

# PROFIL KANDUNGAN ASAM LEMAK TAK JENUH PADA EKSTRAK MINYAK IKAN LELE (*Clarias Sp*) HASIL REAKSI ESTERIFIKASI DAN TRANSESTERIFIKASI SECARA ENZIMATIS

Erin Ryantin Gunawan<sup>1</sup>, Sri Seno Handayani<sup>1</sup>, Lely Kurniawati<sup>1</sup>, Murniati<sup>1</sup>  
Dedy Suhendra<sup>1</sup> dan Nurhidayanti<sup>1</sup>

Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Mataram

## ABSTRACT

**Gunawan dkk.**, 2014. Profil content of fatty acids unsaturated on oil extract catfish I

This study aims to determine the type and content of fatty acids in fish, especially on the head catfish and parts of the body as a comparison. Fish oil or triglycerides extracted with soxhletation method with n-hexane solvent. Water content, iodine number and saponification numbers of fish oil has been determined. Qualitative test of fish oil has been done by TLC (thin layer chromatography). To observe the fatty acid content profile is done in two ways, through the process of hydrolysis of triglycerides then esterified and the second, through enzymatic transesterification reaction. The enzyme used is immobilized lipase (Lipozyme). The results obtained were analyzed using a gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Total percent composition of unsaturated fatty acids (oleic, linoleic, EPA and DHA) on the head is 3.34% - 5.06% while in the body is 2.02% - 3.85%.

**Keywords:** Catfish (*Clarias Sp.*), essential fatty acids, transesterification, esterification, Lipozyme

## ABSTRAK

**Gunawan dkk.**, 2014. Profil kandungan asam lemak tak jenuh pada ekstrak minyak ikan lele

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis dan kandungan asam lemak pada ikan Lele terutama pada bagian kepala ikan lele dan bagian badan sebagai perbandingannya. Teknik ekstraksi minyak (trigliserida) menggunakan metode soxhletasi dengan pelarut n-heksan. Minyak yang diperoleh kemudian dianalisis kadar airnya, ditentukan angka iod, angka penyabunannya dan uji kualitatif dengan KLT (Kromatografi Lapis tipis). Untuk melihat profil kandungan asam lemaknya dilakukan dua cara, yaitu melalui proses hidrolisis trigliserida kemudian diesterifikasi dan yang kedua melalui reaksi transesterifikasi secara enzimatik. Enzim yang digunakan adalah enzim lipase yang sudah diimobilisasi (Lipozim). Hasil yang didapatkan dianalisis menggunakan alat gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Total persen komposisi asam lemak tak jenuh (oleat, linoleat, EPA dan DHA) pada bagian kepala adalah 3,34% - 5,06% sedangkan pada bagian badan adalah 2,02%-3,85%.

**Kata kunci:** Ikan Lele (*Clarias Sp.*), asam lemak esensial, transesterifikasi, esterifikasi, Lipozim

## PENDAHULUAN

Masalah kesehatan akhir-akhir ini telah menjadi perhatian utama di setiap negara berkembang. Masalah kesehatan merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi indeks pembangunan manusia (IPM). Masalah kesehatan yang sedang menjadi sorotan adalah masalah kekurangan gizi terutama pada balita. Daerah yang kekurangan gizi tersebar di seluruh Indonesia. Salah satu penyebabnya adalah karena kurangnya asupan gizi ibu hamil yang berdampak pada status gizi bayi dan balita. Salah satu alternatif yang bisa

digunakan untuk mengurangi hal tersebut adalah dengan mengkonsumsi makanan yang sehat dan memiliki gizi yang tinggi. Salah satu sumbernya yaitu ikan. Mengkonsumsi ikan sangat baik untuk kesehatan. Para ahli menyarankan untuk banyak mengkonsumsi ikan daripada daging merah. Namun, kesadaran mengkonsumsi ikan masih sangat rendah. Tingkat konsumsi ikan di Indonesia rata-rata perkapita beberapa tahun lalu 23/kg/tahun. Sedangkan Jepang mencapai 110 kg/orang/tahun (Dahuri, 2014). Padahal ikan merupakan salah satu gizi yang mengandung

Korespondensi dialamatkan kepada yang bersangkutan :

<sup>1</sup>Prodi Kimia, FMIPA Universitas Mataram.

