

# PENGARUH ANTIOKSIDAN TERHADAP KERUSAKAN ASAM LEMAK OMEGA-3 PADA PROSES PENGOLAHAN IKAN TONGKOL

Khamidinal,<sup>1</sup> Ngatidjo Hadipranoto,<sup>2</sup> dan Mudasir<sup>3</sup>

## Abstract

*An experiment to know the Omega-3 Fatty Acid especially EPA (eicosapentaenoic acid) and DHA (docosahexaenoic acid) concentration in Tongkol fish, has been done. The objective is to know the effect of boiling time and the addition of butylated hidroxyanisole (BHA) antioxidant.*

*The procedure of this research is that the fish was boiled at 100 °C with the time of 20, 30, 40, 50, and 60 minutes long without addition of BHA antioxidant. Besides, the fish was also boiled at 60 minute long with additon of BHA at amount of 25, 50, 75, and 100 ppm. The research was done by extracting the fish oil and then followed by transesterification. Fatty acid in fish oil was converted to fatty acid methyl esters and then injected into gas chromatography to know the EPA and DHA concentration. This research used the pure of EPA and DHA for calibrating the chromatogram.*

*The result of this research showed that Tongkol fish contained 8,95% of EPA and 31,11% of DHA. On boiling time of 20, 30, 40, 50, and 60 minutes, the concentration*

---

<sup>1</sup> Dosen Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.

<sup>2</sup> Dosen Program Studi Kimia FMIPA UGM Yogyakarta.

<sup>3</sup> Dosen Program Studi Kimia FMIPA UGM Yogyakarta.

of EPA and DHA in Tongkol fish decreased 10,32; 12,70; 20,56; 45,33; and 61,56% from total EPA, and 13,64; 32,18; 64,96; 73,13; and 70,03% from total DHA. The optimum concentration of BHA addition was found to be 75 ppm.

**Keywords :** Tongkol fish, omega-3 fatty acid, EPA (*eicosapentaenoic acid*), DHA (*docosahexaenoic acid*), BHA (*butylated hidroxyanisole*).

## A. Pendahuluan

Akhir-akhir ini terdapat kecenderungan meningkatnya berbagai penyakit yang disebabkan oleh pola hidup yang tidak seimbang. Berbagai penyakit tersebut misalnya; penyakit jantung, tekanan darah tinggi, aterosklerosis, stroke, dan lain-lain. Pola hidup yang tidak seimbang, misalnya konsumsi makanan yang terlalu banyak mengandung lemak dan kolesterol serta kurang berolahraga. Kelebihan lemak dapat mengakibatkan kegemukan, sehingga dapat memicu munculnya penyakit aterosklerosis. Aterosklerosis adalah penyempitan pembuluh darah arteri. Aterosklerosis ini merupakan penyebab munculnya penyakit seperti tekanan darah tinggi, jantung, dan stroke.

Ikan mempunyai peranan penting dalam mencegah munculnya penyakit aterosklerosis. Ikan banyak mengandung asam lemak tidak jenuh, di antaranya adalah jenis asam lemak omega-3. Asam lemak omega-3 ini diketahui dapat menurunkan kadar kolesterol dan lemak dalam darah, maka diharapkan kecil kemungkinan terjadi penimbunan kolesterol dan lemak pada dinding pembuluh darah. Asam lemak omega-3 adalah termasuk asam lemak tak jenuh, oleh karena itu asam lemak omega-3 ini sangat peka terhadap proses oksidasi. Adanya perlakuan pemasakan dan penyimpanan ikan yang kurang tepat dapat menyebabkan perubahan-perubahan fisik maupun komposisi kimia. Dengan adanya perubahan kimiawi tersebut maka kemungkinan besar akan terdapat degradasi asam lemak omega-3. Pengaruh luar seperti suhu, radiasi, logam katalis dapat mempercepat laju oksidasi asam lemak tersebut, yang akibat lanjutannya, terjadilah penurunan mutu zat gizi yang terkandung dalam bahan tersebut. Faktor di atas sering ditemui dalam proses pemasakan ikan.

Melihat kenyataan-kenyataan di atas maka kiranya perlu dilakukan penelitian untuk mencegah semaksimal mungkin terjadi-

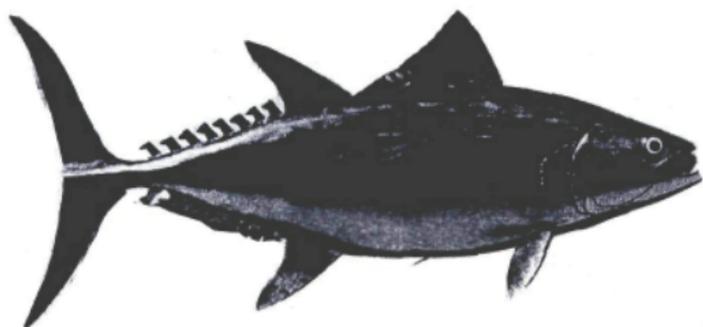
nya kerusakan asam lemak esensial omega 3 akibat kesalahan perlakuan pemasakan. Oleh karena itu, dalam penelitian ini telah dilakukan studi tentang pengaruh lama pemanasan dan penambahan antioksidan BHA terhadap tingkat degradasi EPA dan DHA dalam ikan tongkol.

Penelitian ini diambil sampel ikan tongkol (salah satu jenis ikan laut). Hal ini mengingat jenis ikan tersebut banyak dikonsumsi oleh masyarakat. Tujuan pertama dari penelitian ini adalah mempelajari pengaruh lama waktu pemanasan terhadap kadar asam lemak omega-3 terutama EPA dan DHA dalam ikan tongkol (*Euthymus* sp). Sedangkan tujuan kedua adalah mempelajari efektifitas antioksidan BHA dalam menurunkan kerusakan EPA dan DHA.

