

## UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN KARAKTERISASI MINYAK TULANG IKAN TINDARUNG

### *Antioxidant Activity and Characterization of Fish Oil from Marlin Fish Bone*

Irma Antasionasti \*, Surya Sumantri Abdullah, Jainer Pasca Siampa, Imam Jayanto

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi

\* Penulis Korespondensi: [irmaantasionasti07@gmail.com](mailto:irmaantasionasti07@gmail.com)

(Diterima 07-02-2024; Direvisi 30-04-2024; Dipublikasi 30-05-2024)

#### ABSTRACT

Marlin fish is one of the fish produced in the waters of North Sulawesi. The process of processing tendarung fish produces fish bone waste which can be maximized for processing as fish oil. Fish oil contains essential fatty acids that the body cannot produce naturally. The aim of this research was to determine the antioxidant activity and characteristics of tendarung fish bone oil. Tendarung fish bone oil extraction was carried out using wet rendering method. Next, antioxidant activity was tested using DPPH method. Characterization was carried out using the titration method. Based on the results of the antioxidant activity test, tendarung fish bone oil has an antioxidant activity of  $20,958 \pm 2,736 \mu\text{g/mL}$ . Apart from that, tendarung fish bone oil has characteristics that meet the standards of the International Fish Meal and Oil Manufacturers Association, namely a density of 0.91 g/mL; peroxide value of 20 meq/kg; free fatty acids of 5.65%; and the iodine number is 7.25 mg/100 g. This shows that tendarung fish bone oil can be consumed regularly as a supplement to maintain health.

**Keywords:** antioxidant activity, characterization, fish oil, marlin fish

Ikan Tendarung merupakan salah satu ikan yang dihasilkan di perairan Sulawesi Utara. Proses pengolahan ikan tendarung menghasilkan limbah tulang ikan yang dapat dimaksimalkan pengolahannya sebagai minyak ikan. Minyak ikan mengandung asam lemak esensial yang tidak dapat diproduksi secara alami oleh tubuh. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas antioksidan dan karakteristik dari minyak tulang ikan tendarung. Ekstraksi minyak tulang ikan tendarung dilakukan dengan menggunakan metode *wet rendering*. Selanjutnya, pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. karakterisasi dilakukan menggunakan metode titrasi. Berdasarkan hasil ujiaaktivitasantioksidan, minyak tulang ikan tendarung memiliki aktivitas antioksidan sebesar  $20,958 \pm 2,736 \mu\text{g/mL}$ . selain itu, minyak tulang ikan tendarung memiliki karakteristik yang memenuhi standar *International Fish Meal and Oil Manufacturers Association*, yaitu massa jenis sebesar 0,91 g/mL; bilangan peroksida sebesar 20 meq/kg; asam lemak bebas sebesar 5,65%; dan bilangan iod sebesar 7,25 mg/100 g. Hal ini menunjukkan bahwa minyak tulang ikan tendarung dapat dikonsumsi secara teratur sebagai suplemen untuk menjaga kesehatan.

**Kata kunci:** aktivitas antioksidan, karakterisasi, minyak ikan, tendarung

#### PENDAHULUAN

Ikan tendarung merupakan ikan yang termasuk dalam *tuna-like-species* dan merupakan jenis ikan yang paling banyak ditemukan di perairan Sulawesi Utara. Rumalutur dkk (2022) telah berhasil melakukan ekstraksi asam lemak dari daging ikan tendarung dengan kadar asam dokosaheksaenoat (DHA) sebesar 7,10% dan asam eikosapentaenoat (EPA) sebesar 1,06%. Oleh karena itu, ikan tendarung dapat menjadi sumber omega-3. Selain daging, omega-3 dapat diekstraksi dari bagian limbah seperti tulang ikan tendarung sebagaimana minyak dari tulang ikan tuna dengan kadar DHA dan EPA secara berturut-turut 20,50% dan 3,67% (Istiqlaal, 2018) serta 19,24% dan 3,70% (Apituley dkk., 2020).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh *American College of Nutrition* pada bulan Agustus 2002, omega-3 mampu meredam radikal bebas sebagai antioksidan sehingga dapat memberikan perlindungan terhadap serangan jantung dan stroke serta mencegah pertumbuhan sel tumor dan kanker (Akmal dan Roy, 2017). Antioksidan yang terkandung dalam minyak ikan dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan. Beberapa metode ekstraksi minyak ikan yaitu pengepresan hidrolis, ekstraksi soklet dengan Pamantasan, ekstraksi pelarut dengan pelarut non polar (Garcia-Moreno dkk, 2014; De Oliveira dkk, 2016), dan metode ekstraksi terbaru menggunakan *ultrasound assisted extraction* (Zhang dkk, 2021). Beberapa kondisi ekstraksi dapat mempengaruhi efisiensi ekstraksi, sehingga sangat penting

memilih metode ekstraksi yang akan digunakan. Salah satu metode ekstraksi yang dapat digunakan dalam ekstraksi tulang ikan tendarung yaitu metode *wet rendering*.

