

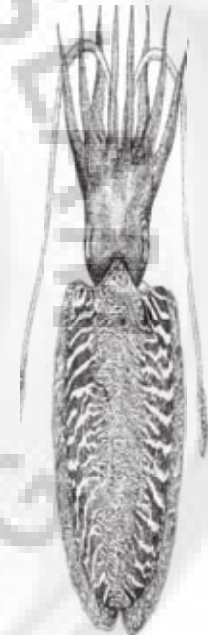
BAB I

TINJAUAN PUSTAKA

1.1. Klasifikasi Sotong (*Sepia* sp.)

Menurut Jereb dan Roper (2005), klasifikasi sotong sebagai berikut:

| | |
|-----------|---|
| Kerajaan | : Animalia |
| Filum | : Mollusca |
| Kelas | : Cephalopoda |
| Ordo | : Sepiida |
| Familia | : Sepiidae |
| Genus | : <i>Sepia</i> Linnaeus, 1758 |
| Spesies | : <i>Sepia</i> sp.(Jereb dan Roper, 2005:99) |
| Nama umum | : Sotong (Indonesia) Cuttlefish (Inggris) Balakutak, Blekutak (Sunda, Jawa) |



Gambar I.1 Sotong (Jereb dan Roper, 2005:99)

1.1.1. Deskripsi sotong

Sotong merupakan hewan laut yang termasuk kedalam genus *Sepia*. Sotong memiliki bentuk tubuh bulat sedangkan cumi-cumi memiliki tubuh menyerupai tabung. Sotong memiliki 8 lengan dengan 2 tentakel panjang. Tentakel ini berfungsi sebagai alat untuk menangkap mangsa dan menjerat mangsa, memiliki cangkang yang berisi mantel dan memiliki tinta sebagai alat pertahanan diri.

Habitat sotong beragam termasuk di terumbu karang. Sotong spesies *Sepioteuthis lessoniana* yang terkenal dengan sebutan sotong karang merupakan jenis sotong yang terbesar. Mantelnya dapat mencapai 26 cm dengan berat mencapai 1,8 kg. Sotong hidup bergerombol di pantai, dan bernilai ekonomis tinggi di pasar internasional jika dibandingkan dengan cumi-cumi yang masih dikembangkan secara tradisional dan skala kecil (Kordi dan Ghufuran, 2010:49-50).

Sotong termasuk kedalam filum *Moluska*. *Moluska* merupakan hewan lunak dan tidak memiliki ruas. Tubuh hewan ini triploblastik, bilateral simetri, umumnya memiliki mantel yang menghasilkan bahan cangkang berupa kalsium karbonat. Namun terdapat kelompok *Moluska* yang tidak mempunyai cangkang luar atau cangkang yaitu Sotong (*Sepia* sp.), Gurita (*Octopus* sp.), Cumi-cumi (*Loligo vulgaris*) dan Siput telanjang (Rusyana, 2011:86).

Sotong memiliki tubuh relatif pendek yang menyerupai kantung, mata tanpa kelopak dan dilapisi selaput transparan, cangkang terdapat didalam mantel, berwarna putih, tebal dan terbuat dari kapur. **Gambar I.2.** menunjukkan struktur anatomi sotong.



