

## STUDY ON THE THERMAL STABILITY OF EPA AND DHA IN MUJAHIR (*Oreochromis mossambicus*) FISH OIL

### *Kajian Stabilitas Termal EPA Dan DHA Dalam Minyak Ikan Mujahir (Oreochromis mossambicus)*

Ngatidjo Hadipranoto \*

Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences  
Gadjah Mada University, Yogyakarta 55281

Received 6 April 2005; Accepted 23 April 2005

#### ABSTRACT

EPA (Eicosapentaenoic acid) and DHA (Docosahexaenoic acid) content in common fresh water fish : mujahir (*Oreochromis mossambicus*) after indirect heating were analysed. The aims of this study were to determine the effect of indirect heating process and  $\alpha$ -tocopherol additions on both fatty acid stability. Lipids content in the mujahir fillets were extracted by Folch method using chloroform-metanol (2:1) mixture. Fatty acids in fish oil were converted to fatty acid methyl esters and then injected into gas chromatography to determine the EPA and DHA concentration. Operating condition of gas chromatography were programmed as follows: injection port temperature at 270 °C, detector at 280 °C, initial column temperature at 200 °C, and the final at 280 °C, the carrier gas was helium with flow rate of 10 ml per minute and temperature of column was increased gradually at 10 °C per minute. The effect of  $\alpha$ -tocopherol addition on the stability of EPA and DHA was studied by adding  $\alpha$ -tocopherol at 50 to 200 mg per kilogram sample before indirect heating process was carried out. The analysis of mujahir fish oil showed that the content of EPA and DHA in 100 grams fresh sample was 105 and 406,5 mg respectively. Indirect heating caused the EPA and DHA content decreased significantly. The addition of  $\alpha$ -tocopherol results in a positive correlation between  $\alpha$ -tocopherol concentration added and the decrease of EPA and DHA content during the heating process.

**Keywords:** fatty acid, eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid

#### PENDAHULUAN

EPA (*Eicosapentaenoic Acid*) dan DHA (*Docosahexaenoic Acid*) merupakan dua asam lemak omega-3 bersifat esensial terutama untuk ibu-ibu pada masa kehamilan dan balita pada masa pertumbuhan. Kedua jenis asam ini termasuk asam lemak poli tidak jenuh rantai panjang atau PUFA (*Poly Unsaturated Fatty Acid*) yang sampai saat ini jalur sintetisnya di dalam tubuh belum sepenuhnya terungkap.

Asam lemak omega-3 dapat berfungsi sebagai pencegah berbagai penyakit kardiovaskuler, mengontrol lipida darah, serta diperlukan dalam pembentukan dan perkembangan otak dan retina. Kebutuhan EPA dan DHA bagi anak untuk pembentukan otak saat dalam kandungan dan perkembangannya pada masa balita tidak dapat digantikan dengan cara memberikan nutrisi serupa pada saat yang bersangkutan telah dewasa [1-3].

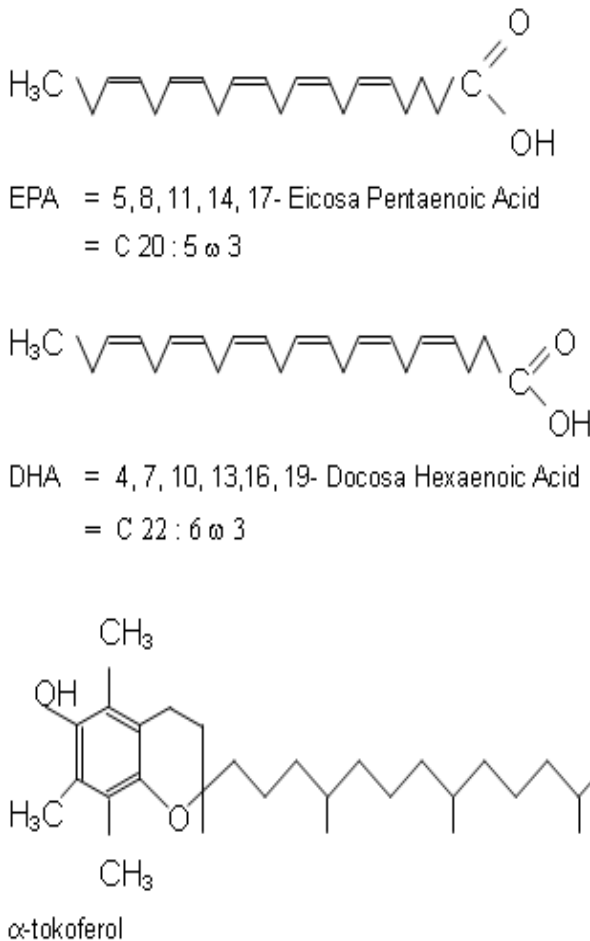
Asam lemak omega-3 rantai panjang EPA dan DHA secara alami dapat diperoleh dari lemak ikan terutama ikan laut, tetapi tidak menutup kemungkinan juga terdapat pada lemak ikan air