Selain manfaat kesehatan yang diberikan oleh kandungan omega-3 minyak ikan tendarung sebagai antioksidan, kualitas minyak ikan perlu diperhatikan dalam proses produksi. Oleh karena itu, perlu diketahui kualitas minyak ikan tendarung yang diperoleh. Beberapa parameter yang digunakan untuk menentukan kualitas minyak ikan yaitu bilangan asam, bilangan peroksida, dan bilangan penyabunan (Putri dkk., 2020). Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antioksidan dan karakterisasi minyak dari tulang ikan tendarung.

## METODE PENELITIAN

### Material

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat ekstraksi, neraca analitik dengan kepekaan 0,1 mg (Mettler Toledo), spektrofotometer UV-VIS (Genesys-5), piknometer, seperangkat alat titrasi, dan alat-alat gelas (Pyrex) yang lazim digunakan di Laboratorium Kimia Analisis.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu tulang ikan tendarung yang diperoleh dari pasar bersehati kota Manado, Sulawesi Utara. Senyawa 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazil (DPPH) (Sigma), asam asetat glasial (Merck), kalium iodide (Merck), natrium tiosulfat (Merck), indikator kanji, indikator PP, indikator amilum, kalium hidroksida (Merck), reagen iodium bromide, etanol 96% (Merck), etanol (p.a) (Merck), n-heksan (p.a) (Merck), kloroform (p.a) (Merck), alfa tocopherol (Sigma), akuades.

### Preparasi ikan tendarung

Tulang ikan tendarung dibersihkan, kemudian dipotong-potong sehingga diperoleh ukuran yang lebih kecil untuk mempermudah proses ekstraksi.

### Ekstraksi minyak ikan

Proses ekstraksi menggunakan metode *wet rendering*. Ekstraksi dilakukan terhadap limbah ikan, kemudian ditambah air dengan perbandingan 1:3 (limbah : air) dan direbus pada suhu perlakuan 40°C selama 60 menit, masing- masing perlakuan diulang sebanyak 3 (tiga) kali. Setelah dilakukan perebusan, lapisan minyak yang terbentuk di lapisan permukaan diambil menggunakan pipet kaca dan kemudian dimasukkan ke dalam botol kaca untuk dianalisis.

### Uji aktivitas antioksidan minyak tulang ikan tendarung (Kikuzaki dkk., 2002)

sebanyak 50 µL minyak ikan tulang tendarung dengan konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 µg/mL ditambah dengan 1,0 mL DPPH 0,4 mM, dan 3,950 mL etanol. Selanjutnya, larutan divorteks dan didiamkan selama 30 menit. Larutan selanjutnya diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum terhadap blanko. Selain itu, absorbansi kontrol yang terdiri atas 1,0 mL DPPH dan 4,0 mL etanol dan vitamin E sebagai pembanding juga diukur pada panjang gelombang maksimum.

$$\text{Penangkapan radikal (\%)} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan: A<sub>0</sub> adalah absorbansi kontrol (tidak mengandung larutan uji). A<sub>1</sub> adalah absorbansi dengan adanya larutan uji atau senyawa pembanding.