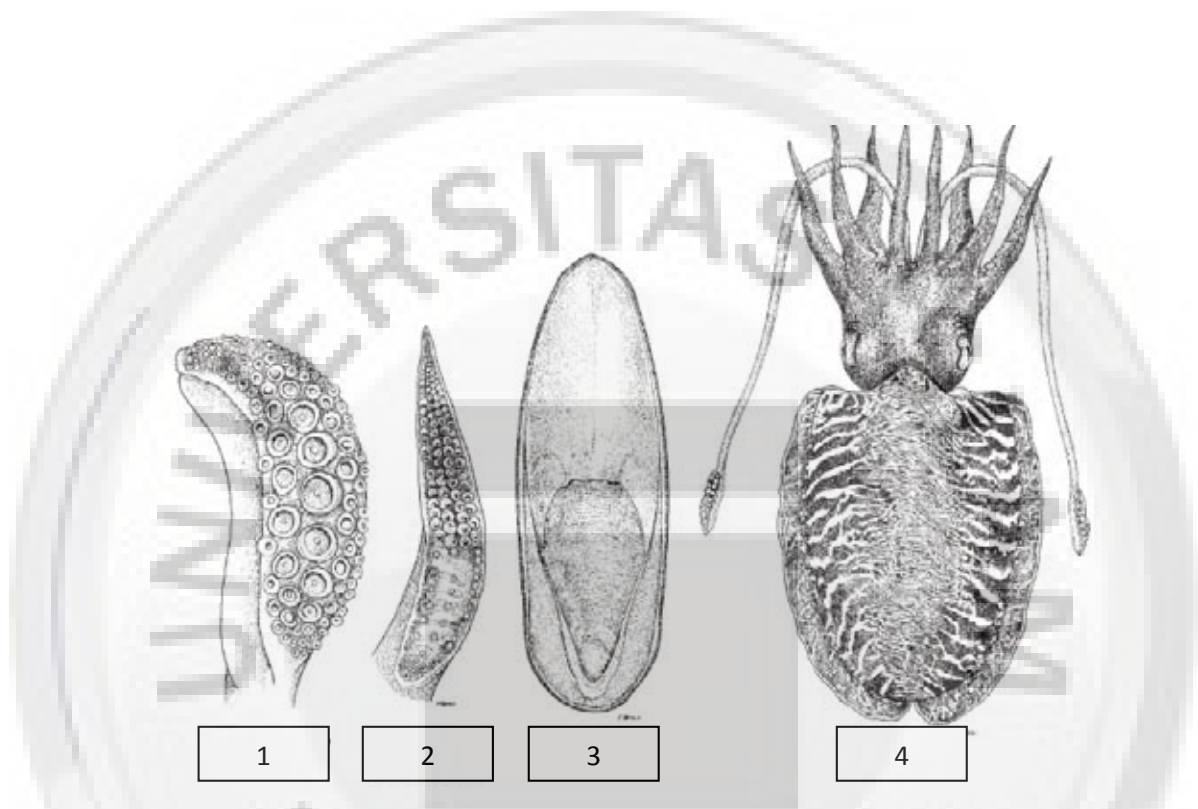
Gambar I.2 Anatomi sotong (*Sepia* sp.) (Marine bio sites.org, 2015)

Keterangan:- Arm= Lengan

- Feeding Tentacles = Tentakel untuk mencari makan
- Eye= Mata
- Cuttlebone= Cangkang sotong
- Stomach = Perut
- Hearts= Jantung
- Ink sack= Kantung tinta
- Propulsion = Alat tenaga penggerak

Sotong memiliki tinta yang digunakan sebagai alat pertahanan diri yang terdapat dalam suatu kantung pada tubuhnya. Memiliki kepala besar dengan 8 lengan dan 2 tentakel panjang yang disembunyikan dalam kantung pada dasar tentakel. Tentakel ini berfungsi untuk menangkap mangsa berupa ikan-ikan kecil dan *Crustacea* dan terdapat batil isap (*sucker*) pada tentakel dan lengannya. Salah satu lengan pada sotong mengalami modifikasi yang disebut dengan *hectocotylus*

yang berperan sebagai alat untuk memindahkan sperma kepada pasangannya dan merangsang sotong betina. **Gambar I.3.** memperlihatkan bagian– bagian dari sotong secara umum.



Gambar I.3 Morfologi sotong (Jereb dan Roper, 2005).

Keterangan: 1= Tentakel, 2= Hektokotilus, 3= cangkang dan
4= Sotong yang dilihat dari punggung.

Sotong hidup di teluk dan laut terbuka namun terdapat pula di laut dalam. Sotong termasuk kedalam hewan demersal dan suka hidup menyendiri (soliter), serta lebih menyukai berada di sekitar karang. Pada malam hari, sotong bermigrasi ke perairan dangkal untuk mencari makan berupa ikan-ikan kecil dan pada umumnya nelayan menangkap sotong pada malam hari dengan menggunakan lampu *petromax*, adanya cahaya lampu membuat sotong mudah ditangkap mengingat sotong memiliki sifat fototaksis aktif (suka mendekati

cahaya). Kemampuan berenang sotong merupakan yang paling menonjol karena adanya sirip lateral yang panjang dan lentur, dengan kemampuannya menghasilkan semburan air dari rongga mantel melalui sifon, dan umumnya merupakan pemangsa (predator) (Kordi dan Ghufuran, 2010:144-145,148-149).

1.1.2. Kandungan kimia sotong

Sotong memiliki kandungan unsur gizi seperti omega-3 0,179 g, kolesterol 95,0 mg, lemak total 0,590 g, protein 13,80 g, lemak jenuh 0,100 g dan natrium 316 mg (Ainsworth, 2009:133). Komposisi kimia lain yang terkandung didalamnya ialah kalsium, kalium, besi, seng, lemak dan fosfor (Thanonkaew dkk., 2006:591-599). Selain itu sotong banyak mengandung asam lemak tak jenuh dan asam amino essensial yang dibutuhkan oleh tubuh. Perbedaan kandungan gizi pada sotong disebabkan adanya perbedaan spesies dan kondisi biologis sotong, perbedaan tersebut dapat pula disebabkan karena adanya ketersediaan makanan pada perairan serta jenis sotong itu sendiri (Papan dkk., 2011:154-157). Selain itu sotong mengandung asam lemak tak jenuh terutama golongan PUFA seperti DHA dan EPA (Kordi dan Ghufuran, 2010:140).

