

Penentuan Komposisi Asam Lemak Ekstrak Minyak Ikan Kembung (*Rastrelliger kanagurta*) dengan Gc-MS dan Uji Toksisitasnya Menggunakan Metode Bslt

Pratama Jujur Wibawa¹, Dwi Listiyorini¹, Enny Fachriyah¹

¹ Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Undip

ABSTRAK---Minyak ikan Kembung dapat diperoleh sebanyak kurang lebih 9,03 % v/b melalui proses ekstraksi sokshlet menggunakan pelarut kloroform. Komposisi asam lemak penyusun minyak ikan ini ditentukan dengan menggunakan instrumen GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectrometry*) dan toksisitasnya di uji terhadap *Artemia salina Leach* dengan metoda BSLT. Data GC-MS menunjukkan adanya 5 asam lemak mayor yang terkandung di dalam minyak ikan ini, yaitu asam miristat (17,86%), palmitoleat (19,96%), palmitat (20,16%), oleat (21,99%) dan stearat (22,19%). Sedangkan dari uji toksisitas menggunakan metode BSLT, diperoleh nilai LC₅₀ ekstrak minyak ikan sebesar 5,97 ppm.

Kata kunci: minyak ikan Kembung, ekstrak minyak ikan, minyak ikan mentah, asam lemak.

PENDAHULUAN

Pemanfaatan ikan laut di Indonesia sampai sejauh ini masih terbatas hanya sebagai bahan pangan. Hal ini memberi konsekuensi kepada nilai ekonomi ikan laut relatif rendah. Untuk meningkatkan nilai ekonomi ikan laut diperlukan penelitian yang mengarah kepada pembuatan produk-produk non pangan unggul, salah satu diantaranya adalah obat-obatan. Peluang ini bisa dibuka mulai dari minyak ikan yang dikandungnya yang ditengarai mengandung asam lemak tak jenuh majemuk yang cukup tinggi, mencapai sekitar 63,9 % dari total lemak yang ada dalam minyak ikan (Wertheim, 1947). Dua jenis asam lemak tak jenuh majemuk yang diduga paling potensial dapat digunakan sebagai bahan dasar obat-obatan adalah EPA (*Eicosapentaenoic acid*) dan DHA (*Docosahexaenoic acid*). Beberapa penelitian yang menguji peran EPA atau DHA dalam mengatasi berbagai penyakit yang berbahaya telah banyak dilakukan. Dalam hal ini Wibawa (2005) mengutip, diantaranya adalah penghambat atherosklerosis, kanker inflamasi, jantung, stroke, lupus, hipertensi, gangguan pertumbuhan dan kecerdasan, diabetes dan *antifungal*.

Mengingat begitu banyak manfaat minyak ikan bagi kesehatan maka potensi perikanan laut Indonesia perlu dipetakan untuk mencari sumber minyak ikan lokal yang mempunyai peluang untuk dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku industri obat-obatan. Sebagai tahap awal pada kesempatan ini dipilih ikan Kembung (*Rastrelliger kanagurta*)

sebagai sampel mengingat ikan ini merupakan jenis ikan lokal yang mudah diperoleh di perairan Indonesia dalam jumlah cukup besar, mencapai lebih dari 1 juta ton (BPS Jateng, 2002).

Ada tidaknya EPA/DHA dan jenis asam lemak lain yang merupakan penyusun minyak ikan Kembung ditentukan dengan alat GC-MS yang dilengkapi dengan *software* pustaka basis data senyawa-senyawa organik. Sementara itu untuk mengetahui potensinya sebagai obat, diuji toksisitasnya terhadap larva *Artemia salina Leach* berdasarkan metoda BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

METODE PENELITIAN

Alat

Satu set alat ekstraksi sokshlet, pemanas listrik, oven, viskosimeter Ostwald, akuarium, corong pisah 250 mL, piknometer 10 mL, buret 25 mL, *Buchii rotary evaporator* dan sejumlah peralatan gelas yang biasa dipakai dalam penelitian di laboratorium serta seperangkat instrumen GC-MS SHIMADZU QP-5000 yang dilengkapi dengan *soft ware* pustaka basis data senyawa-senyawa kimia. *Probit analysis software* untuk menghitung LC₅₀.

