

PENINGKATAN STABILITAS OKSIDATIF MINYAK MATA TUNA DENGAN METODE PURIFIKASI DAN PENAMBAHAN NATURAL ASTAXANTHIN (NAst)

Nurmaida*, Bustami Ibrahim, Wini Trilaksani

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University
Jalan Agatis, Kampus IPB Dramaga Bogor, Indonesia 16680

Diterima: 23 Juli 2023/Disetujui: 14 November 2023

*Korespondensi: nurmaidanurmaida@apps.ipb.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Nurmaida, Ibrahim, B., & Trilaksani, W. (2024). Peningkatan stabilitas oksidatif minyak mata tuna dengan metode purifikasi dan penambahan *natural astaxanthin* (NAst). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(2), 89-103. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i2.48961>

Abstrak

Minyak ikan merupakan sumber nutrisi asam lemak tak jenuh ganda, khususnya *eicosapentaenoic acid* (EPA, C20:5 n-3) dan *docosahexaenoic acid* (DHA, C22:6 n-3) yang bermanfaat bagi kesehatan manusia. Mata tuna mengandung DHA yang tinggi dan unggul, sehingga dapat diolah menjadi minyak mata tuna. Kekurangan minyak mata tuna adalah mudah mengalami kerusakan oksidatif. *Astaxanthin* sebagai pigmen karotenoid memiliki aktivitas antioksidan kuat dan menghambat peroksidasi lipid penyebab kerusakan oksidatif. Tujuan penelitian ini menentukan konsentrasi terbaik penambahan *astaxanthin* pada minyak mata tuna hasil pemurnian berdasarkan parameter mutu dan stabilitas oksidasi. Pemurnian minyak mata tuna dilakukan melalui netralisasi dengan NaOH 16°Be, dilanjutkan dengan *bleaching* menggunakan magnesol 5%. Minyak mata tuna hasil pemurnian dicampur dengan *astaxanthin* kulit udang pada konsentrasi berbeda, yaitu 0; 0,2; 0,4; dan 0,6%. Parameter yang dianalisis meliputi asam lemak bebas, bilangan peroksida, bilangan p-anisidin, dan total oksidasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa purifikasi dengan netralisasi NaOH 16°Be dan *bleaching* magnesol 5% memiliki nilai asam lemak bebas $0,33 \pm 0,08\%$, bilangan peroksida $4,12 \pm 0,82$ meq/kg, p-Anisidin $2,83 \pm 0,22$ meq/kg, dan total oksidasi $11,08 \pm 1,62$ meq/kg. *Astaxanthin* memiliki nilai IC_{50} 14,14 ppm. Perlakuan penambahan *astaxanthin* terbaik adalah konsentrasi 0,6% dengan nilai asam lemak bebas $1,03 \pm 0,05\%$, bilangan peroksida $8,08 \pm 0,14$ meq/kg, bilangan p-Anisidin $9,12 \pm 0,02$ meq/kg; dan total oksidasi $25,29 \pm 0,31$ meq/kg terkecil selama 60 hari penyimpanan. Purifikasi dan penambahan natural *astaxanthin* mampu memperbaiki kualitas mutu dan stabilitas minyak mata tuna selama penyimpanan.

Kata kunci: antioksidan, hasil samping, hidroperoksida, omega-3, udang

Improvement of Oxidative Stability of Tuna Eyes Oil by Purification Methods and Natural Astaxanthin (NAst) Addition

Abstract

Fish oil is a rich source of long-chain polyunsaturated fatty acids (LCPUFA) that are essential for human health. These fatty acids, specifically eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5 n-3) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6 n-3), have been shown to provide numerous health benefits. Tuna eye stands out for its exceptional DHA content, which allows it to be refined into tuna eyes oil. The disadvantage of tuna eye oil is its susceptibility to oxidative damage. Astaxanthin, a carotenoid pigment, exhibits robust antioxidant properties and suppresses lipid peroxidation, thereby preventing oxidative damage. The objective of this research is to identify the optimal concentration of astaxanthin and the most suitable refined tuna eye oil based on quality parameters and oxidative stability. The purification of tuna oil was accomplished through a process that involved neutralization with 16°Be NaOH, followed by bleaching with 5% magnesol. The subsequent combination of refined tuna eye oil with shrimp shells was carried out at concentrations of 0%, 0.2%, 0.4%, and 0.6% astaxanthin. The parameters that were examined included free fatty acids, peroxide value, p-anisidine, and total oxidation. The outcomes of the study indicated that the refining process of tuna

oil through neutralization and bleaching resulted in a free fatty acid content of $0.33 \pm 0.08\%$, a peroxide value of 4.12 ± 0.82 meq/kg, a p-Anisidine value of 2.83 ± 0.22 meq/kg, and a total oxidation of 11.08 ± 1.62 meq/kg. The IC_{50} value of astaxanthin was found to be 14.14 ppm. The optimal concentration of astaxanthin for addition was determined to be 0.6%, resulting in a free fatty acid content of $1.03 \pm 0.05\%$, a peroxide value of 8.08 ± 0.14 meq/kg, an anisidine value of 9.12 ± 0.02 meq/kg, and a total oxidation value of 25.29 ± 0.31 meq/kg. Among these values, the total oxidation value showed the smallest change after 60 days of storage, and the utilization of purification techniques and incorporation of astaxanthin may enhance the oxidative stability of tuna oil during storage.

Keywords: antioxidant, by-product, hidroperoxide, omega-3, shrimp

PENDAHULUAN

Minyak ikan merupakan sumber gizi omega-3 asam lemak tak jenuh ganda atau *long-chain polyunsaturated fatty acids* (LCPUFA), khususnya *eicosapentaenoic acid* (EPA, C20:5 n-3) dan *docosahexaenoic acid* (DHA, C22:6 n-3) yang sangat penting bagi kesehatan manusia (Félix-Soriano *et al.*, 2021). Asupan EPA dan DHA yang cukup dapat mengurangi morbiditas penyakit kardiovaskular, meningkatkan kekebalan, mencegah tengkes, meningkatkan perkembangan kognitif, mencegah stres, kematian prenatal, dan kelahiran prematur selama kehamilan (Hubinont & Savoye, 2017; Meng *et al.*, 2021).

Mata tuna sebagai sumber minyak ikan *long-chain omega-3 fatty acids* (LCn-3FA) memiliki DHA yang cukup tinggi yakni 38,33% (Trilaksani *et al.*, 2020) Nilai ini jauh lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan DHA minyak ikan spesies lain, misalnya ikan kakap (6,37%) dan ikan kod (11,9%) (Šimat *et al.*, 2019). PUFA (DHA dan EPA) sangat rentan terhadap oksidasi selama pemrosesan dan penyimpanan karena memiliki struktur dengan rantai panjang dengan ikatan rangkap yang banyak (Qiu *et al.*, 2015). Reaksi oksidasi lipid tidak hanya berdampak buruk pada cita rasa, kandungan gizi, dan umur simpan makanan, tetapi dapat merusak kesehatan (Gao *et al.*, 2023). Trilaksani *et al.* (2021) melaporkan bahwa bilangan peroksida minyak ikan mata tuna (*Thunnus* sp.) $121,43 \pm 0,62$ meq/kg (Trilaksani *et al.*, 2021), sehingga belum memenuhi standar mutu oksidatif yang dipersyaratkan CODEX 329-2017 tentang standar minyak ikan, yaitu maksimum 5,0 meq/kg.