tawar. Kedua asam ini tidak disintesis oleh tubuh ikan, tetapi disintesis oleh plankton yang merupakan pakan utama dari ikan [4].

Sebagian masyarakat Indonesia disamping mengkonsumsi ikan laut, juga mengkonsumsi ikan air tawar, salah satu diantaranya ikan mujahir (*Oreochromis mossambicus*). Ikan jenis ini sangat dikenal masyarakat karena pembudidayaannya relatif mudah dan cepat berkembang biak. Makanan utamanya adalah plankton dan serangga air, sehingga sangat mungkin ikan ini mengandung EPA maupun DHA.

EPA dan DHA memiliki banyak ikatan rangkap sehingga mudah mengalami oksidasi dan berakibat rusaknya kedua asam ini. Reaksi oksidasi akan dipercepat oleh pemanasan yang umumnya merupakan bagian dari prosedur pengolahan ikan sebelum dikonsumsi. Untuk mengantisipasi kerusakan EPA dan DHA selama proses pengolahan ikan mujahir, perlu ditambahkan bahan yang mampu bekerja sebagai antioksidan pada daging ikan tersebut. Tentu saja antioksidan yang ditambahkan harus yang bersifat alami misalnya  $\alpha$ -tokoferol [5].

\* Email address : ngatidjo@ugm.ac.id



**Gambar 1.** Struktur EPA, DHA, dan α-tokoferol.

Dari keempat struktur tokoferol yang dikenal, yang paling banyak ditemukan dalam berbagai tumbuhan dan yang paling aktif hanyalah bentuk α. Perbandingan aktifitas dari keempat bentuk tokoferol adalah sebagai berikut. α:β:γ:δ = 1,00:0,40:0,10:0,01 [6]. Oleh karena itu dalam penelitian ini antioksidan yang digunakan adalah tokoferol dalam bentuk α.

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Selain alat-alat gelas laboratorium, penelitian ini menggunakan alat utama kromatografi gas HP 5890 seri II dengan kolom HP-5 non polar (fasa diam fenil metil siloksan 5 %), serta alat-alat bantu berupa corong Buchner dan pompa vakum. Bahan-bahan kimia yang digunakan buatan E. Merck dengan spesifikasi *Analytical Reagent Grade*, yang berupa metanol, kloroform, natrium sulfat anhidrat, n-heksana, dan boron tri fluorida. Bahan-bahan standar (EPA dan DHA) dan α-tokoferol buatan sigma. Sebagai sampel digunakan ikan mujahir hasil budidaya perikanan Ngrajek, Mungkid, Magelang.

### Ekstraksi Lemak

Ekstraksi lemak ikan mujahir dilakukan dengan metode Folch menggunakan campuran kloroform-metanol (2:1). Seratus gram daging ikan mujahir yang telah dibersihkan sisik dan isi perutnya, dihaluskan dengan cara diblender kemudian diekstraksi menggunakan 200 mL campuran kloroform-metanol. Hasil ekstraksi ditambah 2 g natrium sulfat anhidrat kemudian disaring dan tapisan ditampung untuk dipanaskan di atas penangas air pada suhu 60 °C di bawah aliran gas nitrogen agar kloroformnya teruapkan. Asam lemak total dihitung dari berat minyak hasil ekstraksi dikalikan dengan faktor konversi spesifik (0,700) asam lemak ikan berdaging putih [2]. Asam lemak total = 0,700 x berat minyak hasil ekstraksi.