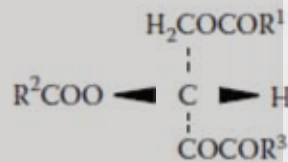
1.2. Lipid

Lipid merupakan senyawa yang mengandung atom karbon dan hidrogen yang umumnya hidrofobik, tidak larut dalam air namun larut dalam pelarut organik seperti kloroform, hidrokarbon atau alkohol. Secara biologis, golongan yang penting dari lipid ialah lemak netral, lipid terkonjugasi dan sterol. Lemak netral terdiri dari asam lemak dalam bentuk trigliserida (tiga molekul asam lemak

yang teresterifikasi menjadi satu molekul gliserol). Lipid terkonjugasi terbentuk dari pengikatan gugus fosfat atau gula ke molekul lemak. Kolesterol merupakan contoh sterol. Komponen utama lipid dapat dijumpai dalam plasma ialah fosfolipid, trigliserida dan kolesterol, ketiganya terdapat dalam darah sebagai lipoprotein yaitu suatu makromolekul yang lebih besar dari lipid dan protein khusus apolipoprotein (Ronald dan Richard, 2004:300).

1.2.1. Lemak

Lemak adalah ester antara asam lemak dan gliserol, trigliserida (triasil gliserol). Trigliserida memiliki tiga sisi penyusun asam lemak yang sama sehingga $R_1=R_2=R_3$. Struktur Trigliserida dapat dilihat pada **Gambar I.4**.



Gambar I.4 Struktur trigliserida (Gunstone dkk., 2007:17)

Dalam tubuh manusia, hewan maupun tumbuhan, lemak banyak dijumpai. Lemak tersusun atas gliserol dan asam lemak. Gliserol merupakan alkohol yang pada suhu kamar berbentuk cairan dan tidak berwarna, rasanya manis, dapat bercampur dengan air, tetapi tidak larut dalam karbon tetraklorida, kloroform dan benzena. (Sumardjo, 2006:265).

1.2.2. Kolesterol

Kolesterol merupakan konstituen penting dalam pembentukan membran sel. Kolesterol dapat bersumber dari makanan dan sintesis endogen dalam tubuh.

Pada keadaan normal, kolesterol mengalami sintesis, penguraian dan daur ulang, sehingga komponen kolesterol yang berasal dari makanan tidak penting untuk reaksi-reaksi metabolik esensial (Ronald dan Richard, 2004:300). Kolesterol berfungsi sebagai prekursor garam-garam empedu, senyawa mirip deterjen yang berfungsi dalam proses pencernaan dan penyerapan lemak (Marks dkk., 1996:477). Kolesterol dibutuhkan dalam jumlah yang sedikit namun bila kadar kolesterol dalam darah cukup tinggi maka akan terjadi pengendapan dalam dinding pembuluh darah dan dapat meningkatkan terjadinya resiko penyakit jantung (Vella, 2001).

1.2.3. Asam Lemak

Menurut Davenport dan Johnson (1971), asam lemak merupakan asam organik dengan atom karbon 4-24, memiliki gugus karboksil tunggal dan ujung hidrokarbon nonpolar yang panjang. Asam lemak yang terdapat pada tanaman, manusia, ataupun hewan mempunyai jumlah atom karbon genap. Pada manusia, asam lemak terutama dibentuk di hati, dengan glukosa makanan sebagai sumber utama karbon (Marks dkk, 1996:492).

a. Penggolongan Asam Lemak

1). Berdasarkan Jumlah Karbon

Menurut jumlah atom karbon yang mengikat pada gliserida, asam lemak terdiri dari tiga jenis yaitu asam lemak berantai pendek dengan jumlah atom karbon (C) 4-6 buah, asam lemak dengan rantai sedang yang memiliki jumlah karbon (C) 8-12 buah, dan asam lemak dengan rantai panjang yang memiliki

jumlah atom karbon (C) 12-24 buah. Semakin panjang rantai karbon suatu asam lemak, maka semakin tinggi tingkat kejenuhannya dan cenderung semakin cair bentuk fisiknya (Suhardjo dan Kusharto, 1992:38).

2). Berdasarkan Kejenuhan

Berdasarkan kejenuhannya, asam lemak terbagi menjadi dua bagian yaitu asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh (Sumardjo, 2006:265).

a). Asam lemak jenuh

Asam lemak jenuh (*Saturated fatty acids*) merupakan asam lemak normal yang dibuat oleh tubuh. Asam lemak jenuh tidak memiliki ikatan rangkap karbon ($\text{CH}=\text{CH}$) dalam struktur kimianya (Ackman, 1994). Pada umumnya, asam lemak jenuh merupakan unit penyusun lemak hewan atau manusia. Kelarutan asam lemak jenuh dalam air semakin berkurang dengan bertambahnya jumlah karbon penyusunnya, asam lemak jenuh umumnya tidak larut dalam air (Sumardjo, 2006:266).