E-mail : erinriyanti@unram.ac.id

asam lemak yang kaya akan manfaat, karena mengandung sekitar 25% asam lemak jenuh dan 75% asam lemak tak jenuh. Asam lemak tak jenuh ganda (*polyunsaturated fatty acid/PUFA*) di dalamnya akan membantu proses tumbuh kembang otak (kecerdasan), serta perkembangan indra penglihatan dan sistem kekebalan tubuh bayi dan balita.

Dari hasil penelitian, asam lemak tak jenuh, salah satunya adalah omega-3 diisolasi dari berbagai jenis ikan yang harganya relatif mahal seperti jenis ikan salmon, tuna, sardine, hering, mackerel, dan kerang-kerangan (lonny, 2009). Sumber omega-3 tidak hanya terkandung pada ikan-ikan yang relatif mahal, jenis ikan dengan harga ekonomis pun mengandung cukup banyak kandungan omega-3 diantaranya adalah ikan lemuru, ikan kembung, ikan layang, ikan bandeng, ikan, ikan kakap, dan ikan tongkol, baik pada bagian badan maupun bagian kepala. . Bagian badan tentu saja banyak disukai dan dapat dikonsumsi untuk mendapatkan manfaat dari asam lemaknya. Tetapi tidak dengan bagian kepalanya. Bagian kepala dari ikan seringkali tidak dimanfaatkan terutama bagian kepala yang mempunyai struktur keras seperti kepala ikan Lele.

Salah satu kandungan asam lemak tak jenuh adalah omega-3 yang memiliki kandungan yang sama dengan seperti yang terkandung pada ASI yang dimaksimalkan dengan sumber lain yaitu ikan, daging, rumput laut dan telur (Muhsin, 2008, Gunawan dan Suhendra, 2013). Asam-asam lemak alami yang termasuk asam lemak omega-3 adalah asam linolenat (C18:3 w-3), asam eikosapentaenoat (EPA, C20:5 w-3), asam dokosaheksaenoat (DHA, C22:6 w-3) (Marinetti, 1990), adapun yang lebih dominan dalam minyak ikan adalah DHA (asam dokosaheksaenoat) dan EPA (asam eikosapentaenoat). Mengingat besarnya peranan gizi bagi kesehatan, ikan merupakan salah satu pilihan yang tepat untuk menjadi solusi bagi permasalahan gizi buruk untuk balita dan bayi.

Di Indonesia, ikan lele (*Clarias sp.*) merupakan salah satu komoditas budidaya ikan air tawar yang penting. Usaha budidaya ikan lele tergolong usaha perikanan yang tumbuh cepat dibandingkan dengan komoditas lainnya. Dalam kurun waktu 2009-2010, ikan lele merupakan komoditas ikan budidaya air

tawar dengan peningkatan produksi terbesar yakni 88,98%, di atas ikan gurame (*Osphronemus gouramy*) dengan peningkatan sebesar 61,96% dan ikan mas (*Cyprinus carpio*) dengan peningkatan sebesar 50,08%. Dalam hal jumlah produksi pada tahun 2010, ikan lele menempati urutan ketiga terbesar di antara ikan budidaya air tawar dengan produksi sebesar 273.554 ton di bawah ikan nila (*Oreochromis niloticus*) sebesar 469.173 ton dan ikan mas sebesar 374.112 ton (KKP, 2014).

Namun pada kenyataannya, pemanfaatan ikan lele budidaya air tawar yang melimpah belum dapat memberikan peranan yang signifikan, hal ini disebabkan karena kurangnya pengolahan potensi ikan lele. Untuk meningkatkan potensi nilai jual ikan lele dapat dilakukan dengan pemanfaatan minyaknya sebagai sumber asam lemak esensial tak jenuh. Ada tidaknya EPA/DHA dan jenis asam lemak lain yang merupakan penyusun minyak ikan lele ditentukan dengan alat GC-MS.