## B. Tinjauan Pustaka

### 1. Ikan Tongkol

Ikan tongkol merupakan jenis ikan Tuna yang paling kecil dengan ukuran 200 – 300 gram per ekor. Daerah penyebaran ikan tongkol di Indonesia adalah Laut Maluku, Laut Sawu, Samudera Indonesia, perairan sebelah barat Sumatra dan sebelah selatan Nusa Tenggara.

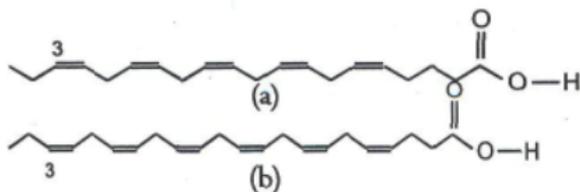


Gambar 1  
Ikan tongkol.

Komposisi kimia daging ikan tongkol adalah; air 71 – 76,7 %, protein 21,6 – 26,3 %, mineral 1,2 – 1,5 %, vitamin A 0,5 – 0,7 mg/gram, vitamin B3 10 – 40 mg/gram. Komponen daging ikan dapat berbeda-beda tergantung dari spesies, jenis kelamin, habitat, musim dan keadaan ikan saat ditangkap. Pada umumnya, bila kandungan lemak tinggi, maka kadar air akan rendah. Berdasarkan ini, maka ikan tongkol termasuk ikan berkadar lemak rendah dengan kadar protein yang tinggi.

## 2. Asam Lemak Omega-3

Asam lemak omega-3 adalah jenis asam lemak tidak jenuh yang mempunyai ikatan rangkap yang jumlahnya lebih dari satu dan ikatan rangkap pertama terletak pada atom C nomor tiga, dihitung dari gugus metil.<sup>4</sup> Di antara jenis asam lemak omega-3 yang paling berkaitan dengan gizi dan kesehatan adalah EPA (*Eicosa Pentaenoic Acid*) dan DHA (*Docosa Hexaenoic Acid*). EPA (C20:5n-3) dan DHA (C22:6n-3) adalah asam lemak omega-3 yang banyak terdapat dalam ikan yang memakan fitoplankton.<sup>5</sup> Struktur kimia dari EPA dan DHA dapat dilihat masing-masing pada Gambar 4.



Gambar 2  
Struktur molekul EPA (a), dan DHA (b)

Asam lemak poli-tidak-jenuh atau yang biasa ditulis PUFA (*polyunsaturated fatty acid*) merupakan komponen esensial dalam bahan pangan bagi manusia. Berbagai penelitian telah menunjukkan

<sup>4</sup> E.B. Schmid, et al., "Marine n-3 Fatty Acid: Basic Feature and Background," *Lipids*, Volume 36 supplement, AOCS Press, 2001, hal 565 – 568.

<sup>5</sup> F. Supari, A. Rasad, dan A. Hanafiah, "Pengaruh Diet Minyak Ikan Lemuru terhadap Kadar Lipida Plasma dan Agregasi Platelet Orang Sehat," Makalah Seminar Universitas Indonesia, 1986, hal 5.

bahwa asam lemak omega-3 sangat penting dalam proses metabolisme tubuh. Asam lemak omega-3 tidak dapat disintesis oleh tubuh manusia, maka asam lemak tersebut harus ada dalam bahan pangan yang dikonsumsi oleh manusia. Oleh karena itu, para ahli gizi menyarankan agar manusia memperbanyak konsumsi makanan yang mengandung asam lemak omega-3, terutama EPA dan DHA.<sup>6</sup>

Asam lemak omega-3, terutama EPA dan DHA banyak terdapat dalam ikan dan air susu ibu (ASI). Kemungkinan asam lemak omega-3 ini turut berperan dalam perkembangan jaringan otak pada bayi. Asam lemak omega-3 juga mempengaruhi fungsi psikologis pada hati dan otak.<sup>7</sup> Pengaruh fisiologis asam lemak omega-3 juga telah dipelajari dalam bidang kesehatan, yaitu terhadap penyakit hipertensi, aterosklerosis, asma, dan prostat. Beberapa jenis ikan seperti mackerel, sardine dan menhaden yang mengandung asam lemak tinggi, biasanya digunakan untuk produksi minyak ikan di sejumlah negara.<sup>8</sup>

Pernah melakukan penelitian mengenai konsentrasi dan stabilisasi asam lemak omega-3 pada minyak ikan Sardin.<sup>9</sup> Penelitian ini menggunakan antioksidan *butylated hidroxytoluene* (BHT) dan a-tokoferol untuk menghambat oksidasi asam lemak. Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa penambahan BHT sebesar 0,5 % (berat/volume) efektif untuk menghambat adanya oksidasi asam lemak. Sedangkan pada penambahan antioksidan jenis a-tokoferol pada konsentrasi tersebut belum cukup efektif dalam menghambat oksidasi asam lemak. Penelitian mengenai pengaruh pemberian asam a-linolenat, EPA, dan DHA terhadap kerja hati tikus pernah

---

<sup>6</sup> Nurjanah, "Omega-3 dan Kesehatan," Makalah Pengantar Falsafah Sains, IPB, Bogor, 2002.

<sup>7</sup> A. Leaf, "The Electrophysiologic Basis for the Antiarrhythmic and Anticonvulsant Effect of n-3 Polyunsaturated Fatty Acid: Heart and Brain," *Lipids*, Volume 36: 2001, hal. S107-S110.

