

AKTIVITAS SENYAWA BIOAKTIF SELADA LAUT (*Ulva lactuca*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN PADA MINYAK IKAN

The Activity of Bioactive Compounds from Sea Lettuce (Ulva lactuca) as Antioxidant in Fish Oil

Basyrowi Arbi, Widodo Farid Ma'rif dan Romadhon

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Perikanan,

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah – 50275, Telp/Fax. +6224 7474698

E-mail: basyrowi@gmail.com, romi_thp@yahoo.co.id

Diserahkan tanggal 12 Juli 2016, Diterima tanggal 9 Agustus 2016

ABSTRAK

Minyak ikan adalah produk perikanan yang mempunyai asam lemak tak jenuh tinggi yang rentan akan oksidasi. Penghambatan oksidasi dilakukan dengan penambahan antioksidan pada minyak. Penggunaan bahan alami sebagai antioksidan dari *U. lactuca* mampu menghambat oksidasi tersebut. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas antioksidan selada laut (*U. lactuca*) dalam menghambat oksidasi. Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak *U. lactuca*, dan minyak ikan. Metode penelitian yang digunakan adalah *experimental laboratories* dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yaitu faktor konsentrasi ekstrak *U. lactuca* (0%; 0,1%; 0,2% dan 0,3%) dan faktor lama penyimpanan (hari ke-0, hari ke-5 dan hari ke-10). Data *peroxide value* (PV) dan *thiobarbituric acid* (TBA) dianalisis menggunakan uji ANOVA, dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ), jika ada interaksi perlakuan. Hasil penelitian pendahuluan didapatkan rendemen ekstrak *U. lactuca* dengan pelarut etanol 96% sebesar 13,549%, nilai fenol 4,59%, flavonoid 0,59% dan aktivitas antioksidan IC_{50} sebesar 60,975 ppm (kuat). Hasil uji asam lemak pada minyak ikan dengan GC-MS menunjukkan kandungan asam lemak yang paling banyak adalah asam lemak tak jenuh (asam linoleat (omega -6) dan (omega-3)). Hasil penelitian utama didapatkan nilai PV berkisar antara 20,141 sampai 38,196 mEq/kg, dan nilai TBA berkisar antara 10,794 sampai 32,592 mg malonaldehid/kg pada hari ke-0. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya interaksi antara konsentrasi ekstrak *U. lactuca* dan lama penyimpanan berpengaruh nyata ($P < 0,05$). Ekstrak *U. lactuca* 0,2% menghasilkan angka peroksida terendah yaitu $25,606 \pm 0,116$ mEq/kg, dan 0,1% menghasilkan angka TBA terendah yaitu $26,802 \pm 0,309$ malonaldehid/kg pada hari ke-10.

Kata kunci: Ekstrak *U. lactuca*, Oksidasi, Minyak Ikan, Antioksidan

ABSTRACT

Fish oil is a fishery product that contains high amount of unsaturated fatty acids, which was easily oxidated. This oxidation process can be inhibited by adding antioxidants. The use of natural antioxidants from U. lactuca known can inhibits the oxidation. The aim of this research was examined the effectiveness of antioxidants from sea lettuce (U. lactuca) in inhibiting oxidation. Materials used in this research were U. lactuca extract, and fish oil. The methods used are experimental laboratories, and analyzed using Completely Randomized Design (CRD) factorial pattern is divided by a factor of U. lactuca extract concentrations (0%, 0.1%, 0.2% and 0.3%) and factor storage time (days 0, day 5 and day 10). The peroxide value (PV) and thiobarbituric acid (TBA) were analyzed using ANOVA test, then further carried test Honestly Significant Difference (HSD), a treatment interaction. Preliminary results obtained were the yield of U. lactuca extract with 96% ethanol was 13.549%, the phenol content was 4.59%, flavonoids was 0.59%, and the antioxidant activity of IC_{50} was 60.975 ppm (strong). The results analyzing of fatty acids in fish oil by GC-MS showed that the fatty acid content is at most unsaturated fatty acids. The main research results were PV values obtained were range from 20.141 to 38.196 mEq/kg, and TBA values were ranged from 10.794 to 32.592 mg/kg. Based on the research results show that the interaction between U. lactuca extract concentration and storage time significantly ($P < 0,05$). The result of 0,2% U. lactuca extract contain peroxide value $25,606 \pm 0,116$ mEq/kg, and 0,1 % extract contain TBA value $26,802 \pm 0,309$ malonaldehid/kg in the tenth day.

Keywords: *U. lactuca*, Oxidation, Fish Oil, Antioxidant

PENDAHULUAN

Ulva lactuca merupakan salah satu jenis alga hijau yang termasuk dalam *father seaweed* yaitu rumput laut yang dapat dimakan, mempunyai kandungan antioksidan, antibakteri, antijamur dan antitumor. Saat ini *U. lactuca* hanya

dimanfaatkan oleh masyarakat dibeberapa wilayah sebagai bahan pangan dalam keadaan segar (salad) dan olahan (nori). Belum banyak publikasi kajian antioksidan dari spesies *U. lactuca* dan pengaplikasian ke produk pangan maupun non pangan, sehingga diperlukan kajian mengenai efektifitas Selada

laut (*U. lactuca*) sebagai antioksidan. Menurut Tamat *et al.*, (2007), bahwa rumput laut hijau secara umum mengandung senyawa fenol, flavonoid serta senyawa karoten yang berfungsi sebagai antioksidan. Salah satu alga yang memiliki aktivitas antioksidan dan mudah didapatkan adalah Selada Laut (*U. lactuca*).