## METODE PENELITIAN

### Bahan dan alat

Ikan lele, n-heksan, KOH, aquades, etanol absolut (96%), HCl 6 N dan HCl 0,5 N, natrium sulfat anhidrat, plat KLT, dietil eter, kertas saring, enzim lipase, minyak ikan standar, tali kasur, trigliserida standar, batu didih, indikator fenofalen, preaksi hanus, CCl<sub>4</sub>, KI 15%, larutan kanji 1%, natrium tiosulfat 0,1 N dan TBHQ. Satu set alat ekstraksi soxhlet, oven, timbangan analitik, desikator, blender, termometer, corong pisah, refluks, labu alas bulat, stirer, *rotary evaporator*, *hot plate*, *water bath shaker*, cawan, porselin dan sejumlah peralatan gelas yang biasa dipakai dalam penelitian di laboratorium serta seperangkat instrumen GC-MS SHIMADZU.

### Ekstraksi minyak ikan

Sebelum melakukan proses ekstraksi, sampel (bagian badan dan kepala, masing-masing seberat 60 g) terlebih dahulu dipanaskan pada suhu 50 °C selama ± 5 jam kemudian diekstraksi dengan menggunakan

soxhlet dan pelarut n-heksan sebanyak 250 mL selama 6 jam. Pelarut dipisahkan dengan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstraks minyak ikan bebas n-heksan.

### Hidrolisis trigliserida

Sebanyak 1 g minyak hasil ekstraksi ditambahkan TBHQ 200 ppm, kemudian disaponifikasi dengan menambahkan 0,32 g larutan KOH dalam alkohol encer (air dan etanol absolut (4,4:6,4)). Erlenmeyer kemudian dihubungkan dengan pendingin tegak dan minyak di didihkan pada suhu 60 °C selama 1 jam. Setelah selesai, minyak yang telah disabunkan ditambahkan 4 mL aquades kemudian diekstrak dengan 4 mL n-heksan menggunakan corong pisah sampai terbentuk dua lapisan. Didapatkan 2 fraksi, fraksi air tersaponifikasi dan fraksi heksana tersaponifikasi. Fraksi air tersaponifikasi diasamkan dengan menambahkan HCl 6 N beberapa tetes sampai pH 1 dan diekstrak kembali dengan heksana 2 mL. Hasil ekstraksi didapatkan dua fraksi yaitu fraksi air dan fraksi heksana yang mengandung asam lemak bebas. Selanjutnya fraksi heksan ditambahkan natrium sulfat anhidrat dan diuapkan dengan *rotary evaporator* (Medina dkk., 1995).

### Penentuan komposisi asam lemak

#### *Melalui proses esterifikasi*

Asam lemak yang telah didapatkan diubah terlebih dahulu menjadi asam lemak etil ester dengan cara menambahkan etanol absolut sebanyak 1:2, ditambahkan 0,2 g enzim lipase dan 10 mL n-heksan. Kemudian diletakkan dalam *water bath shaker* selama 24 jam pada suhu 40 °C dan 150 rpm. Setelah itu dianalisis dengan alat spektrofotometer GC-MS. Kolom yang digunakan adalah jenis RTX-MS panjang 30 meter dan dioperasikan pada suhu kolom 150-320 °C selama 20 menit. Jenis detektor adalah FID dan digunakan gas helium sebagai fasa geraknya

#### *Melalui proses transesterifikasi*

Penentuan komposisi asam lemak esensial juga dapat dilakukan dengan langsung melalui proses transesterifikasi. Pada

proses transesterifikasi, minyak ikan pada bagian kepala maupun badan ditambahkan etanol dan enzim lipase/lipozim sebagai katalis. Kemudian langkah selanjutnya sama dengan pada proses esterifikasi