### Karakterisasi minyak tulang ikan tendarung

#### a. Analisis massa jenis minyak tulang ikan tendarung

Sebanyak 10 mL (V) minyak tulang ikan tendarung dimasukkan dalam piknometer kosong sampai di atas leher, pasang tutupnya hingga sampel dapat mengisi pipa kapiler sampai penuh dan bebas dari gelembung udara. Keringkan bagian luar piknometer dan timbang beratnya. Setelah itu, menentukan berat (m) sampel minyak tulang ikan tendarung (berat terukur dikurangi berat piknometer kosong). Massa jenis minyak tulang ikan tendarung ditentukan berdasarkan persamaan berikut:

$$\rho = \frac{m}{V}$$

#### b. Analisis bilangan peroksida

Minyak tulang ikan tindarung sebanyak 5 g dimasukkan dalam labu erlenmeyer, kemudian ditambahkan larutan asam asetat dan kloroform dengan perbandingan 3:2 sebanyak 30 mL. setelah itu, ditambahkan 0,5 ml larutan kalium iodide jenuh yang baru disiapkan dan dibiarkan bereaksi selama 60 detik sambil diaduk, kemudian ditambahkan 30 ml aquades dan dikocok. Selanjutnya dilakukan titrasi menggunakan 0,01 N natrium thiosulfate ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) hingga larutan berubah warna menjadi kuning, setelah itu ditambahkan 0,5 ml larutan indikator kanji 1% yang akan merubah warna larutan menjadi biru. Indikator sebaiknya ditambahkan menjelang akhir titrasi. Selama titrasi kocok hingga warna biru hilang. Lakukan titrasi blanko dengan kondisi yang sama. Bilangan peroksida minyak tulang ikan tindarung ditentukan berdasarkan persamaan berikut:

$$\text{Nilai peroksidasi (meq/kg)} = \frac{S \times M \times 1000}{\text{berat sampel (g)}}$$

Keterangan: S = Jumlah natrium thiosulfate (mL), M= konsentrasi natrium thiosulfate (0,01 N)

c. Analisis asam lemak bebas

Minyak tulang ikan tindarung sebanyak 1 gram ditambahkan 25 ml alkohol 95%, kemudian dipanaskan selama 10 menit. Selanjutnya, 2 tetes indikator PP ditambahkan ke dalam larutan minyak tulang ikan tindarung. Setelah itu, larutan dikocok dan dititrasi dengan KOH 0,1 N sampai titik akhir titrasi yang ditandai dengan timbul warna pink yang tidak hilang dalam 10 detik. Asam lemak bebas minyak tulang ikan tindarung ditentukan berdasarkan persamaan berikut:

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

Keterangan : A = Jumlah titrasi KOH (ml), N = Normalitas KOH, G = gram minyak, M = Bobot molekul asam lemak dominan

d. Analisis bilangan iod

Bilangan iod minyak tulang ikan tindarung ditentukan berdasarkan metode SNI 7381:2008. Prosedur dilakukan oleh Unit Laboratorium Terpadu Institut Pertanian Bogor pada tanggal 19 September 2023.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas Antioksidan Minyak Tulang Ikan Tindarung

Aktivitas antioksidan minyak tulang ikan tindarung dianalisis menggunakan metode DPPH yang merupakan radikal bebas yang stabil. Ketika DPPH mengikat satu elektron menyebabkan perubahan warna secara stoikiometri (Akmal dan Roy, 2017). Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilaporkan sebagai  $\text{IC}_{50}$ , yaitu konsentrasi efisien suatu antioksidan yang diperlukan untuk mengurangi konsentrasi DPPH awal sebesar 50% (Munteanu dan Apetrei, 2021). Aktivitas antioksidan minyak tulang ikan tindarung dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Aktivitas antioksidan minyak tulang ikan tindarung**

Sampel	Aktivitas Antioksidan DPPH ( $\text{IC}_{50}$ - $\mu\text{g/mL} \pm \text{SD}$ )
Minyak Tulang Ikan Tindarung	20,958 $\pm$ 2,736
Vitamin E	1,356 $\pm$ 0,295

Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai  $\text{IC}_{50}$  minyak tulang ikan tindarung tergolong dalam kategori antioksidan sangat kuat dalam menangkap radikal bebas DPPH. Aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh minyak tulang ikan tindarung lebih kecil dibandingkan aktivitas antioksidan minyak dari daging ikan tindarung yang dilaporkan oleh Rumlatur dkk (2022). Hal ini dapat dipengaruhi oleh jumlah kandungan omega 3 (DHA dan EPA). Richard dkk (2008) melaporkan bahwa DHA dan EPA memberikan efek maksimal dibandingkan asam lemak lainnya (asam stearate, asam oleat, asam linoleat, asam arakidonat) pada konsentrasi 10  $\mu\text{M}$  terhadap radikal anion superoksida.