Komponen bioaktif senyawa fenol dan flavonoid dapat diperoleh dengan ekstraksi menggunakan pelarut. Pada prinsipnya ekstraksi dilakukan dengan cara mempertemukan bahan yang akan diekstrak dengan pelarut selama waktu tertentu, diikuti pemisahan filtrat dari residu bahan yang diekstrak dengan evaporasi. Ekstraksi dapat dilakukan dengan beberapa metode, salah satunya adalah maserasi. Maserasi dilakukan dengan merendam simplisia dalam pelarut kemudian disimpan dalam waktu tertentu dalam ruang yang gelap dan sesekali diaduk. Pemilihan pelarut yang akan dipakai harus memperhatikan sifat kandungan senyawa yang akan diekstraksi misalnya polaritas. Etanol banyak dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan karena lebih aman dibandingkan dengan jenis pelarut lainnya. Etanol merupakan jenis pelarut polar. Pada prinsipnya suatu bahan akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya (Hanna *et al.*, 2009).

Minyak ikan memiliki kandungan asam lemak tak jenuh paling tinggi dibandingkan dengan jenis minyak lainnya. Karena kandungan inilah yang menyebabkan minyak ikan menjadi kurang stabil, sebab mudah teroksidasi. Proses oksidasi akan semakin meningkat dengan adanya panas, cahaya dan oksigen (Irianto *et al.*, 2002). Kerusakan oksidasi minyak ikan diawali oleh autooksidasi asam lemak tidak jenuh dengan terbentuknya radikal-radikal bebas yang disebabkan oleh cahaya, panas dan peroksida lemak. Radikal-radikal bebas ini kemudian bereaksi dengan oksigen membentuk senyawa peroksida aktif yang akhirnya mempengaruhi sifat-sifat fisik dan kimia dari minyak ikan (Ketaren, 2008). Penghambatan oksidasi dapat dilakukan dengan menambahkan antioksidan ke dalam minyak ikan.

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu atau lebih elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Adanya kemampuan antioksidan dalam menangkap radikal bebas, maka diperlukan penelitian terhadap kandungan antioksidan pada selada laut (*U. lactuca*) mengingat Selada Laut belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat. Oleh karena itu, dengan penelitian uji aktivitas senyawa bioaktif *U. lactuca* pada minyak ikan nantinya dapat diketahui kemampuannya dalam menghambat oksidasi.

Berdasarkan penelitian Hanna *et al.* (2009), penggunaan bahan alami tumbuhan laut sebagai senyawa antioksidan mampu menghambat radikal tersebut. Flavonoid yang ada dalam ganggang hijau memiliki aktivitas antioksidan menurut beberapa penelitian yang telah dilakukan. Khotimah *et al.* (2013), Penambahan ekstrak dari *Sargassum fillipendula* dapat mencegah terjadinya kerusakan pada minyak Ikan Lemuru dengan konsentrasi terbaik atau konsentrasi optimum sebesar 0,2%. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efektifitas dan pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak *U. lactuca* terhadap nilai *Peroxide Value* (PV) dan *Thiobarbituric Acid* (TBA) selama penyimpanan suhu ruang. Parameter oksidasi minyak ikan akan dilihat dengan pengujian PV dan TBA.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Selada Laut (*U. lactuca*) dari Pantai Krakal, Gunung Kidul, Yogyakarta. Minyak ikan diperoleh dari Madiun, Jawa Timur. Bahan-bahan lain yang digunakan antara lain etanol 96%, reagen *Folin Ciocalteu* (Sigma-Aldrich), Na_2CO_3 (Sigma-Aldrich), DPPH (Sigma-Aldrich). Peralatan utama yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *Rotary Evaporator* (Eyela N-1100), Spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-1800), dan GC-MS (Shimadzu QP-2010S).

Metode Penelitian

Penelitian Tahap I

Penelitian tahap I dilakukan dengan tujuan untuk ekstraksi Selada Laut (*U. lactuca*) dengan metode Maserasi menggunakan pelarut etanol 96% dan mengetahui kandungan metabolit sekunder (fenol dan flavonoid) serta aktivitas antioksidannya. Prosedur ekstraksi mengacu pada penelitian Husni *et al.* (2015) dengan modifikasi. Selada Laut (*U. lactuca*) kering sebanyak 100 g dipotong kecil-kecil dengan gunting dan dimasukkan ke dalam botol kaca. Simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol 96% (polar) sebanyak 400 ml sampai seluruh simplisia terendam di dalam botol kaca yang telah ditutup menggunakan aluminium foil. Maserasi selama 2 x 24 jam pada suhu ruang, kemudian disaring dengan kertas saring untuk memisahkan filtrat dengan residu. Filtrat hasil maserasi selanjutnya dievaporasi dengan *rotary evaporator* pada suhu 40 °C (± 1 jam) hingga terbentuk ekstrak yang sudah tidak tercium bau pelarut. Ekstrak hasil evaporasi digunakan untuk penambahan ekstrak *U. lactuca* sebagai antioksidan pada minyak ikan. Setelah itu dilakukan uji fenol, uji flavonoid dan uji antioksidan metode DPPH. Serta dilakukan uji asam lemak dengan *Gas Chromatography - Mass Spectrometry* (GC-MS) untuk mengetahui kandungan asam lemak pada minyak ikan