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Analisis kadar minyak, penyabunan dan bilangan Iod

Dari hasil ekstraksi minyak kepala dan badan ikan lele diperoleh rata-rata kadar minyak kepala yaitu 21,75% sedangkan kadar minyak badan sebesar 15,94% yang didapatkan dari berat sampel kepala 257,19 g dan badan 201,28 g. Perbedaan kadar minyak yang didapatkan dipengaruhi oleh adanya perbedaan kadar air pada kepala dan badan lele. Semakin tinggi kadar air yang terdapat pada sampel maka semakin kecil kadar minyaknya. Berdasarkan uji kadar air yang diperoleh pada kepala ikan lele (60%) lebih kecil dibandingkan dengan kadar air yang terdapat pada badan ikan lele (74%) sehingga kemungkinan minyak yang terdapat pada badan ikan lele akan sulit terektrak dibandingkan dengan minyak yang terdapat pada kepala ikan lele. Hasil dari peneliti lain menyebutkan rata-rata kadar air pada ikan lele adalah 63,83% (Widjanarko dkk., 2012). Dari hasil penelitian yang dilakukan didapatkan bilangan penyabunan untuk ikan lele sebesar 158,48 sedangkan bilangan iodnya sebesar 158,64.

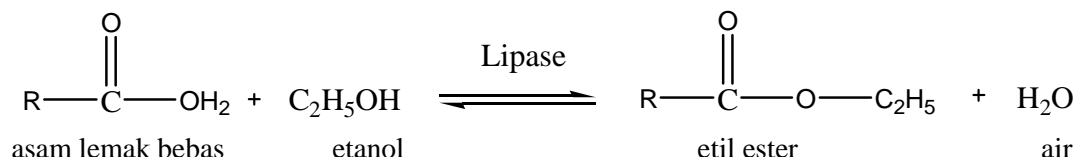
### Analisis GC-MS pada esterifikasi asam lemak kepala dan badan ikan lele melalui reaksi enzimatik

Asam lemak yang didapatkan dari proses hidrolisis diesterifikasi dengan menggunakan enzim lipase untuk mendapatkan *fatty acid ethyl ester* (FAEE) atau etil ester asam lemak. Tujuan dilakukannya proses esterifikasi ini yaitu untuk mempermudah analisis menggunakan alat GC-MS, karena kromatogram asam lemak bebas sukar dideteksi, yang disebabkan asam lemak rantai panjang dan tahap intraksi dengan kolom kapiler. Oleh karena itu senyawa seperti asam lemak yang tidak stabil secara termal dan tidak mudah menguap dapat

diidentifikasi menggunakan GC-MS dengan cara mengubah asam lemak menjadi turunan-turunannya yang lebih mudah menguap dan stabil, salah satunya yaitu dengan merubah menjadi metil ester (Khopkar, 2007).

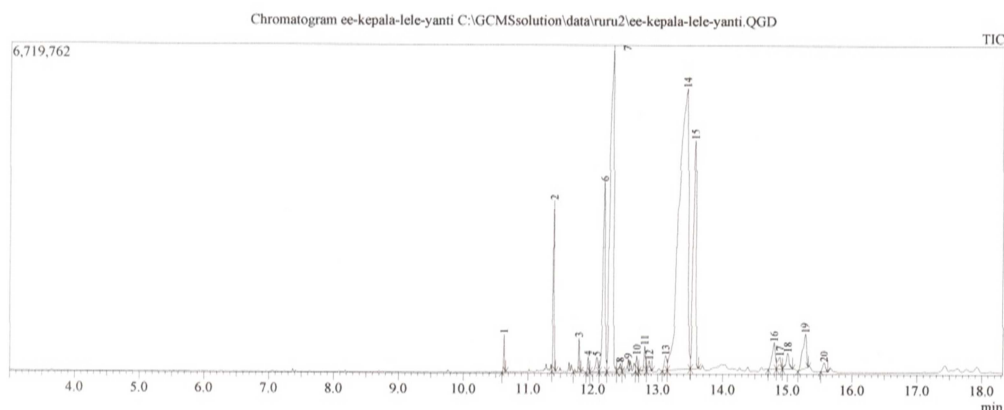
Adapun proses esterifikasi dalam penelitian ini berlangsung selama 24 jam dalam water bath shaker dengan suhu 40 °C dengan kecepatan 150 rpm. Menurut Nurhayati (2009) semakin lama waktu reaksi maka kontak antara zat semakin besar