Alternatif pencegahan oksidasi lipid dapat dilakukan melalui penggunaan antioksidan alami pada minyak ikan. *Astaxanthin* (3,3'-dihydroxy- β , β' -carotene-4,4'-dione) adalah karotenoid xantofil lipofilik yang memiliki aktivitas antioksidan (gugus hidroksil) dengan kemampuan menangkal radikal bebas superoksida kuat, menghambat peroksidasi lipid, meningkatkan stabilitas oksidatif, serta memperpanjang umur simpan minyak ikan (Rizzardi *et al.*, 2022). Karotenoid mampu meningkatkan hampir 2 kali lipat stabilitas oksidatif dari minyak hati ikan (Ogrodowska *et al.*, 2020), memiliki kemampuan *protective activity*, pigmentasi, dan *oxygen radical absorbance capacity* (ORAC) yang lebih kuat daripada karotenoid lainnya termasuk sintetis (Rizzardi *et al.*, 2022; Oslan *et al.*, 2021). Chintong *et al.* (2019) melaporkan bahwa ekstrak *astaxanthin* hasil samping udang memiliki aktivitas antioksidan kategori kuat dengan nilai IC_{50} $7,7 \pm 0,6$ $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan dengan asam askorbat $20,8 \pm 1,1$ $\mu\text{g/mL}$ dan *butylated hydroxy toluene* (BHT) $15,1 \pm 0,7$ $\mu\text{g/mL}$. *Astaxanthin* tidak memiliki efek toksik pada fibroblas dermal sel manusia dan memiliki manfaat terapeutik dalam pengobatan gangguan kesehatan manusia dan hewan. Tujuan penelitian ini menentukan konsentrasi penambahan *astaxanthin* terbaik pada minyak mata tuna hasil permurnian berdasarkan parameter mutu dan stabilitas oksidasi.

BAHAN DAN METODE

Ekstraksi dan Pemurnian Minyak Ikan Mata Tuna

Mata ikan tuna diperoleh dari PT Nutrindo Freshfood Internasional Bitung,

Sulawesi Utara. Ekstraksi minyak ikan mata tuna menggunakan metode sentrifugasi dingin (Trilaksani *et al.*, 2020). Pemurnian dilakukan melalui netralisasi dengan NaOH 16°Be dan dilanjutkan *bleaching* (pemutihan) dengan adsorben magnesol XL 5% (La Dia *et al.*, 2022). Minyak murni yang dihasilkan dipindahkan ke botol kaca gelap yang dilapisi foil aluminium untuk dianalisis mutu oksidasinya (Figure 1).

Ekstraksi *Astaxanthin* Kulit Udang

Kulit udang diperoleh dari PT Wirontono, Jakarta. Ekstraksi *astaxanthin* (karotenoid) dilakukan dengan metode enzimatis (Chakrabarti, 2002). *Astaxanthin* yang dihasilkan dipindahkan ke botol kaca yang dilapisi foil aluminium dan disimpan pada *freezer* untuk dianalisis.

Formulasi dan Stabilisasi Minyak Ikan Selama Penyimpanan

Formulasi dilakukan dengan mencampurkan minyak ikan murni dengan *astaxanthin* udang pada konsentrasi berbeda yaitu 0; 0,2; 0,4; dan 0,6%. Pengujian stabilitas minyak ikan menggunakan metode *schaal oven test*. Metode tersebut merupakan metode akselerasi menggunakan rentang suhu $23,9 \pm 1,2^\circ\text{C}$ hingga $62,8 \pm 2,8^\circ\text{C}$. Satu hari penyimpanan dengan metode *schaal oven* setara dengan 15 hari penyimpanan pada suhu ruang (Suseno *et al.*, 2018). Pengujian sehari sekali dengan 3 kali ulangan menggunakan metode *schaal oven test* dengan suhu 40° selama 4 hari berurut-turut atau setara dengan 60 hari pada suhu ruang (Figure 1).

Analisis Kadar Asam Lemak Bebas (AOAC, 2005)

Sampel minyak ikan 2,5 g dilarutkan dengan 25 mL alkohol 95% yang dipanaskan menggunakan penangas air selama 10 menit. Sampel yang terlarut ditambahkan indikator PP 2 tetes dan dititrasi dengan KOH 0,1 N hingga terjadi perubahan warna menjadi merah muda yang tidak hilang dalam 10 detik. Persentase asam lemak bebas dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kadar asam lemak bebas (\%)} = \frac{A \times N \times M}{10 G}$$

Keterangan:

- A = jumlah titrasi KOH (mL)
 N = normalitas KOH (0,1 N)
 M = berat sampel (g)
 G = bobot molekul asam lemak dominan (asam oleat = 282 g/mol)

Analisis Bilangan Peroksida (AOCS Cd 8b-90, 2011)

Sampel minyak ikan 2,5 g dilarutkan ke 30 mL larutan asam asetat dan kloroform dengan perbandingan 3:2 (v/v). Kalium iodida jenuh (KI) 0,5 mL ditambahkan ke larutan, diaduk perlahan, ditambahkan akuades 30 mL, dan larutan indikator pati 1% 0,5 mL pada larutan. Larutan sebelum dititrasi berwarna biru kehitaman. Larutan dititrasi dengan 0,01 N natrium tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) hingga warna biru menghilang. Perhitungan bilangan peroksida menggunakan persamaan berikut:

$$\text{Bilangan peroksida (meq/kg)} = \frac{S \times M \times 1.000}{\text{Berat sampel (g)}}$$

Keterangan:

- S = volume natrium tiosulfat (mL)
 M = konsentrasi natrium tiosulfat (0,01 N)

Analisis Bilangan *p*-Anisidin (AOCS Cd 18-90, 2011)

Pengujian bilangan anisidin memerlukan dua nilai absorbansi dari dua larutan uji yang berbeda. Larutan uji 1 dibuat dengan melarutkan 0,5 g sampel minyak ikan ke 25 mL isooktan. Larutan uji 2 dibuat dengan menambahkan larutan *p*-anisidin (2,5 g/L) ke 5 mL larutan uji 1, diaduk perlahan. Larutan referensi dibuat dengan menambahkan 1 mL larutan *p*-anisidin (2,5 g/L) ke 5 mL larutan isooktan. Sampel harus terhindar dari cahaya selama proses pengujian. Kedua larutan diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 350 nm, dengan larutan referensi sebagai kompensasi. Perhitungan nilai anisidin ditetapkan menggunakan persamaan berikut:

