

## EKSTRAK *Sargassum* sp. SEBAGAI ANTIOKSIDAN DALAM SISTEM EMULSI MINYAK IKAN SELAMA PENYIMPANAN PADA SUHU KAMAR

### *Sargassum* sp. Extract as an Antioxidant for Fish Oil Emulsion System During Storage at Room Temperature

Adityo Prabowo<sup>1</sup>, Siti Ari Budhiyanti<sup>1</sup>, dan Amir Husni<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Jl. Flora Gedung A4, Bulaksumur, Yogyakarta

\* Korespondensi Penulis: amrhusni@faperta.ugm.ac.id

Diterima: 4 November 2012; Disetujui: 23 Oktober 2013

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan ekstrak etanolik alga cokelat *Sargassum* sp. terhadap daya simpan minyak ikan selama penyimpanan pada suhu kamar. Pengaruh penambahan ekstrak etanolik alga cokelat *Sargassum* sp. dilihat dari parameter uji aktivitas antioksidan (metode DPPH), diena terkonjugasi, angka peroksida, angka anisidin, dan angka Totoks (Total Oksidasi). Penelitian ini terdiri dari empat perlakuan (kontrol; dengan ekstrak 0,5%; ekstrak 1%; ekstrak 1,5%; ekstrak 2%) dengan tiga ulangan. Preparasi sampel dilakukan dengan mencampurkan minyak ikan dengan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. menggunakan sistem emulsi. Sistem emulsi ini terdiri dari air (97%), minyak ikan (3%), tween 20 (0,3% dari volume air), dan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. (0; 0,5; 1; 1,5; dan 2% dari volume air yang ditambahkan). Masing-masing emulsi minyak ikan ini dimasukkan ke dalam tabung konikel yang terang (tidak gelap), disimpan dalam inkubator pada suhu kamar ( $30 \pm 4$  °C) dan diamati selama 38 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi 1% ekstrak etanolik *Sargassum* sp. merupakan perlakuan terpilih karena merupakan konsentrasi terendah yang dapat menghambat kerusakan oksidatif yang terjadi selama penyimpanan. Berdasarkan nilai angka peroksida, p-anisidin dan totoks pada akhir masa simpan minyak ikan (38 hari) dengan nilai angka peroksida sebesar 0,44 meq/kg minyak, angka p-anisidin 10,18% dan angka TOTOKS sebesar 11,07 pada pengamatan hari ke-38.

**KATA KUNCI:** ekstrak etanolik, *Sargassum* sp., emulsi, minyak ikan, daya simpan

#### ABSTRACT

The purpose of the study is to determine the effect of ethanolic extracts of brown algae *Sargassum* sp. on the shelflife of fish oil during storage at room temperature. Effect of the addition of ethanolic extracts of brown algae *Sargassum* sp. was assayed from antioxidant activity (DPPH method), conjugated diene, peroxide value, anisidin value, and TOTOX value (Total Oxidation). Four treatments were studied i.e. (control; 0.5% extract; 1% extract; 1.5% extract; and 2% extract) with three replications. Samples were prepared by mixing fish oil with ethanolic extracts of *Sargassum* sp. in emulsion system. The system consisted of water (97%), fish oil (3%), tween 20 (0.3% of water volume), and the ethanolic extracts of *Sargassum* sp. (0; 0.5; 1; 1.5; and 2% of water volume). Fish oil emulsion was filled in conic tubes, kept in an incubator at room temperature ( $30 \pm 4$  °C), and were observed for 38 days. The result showed that the use of the ethanolic extracts of *Sargassum* sp. with concentration of 1% inhibited the oxidative deterioration occurred during storage. The treatment gave the shelf life of fish oil up to 38 days with the peroxide value of 0.44 meq/kg  $O_2$ , anisidin value of 10.18% of anisidin value and TOTOX value of 11.07 on the 38th day of observation

**KEYWORDS:** ethanolic extracts, *Sargassum* sp., emulsion, fish oil, shelf life

#### PENDAHULUAN

*Sargassum* sp. adalah salah satu jenis rumput laut coklat yang belum dimanfaatkan secara optimal. Pengembangan aplikasi alga cokelat *Sargassum* sp.

tidak hanya dapat dikembangkan pada bidang pangan seperti alginat, makanan ternak serta pupuk, akan tetapi antioksidan yang terdapat pada alga cokelat *Sargassum* sp. juga mampu menghambat kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas pada produk

seperti minyak ikan (Patra, 2008; Winberget *al.*, 2009). Penelitian Koivikko (2008) menyebutkan bahwa pada alga cokelat *Sargassum* sp. ditemukan florotanin yaitu senyawa fenolik yang berperan sebagai sumber antioksidan.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mengurangi dampak terjadinya oksidasi. Pada umumnya minyak ikan komersial menggunakan antioksidan komersial seperti *butylated hydroxytoluene* (BHT) ataupun *butylated hydroxyanisole* (BHA). Belum ada antioksidan alami yang digunakan pada minyak ikan komersial. Santoso *et al.* (2004), menyebutkan bahwa antioksidan pada alga cokelat *Sargassum* sp. mampu menurunkan oksidasi yang terjadi pada emulsi minyak ikan selama penyimpanan pada suhu 50 °C selama 24 jam yang ditandai dengan rendahnya nilai peroksida (59,1 meq/kg) dibanding kontrol (308,5 meq/kg). Penyimpanan pada suhu kamar dan penentuan beberapa variabel pengamatan baru seperti angka p-anisidin dan angka Totoks serta penggunaan etanol sebagai pelarut yang lebih aman dimaksudkan agar penelitian ini bersifat lebih aplikatif. Sedangkan penggunaan ekstrak alga cokelat *Sargassum* sp. sebagai antioksidan diharapkan dapat meningkatkan pemanfaatannya yang selama ini belum optimal.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Sargassum* sp. basah diperoleh dari pengepul rumput laut daerah Gunung Kidul DIY, akuades, etanol, minyak hati ikan komersial berwarna kuning jernih (pesan secara khusus tanpa antioksidan dari pembuat minyak ikan di daerah Cilacap Jawa Tengah), *Diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH), FeCl<sub>2</sub>, FeCl<sub>3</sub>, amonium thiosianat, iso-oktan, p-anisidin, dan asam asetat glasial.

