018. Optimasi proses pembuatan tepung labu kuning menggunakan Response Surface Methodology untuk meningkatkan aktivitas antioksidan. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 29(1):29–38. <https://doi.org/10.6066/jtip.2018.29.1.29>.
- Walpole RE. 1995. *Pengantar Statistika Edisi ke-3*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.

Yulianto A. 2022. Optimalisasi proses transesterifikasi minyak ikan tuna (*Thunnus sp.*) menggunakan Response Surface Method dan uji kestabilan produk etil esternya [tesis]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

LAMPIRAN

@Hak cipta milik IPB University

IPB University



IPB University
— Bogor Indonesia —

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Perpustakaan IPB University

Lampiran 1 Dokumentasi Penelitian



Proses Bleaching

Larutan hasil stirrer
dimasukan kedalam tubeTube berisi hasil
bleaching

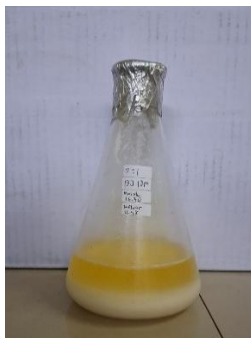
Sentrifugasi



Transesterifikasi



Minyak etil ester



Larutan hasil kristalisasi



Penyaringan



Dekantasi



Evaporasi



Konsentrat omega-3



Uji iod

Lampiran 2 Tabel hasil analisis ANOVA respon bilangan iod

ANOVA for Quadratic model

Response 1: Iod

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	6306.2	5	1261.24	2.4	0.1427	not significant
A-Perbandingan	37.67	1	37.67	0.0716	0.7967	
B-Waktu	1641.59	1	1641.59	3.12	0.1207	
AB	988.47	1	988.47	1.88	0.2128	
A ²	3392.83	1	3392.83	6.45	0.0387	
B ²	50.17	1	50.17	0.0954	0.7665	
Residual	3682.73	7	526.1			
Lack of Fit	631.11	3	210.37	0.2758	0.8409	not significant
Pure Error	3051.61	4	762.9			
Cor Total	9988.92	12				

Lampiran 3 Tabel *fit statistic* respon bilangan iod

Fit Summary

Response 1: Iod

Source	Sequential p-value	Lack of Fit p-value	Adjusted R ²	Predicted R ²	
Linear	0.3925	0.4695	0.0047	-0.4418	
2FI	0.2981	0.4719	0.0261	-0.4136	
Quadratic	0.0914	0.8409	0.368	0.0729	Suggested
Cubic	0.6259	0.9654	0.2664	0.5122	Aliased

Lampiran 4 Tabel hasil analisis ANOVA respon rendemen

ANOVA for Quadratic model

Response 1: Rendemen

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	171.82	5	34.36	7.46	0.01	significant
A-Perbandingan	0.6243	1	0.6243	0.1355	0.7237	
B-Waktu	52.86	1	52.86	11.47	0.0117	
AB	2.31	1	2.31	0.5014	0.5018	
A ²	85.62	1	85.62	18.58	0.0035	
B ²	44.65	1	44.65	9.69	0.017	
Residual	32.26	7	4.61			
Lack of Fit	31.35	3	10.45	46.26	0.0015	significant
Pure Error	0.9037	4	0.2259			
Cor Total	204.08	12				

Lampiran 5 Tabel *fit statistic* respon rendemen

Fit Summary

Response 1: Rendemen

Source	Sequential p-value	Lack of Fit p-value	Adjusted R ²	Predicted R ²	
Linear	0.2188	0.0002	0.1145	-0.2738	
2FI	0.7167	0.0002	0.0312	-1.2978	
Quadratic	0.0048	0.0015	0.729	-0.0987	Suggested
Cubic	0.2001	0.0011	0.8007	-4.038	Aliased

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di kota Surakarta pada tanggal 4 April 2002 sebagai anak pertama dari pasangan bapak Danan Prasetyo Hadi dan ibu Ning Winarsih. Penulis menempuh pendidikan di SMA Negeri 6 Bogor pada tahun 2017 hingga 2020. Penulis diterima sebagai mahasiswa (S1) di Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor melalui jalur mandiri. Selama mengikuti program S1, penulis aktif sebagai pimpinan Himpunan Mahasiswa Hasil Perikanan (HIMASILKAN) pada periode 2021/2022 dan 2022/2023 di divisi Badan Pengawas (BP). Penulis aktif dalam kegiatan di bidang non-akademik dalam kegiatan olahraga dengan mewakili fakultas dan kampus sebagai atlet sprint.

Penulis ikut serta dalam kegiatan Kuliah Kerja Nyata Tematik (KKN-T) Institut Pertanian Bogor pada tahun 2023 di Desa Singaraja, Kabupaten Indramayu dan juga mengikuti kegiatan magang serta Praktik Lapang (PL) di PT Maya Food Industry, Kota Pekalongan, Jawa Tengah. Penulis melakukan penelitian dibawah bimbingan Prof. Dr. Sugeng Heri Suseno, S.Pi., M.Si dan Purnama Arafah, S.Pi., M.Agr.Sc. dengan judul “Optimasi metode kristalisasi urea dalam pembuatan konsentrat omega-3 ikan tuna (*Thunnus spp.*)”.

@Hak cipta milik IPB University

IPB University