### Analisis Asam Lemak

Untuk analisis asam lemak dari lemak hasil ekstraksi, maka lemak ditransesterifikasi dengan cara menambahkan larutan 15 % boron tri fluorida dalam metanol dan dipanaskan pada suhu 60 °C selama 30 menit. Kemudian larutan didinginkan dan ditambah dengan n-heksan, dikocok agar semua metil ester larut dalam n-heksan. Campuran didiamkan ± 10 menit hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan atas yang berupa metil ester dalam n-heksan dipisahkan dari lapisan bawah yang berupa metanol yang tidak teresterkan selanjutnya diinjeksikan ke dalam kromatografi gas.

Waktu retensi komponen yang diharapkan (EPA dan DHA) dari kromatogram yang diperoleh ditentukan dengan cara membandingkan dengan waktu retensi EPA dan DHA standar yang sebelumnya telah dibuat kromatogramnya. Untuk meyakinkan keberadaan EPA dan DHA, maka sebelum sampel diinjeksikan pada kromatografi gas ditambahkan terlebih dahulu metil ester EPA dan DHA standar secara bergantian (metode spiking).

### Pengaruh Waktu Pengolahan Terhadap Stabilitas EPA dan DHA

Pengolahan ikan mujahir dilakukan dengan cara pengukusan dalam panci diatas air mendidih dengan variasi waktu pemanasan 0, 10, 20, 30, dan 40 menit. Dari hasil pengukusan menunjukkan bahwa ikan layak saji untuk dikonsumsi setelah dikukus selama 40 menit. Atas dasar hal tersebut, perlakuan penambahan antioksidan dilakukan pada proses pengukusan selama 40 menit di atas air mendidih (100 °C). Penambahan antioksidan (α-tokoferol) dengan konsentrasi bervariasi 50, 100, 150, dan 200 ppm. Setelah dikukus selama 40 menit, perlakuan ekstraksi, transesterifikasi dan analisisnya dilakukan seperti perlakuan untuk ikan segar di atas.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Ikan mujahir termasuk ikan berdaging putih. Menurut Mc Conce [2], ikan demikian memiliki faktor konversi asam lemak sebesar 0,700 terhadap berat minyak. Hasil ekstraksi 100 g ikan mujahir diperoleh lemak seberat 5,40 g, sehingga asam lemak total =  $0,700 \times 5,40 \text{ g} = 3,78 \text{ g}$ .

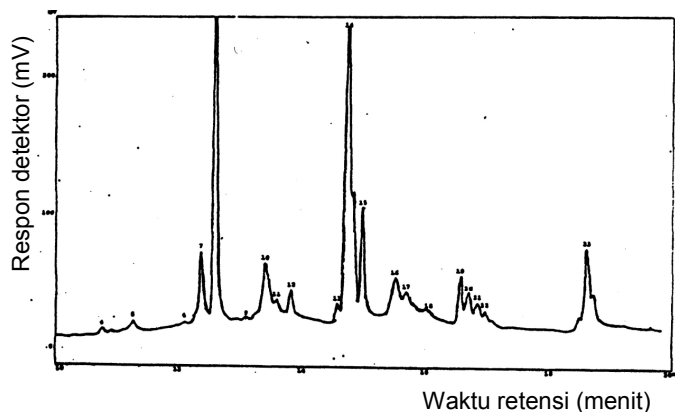
Analisis EPA dan DHA dalam ikan mujahir dilakukan dengan kromatografi gas menggunakan kolom HP-5 (30 m x 0,32 mm), berfasa diam fenil metil siloksan, detektor FID dan gas pembawa helium dengan laju 10 mL/menit. Kromatogram metil ester minyak ikan mujahir tersaji dalam Gambar 2. Kromatogram hasil spiking dengan metil ester EPA standar dan DHA standar tersaji berturut-turut dalam Gambar 3 dan Gambar 4.