Bahan

Minyak ikan Kembung (*Rastrelliger kanagurta*), kloroform. Media penetasan telur *Artemia salina*: larutan garam NaCl 3,8 % dan *tween* 20. Untuk penentuan angka penyabunan dan bilangan asam: etanol 96 %,

KOH padat, indikator PP, indikator *metil orange*, boraks padat akuades, dan HCl 0,48 N.

Ekstraksi Minyak Ikan

Sekitar 70 gram serbuk kering ikan Kembung (kadar air 14,29 %) diekstraksi dengan soksklet menggunakan sekitar 300 mL pelarut kloroform selama 2 jam 10 menit atau 8 kali sirkulasi. Pelarut dipisahkan dengan *Buchii-rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak minyak ikan bebas kloroform. Minyak ikan ini kemudian dikarakterisasi yang meliputi densitas, viskositas, bilangan penyabunan dan bilangan asamnya, dan diuji toksisitasnya dengan metoda BSLT.

Penentuan Komposisi Asam Lemak

Komposisi asam lemak ekstrak minyak ikan Kembung ditentukan dengan GC-MS yang dilengkapi dengan kolom jenis RTX-5 MS panjang 30 meter dan dioperasikan pada suhu kolom 100-280°C, detektor FID dan digunakan gas helium sebagai fasa geraknya. Pada dasarnya asam lemak dan gliserida penyusun ekstrak minyak ikan diubah terlebih dahulu menjadi bentuk metil esternya menggunakan metanol dan Boron trifluorida (BF₃) sebagai katalis. Bentuk metil ester asam lemak ini kemudian diinjeksikan kedalam alat GC-MS.

Uji Toksisitas Ekstrak Minyak Ikan

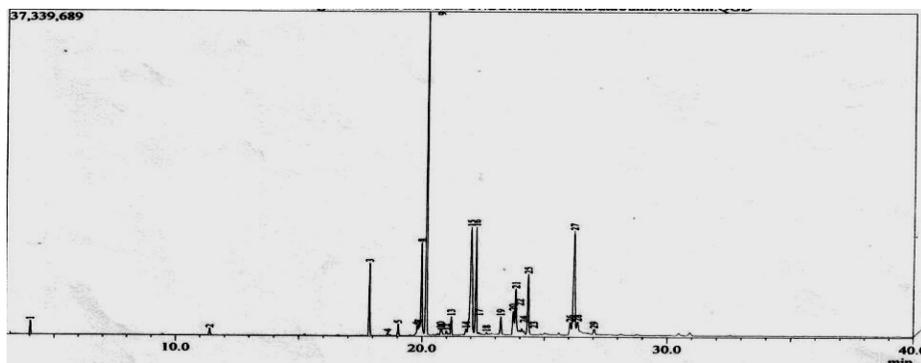
Telur *Artemia salina* Leach ditetaskan di dalam air yang mengandung garam NaCl sekitar 3,8 % b/v. Larva *Artemia salina* yang berumur 2 x 24 jam siap dipakai untuk uji toksisitas. Selanjutnya uji toksisitas dilakukan dengan memasukkan 10 mL ekstrak