### Metode

#### Pembuatan ekstrak *Sargassum* sp. (Santoso *et al.*, 2004)

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menimbang 10 g *Sargassum* sp. basah yang sudah dipotong kecil-kecil (kadar air ± 80%) kemudian dikeringkan pada oven 40 °C selama ± 4 jam. Rumput laut kering kemudian dihancurkan dan diayak dengan ayakan

ukuran 250 mesh. Bubuk *Sargassum* sp. tersebut kemudian dicampurkan dengan 90 ml etanol dan dimaserasi dengan menggunakan *waterbath shaker* (kekuatan getaran 100 rpm, suhu 40°C) selama 1 jam (ekstrak I). Residu hasil pembuatan ekstrak I ditambah etanol kembali, dimaserasi dan disaring ekstraknya (ekstrak II). Ekstrak I dan ekstrak II dicampur dan dihomogenasikan (± volume 100 ml). Ekstrak tersebut selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* (suhu 40 °C) sampai didapatkan ekstrak kental (60% pelarut yang menguap). Ekstrak kental yang sudah siap dapat digunakan langsung untuk tahap pencampuran emulsi minyak.

#### Pencampuran ekstrak *Sargassum* sp. dengan minyak ikan (Santoso *et al.*, 2004)

Pencampuran ekstrak *Sargassum* sp. dengan minyak ikan dilakukan dengan sistem emulsi, karena ekstrak *Sargassum* sp tidak dapat larut di dalam minyak. Sistem emulsi dibuat dengan perbandingan minyak ikan (3%), air (97%), dan *tween* 20 (0,3% dari volume air), setelah itu ekstrak *Sargassum* sp. ditambahkan dalam sistem emulsi dengan konsentrasi 0%; 0,5%; 1%; 1,5%; dan 2% dari volume air yang ditambahkan (97%; v/v). Homogenisasi dilakukan dengan menggunakan alat *sonicator* selama ±5 menit. Emulsi dibuat berdasarkan volume total air yang digunakan (v/v).

#### Penyimpanan pada suhu 30±4 °C

Minyak ikan yang sudah diemulsikan dengan ekstrak *Sargassum* sp. kemudian dimasukkan ke dalam tabung konikal yang terang, dan disimpan didalam inkubator pada suhu 30±4 °C.

Pengamatan dilakukan selama 38 hari yaitu dengan interval berbeda pada hari ke-0, 2, 4, 6, 8, 14, 20, 26, 32, dan 38 (10 pengamatan), yang didasarkan atas titik kritis penyimpanan minyak ikan yang terjadi pada 2 minggu pertama (Estiasih *et al.*, 2008).

#### Parameter pengujian

##### Aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan diuji dengan menggunakan larutan DPPH (2, 2-difenil-1-pikrilhidrazil) dengan metode sebagaimana dijelaskan Huang *et al.*(2005).

##### Asam lemak tidak jenuh ganda

Asam lemak tidak jenuh ganda pada minyak ikan ditentukan menggunakan Metode *Conjugated Diene* sebagaimana dijelaskan dalam White (1995).

### Oksidasi lemak

Pengujian kerusakan lemak akibat oksidasi dilakukan dengan metode angka Peroksida (PV) (Chapman & Mackay, 1949), angka Para-Anisidin (p-AnV) (Hasnain, 2003) dan angka Totoks (Total Oksidasi) (Nielsen, 2003). Angka Totoks digunakan untuk mengukur total oksidasi, yang terdiri dari produk oksidasi primer (angka peroksida) dan produk oksidasi sekunder (angka p-anisidin). Angka Totoks dihitung menggunakan rumus  $(2 PV + p-AnV)$

### Analisis Data

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor yang terdiri atas 5 perlakuan dengan 10 kali pengamatan, masing-masing dilakukan sebanyak tiga ulangan. Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis regresi dan ANOVA (Analysis of Varians) pada tingkat kepercayaan 95%, apabila terdapat beda nyata dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*).