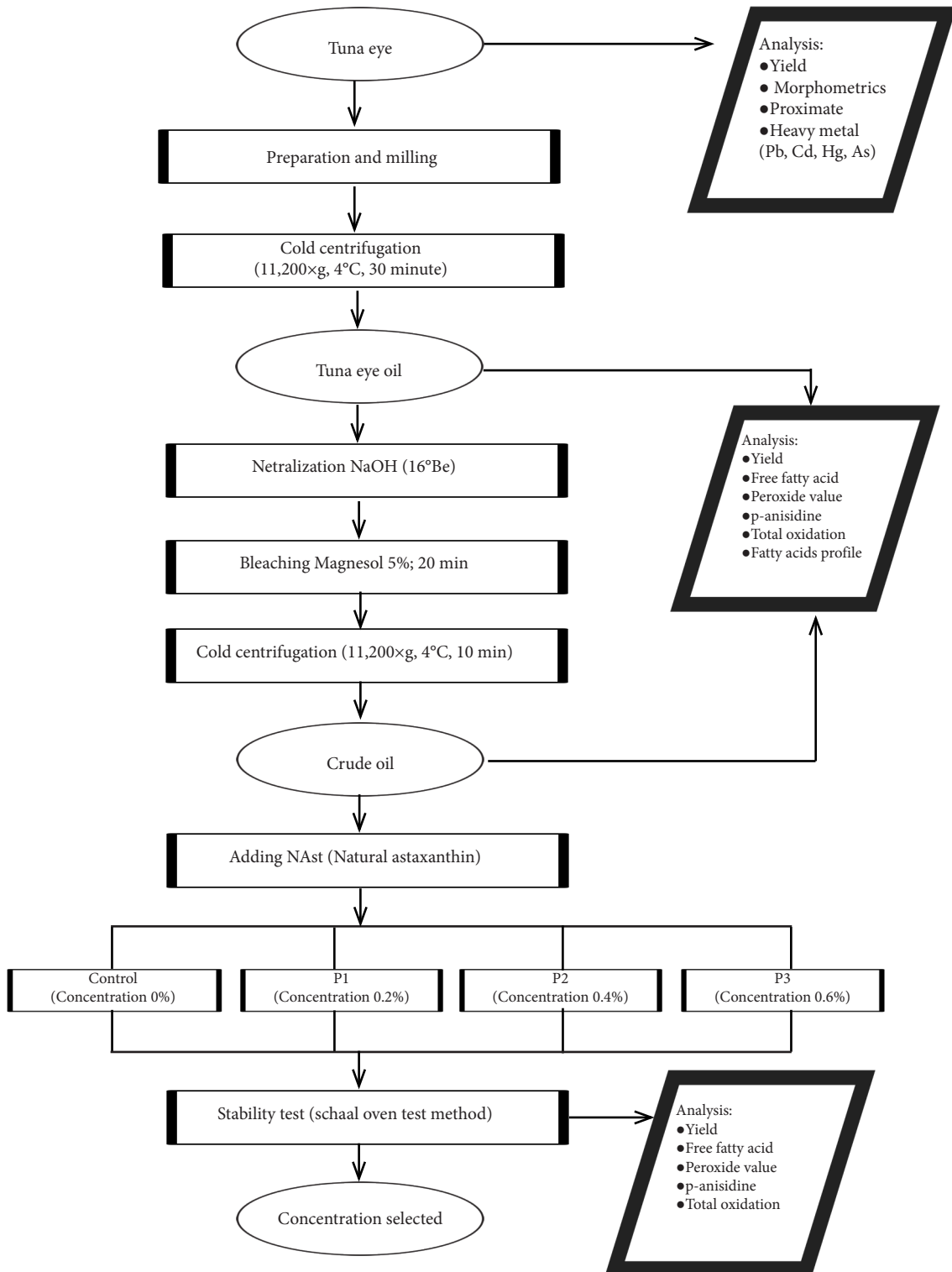


Figure 1 Research flow chart
Gambar 1 Diagram alir penelitian

$$\text{Bilangan anisidin (meq/kg)} = \frac{25 \times (1,2 A_1 - A_2)}{m}$$

Keterangan:

- A_1 =absorbansi larutan uji 1
 A_2 =absorbansi larutan uji 2
 m =massa sampel yang digunakan pada larutan uji 1

Analisis Bilangan Total Oksidasi (AOCS, 1997)

Bilangan total oksidasi merupakan penentu dari semua parameter oksidasi minyak. Total oksidasi ditentukan dari jumlah dua kali oksidasi primer dan sekunder pada minyak. Persamaan nilai total oksidasi adalah:

$$\text{Bilangan total oksidasi} = (2PV + AV)$$

Keterangan:

- PV =bilangan peroksida (meq/kg)
 AV =bilangan anisidin (meq/kg)

Analisis Logam Berat Hg, Cd, Pb, As (SNI 2354-23:2021)

Sampel bubuk mata tuna 1 g yang telah dihomogenkan pada bejana kemudian *spiking*. Tahap selanjutnya yaitu penambahan 2 mL HNO_3 *suprapure*; 0,625 mL H_2O_2 *ultrapure*, dan UPW 8 mL pada sampel. Bejana dipanaskan pada oven mikrogelombang selama 30 menit hingga mencapai suhu maksimum 200°. Bejana didinginkan hingga suhu maksimum 50°. Larutan dipindahkan ke tabung pp (polipropilena) 50 mL dan ditambahkan UPW hingga 50 mL. Larutan dihomogenkan menggunakan pencampur pusat (*vortex mixer*) selama 15 menit, dipindahkan ke tabung *autosampler* dan dibaca pada *inductively coupled plasma mass spectrometry* (ICP-MS). Rumus perhitungan logam berat Hg, Pb, Cd, dan As sebagai berikut:

$$\text{Konsentrasi Hg,Cd,Pb,As (mg/kg)} = \frac{(D-E) \times V \times Fp}{W}$$

Keterangan:

- D =konsentrasi Hg, Cd, Pb, As ($\mu\text{g/L}$) larutan contoh yang dihitung
 E =konsentrasi Hg, Cd, Pb, As ($\mu\text{g/L}$) blanko pereaksi yang dihitung
 V =volume akhir larutan sampel (L)
 Fp =faktor pengenceran
 W =berat contoh (g)

Analisis Kandungan Total Karotenoid (Sachindra *et al.*, 2005)

Kulit udang 25 g diekstraksi menggunakan aseton (1:6 b/v) dan dilakukan tiga kali berturut-turut hingga sampel kehilangan warna atau menjadi tidak berwarna. Ekstrak aseton yang terbentuk dipisahkan menggunakan *petroleum ether* (BP 40-60°C). Larutan *petroleum ether* dicuci berulang kali dengan larutan NaCl 0,1% untuk menghilangkan sisa aseton, dan dikeringkan menggunakan sodium sulfat. Larutan disaring menggunakan nitrogen dan dievaporasi menggunakan *vacuum* pada suhu 40°C. Konsentrat karotenoid diukur pada absorbansi 468 nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Konsentrasi karotenoid (*astaxanthin*) pada ekstrak udang dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kandungan karotenoid } (\mu\text{g/g}) = \frac{A_{468 \text{ nm}} \times V_{\text{ekstrak}} \times Fp}{0,2 \times W_{\text{sampel}}}$$

Keterangan:

- $A_{468 \text{ nm}}$ =absorbansi pada 468 nm
 V_{ekstrak} =volume ekstrak
 Fp =faktor pengenceran
 0,2 = $A_{468 \text{ nm}}$ nilai absorbansi dari 1 $\mu\text{g/mL}$ *astaxanthin standard*
 W_{sampel} =bobot sampel (g)

Pengukuran Aktivitas Antioksidan (Chintong *et al.*, 2019)

Pembuatan larutan radikal 2,2'-azino-bis ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) dilakukan dengan mereaksikan larutan ABTS 7 mM dan kalium persulfat ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) 2 mM dengan perbandingan 1:1 yang diinkubasi dalam ruangan gelap selama 16 jam suhu kamar. Larutan ditambahkan etanol hingga didapatkan absorbansi $0,70 \pm 0,03$ pada panjang gelombang 734 nm. Larutan ABTS 1,5 mL ditambahkan 1,5 mL sampel; dinkubasi selama 10 menit suhu kamar pada ruang gelap. Aktivitas antioksidan sampel dinyatakan sebagai *Trolox Equivalent Antioxidant Capacity* (TEAC). Absorbansi diukur pada panjang gelombang 750 nm. Persen penghambatan radikal ABTS dihitung berdasarkan rumus berikut :

$$\text{Inhibisi ABTS (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100\%$$

Keterangan:

A =absorbansi kontrol
B =absorbansi sampel

Astaxanthin kulit udang yang digunakan dilarutkan dengan berbagai konsentrasi untuk mendapatkan nilai IC_{50} yang menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas ABTS sebesar 50%. Persamaan regresi linear ($y = a + bx$) yang diperoleh dari nilai inhibisi pada setiap konsentrasi digunakan untuk mencari nilai IC_{50} .

Pengukuran Warna CIE-L*a*b*

Warna *astaxanthin* ditentukan menggunakan kolorimeter Minolta CM-3500d. Hasilnya dinyatakan sebagai nilai $L^*a^*b^*$. Nilai L^* digunakan untuk mengukur kecerahan (0=hitam dan 100=putih); nilai a^* mewakili kemerahan (+) dan kehijauan (-); nilai b^* mewakili kuning (+) dan biru (-). Warna sebenarnya diwakili oleh *hue angle*, $h = [\tan^{-1}(b^*/a^*)]$ dan *chroma* (intensitas warna) diukur dengan $C^* = [(b^{*2} + a^{*2})^{1/2}]$.