minyak ikan dengan konsentrasi 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm dalam botol vial. Untuk melarutkan minyak ikan dalam larutan garam perlu ditambahkan *tween 20*. Sepuluh ekor larva *Artemia salina* dimasukkan dalam tiap botol vial tersebut. Botol vial dijaga agar tetap mendapat penerangan. Jumlah *Artemia salina* yang mati dalam tiap botol vial dihitung setelah 24 jam. Uji toksisitas ini dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali. Untuk menentukan nilai LC₅₀ digunakan program *Probit Analysis*, melalui hubungan antara konsentrasi sampel dengan persen kematian larva *Artemia salina*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil ekstraksi terhadap total 975 gram serbuk ikan Kembung, diperoleh minyak ikan sebanyak 88 mL. Hal ini berarti kadar minyak ikan Kembung sebesar 9,03 % v/b. Menurut Ikrawan (2004), ikan dengan kadar minyak 9,03 % ini dapat dikelompokkan kedalam kelompok ikan dengan kadar minyak yang tinggi. Secara visual ekstrak minyak ikan Kembung ini berupa cairan kental yang berwarna merah kehitaman dengan bau amis. Densitas ekstrak minyak ini pada suhu kamar sebesar 0,94 gram/mL dengan viskositas 83,49 Nsm⁻², angka penyabunan 132,62 dan angka asamnya 8,82. Densitas dan viskositas ekstrak minyak ikan ini, yang tidak lain merupakan sifat intrinsik keseluruhan sistem fluida, ternyata tidak jauh beda dengan densitas dan viskositas umum minyak ikan yang dilaporkan oleh Young (1986), yakni secara berurutan 0,91 gr/mL dan 60-90 cp. Selanjutnya kromatogram ekstrak minyak ikan ini ditampilkan pada Gambar 1.

K
e
l
i
m
p
a
h
a
n
(%)

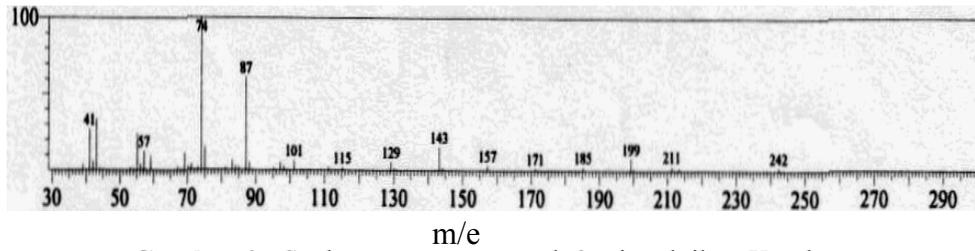


Waktu retensi (menit)

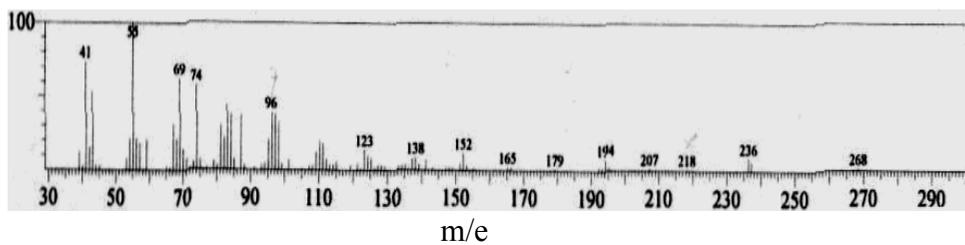
Gambar 1. Kromatogram minyak ikan Kembung

Puncak-puncak kromatogram pada Gambar 1 itu menunjukkan bahwa minyak ikan Kembang mengandung tidak kurang dari 29 jenis senyawa organik yang merupakan asam lemak atau turunannya. Dari 29 senyawa tersebut tampak terdapat 5 senyawa dominan yang direpresentasikan oleh puncak 3, 8, 9, 15 dan 16. Kelimpahan relatif dan waktu retensi

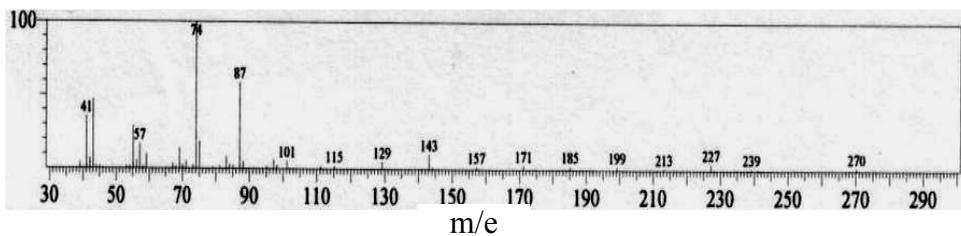
(menit) kelima puncak mayor tersebut secara berurutan adalah 3(5,13%/17,86), 8(7,26%/19,96), 9(24,71%/20,16), 15(15,80%/21,99) dan 16(8,12%/ 22,19). Kelima senyawa dominan inilah yang kemudian dilakukan fragmentasi massa yang spektranya ditampilkan secara berurutan pada Gambar 2, 3, 4, 5 dan 6.