### Karakteristik Minyak Tulang Ikan Tindarung

Dalam proses produksi minyak tulang ikan tindarung perlu diperhatikan standar kualitas minyak ikan yang dihasilkan. Kontrol kualitas minyak ikan dapat ditentukan dengan menghitung nilai parameter oksidasi baik primer maupun sekundernya. Parameter oksidasi yang dihasilkan menunjukkan karakteristik minyak tulang ikan tindarung yang dihasilkan.

**Tabel 2. Karakteristik Minyak Tulang Ikan Tindarung**

Sampel	Massa Jenis (g/mL)	Bilangan Peroksida (meq/kg)	Asam Lemak Bebas (%)	Bilangan Iod (mg/100 g)
Minyak Tulang Ikan Tindarung	0,91	20	5,65	7,25

Dalam menentukan produk minyak ikan tulang ikan tindarung memiliki kualitas yang baik dan aman dikonsumsi untuk menjaga kesehatan, maka standar mutu minyak ikan yang dihasilkan ditetapkan berdasarkan *International Fish Meal and Oil Manufacturers Association* (IFOMA). Berdasarkan Tabel 2, minyak tulang ikan tindarung memiliki massa jenis 0,91 g/mL. Massa jenis minyak tulang ikan tindarung yang dihasilkan tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Apituley dkk (2020) yaitu sebesar 0,90 g/mL pada minyak tulang ikan tuna. Karakteristik minyak tulang ikan tindarung meliputi bilangan peroksida, asam lemak bebas, dan bilangan iod. Minyak tulang ikan tindarung memiliki bilangan peroksida sebesar 20 meq/kg. Hal ini menunjukkan bahwa minyak tulang ikan tindarung memiliki bilangan peroksida yang tinggi. Namun, bilangan peroksida yang dihasilkan masih berada dalam standar yang ditetapkan oleh *International Fish Meal and Oil Manufacturers Association* yaitu sebesar 3-20 meq/kg. Nilai bilangan peroksida yang dihasilkan minyak tulang ikan tindarung sangat berbeda dengan minyak tulang ikan tuna 1,29 mg/kg (Apituley dkk., 2020), minyak ikan belut 2,97 meq/kg (Pandiangan dkk., 2021), dan minyak ikan lele 3,91 meq/kg (Pandiangan dkk., 2020). Oleh karena itu, minyak tulang ikan tindarung memiliki derajat kerusakan yang lebih besar sehingga dapat menurunkan kualitas minyak. Derajat kerusakan minyak disebabkan oleh proses oksidasi asam lemak dengan kandungan PUFA yang tinggi.

Berdasarkan Tabel 2, salah satu parameter yang menentukan kualitas minyak yaitu nilai asam lemak bebas. Nilai asam lemak bebas menunjukkan kandungan asam lemak yang tidak dalam bentuk trigliserida. Minyak tulang ikan tindarung memiliki asam lemak bebas sebesar 5,65%. Nilai asam lemak bebas ini lebih tinggi dibandingkan dengan nilai asam lemak bebas minyak ikan lele (Martins dkk., 2021). Tingginya nilai asam lemak bebas minyak tulang ikan tindarung dapat dipengaruhi oleh proses ekstraksi dengan menggunakan metode *wet rendering*. Penambahan air dalam proses ekstraksi akan meningkatkan laju hidrolisis. Berdasarkan IFOMA (IFOMA, 1998), kadar asam lemak bebas minyak tulang ikan tindarung masih memenuhi standar yaitu 1-7%.

Salah satu pengujian yang dapat dilakukan untuk menentukan kualitas minyak ikan yaitu bilangan iodium. Nilai bilangan iodium menggambarkan jumlah asam lemak tak jenuh yang terkandung didalam produk minyak ikan. Semakin banyak asam lemak tak jenuh yang dimiliki minyak ikan, maka semakin banyak ikatan rangkap dari asam lemak tak jenuh tersebut yang akan bereaksi dengan iodium. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa bilangan iod yang tinggi mengindikasikan bahwa minyak ikan mengandung asam lemak tak jenuh yang banyak. Iod dalam jumlah yang besar akan terikat dalam minyak ikan yang mengandung banyak asam lemak tak jenuh. Tabel 2 menunjukkan bahwa bilangan iodium minyak tulang ikan tindarung sebesar 7,25 mg/100g yang menunjukkan lebih rendah dibandingkan standar bilangan iodium menurut SNI 01-3741-2002 yaitu sebesar 45 - 46 mg/100g (Kamini dkk., 2016). Hal ini menunjukkan bahwa minyak tulang ikan tindarung memiliki bilangan iodium yang rendah. Bilangan iodium yang rendah menandakan bahwa kandungan asam lemak tak jenuh dalam minyak tulang ikan tindarung rendah pula.