<sup>8</sup> I. Chayati, *Hidrolisis Minyak Ikan Lemuru (Sardinella Longiceps) dengan Lipase Spesifik 1-3 dari Rhizopus Oryzae dan Aspergillus niger untuk Mengkonsentrasikan EPA dan DHA dalam Gliserida*, Tesis Jurusan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian, UGM, Yogyakarta, 1998.

<sup>9</sup> Ganga Angelica, et al., "Concentration and Stabilization of n-3 Polyunsaturated Fatty Acids from Sardine Oil," *Journal of Analytical Oil Chemistry Society*, Volume 75, no. 6, 1998, hal 733 - 735.

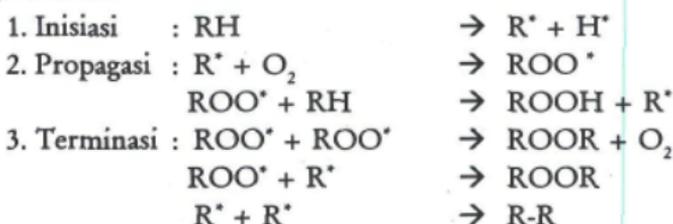
dilakukan oleh Ikeda.<sup>10</sup> Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian asam *a*-linolenat, EPA, dan DHA mempengaruhi kerja hati tikus.

Saat ini beberapa makanan harian yang diproduksi oleh industri makanan telah ditambahkan dengan suplemen omega-3. Selain dapat ditambahkan pada berbagai jenis makanan, suplemen omega-3 juga dapat ditambahkan pada berbagai jenis minuman yang dihasilkan oleh industri minuman.<sup>11</sup> Berbagai faktor yang harus dipertimbangkan dalam penambahan asam lemak omega-3 pada makanan dan minuman dimaksudkan antara lain untuk kesehatan, masalah rasa (*taste*), dan harga.

### 3. Oksidasi Lemak

Kerusakan lemak di dalam bahan pangan dapat terjadi selama pengolahan, proses pemanasan maupun penyimpanan. Kerusakan lemak ini menyebabkan bahan pangan berlemak memiliki bau dan rasa yang tidak enak, sehingga menurunkan mutu dan nilai gizinya. Penyebab kerusakan lemak dibedakan atas tiga golongan, yaitu ketengikan karena oksidasi, enzim, dan hidrolisis. Kerusakan lemak dapat disebabkan oleh proses oksidasi terhadap asam lemak tidak jenuh. Proses ini dapat terjadi dalam suhu kamar maupun selama pengolahan menggunakan suhu tinggi.<sup>12</sup>

Reaksi oksidasi asam lemak berlangsung dalam tiga tahap sebagai berikut:



<sup>10</sup> Ikeda Ikuo, et al., "Effects of Dietary *a*-Linolenic, Eicosapentaenoic, and Docosahexaenoic Acids on Hepatic Lipogenesis and *b*-Oxidation in Rats," *Journal of Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, Volume 62, no. 4, 1998, hal 675 - 580

<sup>11</sup> Garcia J. Debbie, "Omega-3 Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids Nutraceuticals," *Journal of Food Technology*, Volume 50, no. 6, 1998, hal 44 - 49.

<sup>12</sup> S. Ketaen, *Minyak dan Lemak Pangan*, (Jakarta: Universitas Indonesia Press, 1986), hal 3-13 dan 29-36.

Bahan pangan berlemak dengan kadar air dan kelembaban udara tertentu merupakan medium yang baik bagi pertumbuhan jamur. Jamur tersebut mengeluarkan enzim yang dapat mengurai trigliserida menjadi asam lemak bebas dan gliserol. Enzim lipoksigenase secara tidak langsung dapat menyebabkan ketengikan pada lemak karena mempunyai kemampuan mengkatalis reaksi oksidasi lemak. Pada daging ikan segar, enzim lipida peroksidase masih dapat aktif meskipun dibekukan sampai suhu  $-18^{\circ}\text{C}$ .<sup>13</sup>

Dengan adanya air, lemak dapat terhidrolisis menjadi gliserol dan asam lemak. Reaksi ini dipercepat oleh adanya asam, basa, maupun enzim-enzim. Hidrolisis oleh enzim lipase dapat terjadi pada semua jaringan yang mengandung minyak. Enzim ini dapat mengurai lemak menjadi asam lemak bebas sampai dengan 10 % dari total jaringan lemak.

#### 4. Antioksidan

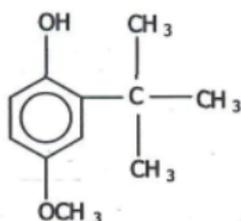
Kerusakan minyak atau lemak yang disebabkan oleh reaksi oksidasi dapat dicegah dengan penambahan antioksidan. Antioksidan mampu menghambat terbentuknya radikal bebas pada tahap inisiasi dan menghambat kelanjutan reaksi autooksidasi pada tahap propagasi. Hal ini disebabkan karena antioksidan memiliki energi aktivasi yang rendah untuk melepaskan satu atom hidrogen kepada radikal lemak, sehingga tahap oksidasi lebih lanjut dapat dicegah. Secara umum mekanisme kerja antioksidan dapat dituliskan sebagai berikut:



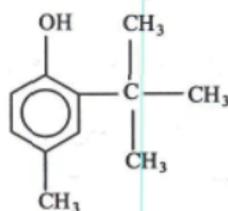
Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibedakan ke dalam dua golongan yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetis. Antioksidan secara alami terdapat pada lemak nabati. Contoh antioksidan alami antara lain tokoferol. Antioksidan sintetis ditambahkan ke dalam bahan pangan untuk mencegah ketengikan. Batas penggunaan antioksidan sintetis harus diperhatikan karena