## HASIL DAN BAHASAN

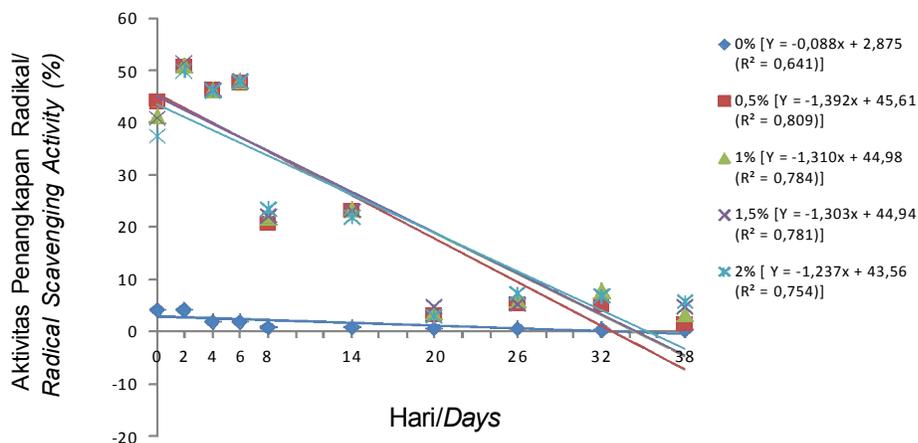
### Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. pada emulsi minyak ikan ditentukan dengan menggunakan metode DPPH. Hasil pengamatan aktivitas antioksidan pada emulsi minyak ikan selama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 1.

Berdasarkan Gambar 1 dapat dilihat bahwa terjadi penurunan aktivitas antioksidan pada emulsi minyak ikan selama penyimpanan. Pada hari ke-0 sampai dengan hari ke-38, aktivitas antioksidan emulsi minyak ikan tanpa menggunakan ekstrak, semakin turun dari

4,28% menjadi 0,38%. Pada empat perlakuan lain yaitu dengan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. 0,5%; 1%; 1,5%; dan 2%, aktivitas antioksidan juga semakin turun yaitu pada kisaran rata-rata 40,96% pada hari ke-0 dan pada hari ke-38 pada kisaran rata-rata 3,88%. Perhitungan homogenitas koefisien regresi dari lima perlakuan dengan tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa kelima garis regresi bersifat tidak homogen (tidak sama). Hal ini menunjukkan bahwa 5 perlakuan yang diamati memiliki tingkat laju penghambatan terhadap aktivitas oksidatif yang berbeda-beda. Pemberian ekstrak etanolik *Sargassum* sp. mempengaruhi jumlah zat antioksidan pada emulsi minyak ikan yang berfungsi sebagai faktor utama dalam penghambatan kerusakan oksidatif yang berlangsung. Semakin tinggi ekstrak etanolik *Sargassum* sp. yang ditambahkan pada emulsi minyak ikan, maka aktivitas antioksidan dalam sistem emulsi minyak ikan semakin tinggi.

Pada umumnya minyak ikan yang tidak ditambahkan antioksidan tidak dapat bertahan lebih dari 1 bulan (penyimpanan suhu kamar). Penambahan antioksidan alami dari *Sargassum* sp. mampu menambah masa simpan minyak ikan lebih dari 1 bulan karena penghambatan oksidasi oleh antioksidan paling aktif terjadi pada minggu ke-2 pertama. Zuta *et al.*, (2007) dan Tong *et al.*, (2000) meneliti pengaruh penambahan antioksidan tokoferol dan whey terhadap kualitas minyak ikan (EPA dan DHA) serta kerusakan yang terjadi di dalamnya. Parameter uji yang digunakan seperti angka peroksida (PV), aktivitas antioksidan (DPPH), angka p-anisidin (AV), dan *conjugated diene* menunjukkan bahwa proses penghambatan kerusakan oksidatif oleh antioksidan terjadi sampai dengan minggu ke-2 selama hari pengamatan berlangsung. Penambahan antioksidan whey dan tokoferol mampu menghambat kerusakan minyak tidak lebih dari 10 hari (pada minggu ke-2 dari



Gambar 1. Aktivitas antioksidan emulsi minyak ikan selama penyimpanan.  
Figure 1. Antioxidant activity of fish oil emulsion during storage.

lama pengamatan) dan hasil pengamatan sudah melampaui batas maksimum penerimaan kerusakan minyak pada umumnya.

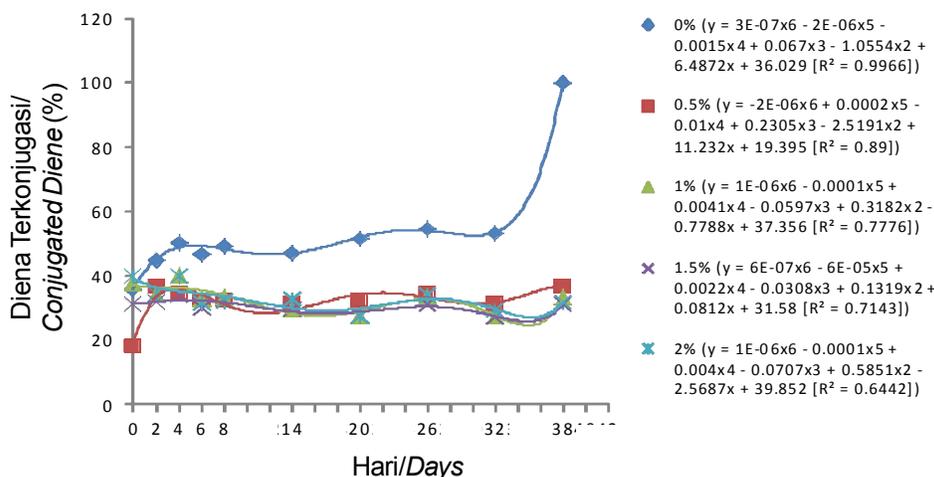
Hasil analisis data menunjukkan perbedaan dari masing-masing perlakuan pada hari ke-0 sampai hari ke-32, sedang pada hari ke-38 untuk 5 perlakuan tersebut (0; 0,5; 1; 1,5; dan 2%) tidak berbeda nyata, karena antioksidan yang terdapat pada setiap perlakuan semakin lama semakin menurun akibat oksidasi. Berdasarkan parameter aktivitas antioksidan, pemberian ekstrak 0,5% menunjukkan hasil yang paling baik, karena merupakan konsentrasi terkecil yang dapat mempertahankan aktivitas antioksidan yang terkandung dalam emulsi minyak ikan dibandingkan dengan perlakuan tanpa ekstrak (0%). Hasil penghambatan oksidasi tersebut sama dengan penelitian Santoso *et al.* (2004) yang menyebutkan bahwa oksidasi yang terjadi pada emulsi minyak ikan selama proses penyimpanan dapat ditekan oleh aktivitas antioksidan.