Hasil analisis EPA dan DHA dalam lemak ikan mujahir pada berbagai lama waktu pemanasan disajikan dalam Tabel 1. Dari Tabel 1 terlihat bahwa persentase EPA dan DHA akan menurun seiring dengan lama pemanasan. Penurunan EPA dan DHA ini disebabkan oleh adanya reaksi oksidasi terhadap kedua senyawa tersebut. Hal ini terjadi karena EPA dan DHA merupakan asam lemak poli tidak jenuh sehingga mudah mengalami oksidasi menjadi senyawa-senyawa lain. Reaksi oksidasi terjadi dengan adanya inisiator berupa suhu tinggi karena pemanasan dan juga dikatalisis oleh adanya ion-ion logam runtu Fe dan Cu yang berasal dari dekomposisi jaringan tubuh ikan.

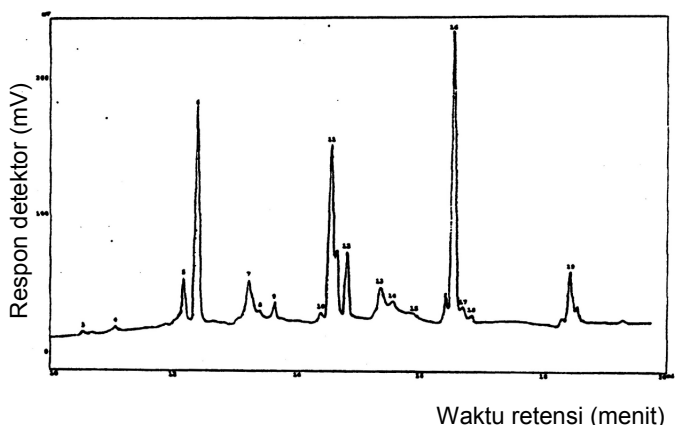
Penambahan  $\alpha$ -tokoferol dilakukan dengan konsentrasi bervariasi dari 50 sampai 200 ppm dan sebagai pembanding berupa sampel tanpa penambahan  $\alpha$ -tokoferol. Hasil analisis EPA dan DHA dari lemak ikan mujahir dengan penambahan  $\alpha$ -tokoferol pada sampel disajikan berturut-turut dalam Tabel 2 dan Tabel 3. Dari Tabel 2 dan Tabel 3 terlihat baik untuk EPA dan DHA relatif konstan pada penambahan  $\alpha$ -tokoferol 100 ppm, seperti terlihat pada Gambar 5.

**Tabel 1** Hasil analisis EPA & DHA.

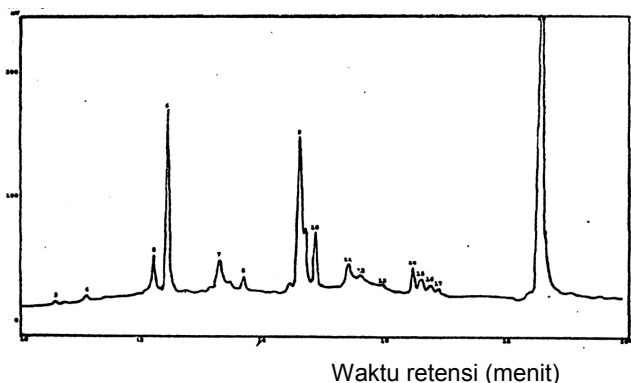
Waktu pemanasan (menit)	EPA (%)	DHA (%)
0 (Sampel segar)	2,79	0,75
10	2,66	0,04
20	2,25	7,97
30	2,16	6,54
40	1,68	6,02