Penelitian Tahap II

Penelitian tahap II pada penelitian ini adalah ekstraksi *U. lactuca* dan penambahan pada minyak ikan sebagai antioksidan dengan konsentrasi 0%; 0,1; 0,2% dan 0,3%. Pengujian TBA dan bilangan peroksida (PV) dilakukan pada hari ke-0, ke-5, dan ke-10 untuk mengetahui tingkat oksidasi pada minyak ikan. Setelah dilakukan penyimpanan dan pengujian akan diketahui pengaruh penambahan ekstrak *U. lactuca* dalam menghambat oksidasi pada minyak ikan.

Parameter Pengujian

Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Djapiala *et al.*, 2013)

Sampel ekstrak dengan berbagai konsentrasi diambil sebanyak 3 ml, selanjutnya dimasukkan 1 ml larutan DPPH 0,1 mM. Mulut tabung ditutup dengan aluminium foil dan dihomogenkan. Larutan sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37 °C. Kemudian serapannya diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

$$\% \text{ Penangkapan radikal bebas} = \frac{A_0 - A}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan: A_0 : Absorbansi awal DPPH

A : Absorbansi sampel + DPPH setelah diinkubasi 30 menit

Dari nilai persen inhibisi sebagai absis (x) dan konsentrasi ekstrak sebagai ordinat (y) maka dengan metode LR (*Linear Regression*) diperoleh persamaan garis dan ditentukan konsentrasi saat persen inhibisi 50% (IC₅₀).

Uji Kadar Fenolik Metode Folin-Ciocalteu (Hardiana *et al.*, 2012)

Sebanyak 1 mg ekstrak ditambahkan 1 ml etanol 95%, lalu divortex. Setelah itu, diambil 0,1 ml larutan ekstrak tersebut dan ditambahkan 0,1 ml reagen Follin-Ciocalteu 50%, selanjutnya divortex lagi dan ditambahkan 2 ml Na₂CO₃ 2% lalu divortex kembali. Selanjutnya campuran tersebut diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi sampel dibaca dengan panjang gelombang 750 nm. Kandungan total fenolik dari ekstrak dihitung dengan menggunakan kurva standar asam galat.

Uji Total Flavonoid (Rohaeti *et al.*, 2011)

Ekstrak kental yang setara dengan 200 mg simplisia ditimbang dan dimasukkan ke labu bulat. Sistem hidrolisis yang digunakan yaitu 1 ml larutan heksametilentetramina 0,5% b/v, 20 ml aseton, dan 2 ml HCl 25% ditambahkan ke dalamnya. Selanjutnya, ekstrak dihidrolisis dengan pemanasan hingga mendidih selama 30 menit. Campuran hasil hidrolisis disaring dengan kapas ke dalam labu ukur 100 ml. Residunya kemudian ditambahkan 20 ml aseton dan dididihkan. Sebanyak 20 ml filtrat hasil hidrolisis dan 20 ml aquades dimasukkan ke dalam corong pisah, lalu diekstraksi dengan etil asetat. Sebanyak 10 ml larutan fraksi etil asetat dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml lalu direaksikan dengan 1 ml larutan berisi 2 g AlCl₃ dalam 100 ml larutan asam asetat glasial 5% v/v (dalam metanol) dan ditera dengan larutan asam asetat glasial 5% v/v. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang maksimum 370,8 nm. Kurva kalibrasi dibuat menggunakan standar kuersetin dengan konsentrasi 3, 6, 12, 15, dan 24 ppm. Kadar flavonoid total diperoleh dari persamaan garis kurva kalibrasi yang diperoleh.

Uji Bilangan Peroksida (PV) (Muresan *et al.*, 2010)

Penentuan angka peroksida menggunakan metode spektrofotometri. Sampel ditimbang sebanyak 1-2 g. Larutkan sampel menggunakan *Petroleum Ether* (PE) hingga volume 10 ml. Ambil 1 ml larutan induk, panaskan dalam waterbath hingga tersisa minyak. Tambahkan 0,1 ml Amonium Thiocyanat 30%. Tambahkan 0,1 ml FeCl₂ 0,02M (500 Mgr FeSO₄ + 400 Mgr BaCl₂ encerkan dengan 100 ml aquadest lalu centrifuge). Encerkan menjadi 10 ml menggunakan methanol. Tera pada panjang gelombang 520 nm. Perhitungan nilai peroksida dilakukan dengan persamaan berikut:

$$\text{Angka peroksida (ml.eq/kg)} = \frac{X \times \text{Faktor Pengenceran}}{\text{Berat sampel (g)} \times 55,85}$$

Uji Thio Barbituric Acid (TBA) (Khotimah *et al.*, 2013)