sehingga reaktan yang dihasilkan semakin maksimal, namun jika kesetimbangan reaksi telah tercapai maka meskipun dengan penambahan waktu tidak akan memperbesar hasil konversi. Pada umumnya setiap kenaikan 10 °C, kecepatan reaksi dapat meningkat menjadi 2 atau 3 kali lipat, tapi pada suhu diatas 50 °C, umumnya enzim sudah mengalami kerusakan (Tambun, 2002). Di bawah ini merupakan reaksi yang terjadi pada proses esterifikasi asam lemak bebas:



Dari reaksi diatas terlihat bahwa produk sampingan yang dihasilkan adalah air. Untuk menghilangkan produk sampingan ini ditambahkan natrium sulfat anhidrat. Adanya produk sampingan yang dihasilkan pada proses

ini maka asam lemak etil ester yang didapatkan tidak mencapai 100% dari asam lemak bebasnya. Berikut adalah kromatogram asam lemak etil ester bagian kepala dan badan dari minyak ikan lele.



Gambar 3 Kromatogram asam lemak etil ester kepala lele

Berdasarkan perbandingan waktu retensi sampel esterifikasi dengan kromatogram standar dapat disimpulkan jenis asam lemak yang terdapat pada minyak ikan lele adalah sebagaimana yang terdapat dalam Tabel 1 dan 2. Berdasarkan tabel tersebut, untuk sampel minyak ikan esterifikasi asam lemak etil ester memiliki kandungan yang sama antara kepala dan badan ikan lele, yakni baik kepala maupun badan ikan lele sama-sama mengandung asam lemak esensial berupa DHA, EPA, oleat dan linoleat (ALA), namun dengan kadarnya yang berbeda-beda. Dari

keempat jenis asam lemak esensial tersebut, kandungan EPA (1,55%) pada bagian kepala mempunyai persen komposisi tertinggi dan linoleat (0,37%) mempunyai persen komposisi terendah. Kandungan kadar asam lemak esensial untuk bagian badan ikan lele yang terbesar adalah DHA (0,68%) dan yang terendah linoleat (0,43%). Total persen komposisi asam lemak esensial pada bagian kepala adalah 3,34% dan pada bagian badan 2,02%. Penelitian lain menyebutkan kandungan EPA pada ikan layur adalah sebesar 2,14% (Pratama dkk., 2011) dan ikan

lemuru dengan total asam lemak esensialnya sebesar 5,27% (Wildan, 2000). Menurut Achman (1982) kandungan asam lemak omega-3 pada ikan bukan merupakan hasil sintesis murni tubuh ikan, melainkan hasil pembentukan dari rantai makan yang meliputi *phytoplankton*, *zooplankton*, *algae*, *copepod* dan kerang-kerangan. Perbedaan kandungan asam lemak esensial ikan lele dan ikan lainnya diduga disebabkan oleh sumber makanan yang

dikonsumsinya. Menurut Estiasih (2009), faktor yang mempengaruhi kadar asam lemak esensial dalam ikan selain jenis dan makanan ikan adalah perkembangan dan pertumbuhan, musim, salinitas dan suhu air. Perbedaan spesies ikan, musim, salinitas dan suhu air juga dapat menyebabkan perbedaan komposisi asam lemak esensial yang terdapat dalam ikan tersebut (Munsen, 1985).