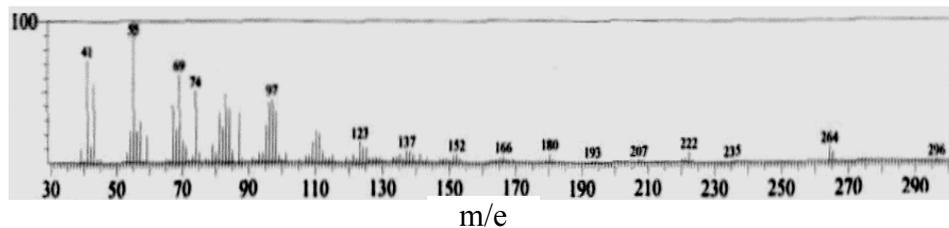
Gambar 2. Spektrum massa puncak 3 minyak ikan Kembang



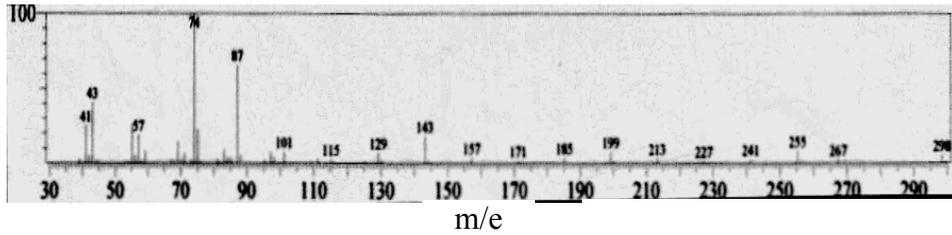
Gambar 3. Spektrum massa puncak 8 minyak ikan Kembang



Gambar 4. Spektrum massa puncak 9 minyak ikan Kembang



Gambar 5. Spektrum massa puncak 15 minyak ikan Kembang



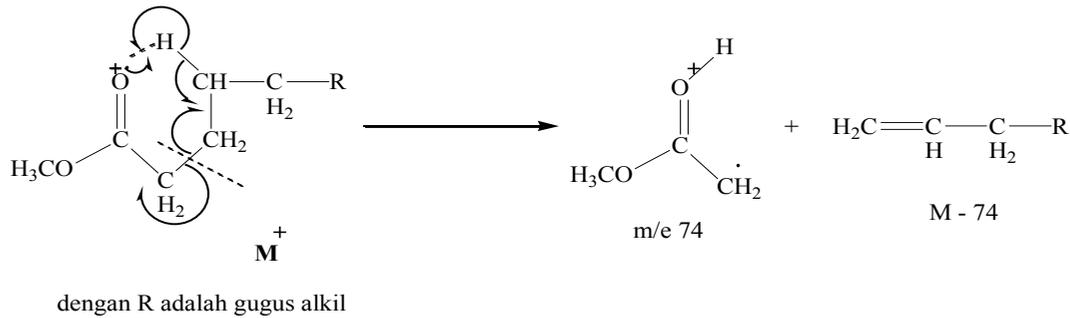
Gambar 6. Spektra massa puncak **16** minyak ikan Kembung

Pola spektra massa pada Gambar 2 s.d 6 tersebut kemudian dibandingkan dengan pola spektra yang terdapat pada pustaka basis data berdasarkan indeks kemiripannya. Perbandingan puncak-puncak ion molekul spektra massa asam lemak penyusun sampel ekstrak minyak ikan dan basis data di tampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan puncak-puncak ion molekul asam lemak penyusun ekstrak minyak ikan Kembung dengan pustaka basis data GC-MS