### KESIMPULAN

Minyak tulang ikan tinarung memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat yaitu  $20,958 \pm 2,736$   $\mu\text{g/mL}$  dengan karakteristik yang memenuhi standar *International Fish Meal and Oil Manufacturers Association*, yaitu massa jenis sebesar 0,91 g/mL; bilangan peroksida sebesar 20 meq/kg; asam lemak bebas sebesar 5,65%; dan bilangan iod sebesar 7,25 mg/100 g.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sam Ratulangi atas dukungan finansial melalui pendanaan PNBPN Unsrat dengan skema Riset Dasar Terapan Umum Unggulan Unsrat (RDTU3) dengan Kontrak No. 303/UN12.13/LT/2023.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Akmal, N. L. H. B. I. dan Roy, A., 2017. Free Radical Scavenging Activity Of Fish Oil - An In-Vitro Study. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research (IJPSR)*. 8(9): 3872-3875.
- Apituley, D. A. N., Sormin, R. B. D. dan Nanlohy, E. E. E. M., 2020. Karakteristik dan Profil Asam Lemak Minyak Ikan dari Kepala dan Tulang Ikan Tuna (*Thunnus albacares*). *AGRITEKNO: Jurnal Teknologi Pertanian*, 9(1): 10-19.
- De Oiveira DA, Minozzo MG, Licodiedoff S, Waszczynskyj N., 2016. Physicochemical and sensory characterization of refined and deodorized tuna (*Thunnus albacares*) by product oil obtained by enzymatic hydrolysis. *Food Chem.*, 207: 187–194.
- García-Moreno PJ, Morales-Medina R, Pérez-Gálvez R, Bandarra NM, Guadix A, Guadix EM., 2014. Optimisation of oil extraction from sardine (*Sardina pilchardus*) by hydraulic pressing. *Int J Food Sci Technol.*, 49(10): 2167–2175.
- IFOMA. (1998). International Fishmeal and Oil Manufacturers Association. Hertfordshire. United Kingdom.
- Kamini, Suptijah, P., Santoso, J., & Suseno, S. H. 2016. Ekstraksi dry rendering dan karakterisasi minyak ikan dari lemak jeroan hasil samping pengolahan salai patin siam. *JPHPI*. 19(3): 196–205.
- Martins, M. J. J., Purnamayati, L., dan Romadhan, R., 2021. Pengaruh Suhu Wet Rendering yang Berbeda terhadap Karakteristik Ekstrak Kasar Minyak Ikan Lele (*Clarias sp.*). *agriTECH*, 41(4): 335-343.
- Munteanu, I. G. dan Apetrei, C. 2021. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: Areview. *International Journal of Molecular Sciences*. 22: 1-30.
- Pandiangan, M., Panjaitan, D., dan Bangun, A. D., 2021. Analisis Kandungan Asam Lemak pada Minyak Ikan Belut. *Jurnal Riset Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian (RETIPA)*, 2(1): 102-109.
- Pandiangan, M., Kaban, J., Wirjasentono, B., dan Silalahi, J., 2020. Analisis Asam Lemak Omega 3 dan 6 pada Minyak Ikan Lele secara GC FID. *Jurnal Riset Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian (RETIPA)*, 1(1): 22-29.
- Putri, A. R., Rohman, A., Setyaningsih, W., dan Riyanto, S., 2020. Determination of acid, peroxide, and saponification value in patin fish oil by FTIR spectroscopy combined with chemometrics. *Food Research*. 4(5): 1758-1766.
- Richard, D., Kefi, K., Barbe, U., Bausero, P., dan Visioli, F. (2008). Polyunsaturated fatty acids as antioxidants. *Pharmacological Research*. 57: 451-455.
- Rumalutur, C. I., Prayoga, D. K., Pani, P. M. G., Lapian, A., dan Goni, B. A., 2022. Laporan Akhir PKM: Potensi Nanoemulsi Minyak Ikan Tinarung dari Perairan Sulawesi Utara.
- Zhang Y, Sun X, Liu S, Wei S, Xia Q, Ji H, Deng C, Hao J., 2021. Extraction of fish oil from fish heads using ultra-high pressure pre-treatment prior to enzymatic hydrolysis. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 70: 102670.