Tabel 1. Waktu retensi asam lemak hasil esterifikasi minyak kepala dan badan ikan lele

No.	Jenis Standar Asam Lemak	Waktu Retensi (R <sub>t</sub> ) / Menit		
		Standar	Kepala	Badan
1	Oleat	12,800	12,825	12,789
2	Linoleat	12,958	12,866	12,861
3	EPA(Omega-3)	13,058	13,122	13,035
4	DHA(Omega-3)	14,552	14,795	14,773

Tabel 2. Kandungan asam lemak hasil esterifikasi minyak kepala dan badan ikan lele

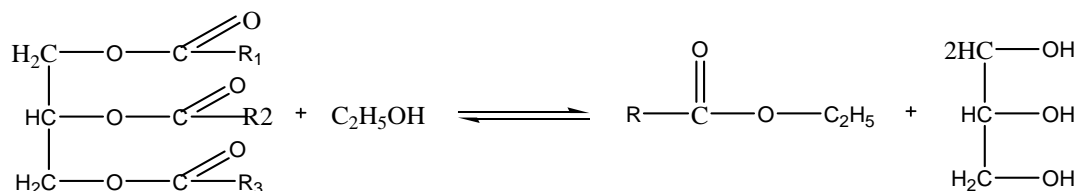
No.	Jenis Asam Lemak	Komposisi (%)	
		Kepala	Badan
1	Oleat	0,71	0,52
2	Linoleat	0,37	0,39
3	EPA	1,55	0,43
4	DHA	0,71	0,68

### Analisis GC-MS pada transesterifikasi minyak kepala dan badan ikan lele melalui reaksi enzimatis

Transesterifikasi merupakan proses pengubahan trigliserida menjadi metil ester dan gliserol. Reaksi ini biasanya juga disebut dengan reaksi alkoholisis kerana melibatkan alcohol selama reaksinya. Ada 2 jenis reaksi reaksi transesterifikasi yaitu transesterifikasi enzimatis menggunakan katalis enzim dan

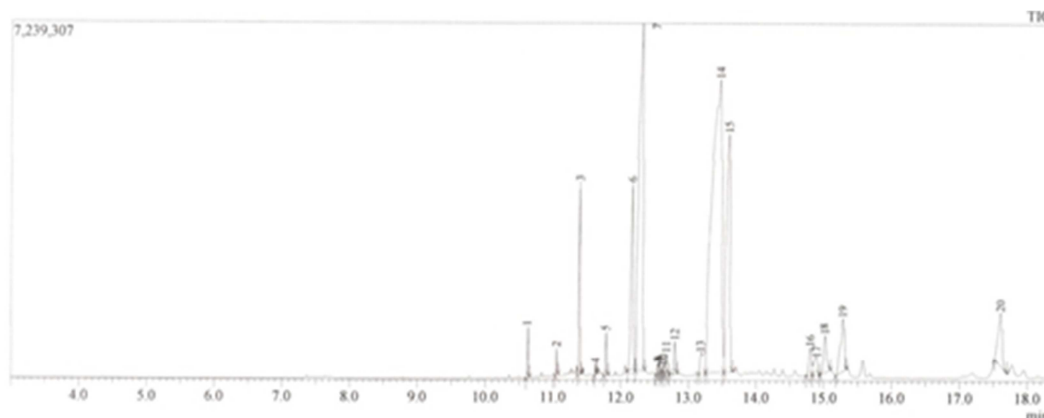
transesterifikasi kimiawi yang menggunakan katalis logam dalam suasana basa.