<sup>13</sup> A. Khayat, dan D. Schwall, "Lipid Oxidation in Seafood," *Journal of Food Tech.*, Volume 7: 1983, hal. 130 - 140

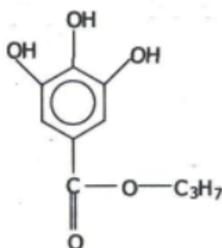
sebagian besar antioksidan sintetis adalah senyawa-senyawa fenolik yang dapat menyebabkan keracunan pada konsentrasi tertentu. Oleh karena itu dalam menggunakan antioksidan sintetis harus memenuhi syarat-syarat aman bagi kesehatan, efektif pada konsentrasi rendah, larut dalam lemak, mempertahankan citarasa dari produk makanan, dan ekonomis. Antioksidan sintetis yang sering digunakan adalah *Butylated Hydroxy Anisole* (BHA), *Butylated Hydroxy Toluene* (BHT), *Propyl Gallate* (PG).



*Butylated Hidroxyanisole* (BHA)



*Butylated hidroxytoluene* (BHT)



*Propyl Galat* (PG)

Gambar 3

Struktur molekul BHA, BHT, dan PG

## C. Landasan Teori

### 1. Analisis Kadar Asam Lemak Omega-3 pada Ikan

Asam lemak omega-3 pada ikan dapat diisolasi dengan menggunakan metoda Bligh dan Dyer<sup>14</sup> dengan cara ekstraksi.

<sup>14</sup> E.G Bligh, W.J dan Dyer, "The Composition of Food Consumed by Greenlandic Eskimos", *Acta Medical Scand*, Vol. 200: 1976 hal 69-73

Kemudian lemak yang diperoleh dimetilasi dengan menggunakan metoda Christoperson.<sup>15</sup> Prinsip dari metoda Bligh dan Dyer adalah ekstraksi asam lemak ikan dengan menggunakan metanol dan kloroform. Kemudian metanol dipisahkan dengan menggunakan larutan KCl 0,88%. Prinsip dari metoda Christoperson adalah esterifikasi dengan menggunakan larutan 2 M KOH-Metanol.

Identifikasi asam lemak pada suatu sampel tidak dapat dilakukan secara langsung dengan menggunakan Kromatografi Gas. Syarat utama agar sampel dapat dianalisis dengan Kromatografi Gas adalah bersifat volatil. Oleh karena itu, asam lemak yang bertitik didih tinggi harus diubah dulu menjadi bentuk metil ester asam lemak sehingga mempunyai titik didih yang berada pada temperatur operasi Kromatografi Gas. Reaksi transesterifikasi secara umum sebagai berikut:



Katalis yang digunakan dalam transesterifikasi dapat dibedakan menjadi dua yaitu katalis asam dan katalis basa. Katalis asam yang sering digunakan antara lain asam sulfat dalam metanol dan boron trifluorida dalam metanol. Sedangkan katalis basa yang umum adalah natrium metoksida dalam metanol. Boron trifluorida alkoholat bersifat seperti asam kuat sehingga mampu memicu reaksi metanolisis asam lemak. Penggunaan alkali sebagai katalis dalam reaksi transesterifikasi dapat menyebabkan isomerisasi asam-asam lemak yang mengandung ikatan rangkap non konjugasi seperti asam linoleat dan asam linolenat. Karenanya itu lebih banyak peneliti menggunakan asam sebagai katalis.

## 2. Analisis Secara Kromatografi

Kromatografi adalah suatu metode analisis yang didasarkan pada perbedaan kecepatan distribusi berbagai komponen pada dua fasa yang berbeda.<sup>16</sup> Dengan adanya perbedaan kecepatan distribusi

<sup>15</sup>M Adnan, *Lemak Pangan dan Permasalahannya*, (Yogyakarta: Program Pasca Sarjana Universitas Gadjah Mada, 1995), Yogyakarta

<sup>16</sup> Douglas A Skoog, *Principles of Instrumental Analysis*, Edisi 3, (New York: Sanders College Publishing, 1995), hal 375.

tersebut, maka komponen-komponen yang dilewatkan pada fasa diam yang dibawa oleh fasa gerak, akan keluar dari kolom pada waktu yang berbeda-beda. Cara yang paling sederhana untuk identifikasi puncak dari sampel yang dianalisis adalah dengan jalan membandingkan harga waktu retensi ( $t_R$ ) berbagai komponen yang ada, dengan harga waktu retensi senyawa yang telah diketahui atau senyawa standar.<sup>17</sup> Apabila harga waktu retensi tersebut sama, maka hal ini merupakan pertanda bahwa kedua senyawa tersebut sama. Langkah selanjutnya perlu dilakukan untuk memastikan bahwa komponen yang dianalisis adalah benar-benar analit yang dikehendaki, berupa identifikasi dengan spektroskopi UV-Vis, IR, NMR, dan Spektroskopi Massa.

### 3. Prinsip Dasar Kromatografi

Metode kromatografi dipakai secara luas untuk pemisahan analitik dan preparatif<sup>18</sup>. Hampir setiap campuran senyawa kimia, mulai dari massa molekul relatif rendah sampai tinggi, dapat dipisahkan menjadi komponen-komponennya dengan beberapa metode kromatografi. Analisis kromatografi biasanya diperlukan untuk tahap permulaan suatu analisis. Analisis preparatif dengan kromatografi biasanya digunakan untuk mendapatkan senyawa murni dari campurannya dalam sampel.