Uji Stabilitas

Uji stabilitas minyak ikan menggunakan metode *Schaal oven test* dengan oven suhu 40°C. Minyak ikan dihitung kadar asam lemak bebas (*Free Fatty Acid/FFA*), nilai peroksida (*peroxide value/PV*), bilangan anisidin (*anisidine value/p-AnV*), dan total oksidasinya selama 4 hari berturut-turut atau setara dengan 60 hari penyimpanan.

Analisis Data

Data stabilitas dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap Faktorial (RALF) dengan 3 kali ulangan. Faktor perlakuan tersebut adalah perlakuan penambahan *astaxanthin* konsentrasi (0%; 0,2%; 0,4%; 0,6%) dan lama penyimpanan (0, 1, 2, 3, 4 hari). Data kemudian dianalisis *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan selang kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$). Model matematik rancangan acak lengkap (RALF) sebagai berikut:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha\beta_{ij} + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ijk} = nilai pengamatan dari perlakuan ke-i, lama penyimpanan ke-j dan ulangan ke-k

μ = nilai rata-rata umum populasi

α_i = pengaruh perlakuan ke-i

β_j = pengaruh perlakuan ke-j

$\alpha\beta_{ij}$ = pengaruh interaksi perlakuan ke-i dan ke-j

ϵ_{ij} = galat percobaan

Perlakuan yang berpengaruh terhadap respons, selanjutnya diuji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT). Seluruh data dianalisis menggunakan perangkat lunak IBM *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) Statistics[®] versi 26.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik dan Komposisi Kimia Mata Tuna

Mata tuna yang digunakan adalah mata ikan segar yang berdiameter antara 6-9 cm (*Figure 2*). Diameter mata tuna $6,45 \pm 2,93$ cm dan bobot $146,97 \pm 9,21$ g (ukuran sedang). Bagian mata yang digunakan untuk ekstraksi minyak ikan adalah otot ekstraokular dengan rerata rendemen yang dihasilkan 34,86% dari berat total bubuk mata tuna.

Komposisi kimia terbesar pada mata tuna kadar air dan terendah pada kadar abu. Hasil penelitian dapat dilihat pada *Table 1*. Kadar lemak mata tuna penelitian ini lebih tinggi dibandingkan mata tuna penelitian La Dia *et al.* (2022) dan Trilaksani *et al.* (2021) dengan nilai berturut-turut $18,15 \pm 0,07$ dan $18,44 \pm 0,39\%$. Kadar lemak yang tinggi akan berpengaruh pada rendemen dan proporsi minyak ikan yang dihasilkan.

Parameter penting yang harus diperhatikan sebagai bahan baku minyak ikan adalah cemaran logam berat. Cemaran logam berat adalah elemen kimiawi metalik dan metaloida, memiliki bobot atom dan bobot jenis yang tinggi, tidak dikehendaki, dapat mengganggu, merugikan, dan membahayakan kesehatan manusia (BPOM, 2022). Batasan maksimum cemaran logam timbel (Pb), arsen (As), dan kadmium (Cd) bahan pangan



Figure 2 Visual of tuna eye; (A) lens, (B) extraocular tissue, (c) vitreous humor, and (D) sclera
 Gambar 2 Ketampakan mata tuna; (A) lensa, (B) otot ekstraokular, (C) cairan vitreous, dan (D) sklera

Table 1 Chemical composition of tuna eyes
 Tabel 1 Komposisi kimia mata tuna

Parameter (%)	<i>Thunnus sp.</i>	<i>Thunnus sp.</i> ^a	<i>Thunnus sp.</i> ^b
Moisture	54.23±1.55	62.12±0.12	67.93±1.12
Ash	1.23±0.02	0.98±0.01	1.11±0.04
Lipid	21.38±0.53	18.15±0.07	18.44±0.39
Protein	10.44±0.27	13.48±0.21	11.43±0.24
Carbohydrate	12.72±0.06	5.27±0.32	1.09±0.58

^aLa Dia *et al.* (2022); ^bTrilaksana *et al.* (2021)

maksimum 0,10 mg/kg dan merkuri (Hg) maksimum 0,5 mg/kg (BPOM, 2020). Hasil analisis kandungan logam berat mata tuna menunjukkan bahwa timbel (Pb), Arsen (As) dan kadmium (Cd) tidak terdeteksi, sedangkan merkuri (Hg) terdeteksi 0,03 mg/kg di bawah batas maksimal standar mutu.

Batas deteksi (*Limit of Detection/LOD*) merupakan konsentrasi terendah pada sampel uji yang dapat dideteksi secara berulang (tingkat kepercayaan 95%) pada kondisi eksperimen tertentu (SNI, 2021). Batas deteksi Pb, As, dan Hg adalah 0,0002 mg/kg dan Cd 0,0001 mg/kg. Nilai Hg yang terdeteksi masih di bawah ambang batas yang dipersyaratkan.

Ketampakan, Proporsi, dan Mutu Minyak Mata Tuna

Minyak ikan mata tuna hasil ekstraksi menggunakan metode *cold centrifugation* (suhu 4°C, kecepatan 10.000 rpm selama 30 menit) dengan hasil yang membentuk 4 lapisan (*Figure 3A*). Lapisan pertama adalah lapisan lipid-protein berbobot molekul rendah, lapisan kedua lapisan protein cair, lapisan ketiga adalah endapan lipid-protein berbobot molekul besar, dan lapisan ke empat adalah lapisan minyak ikan. Proporsi minyak ikan yang diperoleh adalah 19,33±1,15% dari total berat mata.

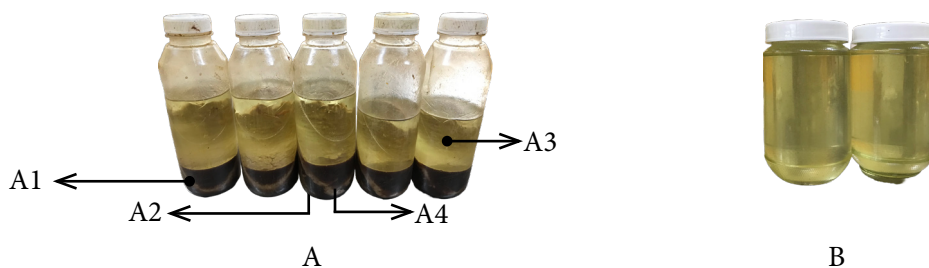


Figure 3 Visualization and proportion of fish oil after extraction: (A1) aqueous protein layer; (A2) sludge and heavy lipid protein layer; (A3) fish oil layer; (A4) light-lipid protein layer, (B) fish oil

Gambar 3 Ketampakan dan proporsi minyak ikan setelah ekstraksi: (A1) lapisan protein cair; (A2) lapisan endapan lipid protein; (A3) lapisan minyak; (A4) lapisan lipid protein ringan, (B) minyak ikan

Minyak ikan dikategorikan aman untuk produk pangan jika telah memenuhi standar mutu oksidatif yang dipersyaratkan CODEX 329-2017 tentang standar minyak ikan. Mutu oksidatif adalah asam lemak bebas (*free fatty acid*/FFA), bilangan peroksida (*peroxide value*/PV), bilangan anisidin (*anisidine value*/p-AnV), dan total oksidasi (*total oxidation*/TOTOX). Hasil analisis menunjukkan bahwa parameter oksidasi pada minyak (*crude*) mata tuna telah memenuhi standar kecuali pada bilangan peroksida dan total oksidasi (Table 2). Hal tersebut diduga karena mata tuna telah mengalami kemunduran mutu selama transportasi dan penyimpanan beku akibat fluktuasi suhu penyebab kerusakan jaringan ikan (Göransson *et al.*, 2018).