Pada penelitian digunakan reaksi transesterifikasi enzimatis menggunakan katalis enzim lipase. Adapun proses transesterifikasi berlangsung selama 24 jam dalam water bath shaker dengan suhu 40 °C dengan kecepatan 150 rpm. Reaksi yang terjadi selama proses transesterifikasi berlangsung adalah sebagai berikut:

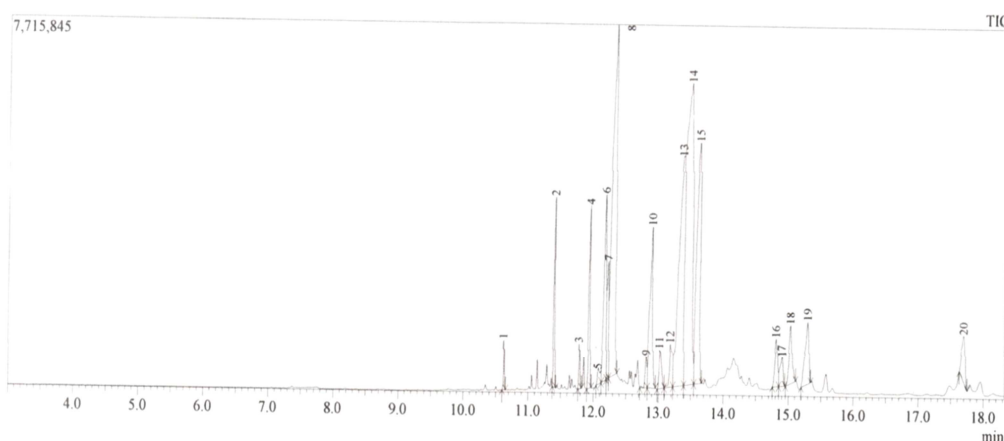


Berikut ini adalah kromatogram hasil transesterikasi minyak kepala dan badan ikan

lele melalui reaksi enzimatis menggunakan alat kromatografi GC-MS.



Gambar 1 Kromatogram transesterifikasi badan ikan lele



Gambar 2 Kromatogram transesterifikasi kepala ikan lele

Berdasarkan perbandingan waktu retensi sampel transesterifikasi dengan kromatogram standar dapat disimpulkan jenis

asam lemak yang terdapat pada minyak ikan lele adalah sebagaimana yang terdapat dalam Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Waktu retensi asam lemak hasil transesterifikasi minyak kepala dan badan ikan lele

No.	Jenis Asam Lemak	Waktu Retensi ( $R_t$ ) / Menit		
		Standar	Kepala	Badan
1	Oleat	12,800	12,810	12,674
2	Linoleat	12,958	13,025	12,866
3	EPA(Omega-3)	13,058	13,191	13,180
4	DHA(Omega-3)	14,552	14,895	14,798

Tabel. 4. Kandungan asam lemak hasil transesterifikasi minyak kepala dan badan ikan lele

No.	Jenis Asam Lemak	Komposisi (%)	
		Kepala	Badan
1	Oleat	0,73	0,37
2	Linoleat	1,25	0,78
3	EPA	1,50	1,6
4	DHA	1,58	1,1

Dari Tabel 3 dan 4 bahwa untuk hasil transesterifikasi minyak kepala ikan lele untuk bagian kepala, persentase asam lemak esensial tertinggi dimiliki oleh DHA (1,58%) dan terendah dimiliki oleh oleat (0,73%). Untuk bagian badan, asam lemak esensial dengan persentase tertinggi adalah EPA (1,76%) dan terendah adalah oleat (0,37%). Total persen komposisi asam lemak esensial pada bagian kepala adalah 5,06% dan pada bagian badan 3,85%. Bagian kepala ikan Lele mempunyai persen komposisi asam lemak esensial lebih tinggi dibandingkan dengan bagian badan.

Ada perbedaan komposisi minyak ikan pada ikan lele dengan menggunakan dua cara yang berbeda. Perbedaan komposisi dari kedua cara ini kemungkinan disebabkan pada proses esterifikasi, minyak ikan dihidrolisis terlebih dahulu sehingga menghasilkan asam lemak kemudian barulah asam lemak tersebut direaksikan secara proses esterifikasi untuk menghasilkan ester-esternya. Sehingga ada dua tahap reaksi dari minyak menjadi ester-esternya. Sedangkan pada proses transesterifikasi, minyak ikan diubah menjadi ester-esternya dengan sekali tahapan reaksi (*one-step reaction*). Kemungkinan yang kedua pada reaksi esterifikasi terjadi reaksi balik antara air dan ester kembali membentuk asam-asam lemaknya sebelum dilakukan penambahan natrium sulfat.