Sebanyak 5 ml sampel minyak ikan ditambahkan 10 ml CCl₃COOH 20%, divortex sampai homogen, kemudian disentrifuge selama 10 menit. Selanjutnya, ambil 5 ml sampel bening kemudian ditambahkan 5 ml asam thio barburat (TBA) 0,02 M. Selanjutnya didiamkan selama 15 menit, diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang

gelombang 528 nm. Absorbansi yang diperoleh digunakan sebagai angka pembanding tingkat ketengikan.

$$\text{Bilangan TBA} = \frac{\text{Abs} \times \text{Faktor Pengenceran} \times 7,8}{\text{Berat sampel}}$$

Uji Kandungan Asam Lemak dengan *Gas Chromatography - Mass Spectrometry* (GC-MS) (Khamidinal *et al.*, 2007)

Kandungan asam lemak dianalisa menggunakan *Gas Chromatography - Mass Spectrometry* (GC-MS) dengan terlebih dahulu minyak ditransesterifikasi menjadi ester asam lemak atau FAME. Tranesterifikasi dilakukan pada atmosfer gas nitrogen. Minyak dihidrolisis dengan NaOH dalam metanol, kemudian ditambahkan BF₃ didalam metanol pada suhu 60 °C, selanjutnya ditambahkan NaCl jenuh dan n heksana. Lapisan n heksana selanjutnya dipisahkan kemudian ditambahkan Na₂SO₄. N heksana kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh FAME. FAME selanjutnya dianalisis dengan menggunakan perangkat GC-MS.

Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari 2 faktor perlakuan yaitu perlakuan pertama dengan konsentrasi 0%, 0,1%, 0,2% dan 0,3%. Sedangkan untuk faktor kedua menggunakan masa simpan selama 0 hari, 5 hari dan 10 hari dengan ulangan sebanyak tiga kali. Pengujian normalitas dan homogenitas dilakukan terlebih dahulu sebelum analisa ANOVA, agar dapat diketahui sifat data sehingga dapat dilakukan sidik ragam atau tidak. Metode analisa yang digunakan adalah sidik ragam ANOVA dengan uji lanjut untuk menentukan nilai yang berpengaruh maupun yang tidak dengan Uji BNJ (Beda Nyata Jujur).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian Tahap I

Ekstraksi Selada Laut (*U.lactuca*)

Hasil rendemen ekstrak *U. lactuca* yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% sebesar 13,549%. Jumlah rendemen ekstrak yang dihasilkan dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu ukuran simplisia, jenis pelarut, dan lama maserasi. Penggunaan pelarut etanol 96% (polar) selain lebih aman dibanding pelarut lainnya karena sifat kepolarannya yang dapat menarik senyawa fenol dan flavonoid. Menurut (Saragih *et al.*, 2010), ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa hal, misalnya ukuran simplisia, pelarut yang digunakan, waktu ekstraksi, suhu ekstraksi, metode yang digunakan dan perbandingan bahan dan pelarut. Menurut Rezki *et al.* (2015), rendemen ekstrak yang dihasilkan cenderung meningkat dengan peningkatan konsentrasi pelarut, dimana dapat dilihat pada konsentrasi pelarut 96% menghasilkan rendemen ekstrak yang lebih banyak. Semakin lama waktu ekstraksi, maka % hasil yang diperoleh semakin besar. Hal ini disebabkan karena waktu kontak antara simplisia dengan pelarutnya semakin lama.

Uji Metabolit Sekunder (Fenol dan Flavonoid)

Uji metabolit sekunder yang dilakukan yaitu uji fitokimiawi fenol dan flavonoid total secara kuantitatif. Hasil uji fenol dan flavonoid total pada ekstrak *U. lactuca* dengan pelarut etanol 96% tersaji dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fenolik dan flavonoid total secara kuantitatif

Analisa	Hasil (%)
Fenol	4,59 ± 0,0042
Flavonoid	0,59 ± 0,0007

Keterangan: Data merupakan hasil rata-rata dari dua ulangan ± standar deviasi

Berdasarkan hasil uji fenolik dan flavonoid total ekstrak *U. lactuca* menunjukkan bahwa Selada Laut positif mengandung senyawa fenol dan flavonoid. Besarnya kandungan senyawa bioaktif pada ekstrak tersebut adalah 4,59% (fenol) dan 0,59% (flavonoid). Menurut Septiana dan Asnani (2012), bahwa komponen fenolik dapat menghambat oksidasi lipid dengan menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal bebas. Menurut pendapat dari Dewi *et al.* (2014), bahwa senyawa flavonoid memiliki potensi sebagai antioksidan karena memiliki gugus hidroksil yang terikat pada karbon cincin aromatik sehingga dapat menangkap radikal bebas yang dihasilkan dari reaksi peroksidasi lemak. Senyawa flavonoid akan menyumbangkan satu atom hidrogen untuk menstabilkan radikal peroksi lemak.

Uji Antioksidan Metode DPPH

Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak *U. lactuca* dengan metode DPPH diperoleh hasil IC₅₀ sebesar 60,975 ppm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak *U. lactuca* tergolong kuat. Kandungan antioksidan pada ekstrak *U. lactuca* yang tinggi diharapkan mampu menghambat kerusakan pada minyak ikan. Menurut Ulfa *et al.* (2014), bahwa suatu bahan mempunyai aktivitas antioksidan jika mempunyai nilai IC₅₀ kurang dari 200 ppm. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika IC₅₀ kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC₅₀ sebesar 50-100 ppm, sedang jika IC₅₀ sebesar 100-150 ppm, dan lemah apabila IC₅₀ sebesar 151-200 ppm.