Profil Asam Lemak Minyak Mata Tuna

Hasil profil asam lemak minyak mata tuna menunjukkan komposisi asam lemak dominan adalah PUFA 43,63% dari total asam lemak. DHA (C22:6n-3) dan EPA (C20:5n-3) merupakan senyawa asam lemak penyumbang tertinggi dari total PUFA. Total DHA 30,19% dan EPA 8% (Table 3). Asam palmitat (C16:0) menyumbang 63,41% dari total asam lemak jenuh (*saturated fatty acid*/SFA) dan asam oleat (C18:1n-9c) 66,56% dari total MUFA. Zhang *et al.* (2019) dan Trilaksani *et al.* (2020) melaporkan bahwa asam lemak DHA dominan ditemukan pada PUFA minyak ikan tuna, demikian juga pada mata tuna dan jaringan otot yang memiliki kandungan triasilgliserol dan fosfolipid lebih tinggi dibandingkan pada mata jenis ikan lainnya (Stoknes *et al.*, 2004).

Mutu Minyak Ikan Mata Tuna Hasil Pemurnian

Karakteristik mutu minyak ikan mata tuna hasil pemurnian meliputi asam lemak bebas atau *free fatty acid* (FFA), bilangan peroksida atau *peroxide value* (PV), bilangan p-anisidin (p-AnV), dan total oksidasi (Totox). Pengujian dilakukan pada minyak mata tuna kasar (tanpa dimurnikan), minyak mata tuna dengan pemurnian *bleaching*, dan minyak mata tuna pemurnian netralisasi+*bleaching* (Figure 4).

Asam lemak bebas pada minyak mata tuna terbentuk karena adanya reaksi hidrolisis dari trigliserida selama penyimpanan dan proses ekstraksi. Reaksi hidrolisis selama penyimpanan berpotensi menurunkan kualitas minyak dengan timbulnya aroma. Hasil analisis ragam menunjukkan pemurnian *bleaching* menurunkan nilai asam lemak bebas minyak ikan kasar 1,42% menjadi 1,00% dan pemurnian netralisasi+*bleaching* menjadi 0,33% (Figure 4A). Asam lemak bebas rendah diduga disebabkan oleh tidak adanya perlakuan panas selama proses ekstraksi (Nazir *et al.*, 2017).

Bilangan peroksida merupakan produk oksidasi primer berupa hidroperoksida yang terbentuk oleh mekanisme autokatalitik yang apabila terdekomposisi menyebabkan ketengikan pada minyak ikan (Šimat *et al.*, 2019). Tingginya nilai oksidasi pada minyak ikan ini disebabkan oleh kandungan asam lemak tidak jenuh rantai panjang terutama EPA dan DHA yang sangat rentan terhadap oksidasi (Qiu *et al.*, 2015). Hasil analisis menunjukkan pemurnian *bleaching* signifikan menurunkan bilangan peroksida 16,58±0,36 meq/kg menjadi 6,85±0,31 meq/kg, dan

Table 2 Oxidative quality of crude tuna eyes oil
Tabel 2 Kualitas oksidatif minyak mata tuna

Parameter	<i>Thunnus</i> sp.	<i>Thunnus</i> sp. ^a	<i>Thunnus</i> sp. ^b	CODEX (2017)
Free fatty acid (%)	1.42±0.15	1.25±0.09	1.26±0.06	≤1.5
Peroxide value (meq/kg)	16.58±0.36	56.61±7.07	94.11±0.16	≤5.0
p-anisidin value (meq/kg)	3.85±0.12	5.43±0.55	7.31±1.08	≤20.0
Total oxidation (meq/kg)	37.02±0.79	118.66±13.81	195.53±1.40	≤26.0

^aLa Dia *et al.* (2022); ^bTrilaksani *et al.* (2021)

Table 3 Fatty acids composition of tuna eyes oil
Tabel 3 Komposisi asam lemak minyak mata tuna

Fatty acids	Value (%w/w)
Myristic acid, C14:0	3.07
Pentadecanoic acid, C15:0	0.91
Palmitic acid, C16:0	21.4
Heptadecanoic acid, C17:0	1.44
Stearic acid, C18:0	6.51
Arachidic acid, C20:0	0.40
Lignoceric acid, C24:0	0.02
Total Saturated Fatty Acid (SFAs)	33.75
Myristoleic acid, C14:1	0.05
Palmitoleic acid, C16:1	5.42
Heptadecenoic acid, C17:1	0.89
Oleic acid, C18:1n-9c	14.39
Eicosenoic acid, C20:1	0.87
Total Monounsaturated Fatty Acid (MUFAs)	21.62
Linoleic acid, C18:2n-6c	1.28
Alpha-linolenic acid, C18:3n-3	0.73
Cis-11,14- eicosadienoic acid, C20:2	0.26
Arachidonic acid, C20:4n-6	3.17
Eicosapentaenoic acid (EPA), C20:5n-3	8.00
Docosahexaenoic acid (DHA), C22:6n-3	30.19
Total Polyunsaturated Fatty Acid (PUFAs)	43.63
Total Fatty acids identified	99.00
Total Fatty acids unidentified	1.00
n-3	38.92
n-6	4.45
n-9	14.39

netralisasi+*bleaching* menjadi $4,12 \pm 0,82$ meq/kg dengan persentase penurunan *bleaching* 58,71% dan netralisasi+*bleaching* 75,14% (*Figure 4B*) dan telah memenuhi standar yang ditetapkan CXS 329-2017.

Bilangan p-Anisidin menunjukkan indikator oksidasi sekunder hasil dekomposisi hidroperoksida sebagai proses oksidasi lebih lanjut. Hasil analisis ragam menunjukkan pemurnian *bleaching* dan pemurnian netralisasi+*bleaching* signifikan tidak berbeda ($p < 0,05$). Pemurnian *bleaching* menurunkan nilai p-Anisidin minyak kasar $3,84 \pm 0,12$ meq/kg menjadi $2,97 \pm 0,09$ meq/kg, dan pemurnian netralisasi+*bleaching* menjadi $2,83 \pm 0,22$ meq/

kg dengan persentase penurunan adalah 22,92% dan 26,56% (*Figure 4C*). Nilai bilangan p-Anisidin yang rendah pada minyak ikan mata tuna menunjukkan bahwa proses pemurnian tidak menyebabkan degradasi lebih lanjut.

Perhitungan nilai total oksidasi dilakukan untuk mengetahui pembentukan produk oksidasi primer dan oksidasi sekunder. Hasil analisis ragam menunjukkan pemurnian *bleaching* menurunkan nilai totoks minyak kasar $37,02 \pm 0,79$ meq/kg menjadi $16,67 \pm 0,64$ meq/kg, dan netralisasi+*bleaching* menjadi $11,08 \pm 1,65$ meq/kg. Persentase penurunan pemurnian *bleaching* adalah 54,98%, dan

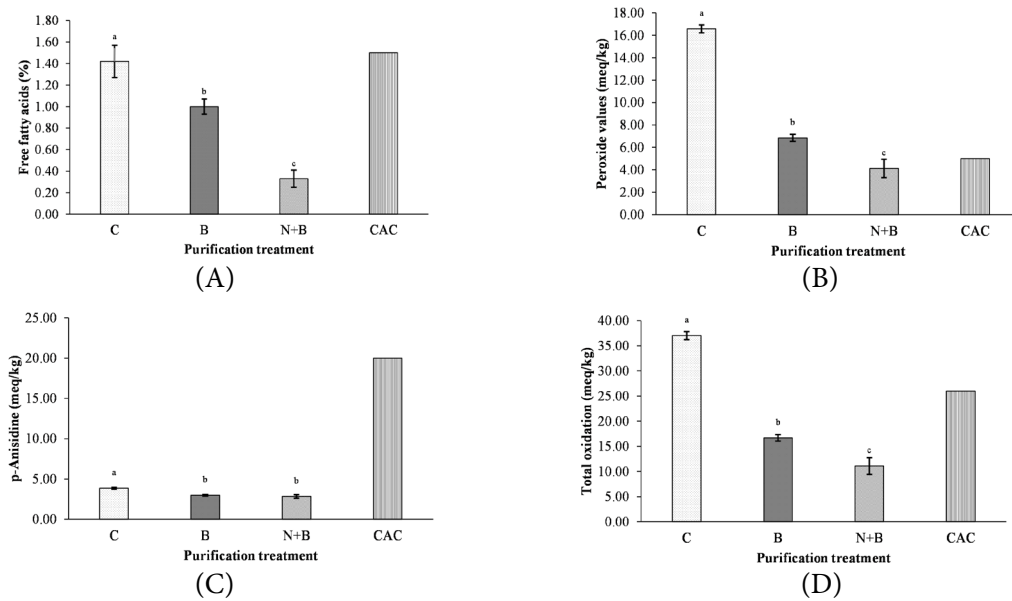


Figure 4 Quality of tuna eye oil after refining: (A) free fatty acids, (B) peroxide value, (C) p-Anisidine, (D) total oxidation; Purification treatments (▨ crude oil; ■ bleaching; ▤ netralization+bleaching; ▩ codex standard 2017). Mean and standard error (denoted by error bar). Different superscripts show significantly different $p < 0.05$