**Kandungan Asam Lemak Tidak Jenuh Ganda pada Minyak Ikan (Pergeseran Ikatan Rangkap)**

*Conjugated diene* atau diena yang terkonjugasi merupakan awal dalam proses oksidasi linoleat (18:2) maupun asam lemak tak jenuh ganda (PUFA) yang merupakan berlangsungnya sebuah pergeseran posisi ikatan ganda. Pergeseran terjadi pada saat salah satu hidrogen yang hilang dari kelompok metilen berpindah di antara ikatan rangkap yang terdapat pada konfigurasi 1,4-pentadiene. Setelah itu sebuah radikal penta dienyl yang telah bergeser terbentuk untuk membentuk satu dari dua kemungkinan struktur diena terkonjugasi (CD). Komponen tersebut bereaksi dengan oksigen molekuler untuk membentuk

hidroperoksida terkonjugasi. Tingkat perpindahan ikatan rangkap memiliki hubungan saling berkorelasi dengan tingkat peroksidasi yang terjadi dalam minyak tak jenuh (White, 1995).

Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat bahwa *conjugated diene* cenderung semakin meningkat dengan semakin lama waktu penyimpanan. Pada hari ke-0 sampai dengan hari ke-38 perlakuan tanpa menggunakan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. mempunyai nilai *conjugated diene* lebih tinggi dibandingkan dengan empat perlakuan lainnya. Perlakuan tanpa menggunakan ekstrak pada hari ke-0 mempunyai nilai *conjugated diene* 30,95% dan pada hari ke-38 semakin tinggi yaitu mencapai pada titik 86,22%. Perlakuan dengan ekstrak 0,5%; 1%; 1,5%; dan 2% menunjukkan persamaan garis regresi yang mirip. Pada hari ke-0 nilai *conjugated diene* empat perlakuan tersebut terletak pada kisaran 15,73–34,42% dan pada hari ke-38 terletak pada kisaran 26,86–31,88%. Perhitungan homogenitas koefisien regresi dari lima perlakuan menunjukkan bahwa kelima garis regresi bersifat tidak homogen (tidak sama), berarti 5 perlakuan mempunyai hasil yang berbeda selama 38 hari pengamatan. Perlakuan yang ditambahkan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. mampu menghambat kerusakan oksidatif yang terjadi selama pengamatan. Selama proses penyimpanan berlangsung, kerusakan oksidatif yang terbentuk akan menyebabkan terputusnya ikatan rangkap pada rantai asam lemak dan terbentuk senyawa diena terkonjugasi (*conjugated diene*). Penambahan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. dapat menekan pembentukan senyawa terkonjugasi selama penyimpanan karena zat antioksidan dari ekstrak etanolik *Sargassum* sp. dapat menghambat kerusakan oksidatif sehingga pergeseran ikatan rangkap pada gugus metil yang akan membentuk diena terkonjugasi dapat dikurangi.



Gambar 2. *Conjugated diene* emulsi minyak ikan selama penyimpanan.  
 Figure 2. *Conjugated diene* of fish oil emulsion during storage.

Hasil analisis data menunjukkan bahwa mulai hari ke-0 sampai hari ke-38 nilai *conjugated diene* menunjukkan hasil yang berbeda nyata ( $p < 0,05$ ) untuk perlakuan 0; 0,5; 1; 1,5; dan 2%. Pada hari ke-0, diena terkonjugasi (CD) yang diamati pada 5 perlakuan (0; 0,5; 1; 1,5; dan 2%) sudah cukup tinggi (di atas 20%) dan hasil pengamatan menunjukkan bahwa perlakuan 0% mempunyai kenaikan paling cepat dibandingkan dengan empat perlakuan lainnya.

Berdasarkan parameter *conjugated diene* perlakuan 0,5% merupakan perlakuan paling baik dibanding perlakuan lain untuk parameter *conjugated diene*, karena dengan konsentrasi yang paling rendah sudah menunjukkan perbedaan dengan perlakuan kontrol (0%). Hasil pembentukan diena terkonjugasi selama penyimpanan emulsi minyak tersebut sama dengan penelitian Zuta *et al.* (2007) yang menyebutkan bahwa diena terkonjugasi yang terbentuk semakin lama semakin tinggi dan berbanding lurus dengan masa penyimpanan emulsi minyak.