Pada sistem kromatografi, senyawa-senyawa yang akan dipisahkan yang bercampur dalam suatu sampel dibuat sedemikian rupa sehingga setiap komponen yang ada dapat menunjukkan satu dari ketiga sifat tersebut. Kromatografi melibatkan proses yang saling mempengaruhi antara beberapa sifat secara dinamis. Prinsip dasar yang mendasari kromatografi adalah ekstraksi cair-cair.

Ekstraksi cair-cair didasarkan atas terjadinya kesetimbangan distribusi statis dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur. Prinsip dasar ekstraksi tersebut kemudian dikembangkan dalam sistem kromatografi. Gagasan dasar dalam kromatografi adalah

---

<sup>17</sup> Eko Sugiharto, *Buku Monograf Kromatografi*, (Yogyakarta: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, 1992) hal 58.

<sup>18</sup> Roy J Gritter, et. Al., *Pengantar Kromatografi*, Edisi 2, (terjemahan Kosasih Padmawinata), (Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung, 1985), hal 23.

mengubah keadaan distribusi statis seperti ekstraksi menjadi sistem kesetimbangan distribusi yang dinamis dan mengalir. Hal seperti ini dapat dilakukan dengan cara menggerakkan satu fasa dari fasa diam menjadi fasa yang mengalir secara mekanis (fasa gerak). Sedangkan fasa yang satunya dibuat fasa yang tidak bergerak mengalir (fasa diam). Komponen-komponen yang dilewatkan dalam kedua fasa tersebut akan mengalami kesetimbangan distribusi yang dinamis. Pemisahan antara kedua senyawa tersebut terjadi secara perlahan-lahan ketika kedua senyawa yang saling bercampur tersebut melewati kolom.

#### D. Metode Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daging ikan tongkol segar, metanol pa (*E-Merck*), etanol pa (*E-Merck*), kloroform pa (*E-Merck*), standar EPA dan DHA (*Sigma*), antioksidan BHA (*Sigma*), gas nitrogen, gas helium, kalium klorida (*E-Merck*), natrium sulfat anhidrid (*E-Merck*), boron trifluorida 15% dalam metanol (*E-Merck*), *n*-heksana pa (*E-Merck*), akuabides, dan kertas saring Whatman no 40. Adapun peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah penggiling daging, timbangan analitis, ketel, panci alumunium, alat-alat gelas laboratorium, oven, pompa vakum, desikator, Kromatografi Gas HP (*Hewlett Packard*), kolom nonpolar HP-5 30 m, 95% Dimetil-5% difenil polisiloksan, corong Buchner, pencatat waktu, termometer, alumunium foil, dan pemanas listrik.

Ikan dibersihkan dari sisik, dan isi perutnya, kemudian diambil dagingnya kemudian dicincang dan diblender sampai homogen. Analisis kadar minyak dengan metode Folch.<sup>19</sup> Daging ikan yang sudah dihomogenkan ditimbang seberat 25 gram dimasukkan dalam Erlenmeyer 250 mL. Ke dalam sampel ditambahkan pelarut metanol dan kloroform masing-masing 37,5 mL. Kocok selama 15 menit kemudian disaring dengan corong Buchner menggunakan kertas saring Whatman no. 40, dengan dilengkapi pompa vakum. Filtrat dikumpulkan dalam corong pisah dan residu kloroform sebanyak

---

<sup>19</sup> I Folch, M Lees, dan SGH Stanley, "A Simple Methods for The Issolation and Purification of Total Lipids from Animal Tissue", *Journal. Biol. Chem.*, Volume 226: 1957, hal 497-509.

37,5 mL, kemudian dikocok dalam erlenmeyer selama 10 menit dan disaring. Erlenmeyer dibilas dengan campuran kloroform dan metanol masing-masing 5 mL, kemudian dituangkan melalui corong Buchner. Filtratnya digabungkan dengan filtrat yang pertama di dalam corong pisah. Ke dalam corong pisah tersebut dituangkan larutan KCl 0,88 % sebanyak 10 mL. Setelah itu kemudian dikocok beberapa saat, didiamkan sampai terjadi pemisahan.

Minyak ikan hasil ekstraksi ditimbang seberat 0,1 gram, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang bertutup teflon. Larutan Boron trifluorida 15 % dalam metanol ditambahkan sebanyak 0,5 mL kemudian dipanaskan dalam penangas air dengan suhu 45 °C selama 30 menit. Setelah dingin ditambahkan dengan larutan *n*-heksana sebanyak 0,2 mL hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan bagian atas yang merupakan metil ester asam lemak diambil dengan menggunakan *syringe* kemudian diinjeksikan dalam GC.

## 1. Perlakuan Sampel

Ikan tongkol dibersihkan sisik dan isi perutnya, kemudian diambil dagingnya dan diblender. Daging ikan yang sudah lembut, dimasak dengan air yang berasal dari sumur kemudian diukur temperatur dan waktu pemasakan. Perlakuan ini diusahakan semirip mungkin dengan pemasakan yang umumnya dilakukan oleh masyarakat untuk dikonsumsi. Pemasakan ikan tongkol dengan menggunakan parameter suhu air 100 °C dan lama pemanasan 20, 30, 40, 50, dan 60 menit. Kemudian masing-masing sampel ikan diekstraksi minyaknya, selanjutnya dianalisis kadar asam lemak omega-3 terutama kadar EPA dan DHA.