Gambar 4 Mutu minyak ikan mata tuna hasil pemurnian: (A) asam lemak bebas, (B) bilangan peroksida, (C) p-Anisidin, (D) total oksidasi; Pemurnian (▨ minyak kasar; ■ pemutihan; ▤ netralisasi+pemutihan; ▩ standar codex 2017). Rerata dan *standard error* (ditandai dengan *error bar*). Superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda $p < 0,05$

netralisasi+bleaching menurunkan nilai totoks sebesar 70,08% (Figure 4D). Nilai total oksidasi minyak ikan hasil pemurnian tersebut telah memenuhi standar mutu minyak ikan CXS 329-2017.

Keseluruhan parameter oksidasi menunjukkan bahwa minyak ikan yang telah dimurnikan dengan netralisasi+bleaching memiliki nilai asam lemak bebas terkecil $0,33 \pm 0,08\%$, bilangan peroksida $4,12 \pm 0,82$ meq/kg, p-Anisidin $2,83 \pm 0,22$ meq/kg, dan total oksidasi $11,08 \pm 1,62$ meq/kg. Minyak ikan ini selanjutnya dilakukan perlakuan penambahan NAs (*Natural astaxanthin*) dengan konsentrasi berbeda.

Karakteristik Karotenoid Udang sebagai *Natural Astaxanthin* (NAs)

Struktur kimia unik *astaxanthin* merupakan senyawa antioksidan yang sangat baik dan menjanjikan untuk diaplikasikan pada pangan kesehatan dan gizi manusia. Struktur utama *xanthophyll* berperan sebagai

antioksidan dengan menangkap *singlet oxygen*, *reactive oxygen species*, dan radikal bebas. Karotenoid menghilangkan radikal dengan bereaksi ataupun dengan memutus rantai reaksi radikal bebasnya guna menghasilkan produk residu tidak berbahaya (Britton, 1995).

Total karotenoid udang pada penelitian ini $37,3 \mu\text{g/g}$ dengan rendemen $3,12 \pm 0,08\%$. Okada *et al.* (1994) melaporkan bahwa udang terdiri dari *astaxanthin* (*free*, monoester, dan diester) sebagai pigmen dominan (86-98%), β -carotene (3,6%), dan zeaxanthin (1,5%). Rendemen hasil penelitian lebih rendah dibandingkan Chintong *et al.* (2019) dengan nilai rendemen ekstrak udang $15,6 \pm 0,6$ mg asx/g atau sekitar 45% dari total ekstrak. Perbedaan rendemen dan karakteristik ekstrak dapat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan, jenis substrat, suhu lingkungan, dan waktu *sampling*.

Aktivitas antioksidan secara kuantitatif dinyatakan dalam nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} yaitu

konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat 50% dari radikal bebas. Pengukuran uji aktivitas antioksidan udang menggunakan 2,2'-azinobis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) dan asam askorbat sebagai pembanding. Aktivitas antioksidan dianggap sangat kuat jika nilai $IC_{50} \leq 50 \mu\text{g/mL}$, kuat (50-100 $\mu\text{g/mL}$), sedang (101-250 $\mu\text{g/mL}$), lemah (250- 500 $\mu\text{g/mL}$), dan tidak aktif $>500 \mu\text{g/mL}$ (Jun *et al.*, 2003). Nilai IC_{50} *astaxanthin* dari ekstrak kulit udang (*L.vannamei*) 14,14 ppm dan termasuk kategori antioksidan sangat kuat. Hasil ini menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan ABTS *astaxanthin* kulit udang lebih unggul dibandingkan dengan *astaxanthin* eksoskeleton kepiting (*C. sapidus*) dengan nilai IC_{50} 17,56 dan asam askorbat 28,46 $\mu\text{g/mL}$ (Abd El-Ghany *et al.*, 2023).

Nilai CIELAB (L^* , a^* dan b^*) adalah parameter yang mengukur *lightness*, *redness* dan *yellowness* dari pigmen *astaxanthin*. Nilai parameter CIELAB ($L^*a^*b^*$) *astaxanthin* udang (*L.vannamei*) adalah 37, 50, 38 dan menunjukkan warna merah bata/ *fire brick* (Figure 5). Hal ini berbeda dengan Niamnuy *et al.* (2008) bahwa *astaxanthin* udang kering memiliki nilai $L^* 58,70 \pm 4,65$, $a^* 9,98 \pm 1,3$, dan $b^* 25,83 \pm 2,87$. Perbedaan tersebut dipengaruhi oleh penggunaan suhu pengeringan penyebab pembentukan pigmen kecokelatan oleh reaksi Maillard.

Stabilitas Oksidasi Minyak Mata Tuna dengan Penambahan *Astaxanthin*

Stabilitas minyak ikan merupakan faktor penting untuk menentukan masa simpan minyak ikan. Uji stabilitas penyimpanan minyak ikan dengan penambahan *astaxanthin* sebagai *natural astaxanthin* dilakukan

menggunakan metode *schaal oven test*. Pengujian ini dilakukan pada sampel minyak ikan hasil pemurnian (netralisasi+*bleaching*) yang telah dicampurkan dengan *astaxanthin* konsentrasi berbeda. Parameter uji oksidatif tersebut adalah asam lemak bebas, bilangan peroksida, p-Anisidin, dan total oksidasi (Figure 6).

Perlakuan minyak ikan dengan penambahan *astaxanthin* 0,6% memiliki nilai FFA terkecil setelah disimpan hingga hari ke 4 (Figure 6A). Hasil analisis sidik ragam menunjukkan perlakuan dengan *astaxanthin* yang berbeda memberikan pengaruh nyata terhadap stabilitas minyak ikan ($p < 0,05$). Semua perlakuan menunjukkan kenaikan nilai FFA yg signifikan ($p < 0,05$) hingga hari ke-4 penyimpanan dan masih sesuai standar (CODEX, 2017).