### Angka Peroksida pada Emulsi Minyak Ikan

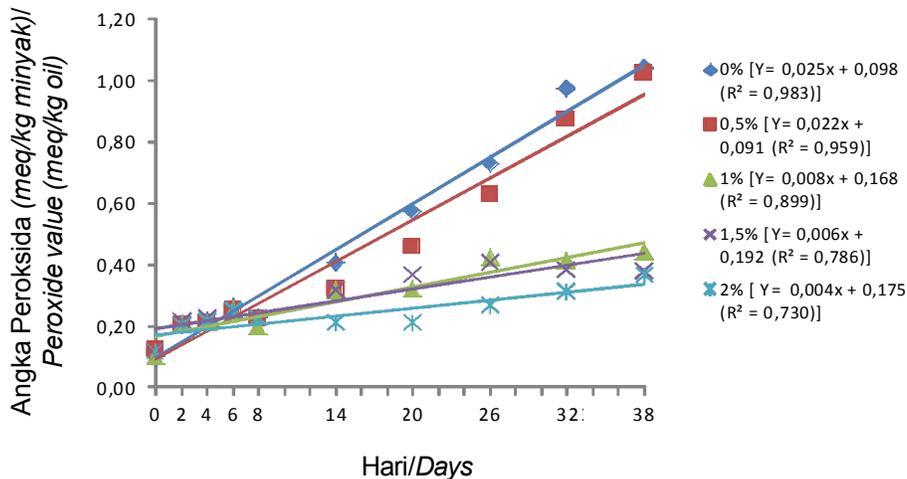
Bilangan peroksida merupakan parameter penting untuk menentukan mutu minyak yaitu semakin besar nilai peroksida maka minyak tersebut semakin mendekati ketengikan (Ketaren, 1986). Hasil pengamatan bilangan peroksida minyak ikan selama penyimpanan dapat dilihat pada Gambar 3.

Dari Gambar 3 dapat dilihat bahwa perubahan bilangan peroksida emulsi minyak ikan selama penyimpanan menunjukkan pola hubungan yang semakin meningkat. Pada hari-0 sampai hari ke-8 menunjukkan kenaikan angka peroksida dari masing-masing perlakuan yang tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ), dengan kisaran rata-rata dari 0,10 sampai 0,23 meq/kg minyak. Mulai pengamatan hari ke-14 pada

perlakuan tanpa menggunakan ekstrak etanolik *Sargassum* sp., angka peroksida mengalami kenaikan cukup tinggi ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan 4 perlakuan lainnya. Hal tersebut disebabkan tidak terdapat antioksidan yang dapat menghambat laju pembentukan peroksida. Pada hari ke-20 sampai dengan hari ke-38, perlakuan 0% dan perlakuan 0,5% mengalami laju peningkatan angka peroksida yang cukup tinggi dibandingkan dengan perlakuan 1; 1,5; dan 2% dengan nilai akhir yaitu secara berurutan mulai dari perlakuan 0% sampai dengan 2% yaitu 1,04; 1,02; 0,44; 0,38; dan 0,37 meq/kg minyak.

Perhitungan homogenitas koefisien regresi dari lima perlakuan dengan tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa kelima garis regresi bersifat tidak homogen (tidak sama). Dari kemiringan garis regresi untuk masing-masing perlakuan dapat diketahui penghambatan oksidasi oleh ekstrak etanolik *Sargassum* sp. Semakin rendah gradien persamaan regresi menunjukkan semakin rendahnya laju peroksidasi yang terbentuk yaitu secara berturut-turut 2% (0,004) < 1,5% (0,006) < 1% (0,008) < 0,5% (0,022) < 0% (0,025). Selama penyimpanan, proses kerusakan oksidatif akan menyebabkan emulsi minyak rusak dan menghasilkan senyawa peroksida yang merupakan salah satu indikator kerusakan pada minyak. Variasi konsentrasi ekstrak etanolik *Sargassum* sp. yang ditambahkan pada empat perlakuan tersebut menyebabkan perbedaan laju kerusakan oksidatif. Semakin tinggi konsentrasi yang ditambahkan, maka semakin lambat proses kerusakan oksidatif yang berlangsung dan senyawa peroksida yang terbentuk semakin rendah.

Pada parameter kerusakan minyak dengan menggunakan angka peroksida, perlakuan dengan ekstrak 1% merupakan perlakuan yang lebih baik karena konsentrasi tersebut merupakan konsentrasi



Gambar 3. Angka peroksida emulsi minyak ikan selama penyimpanan.  
Figure 3. Peroxide value of fish oil emulsion during storage.

terendah yang dapat menghambat pembentukan angka peroksida dibanding dengan kontrol. Hasil pembentukan angka peroksida tersebut sama dengan penelitian Zuta *et al.* (2007) yang menyebutkan bahwa angka peroksida yang terbentuk pada emulsi minyak ikan selama penyimpanan suhu kamar semakin meningkat berbanding lurus dengan lama penyimpanan dan dipengaruhi oleh proses oksidasi yang terjadi. Pak (2005) menyebutkan 8 meq/kg minyak merupakan batas maksimum yang masih dapat diterima untuk parameter angka peroksida. Dibandingkan dengan hasil penelitian tersebut, emulsi minyak ikan yang ditambahkan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. masih memenuhi syarat, meskipun demikian dengan melihat pola kenaikan angka peroksida pada Gambar 3 dimungkinkan minyak ikan tanpa penambahan antioksidan akan mengalami kerusakan yang lebih cepat dengan semakin lama penyimpanan.