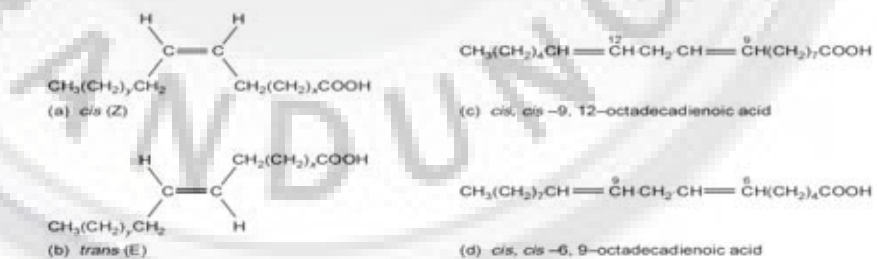
b). Asam lemak tak jenuh

Asam lemak tak jenuh merupakan asam lemak yang memiliki rantai karbon dengan satu /lebih ikatan rangkap dan ikatan rangkap tersebut bersifat nonkojugasi, sehingga letak ikatan rangkap tidak berdekatan, tetapi dipisahkan oleh gugus metilen ($-\text{CH}_2$). Asam lemak tak jenuh memiliki titik lebur yang lebih rendah dibandingkan dengan yang jenuh. Semakin tinggi derajat kejenuhan suatu asam lemak, maka semakin rendah titik leburnya. Jumlah asam lemak tak jenuh

yang menyusun lipid alami lebih banyak dibandingkan dengan asam lemak jenuh, dan terbentuk sebagai cairan berminyak pada suhu tubuh. Asam lemak tak jenuh yang lama telah dikenal ialah asam oleat, asam lemak linoleat, asam arakidonat (Sumardjo, 2006:267). Asam lemak tak jenuh terbagi menjadi asam lemak tak jenuh dengan satu ikatan rangkap (MUFA) dan asam lemak tak jenuh dengan ikatan rangkap majemuk (PUFA) (Ackman, 1994:35).

3). Isomer geometris

Asam lemak dapat dibedakan berdasarkan isomer geometris atau posisi geometris nya yang terdiri dari posisi cis dan posisi trans. Posisi isomer terjadi ketika ikatan rangkap terletak pada bagian yang berbeda dalam rantai karbon. Bentuk cis merupakan bentuk dimana dua substituen hidrogen yang berada pada sisi yang sama dari molekul, sedangkan bentuk trans berada dalam sisi yang berbeda. Berikut contoh gambar asam lemak tak jenuh berdasarkan isomer geometris pada **Gambar I.5**.



Gambar I.5 Contoh asam lemak tak jenuh berdasarkan posisi geometris

(Gurr dkk., 1988:2)

b. Tata nama

Asam lemak tak jenuh *Monounsaturated* hanya memiliki satu ikatan rangkap sedangkan asam lemak *Polyunsaturated* memiliki dua ikatan rangkap atau lebih. Letak ikatan rangkap dinyatakan oleh nomor karbon yang terlibat dalam ikatan. Misalnya asam oleat yang mengandung 18 atom karbon dan sebuah ikatan rangkap antara posisi 9 dan 10 dapat dinyatakan dengan 18 :1, Δ^9 . Angka 18 menunjukkan jumlah atom karbon, 1 menunjukkan jumlah ikatan rangkap dan Δ serta pangkat menunjukkan posisi ikatan rangkap dan terkadang Δ^9 dihilangkan dan asam oleat dinyatakan dengan 18 :1 (9). Asam lemak dapat diklasifikasikan berdasarkan jarak ikatan rangkap yang biasa diberi simbol ω (omega) (Marks, Marks dan Smith, 1996:56). ω dihitung dari letak ikatan rangkap pertama dan gugus metil yang paling ujung (Akoh dan Min, 2002: 24).