Menurut Khamidinal *et al.* (2007), bahwa 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.

Uji Asam lemak GC-MS

Hasil analisa kandungan asam lemak dalam minyak ikan didominasi oleh asam lemak tak jenuh (PUFA). Kandungan asam lemak pada minyak ikan yaitu asam lemak jenuh (SFA) sebesar 19,87%, asam lemak tak jenuh ikatan tunggal (MUFA) sebesar 22,22% dan asam lemak tak jenuh jamak (PUFA) sebesar 57,93%. Hal ini sesuai dengan pendapat Sartika (2008), bahwa asam lemak tak jenuh jamak (*Poly Unsaturated Fatty Acid*/PUFA) adalah asam lemak yang mengandung dua atau lebih ikatan rangkap. Asam lemak ini banyak ditemukan pada minyak ikan. Contoh PUFA adalah asam linoleat (omega-6) dan omega-3, tergolong dalam asam lemak rantai panjang (LCFA) yang banyak ditemukan pada minyak ikan.

Penelitian Tahap II

Uji PV (*Peroxide Value*)

Peroxide value (PV) adalah indeks untuk mengetahui produk primer pada oksidasi minyak. Hasil analisa varian PV pada konsentrasi 0%; 0,1%; 0,2% dan 0,3% menunjukkan perbedaan yang nyata. Uji ANOVA dari perlakuan lama penyimpanan menunjukkan perbedaan yang nyata. Interaksi antara konsentrasi dan lama penyimpanan berbeda nyata. Terdapat interaksi antara konsentrasi ekstrak yang diberikan (Faktor A) dengan lama penyimpanan (Faktor B) terhadap nilai PV (P<0,05).

Hasil uji BNJ pengaruh konsentrasi penambahan ekstrak antioksidan *U. lactuca* (0%; 0,1%; 0,2%; dan 0,3%) pada minyak ikan terhadap lama penyimpanan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (P < 0,05). Bilangan peroksida pada minyak ikan dengan konsentrasi 0% (kontrol) memiliki nilai yang tertinggi dibandingkan minyak ikan dengan penambahan ekstrak *U. lactuca* (0,1%; 0,2%; dan 0,3%) karena minyak ikan tersebut teroksidasi tanpa adanya agent penghambat untuk meminimalisir terjadinya oksidasi. Minyak ikan tanpa penambahan antioksidan mudah sekali teroksidasi karena tidak adanya agent penghambat. Hal ini sesuai dengan penelitian Khotimah *et al.* (2013), bahwa rata-rata bilangan peroksida pada konsentrasi 0% disebabkan karena pada sampel minyak ikan lemuru tersebut teroksidasi akibat paparan dengan oksigen dan suhu. Tanpa adanya agent penghambat atau berupa senyawa aktif dari *Sargassum fillipendula* tersebut menyebabkan minyak Ikan Lemuru mudah teroksidasi.

Flavonoid dapat mereduksi radikal hidroksil, superperoksida dan radikal peroksida pada minyak ikan, sehingga dapat menghambat terjadinya oksidasi. Antioksidan berperan dalam menetralkan radikal bebas dengan cara memberikan satu elektronnya kepada radikal bebas, sehingga menjadi non radikal. Laju kenaikan bilangan peroksida dapat dihambat dengan penambahan antioksidan. Menurut Satria (2005), bahwa flavonoid mempunyai khasiat dalam menghambat oksidasi serta mampu bertindak sebagai pereduksi radikal hidroksil, superoksida dan radikal peroksil. Sama halnya dengan penelitian Sarah *et al.* (2010), bahwa kenaikan nilai PV yang lebih lambat diperoleh dari sampel yang diberi perlakuan larutan bawang bombay dan ekstrak teh hijau, berbeda dengan peningkatan yang cepat pada nilai PV pada sampel kontrol selama penyimpanan.

Penurunan nilai PV disebabkan karena senyawa oksidasi primer (hidroperoksida) yang terbentuk sudah semakin terdekomposisi menjadi produk oksidasi sekunder (malonaldehid). Setelah mencapai nilai maksimum nilai peroksida akan menurun dan terdekomposisi menjadi malonaldehida. Peroksida bersifat kurang stabil dan rentan sekali mengalami perubahan lanjut menghasilkan produk oksidasi sekunder seperti aldehid, koton, hidrokarbon, dan polimer lainnya. Menurut Rosari (2014), bahwa penurunan nilai peroksida yang signifikan setelah mencapai nilai maksimum menunjukkan bahwa peroksida adalah komponen yang kurang stabil dan sangat rentan untuk mengalami perubahan lanjutan yang menghasilkan produk oksidasi sekunder, seperti aldehid, keton, hidrokarbon, dan polimer lainnya. Hal ini ditambahkan oleh pendapat Maulana *et al.* (2014), bahwa parameter mutu suatu minyak ikan juga ditunjukkan dari besaran angka peroksida. Angka peroksida memperlihatkan tingkat kerusakan dari suatu minyak ikan,

dimana semakin besar angka peroksida maka kualitas minyak ikan semakin rendah.