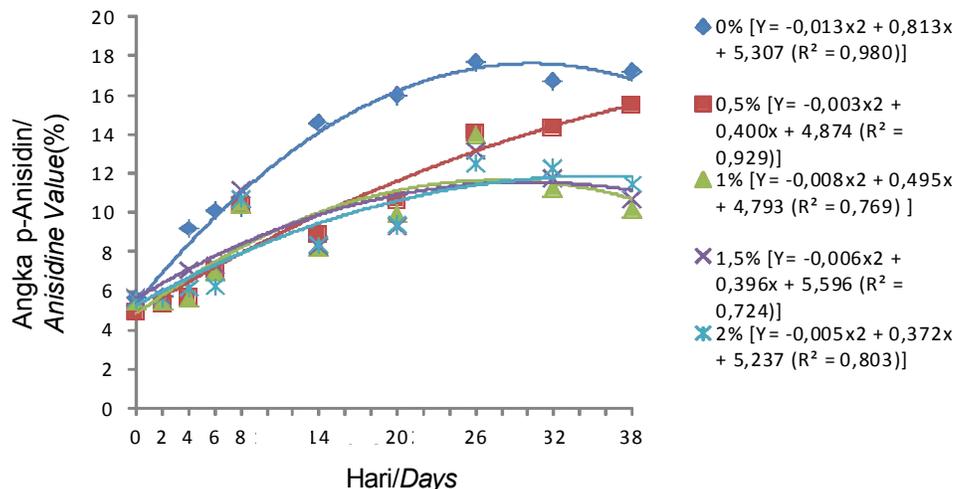
Angka peroksida pada produk pangan yang banyak mengandung asam lemak tidak jenuh akan meningkat selama penyimpanan seiring dengan meningkatnya pembentukan radikal bebas, dan setelah mencapai nilai maksimum maka akan cenderung berkurang karena terjadinya proses degradasi peroksida yang menghasilkan senyawa-senyawa aldehid, alkohol, hidrokarbon, dan senyawa volatil lainnya. Angka peroksida tidak dapat digunakan dalam penentuan umur simpan suatu produk pangan karena hanya dapat digunakan untuk menentukan tingkat kerusakan oksidatif pada suatu produk (Singhal *et al.*, 1997).

**Angka p-Anisidin**

Angka p-anisidin merupakan angka hasil pengukuran produk sekunder dari oksidasi lemak

dengan menentukan jumlah aldehid (terutama 2-*alkenal* dan 2,4-*dienal*) dalam lemak. Aldehid bereaksi dengan p-anisidin membentuk kromogen yang menyerap pada panjang gelombang 350nm, sehingga dapat diukur secara spektrofotometri (Pokorny *et al.*, 2001). Hasil pengamatan angka p-anisidin selama penyimpanan emulsi minyak ikan disajikan pada Gambar 4.

Berdasarkan Gambar 4, angka p-anisidin menunjukkan semakin meningkat ( $p < 0,05$ ) dengan semakin meningkatnya waktu penyimpanan. Pada hari ke-4 perlakuan 0% meningkat cukup tinggi ( $p < 0,05$ ) dibandingkan dengan perlakuan lainnya dengan nilai berturut-turut sebesar 9,16; 5,66; 5,66; 7; dan 6,14. Setelah hari ke-4 sampai dengan hari ke-38 peningkatan angka p-anisidin yang terjadi relatif tidak terlalu tinggi, dengan nilai angka anisidin pada hari terakhir pengamatan (hari ke-38) yaitu 17,18 (0%); 15,46 (0,5%); 10,18 (1%); 10,68 (1,5%); dan 11,4 (2%). Perhitungan homogenitas koefisien regresi dari lima perlakuan di atas dengan tingkat kepercayaan 95% menunjukkan bahwa kelima garis regresi bersifat tidak homogen (tidak sama). Penambahan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. pada saat proses penyimpanan berlangsung akan menghambat proses kerusakan oksidatif yang terjadi dan angka p-anisidin yang terbentuk dari proses oksidasi lemak tersebut akan semakin melambat. Variasi konsentrasi ekstrak etanolik *Sargassum* sp. yang ditambahkan pada emulsi minyak ikan akan mempengaruhi hasil pembentukan angka anisidin. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanolik *Sargassum* sp. yang ditambahkan maka proses pembentukan angka anisidin akan melambat seiring terhambatnya proses oksidasi pada emulsi minyak ikan.



Gambar 4. Angka anisidin emulsi minyak ikan selama penyimpanan.  
 Figure 4. Anisidine value of fish oil emulsion during storage.

Hasil analisis data menunjukkan bahwa pada hari ke-0 sampai hari ke-4 untuk perlakuan 0%; 0,5%; 1%; 1,5%; dan 2% memiliki hasil tidak berbeda nyata ( $p>0,05$ ), yang berarti bahwa sampai dengan hari ke-4, setiap perlakuan tersebut memberikan hasil yang tidak berbeda pada pembentukan senyawa sekunder dari proses kerusakan oksidatif emulsi minyak ikan. Mulai hari ke-6 sampai hari ke-38, ke-5 perlakuan tersebut (0%; 0,5%; 1%; 1,5%; 2%) memiliki hasil yang berbeda nyata ( $p<0,05$ ), karena proses kerusakan oksidatif yang terjadi semakin cepat dari hari ke hari pengamatan.