## 2. Analisis Komposisi Asam Lemak Omega-3

Minyak ikan tongkol selanjutnya dilakukan transesterifikasi. Minyak ikan yang sudah dalam bentuk ester dianalisis kadar EPA dan DHA dengan alat Kromatografi Gas (GC). Analisis kualitatif dilakukan dengan metode *spiking*. Standar EPA ditambahkan ke dalam sampel minyak ikan segar. Sebelumnya dilakukan analisis terhadap sampel tanpa penambahan EPA dan DHA standar. Sampel tersebut kemudian ditransesterifikasi dan dianalisis dengan kromatografi gas. Apabila dari kromatogram sampel yang diperkaya menunjukkan adanya kenaikan yang tajam dari salah satu puncak,

maka dapat dipastikan sampel minyak ikan segar tersebut mengandung EPA. Hal yang sama dilakukan pada penambahan standar DHA.

Untuk lebih memastikan keakuratan hasil analisis, maka standar EPA dan DHA diinjeksikan ke dalam kromatografi gas. Waktu retensi dari kedua asam lemak tersebut dapat digunakan sebagai pembanding waktu retensi dari sampel minyak ikan pada kondisi analisis yang sama. Analisis kuantitatif didasarkan pada perhitungan persentase relatif luas puncak komponen terhadap total luas puncak semua komponen. Luas puncak komponen berbanding lurus dengan kadar komponen tersebut dalam sampel yang dianalisis.<sup>20</sup> Kadar EPA dan DHA yang dituliskan adalah EPA dan DHA dalam bentuk metil ester. Sedangkan persentasenya merupakan persen relatif terhadap total metil ester asam lemak hasil ekstraksi.

## E. Hasil Penelitian dan Pembahasan

### 1. Analisis Omega-3 Jenis EPA dan DHA pada Ikan Tongkol

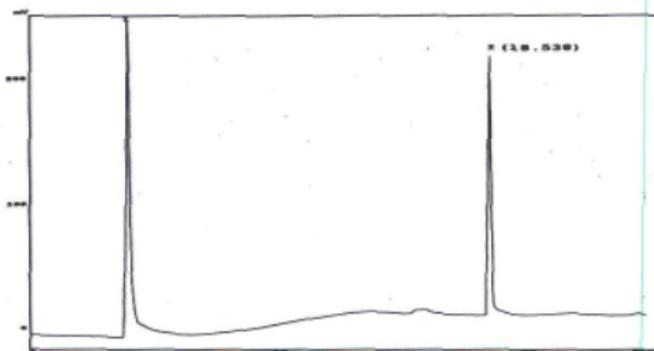
Untuk mengetahui pengaruh lama pemasakan terhadap stabilitas EPA dan DHA maka dilakukan pengolahan dengan cara direbus pada waktu yang bervariasi, yaitu 20, 30, 40, 50 dan 60 menit. Kemudian dilakukan analisis kandungan EPA dan DHA dengan kromatografi gas terhadap sampel ikan tongkol hasil pengolahan tersebut. Data kromatogram hasil analisis menunjukkan adanya kandungan EPA dan DHA. Analisis secara kualitatif dilakukan dengan membandingkan waktu retensi EPA dan DHA sampel dengan waktu retensi EPA dan DHA standar. Kromatogram EPA dan DHA standar masing-masing ditunjukkan dalam Gambar 2 dan 3.

Untuk memastikan keberadaan EPA dan DHA dalam sampel yang dianalisis digunakan metode *spiking*. Sejumlah EPA dan DHA standar ditambahkan ke dalam sampel. Apabila hasil analisis menunjukkan terjadinya kenaikan yang tinggi pada salah satu puncak

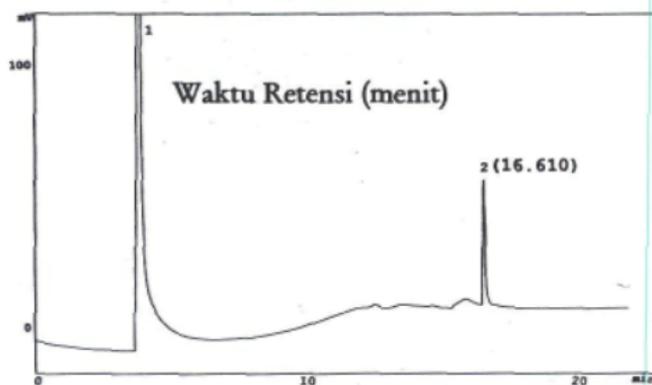
---

<sup>20</sup> IUPAC, *Standard Methods for The Analysis of Oils, Fats, and Derivates*, Edisi 6, (New York: Pergamon Press, 1979).

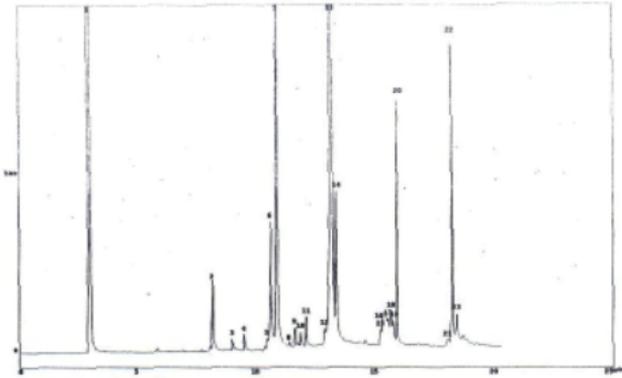
dari sampel yang diperkaya, maka dipastikan sampel tersebut mengandung EPA atau DHA. Contoh metode *spiking* yang digunakan dalam penelitian ini diberikan pada Gambar 4, 5, dan 6. Pada Gambar 4 terlihat kromatogram dari beberapa puncak yang muncul dari beberapa macam kemungkinan asam-asam lemak pada minyak ikan. Setelah sampel dilakukan penambahan (*spiking*) dengan EPA standar maka kromatogram menjadi seperti terlihat pada Gambar 5. Demikian juga setelah sampel dilakukan penambahan (*spiking*) dengan DHA standar maka kromatogram seperti terlihat pada Gambar 6.