1.3. Omega-3

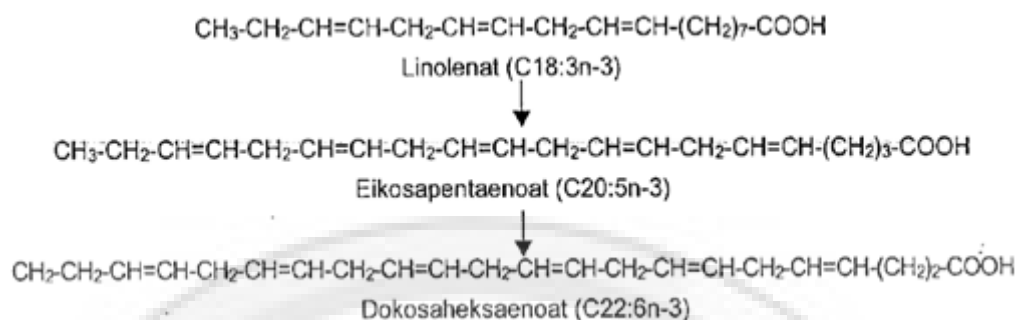
Asam lemak omega-3 merupakan asam lemak yang mempunyai ikatan rangkap pada atom karbon nomor 3 dihitung dari ujung gugus metil. Dalam tubuh, asam lemak omega-3 disintesis dari asam α -linolenat melalui proses desaturasi (pengurangan kejenuhan) dan elongasi(penambahan panjang rantai). Asam lemak omega-3 bersifat tak jenuh dan berwujud cair pada suhu ruangan. Asam lemak ini sangat mudah teroksidasi karena jumlah ikatan rangkapnya banyak sehingga asam lemak omega-3 bersifat tidak stabil, asam lemak omega-3

yang penting yang banyak terkandung dalam minyak ikan ialah DHA dan EPA (Estiasih, 2009: 12).

Manfaat asam lemak omega-3 ialah mencegah penyakit kanker. Berdasarkan observasi terhadap suku Inuit di Greenland menunjukkan pada populasi ini, pengidap kanker payudara sangat rendah, hasil penelitian Leitzmann et al,(2004) menunjukkan bahwa asam lemak omega-3 menghambat pertumbuhan tumor prostat (Estiasih, 2009:30).

1.4. DHA dan EPA

Asam lemak omega-3 penting dalam minyak ikan adalah asam Eikosapentanoat (EPA) dan asam Dokosaheksanoat (DHA). DHA dan EPA menurut beberapa ahli merupakan asam lemak essential walaupun tubuh dapat mensintesis keduanya, sintesis berjalan dengan lambat sehingga diperlukan asupan dari makanan. DHA merupakan nutrisi penting yang terutama diperoleh dari minyak ikan dengan kandungan 5-20%. EPA dalam tubuh digunakan sebagai prekursor pembentukan prostaglandin yang berfungsi sebagai antiinflamasi, agregasi platelet, vasodilator dan fungsi otot polos (Gunstone dkk., 2007:11). EPA dan DHA menghambat aktivitas enzim siklooksigenase sehingga menurunkan pembentukan prostaglandin dari asam arakidonat (Estiasih, 2009:31). **Gambar I.6.** menunjukkan konversi asam α -linolenat menjadi EPA dan DHA.



Gambar I.6 Konversi asam linolenat menjadi EPA dan DHA (Ackman,1997:295).

1.5. Ekstraksi Minyak yang berasal dari Hewan

Ekstraksi minyak dapat dilakukan dalam 3 metode yaitu metode rendering (pengukusan), pengepresan dan metode ekstraksi menggunakan pelarut. Metode rendering (pengukusan) digunakan untuk mengekstraksi minyak hewan dengan menggunakan cara pemanasan. Pemanasan dapat dilakukan dengan air panas (*wet rendering*), lemak akan mengapung dan dapat dipisahkan, pengukusan dilakukan pada suhu 95°C , dan menggunakan ketel vakum yang bertujuan untuk mengendapkan protein, protein akan rusak oleh panas dan air akan menguap sehingga lemak dapat dipisahkan. Metode ekstraksi kedua menggunakan pengepresan dimana bahan dipotong-potong atau dihancurkan kemudian ditekan (dipres) dengan tekanan tinggi menggunakan tekanan hidrolis atau *screw press*. Namun kelemahan dari metode ini yaitu menghasilkan rendemen yang rendah. Metode terakhir ialah ekstraksi menggunakan pelarut dan digunakan untuk bahan dengan kandungan minyak rendah, dilakukan dengan cara melarutkan minyak dalam pelarut minyak atau lemak (Winarno, 1984:99). Ekstraksi yang biasa

digunakan ialah dengan menggunakan refluks dan ekstraksi sinambung dengan alat soxhlet. Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik selama waktu tertentu dan sesuai titik didih pelarut tersebut (Departemen Kesehatan RI, 2000:11).

Prinsip kerja refluks ialah penarikan komponen kimia dimana sampel bersatu dengan pelarut kemudian dipanaskan, uap dari pelarut akan mengalami kondensasi pada kondensor menjadi tetesan cairan yang akan menyari sampel kemudian kembali menuju labu alas bulat secara berkesinambungan hingga pengambilan senyawa sempurna. Perlunya penggantian pelarut agar senyawa yang tertarik lebih banyak dan selalu baru sehingga filtrat yang dihasilkan lebih banyak (Akhyar, 2010). Pelarut minyak atau lemak yang biasa digunakan ialah eter, benzena, n-heksana dan karbon disulfida (Ketaren, 1986).