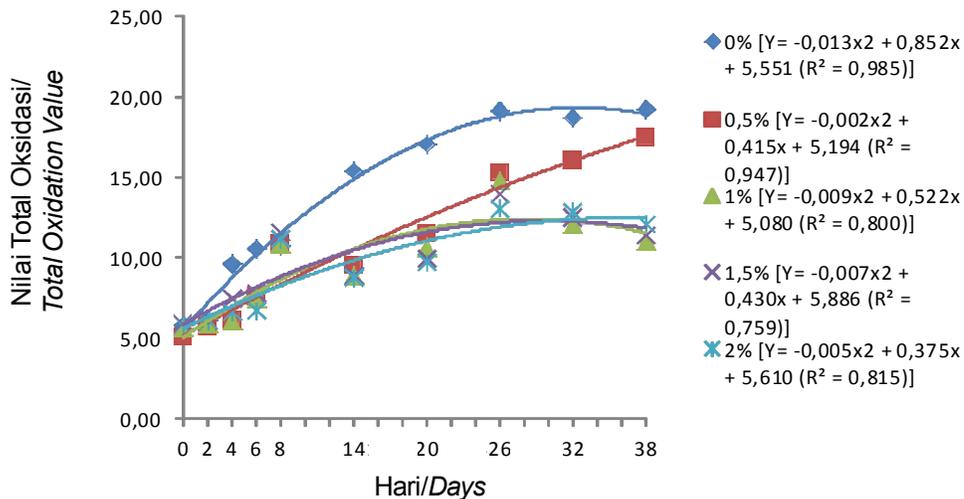
Berdasarkan parameter kerusakan minyak angka p-anisidin, perlakuan dengan ekstrak 1% merupakan perlakuan terbaik. Perlakuan 1% merupakan konsentrasi terendah yang dapat menghambat proses pembentukan senyawa sekunder akibat dari kerusakan minyak yang terjadi dibandingkan dengan kontrol. Hasil penghambatan oksidasi (angka p-anisidin) oleh aktivitas antioksidan tersebut serupa dengan penelitian Estiasih *et al.* (2008) yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pemberian bahan penyalut (penghambat proses oksidasi) pada emulsi minyak ikan, angka anisidin yang terbentuk semakin rendah. Pak (2005) menyebutkan 20% merupakan batas maksimum yang masih dapat diterima untuk parameter angka anisidin. Dibandingkan dengan hasil penelitian tersebut emulsi minyak ikan yang ditambahkan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. masih tergolong baik karena tidak melebihi batas penerimaan angka anisidin.

**Nilai Totoks (Total Oksidasi)**

Total oksidasi lemak (Gambar 5) menunjukkan hasil pengukuran angka peroksida sebagai produk primer dan angka p-anisidin sebagai produk sekunder secara

bersamaan sehingga diperoleh jumlah total produk oksidasi minyak yang dinyatakan sebagai nilai Totoks (Pokorny *et al.*, 2001). Hasil perhitungan nilai Totoks menunjukkan adanya peningkatan dengan semakin lamanya penyimpanan. Pada hari-0 sampai hari ke-8 menunjukkan kenaikan nilai Totoks ( $p<0,05$ ) pada kisaran rata-rata dari 5,66 sampai 11,04. Mulai pengamatan hari ke-14, perlakuan tanpa menggunakan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. mengalami kenaikan cukup tinggi ( $p<0,05$ ) dibandingkan dengan 4 perlakuan lainnya. Hal tersebut karena pembentukan radikal bebas pada emulsi minyak ikan mulai meningkat karena tidak terdapat antioksidan yang dapat menghambat laju oksidasi yang terjadi. Pada hari ke-20 sampai dengan hari ke-38, perlakuan 0% dan perlakuan 0,5% mengalami laju peningkatan Nilai Totoks yang cukup tinggi dibandingkan dengan perlakuan 1%; 1,5%; dan 2% dengan nilai akhir yaitu secara berurutan mulai dari perlakuan 0% sampai dengan 2% yaitu 19,26; 17,51; 11,07; 11,43; dan 12,13. Nilai Totoks yang terbentuk dipengaruhi oleh variasi konsentrasi ekstrak etanolik *Sargassum* sp. yang ditambahkan pada emulsi minyak ikan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanolik *Sargassum* sp. yang ditambahkan pada emulsi minyak ikan, maka semakin rendah Nilai Totoks yang terbentuk. Hal ini disebabkan zat antioksidan yang terdapat pada ekstrak etanolik *Sargassum* sp. akan menghambat proses kerusakan oksidatif yang terjadi pada emulsi minyak ikan selama penyimpanan berlangsung.

Hasil analisis data menunjukkan pada hari ke-0 sampai hari ke-4 untuk perlakuan 0%; 0,5%; 1%; 1,5%; dan 2% tidak berbeda nyata ( $p<0,05$ ), yang berarti setiap perlakuan tersebut tidak memberikan pengaruh pada aktivitas kerusakan minyak. Sampai



Gambar 5. Nilai total oksidasi emulsi minyak ikan selama penyimpanan.  
 Figure 5. Total oxidation value of fish oil emulsion during storage.

dengan pengamatan pada hari ke-8, semua perlakuan tidak beda nyata dengan 0%, sedangkan sampai dengan pengamatan pada hari ke-38, hanya perlakuan 0,5% saja yang tidak berbeda nyata ( $p > 0,05$ ) dengan 0%.