## KESIMPULAN

Dari hasil persentase asam lemak esensial yang diperoleh baik melalui cara esterifikasi dan transesterifikasi dapat disimpulkan bahwa bagian kepala ikan lele dapat dijadikan sebagai salah satu sumber alternatif asam lemak esensial. Bagian kepala ikan lele mempunyai persen komposisi asam lemak esensial lebih tinggi dibandingkan dengan bagian badan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ackman, R.G. 1982. *Fatty acid composition of fish oil. Dalam nutritional evaluation of long chain fatty acid in fish oil.* Barlow S.M. and M.E. Stansdy. Acid. London: Press Ltd.
- Dahuri, R. 2014. *Gerakan Makan Ikan, Budaya Bahari, dan Kualitas Hidup Bangsa*, Kompas, 14 Juni 2014
- Estiasih, T. 2009. *Minyak Ikan Teknologi dan Penerapannya untuk Pangan dan Kesehatan.* Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Gunawan & Suhendra. 2012. *Screening dan analisis kadar omega-3 dari rumput laut pulau Lombok*, *Jurnal Molekul*, 11(2), 95-104
- Khopkar, M.S. 2007. *Konsep Dasar Kimia Analitik.* Jakarta: UI Press.
- Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2014. *Komoditas Air Tawar, Unggulan Nusa Tenggara Barat*, [\(http://www.djpb.kkp.go.id/berita.php?id\(20 November 2014\)\)](http://www.djpb.kkp.go.id/berita.php?id(20%20November%202014))
- Lonny, T. 2009. *Khasiat Minyak Ikan Tongkol.* [serial online] diakses 20 januari 2009.
- Marinetti, G.V. 1990. *Disorders of Lipid Metabolism*, Plenum Press, New York and London Netherlands: Wageningen University.
- Medina, A. R., Gimenez, A.G., Camacho, F. G., Perez, J.A.S., Grima, E.M. & Gemez, A.C. 1995. Concentration and Purification of Stearidonic, Eicosapentaenoic, and Docosahexaenoic Acids from Cod Liver Oil and Microalga *Isochrysis galbana*. *J. of the American Oil Chem. Soc.* 72 (5): 576-583

- Monsen, E.R. 1985. In: NIH launching major Research Program on Fish Oil and Health, *Food Chemistry News*, 34-39, 6-8
- Muhsin, B. 2008. *Apa Itu Omega-3*. <http://holisticsuperomegaorang.com>, diakses 28 Juni 2014
- Nurhayati, E., & Permatawati, I. 2009. *Kajian Awal Sintesis Biodiesel dari Minyak Dedak dan Metanol Melalui Ekstraksi dan Proses Esterifikasi*. UNDIP, Semarang.
- Pratama, R.I., Awaluddin, M.Y. & Ishamaya, S. 2011. Analisis Komposisi asam lemak yang terkandung dalam ikan Tongkol, Layur dan Tenggiri dari Pameumpeuk Garut. *Akuatika*, II (11), 1-10
- Tambun, R., 2002. *Proses Pembuatan Asam Lemak Secara Langsung Dari Buah Kelapa Sawit*. Universitas Sumatera Utara, USU digital library.
- Wijanarko, S.B., Zubaedah, E. & Kusumah, A.N. 2012. Studi kualitas fisik-kimiawi, dan organoleptik sosis ikan leledumbo (*Clarias gariepinus*) akibat pengaruh perebusan, pengukusan dan pengasapan, *Jurnal Teknologi Pertanian*. 4, 193-202
- Wildan, F. 2000. *Perbandingan Kandungan Omega-3 dan omega-6 dalam minyak ikan lemuru dengan teknik kromatografi*, *Temu Teknisi Fungsional*, Balai Penelitian Ternak, Bogor Indonesia.