Dengan adanya penambahan antioksidan, antioksidan memberikan atom hidrogen atau elektron pada radikal bebas (R*, ROO*), mengubahnya kebentuk yang lebih stabil yaitu RH. Sementara turunan radikal antioksidan (A*) memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal semula (R*). Tanpa adanya penambahan antioksidan, reaksi akan berlanjut sampai tahap terminasi, sehingga radikal bebas dapat saling bereaksi membentuk senyawa yang kompleks. Penambahan antioksidan dapat menghambat oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Antioksidan memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida atau mengubahnya kebentuk yang stabil.

Turunan radikal antioksidan memiliki keadaan yang lebih stabil dibandingkan radikal lipid.

Menurut Raharjo (2006), bahwa pengukuran angka peroksida pada dasarnya adalah mengukur kadar peroksida dan hidroperoksida yang terbentuk pada tahap awal reaksi oksidasi lemak. Bilangan peroksida yang tinggi mengindikasikan lemak atau minyak sudah mengalami oksidasi. Namun, pada angka yang lebih rendah bukan selalu berarti menunjukkan kondisi oksidasi yang masih dini. Angka peroksida rendah bisa disebabkan laju pembentukan peroksida baru lebih kecil dibandingkan dengan laju degradasinya menjadi senyawa lain, mengingat kadar peroksida cepat mengalami degradasi dan bereaksi dengan zat lain.

Tabel 2. Hasil pengujian PV (mEq/kg) pada minyak ikan dengan perbedaan konsentrasi ekstrak *U. lactuca*

Lama Penyimpanan (hari)	Konsentrasi Ekstrak <i>U. lactuca</i>			
	0%	0,1%	0,2%	0,3%
0 hari	23,871±0,014 ^d	21,836±0,032 ^c	21,099±0,036 ^b	20,141±0,020 ^a
5 hari	38,196±0,008 ^l	32,476±0,063 ^j	29,352±0,144 ⁱ	27,705±0,013 ^f
10 hari	36,841±0,055 ^k	28,325±0,072 ^g	25,606±0,116 ^e	29,057±0,085 ^h

Ket: ± Merupakan nilai standar deviasi dengan 3 ulangan. *Superscript* dengan huruf berbeda menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

Tabel 3. Hasil Pengujian TBA (mg malonaldehid/kg) pada Minyak Ikan dengan Perbedaan Konsentrasi Ekstrak *U. lactuca*

Lama Penyimpanan (hari)	Konsentrasi Ekstrak <i>U. lactuca</i>			
	0%	0,1%	0,2%	0,3%
0 hari	18,165±0,055 ^d	13,996±0,19 ^c	11,592±0,143 ^b	10,794±0,146 ^a
5 hari	32,592±0,342 ^j	24,317±0,254 ^e	28,519±0,094 ^h	25,840±0,145 ^f
10 hari	31,458±0,192 ⁱ	26,802±0,309 ^g	27,714±0,145 ^g	31,864±0,093 ⁱ

Ket: ± Merupakan nilai standar deviasi dengan 3 ulangan. *Superscript* dengan huruf berbeda menunjukkan berbeda nyata (P<0,05).

Uji TBA (*Thio Barbituric Acid*)

Nilai TBA adalah indeks untuk menentukan derajat oksidasi lemak yang dihitung berdasarkan jumlah Malonaldehid (MDA) dalam minyak ikan. Malonaldehid terbentuk karena adanya serangan radikal bebas pada ikatan tak jenuh dari suatu asam lemak terutama asam lemak tak jenuh berantai banyak (PUFA).

Hasil analisa varian TBA pada konsentrasi 0%; 0,1%; 0,2%; dan 0,3% menunjukkan perbedaan yang nyata Hasil analisa varian dengan sidik ragam ANOVA dari perlakuan lama penyimpanan menunjukkan perbedaan yang nyata, serta adanya interaksi antara konsentrasi dan lama penyimpanan yang berbeda. Hasil uji ANOVA menunjukkan terdapat interaksi antara konsentersasi ekstrak yang diberikan (Faktor A) dengan lama penyimpanan (Faktor B) terhadap nilai TBA (P<0,05).

Hasil uji BNJ (Lampiran 2) pengaruh konsentrasi penambahan ekstrak antioksidan *U. lactuca* (0%; 0,1%; 0,2%; dan 0,3%) pada minyak ikan terhadap lama penyimpanan menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata (P<0,05). Angka TBA pada minyak ikan menunjukkan nilai tertinggi pada semua konsentrasi di hari ke-5 kecuali minyak ikan dengan penambahan ekstrak konsentrasi 0,3% yang memiliki nilai TBA tertinggi pada hari ke-10.

Semakin banyak ikatan rangkap yang ada pada minyak maka laju kecepatan oksidasinya juga semakin meningkat, kemudian laju oksidasi akan menurun karena telah membentuk senyawa-senyawa yang lain. Menurut Dewi *et al.* (2011), bahwa reaksi-reaksi yang terjadi selama degradasi asam lemak didasarkan atas penguraian asam lemak. Semakin banyak

ikatan rangkap dari minyak yang dipakai maka laju kecepatan oksidasinya juga semakin meningkat.