Nilai PV terkecil selama penyimpanan adalah formula penambahan *astaxanthin* 0,6%. Figure 6B menunjukkan perlakuan *astaxanthin* 0,6% pada hari ke-1, mengalami penurunan nilai PV secara signifikan dengan nilai $1,17 \pm 0,29$ meq/kg. Hasil ini berbeda dengan perlakuan kontrol, nilai pv pada hari ke-2 penyimpanan telah melampaui standar mutu (CODEX, 2017). Keseluruhan perlakuan menunjukkan kenaikan PV yg signifikan ($p < 0,05$) selama penyimpanan hingga hari ke-4. Nilai tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi *astaxanthin* 0,6% yang ditambahkan pada minyak ikan, mampu menjaga kestabilan lebih baik dibandingkan dengan minyak ikan tanpa perlakuan (kontrol). McNulty *et al.* (2008) melaporkan bahwa karotenoid seperti β -karoten memiliki pengaruh pro-oksidan terhadap lipid peroksidasi dalam membran asam lemak tak jenuh ganda dan *astaxanthin* menurunkan peroksidasi lipid sebesar 40% dalam struktur



Figure 5 Visualization of shrimp shells astaxanthin

Gambar 5 Ketampakan *astaxanthin* kulit udang

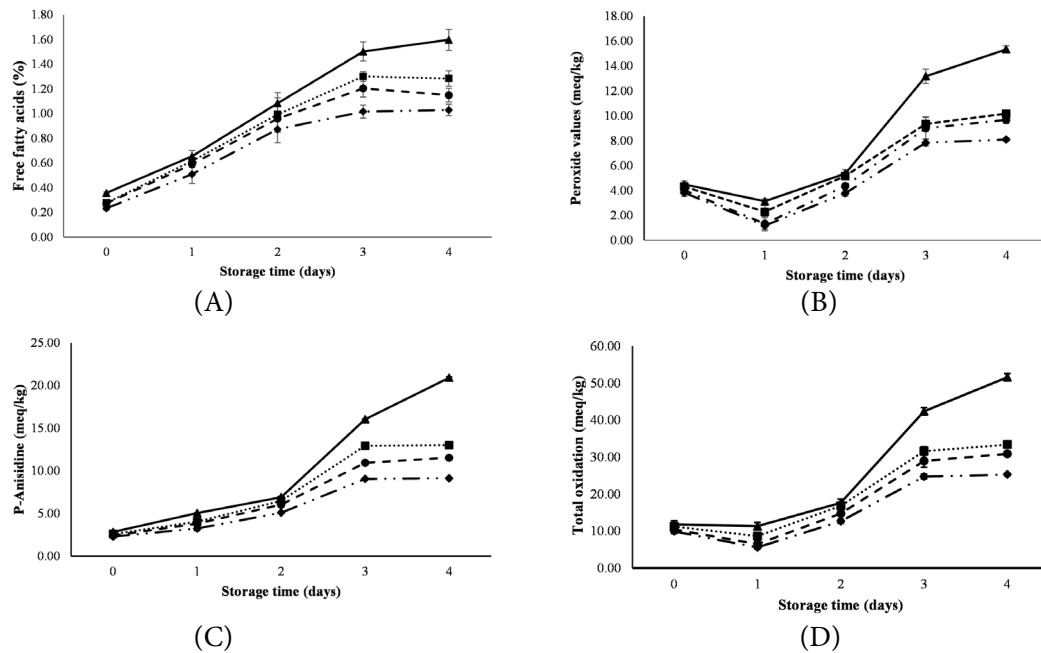


Figure 6 Stability of tuna eyes oil based on storage Schaal oven test: (A) free fatty acids, (B) (C) p-Anisidine value, (D) total oxidation; Astaxanthin concentration (\blacktriangle 0%; \blacksquare 2%; \bullet 4%; \blacklozenge 6%). Different superscripts show differences in $p < 0.05$. The vertical line (bar) is the standard deviation

Gambar 6 Stabilitas minyak mata tuna berdasarkan Schaal oven test: (A) asam lemak bebas, (B) bilangan peroksida, (C) p-Anisidin, (D) total oksidasi; Konsentrasi astaxanthin (\blacktriangle 0%; \blacksquare 2%; \bullet 4%; \blacklozenge 6%). Superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda $p < 0,05$. Garis vertikal adalah standar deviasi

membran tersebut. *Astaxanthin* mampu meningkatkan efisiensi antioksidan (Liang *et al.*, 2009). Kenaikan nilai peroksida pada hari ke-2 dapat disebabkan oleh senyawa oksidasi primer lipid atau dikenal hidroperoksida. Senyawa ini terurai menjadi produk oksidasi sekunder, yaitu aldehida dan keton yang menyebabkan bau tak sedap (*rancidity*) pada minyak (Phung *et al.*, 2020).

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa keseluruhan perlakuan yang berbeda memberikan pengaruh nyata terhadap nilai p-Anisidin stabilitas minyak ikan mata tuna ($p < 0,05$). Selain nilai FFA dan PV, perlakuan *astaxanthin* 0,6% merupakan perlakuan dengan nilai p-Anisidin terkecil dari keseluruhan formula. *Figure 6c* menunjukkan bahwa nilai p-Anisidin pada perlakuan *astaxanthin* 0,2%, 0,4%, dan 0,6% memiliki nilai p-Anisidin lebih kecil daripada perlakuan kontrol (tanpa *astaxanthin*) selama penyimpanan. Hal ini terlihat pada hari ke-4, kontrol telah melampaui standar

mutu oksidatif minyak yang dipersyaratkan (CODEX, 2017).

Hasil analisis sidik ragam nilai total oksidasi menunjukkan bahwa perlakuan *astaxanthin* 0,2 dan 0,6% memberikan pengaruh yang nyata terhadap stabilitas minyak ikan ($p < 0,05$) (*Figure 6D*). Hal ini berbeda dengan perlakuan kontrol dan *astaxanthin* 0,4% yang menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata pada hari 0 penyimpanan. Nilai total oksidasi yang tinggi juga dipengaruhi oleh nilai bilangan peroksida dan bilangan anisidin suatu minyak ikan. Hal ini dikarenakan nilai bilangan total oksidasi yang ekuivalen diperoleh dari penjumlahan dari dua kali bilangan peroksida dan bilangan anisidin.

KESIMPULAN

Proses purifikasi atau pemurnian mampu memperbaiki kualitas mutu minyak mata tuna (*Thunnus* sp.) hingga memenuhi standar CODEX 329-2017. Hasil purifikasi

netralisasi NaOH 16^oBe dan *bleaching* magnesol 5% yang ditambahkan *astaxanthin* 0,6% merupakan perlakuan terbaik dalam meningkatkan stabilitas oksidatif minyak ikan mata tuna berdasarkan nilai terkecil FFA, PV, p-Anisidin, dan total oksidasi selama 60 hari penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Ghany, M. N., Hamdi, S. A., Elbaz, R. M., Aloufi, A. S., El Sayed, R. R., Ghonaim, G. M., & Farahat, M. G. (2023). Development of a microbial-assisted process for enhanced astaxanthin recovery from crab exoskeleton waste. *Fermentation*, 9(6), 505. <https://doi.org/10.3390/fermentation9060505>
- American Oil Chemists Society. (1997). Official Methods and Recommended Practices of AOCS International.
- Association of Official Analytical Chemist. (2005). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical of Chemist.
- American Oil Chemists Society. (2011). p-Anisidine Value. In AOCS Official Method Cd 18-90 (Ed.). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society (6th ed., pp. 2011a).
- American Oil Chemists Society. (2011). Peroxide Value Using Chloroform. In AOCS Official Method Cd 8-53 (Ed.). Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society (6th ed., pp. 2011h).
- Badan Standardisasi Nasional. (2018). Minyak Ikan Murni (Refined Fish Oil)-Syarat Mutu dan Pengolahan. SNI 8467-2018.
- Badan Standardisasi Nasional. (2021). Cara uji kimia- Bagian 23: Penentuan logam berat merkuri (Hg), timbal (Pb), cadmium (Cd), arsen (As) dan timah putih (Sn) pada hasil perikanan dengan Inductively Couple Plasma Mass Spectrometer (ICP-MS) secara simultan. SNI 2354-23:2021.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2022). Peraturan BPOM No. 9 tahun 2022 tentang persyaratan cemaran logam berat dalam pangan olahan.
- Britton G. (1995). Structure and properties of carotenoids in relation to function. *Federation of American Societies for Experimental Biology Journal*, 9(15), 1551-8. <https://doi.org/10.1096/fasebj.9.15.8529834>
- Chakrabarti, R. (2002). Carotenoprotein from tropical brown shrimp shell waste by enzymatic process. *Food biotechnology*, 16(1), 81-90. <https://doi.org/10.1081/GBT-120004202>
- Chintong, S., Phatvej, W., Rerk-am, U., & Waiprib, Y. (2019). In vitro antioxidant, antityrosinase, and cytotoxic activities of astaxanthin from shrimp waste. *Antioxidants*, 8(5), 128. <https://doi.org/10.3390/antiox8050128>
- Codex Alimentarius Commission. (2017). Standard for fish oils CODEX STAN 329-2017.
- Félix-Soriano, E., Martínez-Gayo, A., Cobo, M. J., Pérez-Chávez, A., Ibáñez-Santos, J., Palacios Samper, N., Galarza, I. G., Cuervo, M., García-Unciti, González-Muniesa, P., M., Lorente-Cebrian, S., & Moreno-Aliaga, M. J. (2021). Effects of DHA-Rich n-3 fatty acid supplementation and/or resistance training on body composition and cardiometabolic biomarkers in overweight and obese post-menopausal women. *Nutrients*, 13(7), 2465-2486. <https://doi.org/10.3390/nu13072465>
- Gao, Z., Ji, Z., Wang, L., Deng, Q., Quek, S. Y., Liu, L., & Dong, X. (2023). Improvement of oxidative stability of fish oil-in-water emulsions through partitioning of sesamol at the interface. *Foods*, 12(6), 1287-1303. <https://doi.org/10.3390/foods12061287>
- Göransson, M., Nilsson, F., & Jevinger, Å. (2018). Temperature performance and food shelf-life accuracy in cold food supply chains—Insights from multiple field studies. *Food Control*, 86(2018), 332-341. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.10.029>
- Hubinont, C., & Savoye, T. (2017). Maternal and fetal benefits of DHA supplementation during pregnancy. *Journal of Pregnancy and Reproduction*, 1(1), 1-7. <https://doi.org/10.15761/JPR.1000103>