1.6. Pemurnian Minyak

Tujuan dilakukan pemurnian minyak adalah untuk mencegah timbulnya warna yang tidak menarik, memperpanjang masa simpan minyak sebelum digunakan, menghilangkan rasa dan bau yang tidak enak. Senyawa pengotor yang biasa terkandung dalam minyak ialah gum yaitu getah atau lendir yang terdiri dari fosfatida, protein, residu, karbohidrat, air dan resin.

1.6.1. Degumming

Degumming merupakan proses pemisahan getah atau lendir yang terdiri fosfatida, protein tanpa mengurangi jumlah asam lemak bebas dalam minyak. Proses ini dilakukan dengan cara penambahan asam fosfat ke dalam minyak kemudian dipanaskan sehingga membentuk senyawa fosfolipid yang lebih mudah terpisah dari minyak, kemudian dilakukan sentrifugasi (Dadang, 2006: 56).

1.6.2. Netralisasi

Proses pemisahan asam lemak bebas dari minyak atau lemak dengan cara mereaksikan asam lemak bebas dengan basa atau pereaksi lain sehingga membentuk sabun disebut netralisasi. Pemisahan asam lemak dapat pula dilakukan dengan penyulingan (deasidifikasi) (Dadang, 2006: 56).

1.6.3. Bleaching (Proses pemucatan)

Tahap ini merupakan pemurnian minyak untuk menghasilkan zat-zat warna yang tidak disukai dalam minyak. Pemucatan dapat dilakukan dengan mencampur minyak dengan sejumlah kecil adsorben, seperti arang aktif dan lempung aktif. Adsorben menyerap zat-zat warna pengotor sehingga minyak akan lebih jernih (Dadang, 2006: 56).

1.6.4. Proses penghilangan bau (deodorisasi)

Proses ini didasarkan pada perbedaan volatilitas antara minyak dengan komponen pengotor. Komponen pengotor ini diuapkan dari minyak pada saat minyak tidak rusak dengan kondisi vakum. Alatnya *deodorize*, cara kerjanya ialah

minyak diberi perlakuan vakum dan suhu ditingkatkan disertai pengadukan dan pengaliran gas. Gas yang digunakan ialah uap air panas. Kondisi vakum menyebabkan komponen *volatile* menguap dan mengurangi gas yang dibutuhkan, setelah minyak dideodorisasi, segera dilakukan proses pendinginan. Komponen utama yang dihilangkan ialah asam lemak bebas (Estiasih, 2009:87).

1.7. Parameter Spesifik dan Non Spesifik

1.7.1. Parameter Spesifik

Parameter spesifik meliputi identitas, organoleptik dan senyawa terlarut dalam pelarut tertentu (Kadar sari). Prinsip pengujian organoleptik ialah kemampuan menggunakan panca indera yang mendeskripsikan warna, bau, dan rasa. Warna dari minyak berbeda-beda tergantung bahan yang digunakan dan dilihat adanya kekeruhan pada minyak tersebut, untuk bau, dilihat apakah tercium bau tengik atau tidak. Jika tengik, maka menandakan minyak tersebut sudah mengalami oksidasi dan penurunan kualitas mutu, dan rasa dari minyak umumnya tidak berasa. Tujuan pengujian organoleptik ialah sebagai pengenalan awal yang sederhana dan seobyektif mungkin (Departemen Kesehatan RI, 2000 :31).

1.7.2. Parameter non spesifik

Parameter non spesifik yang dilakukan pada simplisia ialah kadar air dan kadar abu baik kadar abu total maupun kadar abu tidak larut asam. Namun parameter non spesifik yang dilakukan untuk pengujian minyak meliputi :

a. Kadar air

Kadar air merupakan pengukuran kandungan air pada bahan dan dilakukan dengan cara titrasi, destilasi dan gravimetri. (Departemen Kesehatan RI, 2000:14). Pengujian kadar air dilakukan bertujuan untuk mengetahui kandungan air yang terkandung dalam suatu simplisia. Semakin tinggi kadar air dalam suatu simplisia maka semakin tinggi kemungkinan terjadinya kontaminasi mikroba. Kadar air merupakan jumlah air yang terkandung dalam bahan pangan. Kadar air yang tinggi menyebabkan bakteri, kapang, khamir mudah untuk berkembang biak sehingga akan terjadi perubahan pada bahan pangan (Winarno, 1997). Selain itu kadar air yang tinggi dapat mempercepat pembusukkan pada bahan pangan. Kadar air dilakukan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam bahan (Departemen Kesehatan RI, 2000:14).