No. puncak	m/e*		Indeks Kmr pn (%)	BM/ Rumus molekul	Nama
	Sampel	Basis data			
3	242, 211, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 115, 101, 87, 74 , 57, 41	242, 211, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 115, 101, 87, 74 , 57, 41	97	242/ C ₁₅ H ₃₀ O ₂	Metil tetradekanoat/ Metil miristat
8	268, 236, 218, 207, 194, 179, 165, 152, 138, 123, 96, 74, 69, 55 , 41	236, 194, 152, 138, 123, 96, 74, 69, 55 , 41	97	268/ C ₁₇ H ₃₂ O ₂	Metil-9- heksadekanoat/ Metil palmitoleat
9	270, 239, 227, 213, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 115, 101, 87, 74 , 57, 41	270, 239, 227, 199, 185, 171, 143, 129, 115, 101, 87, 74 , 57, 43, 41	96	270/ C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Metil heksadekanoat/ Metil palmitat
15	296, 264, 235, 222, 207, 193, 180, 166, 152, 137, 123, 97, 74, 69, 55 , 41	264, 222, 180, 137, 123, 98, 87, 74, 69, 55 , 41	95	296/ C ₁₉ H ₃₆ O ₂	Metil-9- oktadekanoat/ Metil oleat
16	298, 267, 255, 241, 227, 213, 199, 185, 171, 157, 143, 129, 115, 101, 87, 74 , 57, 43, 41	298, 267, 255, 241, 213, 199, 185, 171, 143, 129, 115, 101, 87, 74 , 57, 41	96	298/ C ₁₉ H ₃₈ O ₂	Metil oktadekanoat/ Metil stearat

**)bagian yang dicetak tebal menunjukkan puncak dasar*



Gambar 12. Mekanisme fragmentasi homolitik gugusan metil ester asam lemak menurut Mc.Laferty

Dari Tabel 1 terlihat puncak-puncak fragmen massa ion molekul lima jenis asam lemak penyusun sampel minyak ikan kembung memiliki indeks kemiripan sebesar 95-97 % dengan asam lemak pustaka basis data. Nilai indeks kemiripan yang tinggi ini mengisyaratkan bahwa struktur asam lemak yang ditawarkan oleh basis data dapat diterima sebagai representasi struktur asam lemak penyusun ekstrak minyak ikan kembung dengan rentang kemungkinan kesalahan hanya 3-5 %. Dari Gambar 2 s.d 6 terlihat pula bahwa spektra massa ion molekul asam lemak sampel untuk puncak 3, 9 dan 16 memiliki puncak dasar 74 sementara puncak 8 dan 15 memiliki puncak dasar 55. Puncak dasar spektra massa asam lemak sampel ini ternyata juga sama dengan puncak dasar pustaka basis data seperti yang dapat dilihat pada Tabel 1.

Puncak dasar 74 ini menurut Mc.Laferty dalam Silverstein (1986) merupakan hasil fragmentasi homolitik metil ester pada posisi atom C2-C3 dari struktur asam lemak pada umumnya, seperti yang dilukiskan pada Gambar 12.

Dengan mempertimbangkan kemiripan yang tinggi antara fragmen massa asam lemak sampel dan asam lemak pustaka basis data (Tabel 1) maka dapat diterima kebenarannya kalau asam lemak penyusun ekstrak minyak ikan Kembung didominasi oleh asam stearat (22,19%), oleat (21,99%), palmitat (20,16%), palmitoleat (19,96%) dan miristat (17,86%). Diperkirakan kelima jenis asam lemak ini pula yang secara dominan menentukan sifat-sifat kimia maupun biologi ekstrak minyak ikan Kembung.