- Jun, M., Fu, H. Y., Hong, J., Wan, X., Yang, C. S., & Ho, C. T. (2003). Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria lobata* Ohwi). *Journal of food science*, 68(6), 2117-2122. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb07029.x>
- La Dia, W. O. N. A., Trilaksani, W., & Ramadhan, W. (2022). Purifikasi minyak mata tuna (*Thunnus* sp.) kaya DHA dengan variasi adsorben. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(3), 428-440. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v25i3.42794>
- Liang, J., Tian, Y., Yang, F., Zhang, J., & Skibsted, L. H. (2009). Antioxidant synergism between carotenoids in membranes. Astaxanthin as a radical transfer bridge. *Food Chemistry*, 115(4), 1437-1442. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.01.074>
- McNulty, H., Jacob, R. F., & Mason, R. P. (2008). Biologic activity of carotenoids related to distinct membrane physicochemical interactions. *The American journal of cardiology*, 101(10A), 20-29. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2008.02.004>
- Meng, F., Qiu, J., Chen, H., Shi, X., Yin, M., Zhu, M., & Yang, G. (2021). Dietary supplementation with N-3 polyunsaturated fatty acid-enriched fish oil promotes wound healing after ultraviolet B-induced sunburn in mice. *Food Science & Nutrition*, 9(7), 3693-3700. <https://doi.org/10.1002/fsn3.2330>
- Nantitanon, W., Chowwanapoonpohn, S., & Okonogi, S. (2007). Antioxidant and antimicrobial activities of *Hyptis suaveolens* essential oil. *Scientia Pharmaceutica*, 75(1), 35-54. <https://doi.org/10.3797/scipharm.2007.75.35>
- Nazir, N., Diana, A., & Sayuti, K. (2017). Physicochemical and Fatty acid profile of fish oil from head of tuna (*Thunnus albacares*) extracted from various extraction method. *International Journal on Advanced Science, Engineering and Information Technology*, 7(2), 709-715. <https://doi.org/74384484/1063>
- Niamnuy, C., Devahastin, S., Soponronnarit, S., & Raghavan, G. V. (2008). Kinetics of astaxanthin degradation and color changes of dried shrimp during storage. *Journal of Food Engineering*, 87(4), 591-600. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.01.013>
- Ogrodowska, D., Laaksonen, O., & Konopka, I. (2020). Pumpkin oil addition and encapsulation process as methods to improve oxidative stability of fish oil. *LWT - Food Science and Technology*, 124(2020), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109142>
- Okada, S., Nur-E-Borhan, S. A., & Yamaguchi, K. (1994). Carotenoid composition in the exoskeleton of commercial black tiger prawns. *Fisheries science*, 60(2), 213-215. <https://doi.org/10.2331/fishsci.60.213>
- Oslan, S. N. H., Tan, J. S., Oslan, S. N., Matanjun, P., Mokhtar, R. A. M., Shapawi, R., & Huda, N. (2021). *Haematococcus pluvialis* as a potential source of astaxanthin with diverse applications in industrial sectors: current research and future directions. *Molecules*, 26(21), 6470-6481. <https://doi.org/10.3390/molecules26216470>
- Phung, A. S., Bannenberg, G., Vigor, C., Reversat, G., Oger, C., Roumain, M., ... & Wang, S. C. (2020). Chemical compositional changes in over-oxidized fish oils. *Foods*, 9(10), 1501-1532. <https://doi.org/10.3390/foods9101501>
- Qiu, C., Zhao, M., Andrew, E., & Julian, D. (2015). Influence of anionic dietary fibers (xanthan gum and pectin) on oxidative stability and lipid digestibility of wheat protein-stabilized fish oil-in-water emulsion. *Food Research International*, 74(2015), 131-139. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.022>
- Rizzardi, N., Pezolesi, L., Samor, C., Senese, F., Zalambani, C., Pitacco, W., Calonghi, N., Bergamini, C., Prata, C., & Fato, R. (2022). Natural astaxanthin is a green antioxidant able to counteract lipid peroxidation and ferroptotic cell death. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 15137-15153. <https://doi.org/10.3390/ijms232315137>
- Sachindra, N. M., Bhaskar, N., & Mahendrakar, N. S. (2005). Carotenoids

- in different body components of Indian shrimps. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(1), 167-172. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1977>
- Šimat, V., Vlahovic, J., Soldo, B., Skroza, D., Ljubenkovic, I., & Mekinac, I. G. (2019). Production and refinement of omega-3 rich oils from processing by-products of farmed fish species. *Foods*, 8(4), 125-139. <https://doi.org/10.3390/foods8040125>
- Stoknes, I. S., Økland, H. M., Falch, E., & Synnes, M. (2004). Fatty acid and lipid class composition in eyes and brain from teleosts and elasmobranchs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 138(2), 183-191. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2004.03.009>
- Suseno, S. H., Hulu, D. P., Bija, S., & Fitriana, N. (2018). Stability of sardine (*Sardinella* sp.) oil soft gel through salt solution and citric acid degumming method. *Pakistan Journal of Biotechnology*, 15(1), 11-14. <https://pjbt.org/index.php/pjbt/article/download/99/94>
- Trilaksani, W., Riyanto, B., & Syifa, A. L. (2020). Extraction and microencapsulation of tuna virgin fish oil with mangrove fruit extract fortified into extrusion cereals [Conference session]. The International Symposium; Coastal ecosystem and biodiversity of Asia-Pacific, Bogor, Indonesia. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/420/1/012032>
- Trilaksani, W., Riyanto, B., Nurhayati, T., Santoso, J., & Kurniawan, I. A. H. (2021). Integrasi sentrifugasi suhu rendah dengan optimasi ekstraksi enzimatis minyak mata tuna menggunakan *response surface methodology*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(3), 395-406. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v24i3.36652>
- Zhang, T. T., Xu, J., Wang, Y. M., & Xue, C. H. (2019). Health benefits of dietary marine DHA/EPA-enriched glycerophospholipids. *Progress in Lipid Research*, 75(08), 100997-101021. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2019.100997>