b. Kadar abu

Kadar abu dilakukan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal hingga terbentuk ekstrak (Departemen Kesehatan RI, 2000:17). Kadar abu dilakukan dengan cara memanaskan bahan atau mengabukannya pada suhu yang sangat tinggi (500-600⁰C) dalam tanur. Proses pengabuan dianggap selesai jika telah didapatkan bobot krus yang konstan dan diperoleh sisa pembakaran berupa abu berwarna putih. Terdapat kadar abu total, kadar abu larut air dan kadar abu tidak larut asam. Kadar abu total untuk melihat baik tidaknya suatu pengolahan. Sedangkan kadar

abu tidak larut asam memperlihatkan adanya pengotor pasir atau kotoran lain (AOAC, 2005).

1.8. Parameter pengujian mutu minyak

1.8.1. Bilangan Asam

Bilangan asam didefinisikan sebagai jumlah Kalium Hidroksida yang dibutuhkan untuk menetralkan asam lemak bebas yang terdapat dalam satu gram minyak (Gunstone, 2007:423). Angka asam umumnya menggunakan basa (NaOH atau KOH), angka asam yang tinggi menunjukkan kualitas minyak rendah karena semakin banyak yang mengalami hidrolisis (Panagan dkk., 2011:40). Dapat dihitung dengan rumus (Rasyid, 2003:14).

$$\text{Bilangan Asam} = \frac{\text{ml KOH} \times N \text{ KOHX } 56,1}{\text{Gram sampel}}$$

1.8.2. Bilangan Penyabunan

Bilangan penyabunan merupakan jumlah mg Kalium Hidroksida yang dibutuhkan untuk mengikat asam bebas dan untuk menyabunkan ester 1 gram senyawa. Kualitas minyak dapat ditentukan dengan melihat rantai C yang terkandung dalam minyak, rantai C pendek memiliki berat molekul lebih kecil sehingga bilangan penyabunan akan semakin besar (Panagan.,Yohandini dan Gultom, 2011:39). Semakin besar bilangan penyabunan maka semakin baik

kualitas minyak, karena semakin banyak yang menghidrolisis. Dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut (Rasyid, 2003:14).

$$\text{Bilangan Penyabunan} = \frac{28,05 \times (\text{titran blanko} - \text{titran contoh})}{\text{berat contoh}}$$

1.8.3. Bilangan Peroksida

Bilangan peroksida merupakan indikator utama ketengikan (oksidasi). Bilangan peroksida menunjukkan oksidasi yang baru terjadi (Estiasih, 2009:47). Semakin tinggi bilangan peroksida maka semakin tinggi tingkat ketengikan minyak dan kualitas minyak yang dihasilkan semakin buruk. Nilai maksimum untuk bilangan peroksida ialah 5 mek/kg untuk minyak lain sedangkan untuk minyak *virgin* 10 mek/kg (Estiasih, 2009: 47). Dapat dihitung dengan rumus (Sudarmadji, 1984).

$$\text{Bilangan peroksida} = \frac{\text{ml titran (contoh blanko)} \times \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 1000}{\text{gram contoh}}$$

1.9. Transesterifikasi

Proses esterifikasi dilakukan pada asam lemak yang telah dipisahkan dari proses distilasi vakum. Dalam proses ini, asam lemak diubah menjadi etil ester asam lemak karena struktur kimia ester lebih stabil terhadap oksidasi dibandingkan dengan asam lemak bebas dan pemisahan fraksi untuk EPA dan DHA dilakukan dengan metode kromatografi, tujuan perubahan untuk meningkatkan stabilitas asam lemak (Estiasih, 2009:67).

Transesterifikasi adalah proses ester menjadi bentuk ester lain dalam suatu proses yang menyerupai hidrolisis. Pada proses ini, bahan yang digunakan bukan air melainkan alkohol, umumnya katalis yang digunakan adalah NaOH atau KOH. Pelarut metanol lebih umum digunakan untuk proses transesterifikasi karena harganya lebih murah dan lebih mudah di *Recovery*. Selain itu metanol dipilih karena merupakan jenis alkohol yang memiliki karbon pendek sehingga lebih mudah bereaksi dengan cepat dengan trigliserida. Transesterifikasi merupakan suatu reaksi kesetimbangan, agar reaksi bergerak ke kanan sehingga dihasilkan metil ester (biodiesel) maka perlu digunakan alkohol dalam jumlah berlebih atau salah satu produk yang dihasilkan harus dipisahkan (Dadang, 2006: 58).