**Gambar 2.** Kromatogram metil ester asam lemak sampel.



**Gambar 3.** Kromatogram metil ester ester asam lemak sampel dengan Spiking EPA.



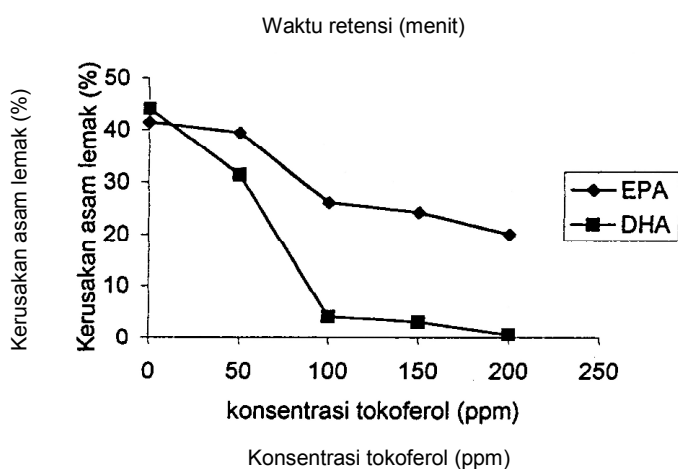
**Gambar 4.** Kromatogram metil ester asam lemak sampel dengan Spiking DHA.

**Tabel 2** Hasil analisis EPA dengan penambahan  $\alpha$ -tokoferol dan pemanasan suhu 100 °C selama 40 menit.

Konsentrasi $\alpha$ -tokoferol (ppm)	Konsentrasi EPA (%)		Persentase kerusakan	Efektivitas $\alpha$ -tokoferol (%)
	Sebelum pemanasan	Sesudah pemanasan		
0	2,79	1,68	41,41	0
50		1,69	39,33	5,02
100		2,06	26,09	36,99
150		2,12	24,23	41,48
200		2,24	19,83	51,96

**Tabel 3** Hasil analisis DHA dengan penambahan  $\alpha$ -tokoferol dan pemanasan suhu 100 °C selama 40 menit

Konsentrasi $\alpha$ -tokoferol (ppm)	Konsentrasi DHA (%)		Persentase kerusakan	Efektivitas $\alpha$ -tokoferol (%)
	Sebelum pemanasan	Sesudah pemanasan		
0	10,75	6,02	44,04	0
50		7,37	31,43	28,63
100		10,30	4,23	90,39
150		10,42	3,12	92,91
200		10,68	0,72	98,36

**Gambar 5.** Penurunan kerusakan EPA dan DHA akibat penambahan  $\alpha$ -tokoferol.

## KESIMPULAN

1. Kadar EPA & DHA secara rerata berturut-turut sebesar 105 dan 406,5 mg dalam 100 g daging ikan mujahir segar atau sebesar 2,79 dan 10,75 % dari total asam lemak.

2. Persentase kerusakan EPA lebih kecil dari pada kerusakan DHA pada pemanasan sampel tanpa penambahan  $\alpha$ -tokoferol. Hal sebaliknya terjadi bila sampel ditambah  $\alpha$ -tokoferol.
3. Penambahan  $\alpha$ -tokoferol yang optimum terhadap penurunan kerusakan EPA & DHA selama proses pemanasan sampel adalah 100 ppm.
4. Efektivitas  $\alpha$ -tokoferol sebagai antioksidan terhadap kerusakan EPA lebih kecil dari pada terhadap kerusakan DHA.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Naughton, J., 1981., *Int. J. Biochem.* 13, 21 – 32.
2. Neuringer, M., Anderson, G. J. and Connor, W.E., 1988., *An. Rev. Nutr.* 8, 517 – 541
3. Wang, N., Wiegand, R.D., and Anderson, R. E., 1992., *Exp. Eye Res.* 54, 933 – 939
4. Nettleton, J. A., 1995, *Omega-3 Fatty Acids and Health*. A Thompson Publishing Company, New York
5. Mc Conce and Widdowson's, 2001, *The Composition of Food*, 5<sup>th</sup> edition, The Royal Society of Chemistry, London
6. Huang, S.W., Frankel, E.N., and German, J.B., 1994., *J. Agric. Food Chem.* 42, 2108-2114