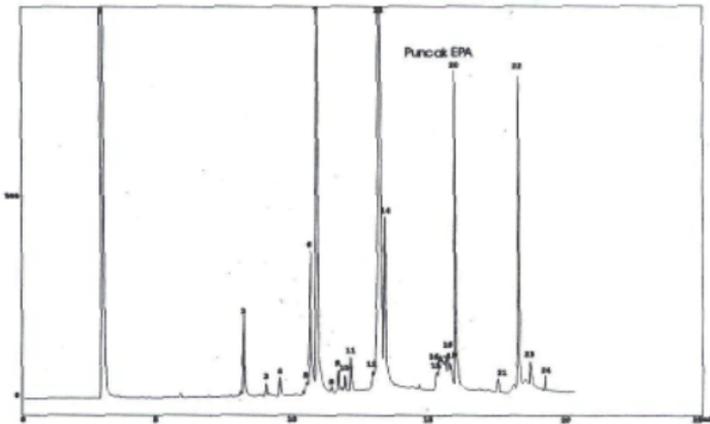
Gambar 2 Kromatogram metil ester EPA standar



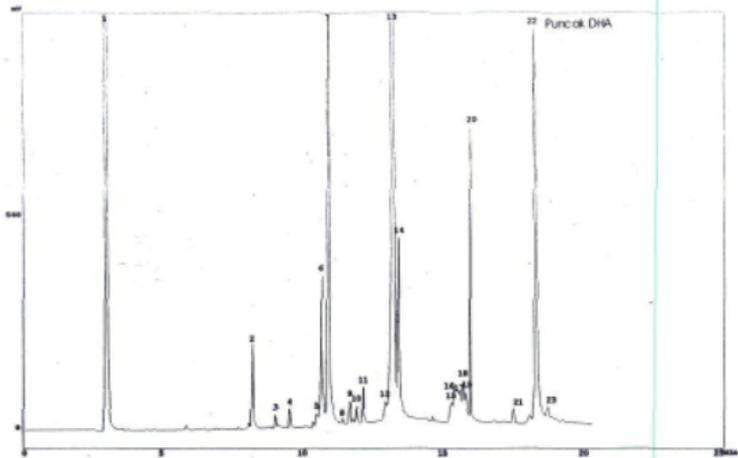
Gambar 3 Kromatogram metil ester DHA standar



Gambar 4  
Kromatogram metil ester sampel segar



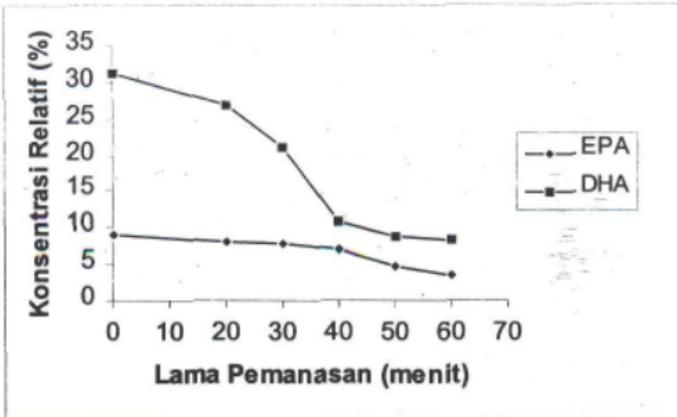
Gambar 5 Kromatogram metil ester sampel segar setelah diperkaya dengan EPA standar



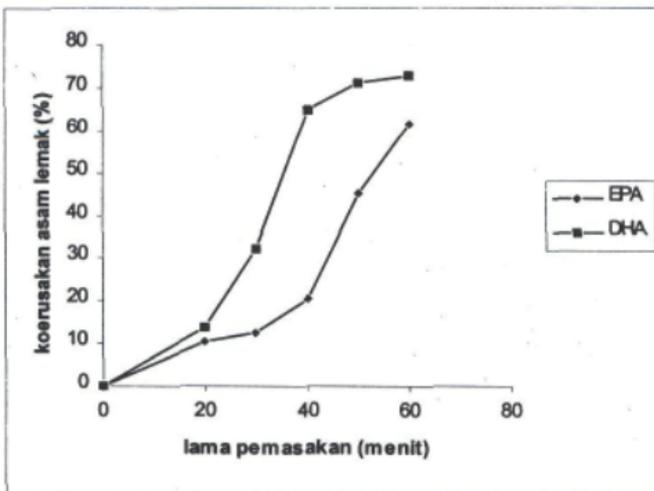
**Gambar 6**  
**Kromatogram metil ester sampel segar setelah diperkaya dengan DHA standar**

Dengan membandingkan ketiga kromatogram tersebut (Gambar 4, 5 dan 6) dapat dipastikan bahwa sampel minyak ikan yang dianalisis mengandung EPA dan DHA. Secara kuantitatif konsentrasi EPA dan DHA ditentukan dengan menggunakan persen relatif luas puncak dari EPA dan DHA terhadap luas puncak total seluruh komponen dalam sampel.

Penelitian menunjukkan bahwa lama proses pemasakan dapat menurunkan konsentrasi EPA dan DHA (Gambar 7). Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa telah terjadi kerusakan (pengurangan) asam lemak omega-3 selama proses pengolahan berlangsung. Penurunan konsentrasi EPA dan DHA selama proses pengolahan kemungkinan besar disebabkan oleh terjadinya reaksi oksidasi terhadap asam lemak tersebut.