Berdasarkan parameter nilai Totoks, perlakuan dengan ekstrak 1% merupakan perlakuan terbaik dalam menekan aktivitas kerusakan minyak, karena merupakan konsentrasi terendah yang dapat menghambat proses oksidasi dibandingkan dengan control. Hasil penghambatan oksidasi (nilai Totoks) oleh aktivitas antioksidan tersebut serupa dengan penelitian Estiasih *et al.* (2008) yang menyebutkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pemberian bahan penyalut (penghambat proses oksidasi) pada emulsi minyak ikan, nilai Totoks yang terbentuk semakin rendah.

Pak (2005) menyebutkan 26 merupakan batas maksimum yang masih dapat diterima untuk parameter Nilai Totoks. Dibandingkan dengan hasil penelitian tersebut emulsi minyak ikan yang ditambahkan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. masih tergolong baik. Pokorny *et al.* (2001) menyatakan bahwa Nilai Totoks dapat digunakan untuk mengetahui tingkat kerusakan lemak akibat oksidasi. Dengan demikian nilai Totoks dapat digunakan selanjutnya sebagai parameter kritis kemunduran mutu untuk pendugaan umur simpan minyak ikan.

## KESIMPULAN

Penggunaan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. mampu memberikan hasil yang lebih baik dalam proses penghambatan oksidasi emulsi minyak ikan dibandingkan dengan kontrol. Penggunaan ekstrak etanolik *Sargassum* sp. 1% menghasilkan laju penghambatan kerusakan oksidatif yang lebih baik dibandingkan dengan minyak ikan tanpa menggunakan zat antioksidan untuk parameter angka peroksida, angka anisidin, dan nilai Totoks.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Jurusan Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada yang telah memberikan fasilitas untuk melaksanakan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

Chapman, R. A. dan MacKay, K. 1949. The Estimation of Peroxides in Fats and Oils by The Ferric Thiocyanate Method. *Journal of the American Oil*. 26 (7): 360-363  
 Estiasih, T., Ahmadi, K., dan Nisa, F. C. (2008). Karakteristik Mikrokapsul Minyak Ikan Kaya Asam

Lemak ω-3 dari Hasil Samping Penepungan Lemuru. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 19(2): 121-130.

- Farquhar, J. W., Insull, W., Rosen, P., Stoffel, W., dan Ahrens, E. H. 1959. *The analysis of fatty acid mixtures by gas-liquid chromatography-Nutrition Rev.* San Fransisco, Amerika: Rockefeller Institute Press.
- Hasnain, A. 2003. Pakistan Standard Specification for Banasp.ati Edisi ke-3. *Pakistan Standards and Quality Control Authority Standards Development Centre*. Karachi, Pakistan. Pakistan Standard & Quality Control Authority (PSQCA).
- Huang, D., Ou .B., and Prior, R. L. 2005. The Chemistry Behind Antioxidant Capacity Assays-Reviews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53: 1841-1856.
- Ketaren, S. 1986. *Minyak dan Lemak Pangan*. Jakarta: UI Press.
- Koivikko, R. 2008. *Brown Algal Phlorotannins Improving and Applying Chemical Methods*. Departement of Chemistry, University of Turku, Finlandia.
- Nielsen, S. S. 2003. *Food Analysis Laboratory Manual 3<sup>rd</sup>eds*. Jerman: Springer Ltd.
- Pak, C. S. 2005. *Stability and Quality of Fish Oil During Typical Domestic Application*. Wonsan University of Fisheries, Korea.
- Patra, J. K., Rath, S. K., and Jena, K. 2008. Evaluation of Antioxidant and Antimicrobial Activity of Seaweed (*Sargassum* sp.) Extract: A Study on Inhibition of Glutathione-S-Transferase Activity. *Turkish Journal of Biology*. 32: 119-125.
- Pokorny, J. K. 2001. *Preparation of Natural Antioxidant, in Antioxidants in Food: Practical Applications, 1<sup>st</sup> eds*. Inggris: Woodhead Publishing Ltd.
- Santoso, J., Yoshie-Stark, Y., and Suzuki, T. 2004. Antioxidant Activity of Methanol Extracts from Indonesian Seaweeds in an Oil Emulsion Model. *Fisheries Science*. 70: 183-188.
- Singhal, R. S., Kulkarni, P. R., and Rege, D.V. 1997. *Handbook of Indices of Food Quality and Authenticity*. Inggris: Woodhead Publishing Ltd.
- Suzuki, H., Wada, S., Hayakawa, S., and Tamura, S. 1985. Effects of Oxygen Absorber and Temperature on  $\omega$ 3 Polyunsaturated Fatty Acids of Sardine Oil during Storage. *Journal of Food Science: Food Chemistry and Toxicology*. 50: 358-360.
- Tong, L. M., Sasaki, S., McClements, D. J., Decker, E. A. 2000. Antioxidant Activity of Whey in a Salmon Oil Emulsion. *Journal of Food Science: Food Chemistry and Toxicology*. 65: 1325-1329.
- White, P. J. 1995. *Methods to Access Quality and Stability of Oils and Fat-Containing Foods*. Amerika: American's Oil Chemist Society Press.
- Winberg, P., Ghosh, D., and Tapsell, L. 2009. *Seaweed Culture in Integrated (Multi-Trophic Aquaculture*. Rural Industries Research and Development Corporation. Australia.
- Zuta, P. C., Simpson, B. K., Zhao, X., and Leclerc. 2007. The Effect of  $\alpha$ -tocopherol on the Oxidation of Mackerel Oil. *Food Chemistry*. 100: 800-807.