Penambahan ekstrak antioksidan *U. lactuca* pada minyak ikan dapat menghambat pembentukan senyawa malonaldehida karena sifat antioksidan yang memiliki fungsi untuk memutuskan atau menghentikan radikal bebas. Semakin rendah nilai absorbansi malonaldehida menunjukkan efektifitas antioksidan dalam menghambat pembentukan senyawa malonaldehida. Nilai TBA minyak ikan dengan penambahan ekstrak *U. lactuca* lebih rendah dibandingkan minyak ikan tanpa penambahan ekstrak (kontrol) mengindikasikan bahwa pembentukan senyawa malonaldehida terhambat karena adanya antioksidan. Menurut pendapat Prawira *et al.* (2015), bahwa pengukuran senyawa malonaldehida dalam suatu sistem dapat menjadi tolak ukur untuk aktivitas antioksidan. Senyawa antioksidan dapat menghambat pembentukan senyawa malonaldehida. Banyaknya senyawa malonaldehida dalam campuran minyak ikan ditunjukkan dengan besarnya nilai absorbansi. Semakin rendah nilai absorbansi malonaldehida menunjukkan semakin efektifnya ekstrak dalam menghambat pembentukan senyawa malonaldehida.

Senyawa peroksida bersifat tidak stabil dan dapat terdekomposisi menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti malonaldehid. Semakin tinggi nilai TBA (kandungan malonaldehid) maka tingkat oksidasi minyak semakin tinggi. Reaksi oksidasi dimuali dengan terbentuknya peroksida dan peroksida pada minyak sebagai produk awal terbentuknya malonaldehida. Hal ini sesuai dengan pernyataan Aryani *et al.* (2009), bahwa peningkatan nilai TBA berhubungan dengan peningkatan peroksida sebagai produk awal terbentuknya

malonaldehid. Reaksi oksidasi biasanya dimulai dengan pembentukan peroksida dan hidroperoksida pada dasarnya tidak berbau dan berasa namun komponen tersebut sangat labil dan dengan cepat teroksidasi lebih lanjut menghasilkan berbagai komponen organik berantai pendek seperti aldehid, keton, asam dan komponen lain yang berkontribusi pada bau tengik. Menurut Apriantono *et al.* (2002), bahwa perubahan angka TBA selama penyimpanan menunjukkan hasil yang fluktuatif. Hal ini diduga bahwa malonaldehid bersifat sangat labil dan sangat reaktif terhadap protein dan asam amino karena malonaldehid merupakan hasil dekomposisi hidroperoksida.

Selama penyimpanan perubahan nilai TBA pada minyak ikan tidak stabil dan fluktuatif. Malonaldehid adalah produk sekunder dari oksidasi asam lemak tak jenuh. Malonaldehid bersifat sangat reaktif terhadap protein dan asam amino. Malonaldehid dibentuk melalui hidroperoksida yang merupakan produk awal hasil reaksi asam lemak tidak jenuh rantai panjang dengan oksigen. Perubahan angka TBA selama penyimpanan menunjukkan hasil yang fluktuatif. Hal ini diduga bahwa malonaldehid bersifat sangat labil dan sangat reaktif terhadap protein dan asam amino karena malonaldehid merupakan hasil dekomposisi hidroperoksida. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dewi *et al.* (2011), bahwa menurunnya nilai TBA pada akhir pengamatan bukan berarti nilainya sama dengan nilai TBA pada awal pengamatan, tetapi diduga hidroperoksida telah terurai menjadi senyawa lain pada proses oksidasi lemak lebih lanjut.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Ekstrak *U. lactuca* terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi dan dapat menghambat laju oksidasi minyak ikan.
2. Konsentrasi terbaik ekstrak *U. lactuca* yang diaplikasikan ke minyak ikan yaitu 0,1%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Dr.Ir. Eko Nurcahya Dewi, M.Sc yang mberikan arahan selama penyusunan artikel ini. Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan FPIK-UNDIP dan Laboratorium Teknologi Pangan UGM yang telah membantu kelancaran penelitian. Fatin Hidayati yang telah bekerjasama dan membantu penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

Apriyantono, A., D. Fardiaz, N. L. Puspitasari., Sedarnawati. dan S. Budiyo. 2002. Pengaruh Pengolahan Terhadap Nilai Gizi dan Keamanan Pangan.

Ariyani, F., N.S. Saputri. dan L. Nurhidayati. 2009. Efektivitas Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* Miers) Sebagai Produk Antioksidan Alami Produk Jambal Patin (*Pangaius hypophthalmus*). *Jurnal Pasca Panen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 4(2): 169-175.

Dewi, E. N., R. Ibrahim. dan N. Yuaniva. 2011. Daya Simpan Abon Ikan Nila Merah (*Oreochromis niloticus* Trewavas) yang Diproses dengan Metoda Penggorengan Berbeda. *Jurnal Saintek Perikanan*. 6(1): 6-12.

Dewi, N.W.O.A.C., N.M. Puspawati., I.M.D. Swantara., I.A.R.A. Asih. dan W.S. Rita. 2014. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Biji Terong Belanda (*Solanum betaceum, syn*) dalam Menghambat Reaksi Peroksidasi Lemak pada Plasma Darah Tikus Wistar. *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*. 2(1): 7-16.