1.9.1. Analisis dengan Kromatografi Gas Spektrometer Massa (KG-SM)

Dalam kromatografi gas, gas digunakan sebagai fasa gerak dan zat padat atau zat cair digunakan sebagai fasa diam. Syarat analisis dengan kromatografi gas ialah senyawa organik yang mudah menguap. Prinsip pemisahan dengan menggunakan kromatografi gas ialah memisahkan senyawa berdasarkan titik uap. Mekanisme kromatografi gas ialah gas dalam silinder baja bertekanan tinggi dialirkan melalui kolom yang berisi fasa diam. Cuplikan berupa campuran yang akan dipisahkan, biasanya dalam bentuk larutan, disuntikkan kedalam aliran gas tersebut. Kemudian cuplikan dibawa oleh gas pembawa ke dalam kolom dan didalam kolom tersebut terjadi proses pemisahan. Komponen-komponen campuran yang telah terpisahkan satu persatu meninggalkan kolom. Suatu detektor diletakkan di ujung kolom untuk mendeteksi jenis maupun jumlah tiap

komponen campuran. Hasil pendeteksian direkam dengan rekorder dan dinamakan kromatogram yang terdiri dari beberapa peak. Jumlah peak yang dihasilkan menyatakan jumlah komponen (senyawa) yang terdapat dalam campuran. Luas peak bergantung pada kuantitas suatu komponen dalam campuran. Karena peak-peak dalam kromatogram berupa segitiga maka luasnya dapat dihitung berdasarkan tinggi dan lebar peak tersebut (Missouri, 1996:31-32).

Komponen instrumen Kromatografi Gas ialah :

a. Gas pembawa

Gas yang dapat digunakan sebagai fasa gerak dalam kromatografi gas harus bersifat inert (tidak bereaksi) dengan cuplikan maupun fasa diam. Gas-gas yang biasa digunakan adalah gas helium, argon, nitrogen dan hidrogen. Karena gas tersebut disimpan dalam silinder baja bertekanan tinggi maka gas tersebut akan mengalir dengan sendirinya secara cepat sambil membawa komponen-komponen campuran yang akan atau yang sudah dipisahkan. Oleh karena gas pembawa mengalir dengan cepat maka pemisahan dengan teknik kromatografi gas memerlukan waktu beberapa menit saja. Gas nitrogen memerlukan kecepatan alir yang lambat (10 cm/det) untuk mencapai kinerja (efisiensi) yang optimum dengan HETP minimum. Sementara hidrogen dan helium dapat dialirkan lebih cepat untuk memperoleh efisiensi optimum 25 cm/det dan 35cm/det. Kotoran yang terdapat dalam gas pembawa dapat merusak kolom secara perlahan karena fasa diam bereaksi dengan kolom tersebut. Oleh karena itu, gas berkualitas tinggi harus digunakan untuk merawat kolom dari kerusakan, untuk menghilangkan

kotoran dalam gas pembawa, biasanya gas dialirkan melalui saringan yang disebut *molecular seive* untuk menghilangkan air dan hidrokarbon (Missouri, 1996:34).

b. Pemasukan Cuplikan

Cuplikan yang dapat dianalisis menggunakan kromatografi gas berupa zat cair atau gas. Dengan syarat cuplikan tersebut mudah menguap dan stabil (tidak rusak pada kondisi operasional). Ditempat cuplikan terdapat pemanas yang suhunya dapat diatur untuk menguapkan cuplikan. Suhu tempat penyuntikan biasanya 50°C diatas titik didih cuplikan. Bila cuplikan rusak pada suhu tersebut maka cuplikan tersebut tidak dapat dianalisis dengan teknik kromatografi gas. Jumlah cuplikan yang disuntikkan ke aliran fasa gerak sekitar $5\mu\text{L}$ (Missouri, 1996:31-32).

c. Kolom

Merupakan tempat terjadi pemisahan. Dua jenis kolom kromatografi kolom pak dan jenis terbuka. Jenis pak terbuat dari stainless steel sedangkan kolom terbuka terbuat dari pipa kapiler. Semakin panjang kolom maka perbedaan waktu retensi senyawa satu terhadap lainnya akan bertambah dan memberi dampak pada peningkatan selektivitas (Missouri, 1996:39).

d. Detektor

Detektor yang biasa digunakan ialah detektor spektrometer massa. Spektrometer massa disambungkan dengan keluaran kromatografi gas. Ketika gas solut memasuki spektrometer massa maka molekul senyawa organik ditembak

dengan elektron berenergi tinggi sehingga molekul tersebut pecah menjadi molekul-molekul yang lebih kecil. Pecahan molekul terdeteksi berdasarkan massanya yang digambarkan sebagai spektra massa. Setiap komponen campuran yang telah terpisahkan dengan kromatografi gas akan tergambar dalam satu spektra massa. Kombinasi kromatografi gas dan spektroskopi massa dikenal dengan sebutan GC-MS (Missouri, 1996:49).