Berdasarkan hasil uji toksisitas ekstrak minyak ikan Kembung terhadap larva *Artemia salina* Leach, yang datanya diolah dengan *probit analysis software*, diketahui bahwa ekstrak minyak ikan Kembung ini memiliki nilai LC_{50} sebesar 5,97 ppm. Hal ini berarti kelima jenis asam lemak ini dapat bekerja secara sinergis untuk memberikan sifat toksik (sitotoksik) terhadap sel larva *Artemia salina* Leach. Menurut evaluasi Mayer *et al* (1982) suatu ekstrak bahan alam yang memiliki LC_{50} pada uji toksisitas menggunakan metoda BSLT berpotensi sebagai antikanker.

Dengan diketahuainya kelima jenis asam lemak penyusun mayor ekstrak minyak Kembung ini, terungkap pula bahwa senyawa EPA dan DHA tidak ditemukan atau paling tidak bukan merupakan penyusun dominan ekstrak minyak Kembung lokal Indonesia. Namun dari uji toksisitasnya dengan metoda BSLT, terungkap pula bahwa potensi minyak ikan sebagai obat tidak hanya ditentukan oleh adanya EPA dan atau DHA saja.

KESIMPULAN

Dari uraian tersebut diatas dapat disimpulkan bahwa asam stearat (22,19%), oleat (21,99%), palmitat (20,16%), palmitoleat (19,96%) dan miristat (17,86%) merupakan penyusun mayoritas ekstrak minyak ikan Kembung lokal Indonesia dan secara sinergis bekerja memberikan sifat toksik LC_{50} sebesar 5,97 ppm terhadap larva *Artemia salina* Leach.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada mahasiswa saya Kimia 2002: Yuni, Rini, Metty yang telah mengerjakan sebagian dari

topik penelitian saya tentang potensi sumber daya perikanan laut lokal Indonesia sebagai sumber bahan baku industri non pangan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Pusat Statistik, **2002**, Produksi dan Nilai Produksi Perikanan Laut Jawa Tengah, *Laporan Survey Regular*, BPS Propinsi Jawa Tengah, Semarang.
 2. Ikrawan, Y., **2004**, *Minyak Ikan dan Omega 3*, Cakrawala, Jakarta
 3. Kitajka, K., Laszlo G. P, Agnes Z., Laszlo H. Jr., Gwendolyn B-C, Young K. Y., Tibor F., **2001**, The Role of n-3 Polyunsaturated Fatty acid in Brain: Modulation of Rat Brain Gene Expression by Dietary n-3 Fatty Acid, *Proceeding of the National Academy of Science*, **99(5)**, p.2619-2624.
 4. Lee, D., **1997**, *Essential Fatty acids*, Woodland Publishing, Inc., UT
 5. Listyorini, D., **2006**, Karakterisasi dan Penentuan Komposisi Asam Lemak Minyak Ikan Kembang (*Rastrelliger kanagurta*) serta Uji Toksisitasnya Menggunakan Metode BSLT, *Draft Skripsi S1 Jurusan Kimia FMIPA Undip*.
 6. Meyer, B. N., Ferigni, N. R., Putnam, J. E., Ja Cobsen, L. B., Nichols, D. E. and McLaughlin, J. L., **1982**, *Brine Shrimp : a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituen*, Planta Medika.
 7. Puskas, L.G., Klara K., Csaba N., Gwendolyn B-C, Tibor F., **2002**, Short-Term Administration of Omega 3 Fatty Acid from Fish Oil Results in Increased Transthyretin Transcription in Old Rat Hippocampus, *Proceeding of the National Academy of Science*, **100(4)**, p.1580-1585.
 8. Roberts and Royston, M., **1969**, *Modern Experimental Organic Chemistry*, Rinehart and Winston, Inc., New York.
 9. Wertheim, E., **1947**, *Organic Chemistry*, 2nd.ed., The Blakiston Company, Philadelphia.
 10. Wibawa, P.J., **2005**, Eksplorasi Potensi Minyak Ikan Layang sebagai Sumber Bahan Baku Industri Non-Pangan Baru di Indonesia, *Jurnal MIPA*, **28(5)**, hal.202-208.
-