Djapiala, F.Y., A.D.Y. Lita., Montolalu. dan M. Feny. 2013. Kandungan Total Fenol Dalam Rumput Laut *Caulerpa racemosa* yang Berpotensi Sebagai Antioksidan. *JMTHP Unsrat*.

Hanaa, H., A. El-Baky., K. Farouk. dan G. S. E. Baroty, 2009, Potential Biological Properties of Sulphated Polysaccharides Extracted from Macroalgae *Ulva Lactuca* L., *Academic Journal of Cancer Research*. (1): 01-11.

Hardiana, R., Rudyansyah. dan T.A. Zaharah. 2012. Aktivitas Antioksidan Senyawa Golongan Fenol dari Beberapa Jenis Tumbuhan Famili Malvaceae. *JKK*. 1(1): 8-13.

Husni, A., M. Madalena. dan Ustadi. 2015. Aktivitas Antioksidan dan Tingkat Penerimaan Konsumen pada Yoghurt yang Diperkaya dengan Ekstrak *Sargassum polycystum*. *JPHPI*, 18(2).

Irianto, H.E., Suparno., J.T. Murtini. dan Sunarya. 2002. Kandungan Asam Lemak Omega-3 Beberapa Jenis Ikan dan Produk Olahan Tradisional. Prosiding Widyakarya Nasional Khasiat Makanan Tradisional, Jakarta 9-11 Juni 1995, p.176-181, Kantor Menteri Negara Urusan Pangan, Jakarta.

Ketaren, S. 1986. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. Edisi Pertama. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.

Khamidinal, H. Ngatidjo. dan Mudasir. 2007. Pengaruh Antioksidan Terhadap Kerusakan Asam Lemak Omega-3 pada Proses Pengolahan Ikan Tongkol. *Kaunia*, 3(2):119-138.

Khotimah, K., Darius dan B.B. Sasmito. 2013. Uji Aktivitas Senyawa Aktif Alga Coklat (*Sargassum fillipendulla*) Sebagai Antioksidan Pada Minyak Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*). *THPi Student Journal*. 1(1): 10-20.

Maulana, I. T., Sukraso. dan S. Damayanti. 2014. Kandungan Asam Lemak dalam Minyak Ikan Indonesia. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 6 (1): 121-130.

Muresan, V., S. Muste., E. Racolta., C.A. Semeniuc., S. Man., A. Birou. dan C. Chircu. 2010. Determination of Peroxide Value in Sunflower Halva using a Spectrophotometric Method. *Bulletin UASVM Agriculture*, 67(2). Raharjo, S., 2006. Kerusakan Oksidatif pada Makanan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.

- Prawira, J. A. W., L.I. Momuat. dan V.S. Kamu. 2015. Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol dan Heksana dari Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot*). *Jurnal MIPA UNSRAT*. 4(1): 5-9.
- Rezki, R.S., A. Dwimas. dan M.Z. Siswarni. 2015. Ekstraksi Multi Tahap Kurkumin dari Kunyit (*Curcuma domestica* Valet) Menggunakan Pelarut Etanol. *Jurnal Teknik Kimia USU*.
- Rohaeti, E., R. Heryanto., M. Raffi., A. Wahyuningrum. dan L. K. Darussalam. 2011. Prediksi Kadar Flavonoid Total Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Menggunakan Kombinasi Spektroskopi IR dengan Regresi Kuadrat Terkecil Parsial. *Jurnal Kimia*. 5(2): 101-108.
- Rosari, M. I., W. F. Ma'aruf. dan T. W. Agustini. 2014. Pengaruh Ekstrak Kasar Buah Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) sebagai Antioksidan pada Fillet Ikan Bandeng (*Chanos chanos* Forsk) Segar. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(2): 34-43.
- Saragih, J., J. Assa. dan T. Langi. 2010. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *rubrum*) Menghambat Oksidasi Minyak Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.). *JMTHP Unsrat*.
- Sarah, H., K. Hadiseh., A. Gholamhossein. dan S. Bahareh. 2010. Effect of Green Tea (*Camellia sinenses*) Extract and Onion (*Allium cepa*) Juice on Lipid Degradation and Sensory Acceptance of Persiansturgeon (*Acipenser persicus*) Fillets. *International Food Research Journal*. 17: 751 –761.
- Sartika, R. 2008. Pengaruh Asam Lemak Jenuh, Tidak Jenuh dan Asam Lemak Trans terhadap Kesehatan. *Jurnal Kesehatan Masyarakat Nasional*. 2(4): 154-160.
- Satria E. 2005. Potensi Antioksidan dari Daging Buah Muda dan Daging Buah Tua Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.). [Skripsi]. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Septiana, A. T. dan A. Asnani. 2012. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Sargassum duplicatum*. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 14(2): 79-86.
- Tamat, S.R., T. Wikanta. dan L.S. Maulina. 2007. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Ulva reticulata* Forsskal. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 5(1): 31-36.
- Ulfa, F., A. D. Anggo. dan Romadhon. 2014. Uji Potensi Aktivitas Antioksidan Dengan Metode Ekstraksi Bertingkat Pada Lamun Dugong (*Thalassia hemprichii*) di Perairan Jepara. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 3(3): 32-39.