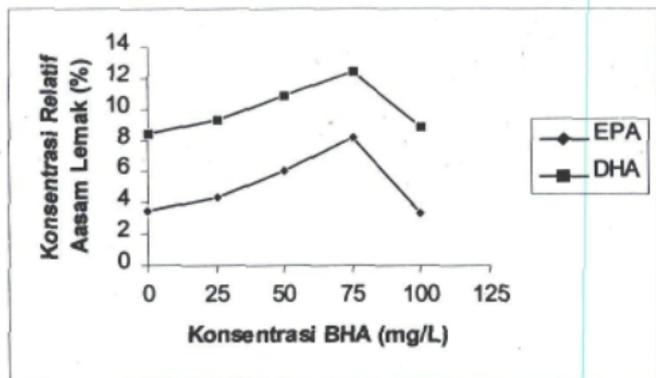
Gambar 7 Pengaruh lama pemanasan terhadap kadar EPA dan DHA



Gambar 8 Tingkat kerusakan EPA dan DHA akibat lama pemanasan

## 2. Pengaruh Penambahan BHA terhadap Kerusakan EPA dan DHA.

Untuk mempelajari pengaruh penambahan BHA terhadap tingkat kerusakan EPA dan DHA pada ikan tongkol, maka sebelum ikan dimasak, ke dalam sampel ditambahkan BHA sebanyak 25, 50, 75, dan 100 ppm. Sampel dimasak selama 60 menit. Pengaruh penambahan BHA ke dalam sampel ikan tongkol yang disajikan dalam Gambar 9.



Gambar 9 Pengaruh penambahan BHA terhadap kadar EPA dan DHA dalam sampel ikan tongkol

Terlihat bahwa penambahan BHA sebanyak 75 ppm merupakan penambahan optimum untuk menanggulangi kerusakan EPA dan DHA pada pemanasan ikan tongkol.

### F. Kesimpulan

Penelitian ini menunjukkan bahwa ikan tongkol (*Euthymus* sp) yang masih segar memiliki kandungan EPA 8,95% dan DHA 31,11%. Pengolahan dengan cara dimasak akan menurunkan kadar EPA dan DHA. Tingkat kerusakan asam lemak ikan tongkol pada pengolahan selama 20, 30, 40, 50, dan 60 menit berturut-turut sebesar 10,32; 12,70; 20,56; 45,33; dan 61,56% dari total kandungan EPA, dan 13,64; 32,21; 64,96; 73,13; dan 73,03% dari total kandungan

DHA. Penambahan BHA mampu menghambat kerusakan EPA dan DHA. Kadar optimum BHA yang ditambahkan adalah 75 ppm pada proses pemasakan ikan nila maupun ikan tongkol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adnan M, *Lemak Pangan dan Permasalahannya*, Yogyakarta: Program Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada, 1995.
- Bligh, E.G. dan Dyer, W.J., "The Composition of Food Consumed by Greenlandic Eskimos", *Acta Med. Scand*, Volume 200 : 1976.
- Chayati I, "*Hidrolisis Minyak Ikan Lemuru (Sardinella Longiceps) dengan Lipase Spesifik 1-3 dari Rhizopus Oryzae dan Aspergillus Niger untuk mengkonsentrasikan EPA dan DHA dalam Gliserida*", Tesis Jurusan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian UGM, 1998.
- Folch, I., Lees M, dan Stanley SGH, "A Simple Methods for The Isolation and The Purification of Total Lipids from Animal Tissue", *Journal of Biol. Chem.*, Volume 226 : 1957.
- Garcia, J. D., "Omega-3 Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids Nutraceuticals", *Journal of Food Tech.*, Volume 50 no 6 1998.
- Gritter, Roy J, Bobbit James M, Shwarming E Arthur, *Pengantar Kromatografi*, Edisi 2, Bandung: Penerbit Institut Teknologi Bandung, 1985.
- Ikeda, I., et al., "Effects of Dietary  $\alpha$ -Linolenic, Eicosapentaenoic, and Docosahexaenoic Acids on Hepatic Lipogenesis and b-Oxidation in Rats", *Journal of Biosci. Biotechnol. Biochem.*, Volume 62 no. 4 1998.
- IUPAC, , *Standard Methods for The Analysis of Oils, Fat, and Derivates*, 6<sup>th</sup> ed., New York :Pergamon Press, 1979,
- Khayat, A., Schwall, D., "Lipid Oxidation in Seafood", *Journal of Food Tech.*, Volume 7: 1983.
- Ketaren, S., *Minyak dan Lemak Pangan*, Jakarta : Universitas Indonesia Press, 1986.
- Leaf A., "The Electrophysiologic Basis for The Antiarrhythmic and Anticonvulsant Effect of n-3 Polyunsaturated Fatty Acid: Heart and Brain", *Lipids*, Volume 36 : 2001, hal S107 - S110.

- Nurjanah, *Omega-3 dan Kesehatan*, makalah pengantar fasafah sains Program Pasca Sarjana IPB, Bogor, 2002.
- Schmid, E.B., et al., "Marine n-3 Fatty Acid: Basic Feature and Background" , *Lipids*, Volume 36 : 2001.
- Skoog, Douglas A., *Principles of Instrumental Analysis*, Edisi 3, New York : Saunders College Publishing, 1986.
- Sugiharto, E., *Buku Monograf Kromatografi*, Yogyakarta : Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Universitas Gadjah Mada, 1982.
- Supari, F., Rasad A., dan Hanafiah A., *Pengaruh Diet Minyak Ikan Lemuru terhadap Kadar Lipida Plasma dan Agregasi Platelet pada Orang Sehat*, Jakarta : Makalah Seminar Universitas Indonesia, 1986.
- Winarno, F.G., *Kimia Pangan dan Gizi*, Edisi 9, Jakarta : Gramedia, 1984.