

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Stunting merupakan gangguan pada anak yang ditandai dengan tinggi, bobot serta IQ dibawah rata-rata anak seusianya (WHO, 2010). Riset Kesehatan Dasar (Riskesmas) menyebutkan prevalensi *stunting* nasional pada tahun 2018 mencapai 30.8%. *Stunting* menjadi masalah serius karena dapat menurunkan produktivitas, sehingga menghambat pembangunan dan kemajuan suatu negara. *Stunting* utamanya disebabkan karena tidak tercukupinya kebutuhan gizi saat hamil, yakni asam lemak omega-3 terutama DHA, protein dan zat besi. Pemerintah telah melakukan berbagai upaya pemenuhan gizi nasional yang dikenal dengan Program 1000 Hari Pertama Kehidupan (HPK), salah satunya berupa pemberian suplemen ibu hamil (KEMENKES RI 2016).

Konsumsi *Docosahexaenoic acid* (DHA) diperlukan dalam meningkatkan perkembangan sel otak (Maroon dan Bost, 2016). *Polyunsaturated fatty acid* (PUFA) memiliki peranan penting bagi kesehatan dan kecerdasan serta mencegah *prenatal depression* (Coletta *et al.*, 2010). Konsumsi DHA sangat penting dalam tumbuh kembang otak dan retina pada janin, (Sehena, 2010). Koletzko *et al.*, (2007) menyampaikan bahwa minimal kebutuhan DHA harian ibu hamil dan menyusui adalah 200 mg per harinya.

Tuna merupakan komoditas ekspor unggulan kedua di Indonesia setelah udang (KKP 2017). Tuna diekspor dalam bentuk loin beku (*frozen tuna loin*), sehingga menyisakan limbah berupa kepala (17%), tulang (4%), jeroan (5%) dan sirip (4%) (Sayana dan Sirajudheen, 2017). Limbah mata tuna mengandung asam lemak omega-3 yang cukup tinggi, bahkan dikonsumsi serta menjadi *luxury food* di Jepang. Persentase PUFA mata tuna mencapai 48.75% dari lemak total, sedangkan EPA dan DHA masing-masing 7% dan 35% (Gamarro *et al.*, 2013). Nilai tersebut jauh lebih tinggi bila dibandingkan sarden yang kandungan DHA-nya hanya $6.9 \pm 1.5\%$ (Mohanty *et al.* 2016) dan salmon atlantik $17.1 \pm 0.47\%$ (Soltan *et al.*, 2008). Keunggulan ini menjadikan mata tuna sebagai bahan baku potensial suplemen ibu hamil berbasis *virgin fish oil* dari bahan lokal.

Suplementasi memerlukan kesesuaian akan gizi khusus ibu hamil (Permenkes 2019), ini berkaitan dengan penentuan dosis, komposisi, dan proporsi bahan penyusun. *Mixture design* dapat diterapkan untuk mengetahui pencampuran dua komponen atau lebih untuk mendapat formula yang lebih akurat, mengurangi *trial and error* dilapangan (Bezerra *et al.* 2019), dan mampu dihasilkan produk akhir yang lebih baik dibanding komponen tunggalnya dalam menghasilkan produk yang sama (Cornell 1990).

Perumusan Masalah

Stunting menjadi permasalahan serius di Indonesia. Upaya pemerintah saat ini dalam menanggulangi *stunting* masih belum optimal. Pemanfaatan potensi hasil samping mata tuna yang kaya DHA.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan menentukan formula optimal suplemen kehamilan berbasis *virgin fish oil* mata tuna dan hidrolisat protein ikan kayu dengan *mixture design*.

Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini adalah inovasi suplemen khusus ibu hamil untuk mencegah dan mengurangi *stunting* di Indonesia melalui pemanfaatan sumberdaya lokal.

Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup penelitian terdiri dari karakteristik mata tuna dan *virgin fish oil* mata tuna, karakteristik bubuk ikan kayu dan hidrolisat protein ikan kayu, karakteristik emulsi suplemen kehamilan yang meliputi karakteristik fisik, karakteristik kimia, dan mikrobiologi.

METODE

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari 2020 hingga Oktober 2020. Tempat pelaksanaan penelitian di Laboratorium Preservasi dan Pengolahan Hasil Perairan, Laboratorium Pasca-sarjana, Laboratorium Pengolahan Pangan Ilmu dan Teknologi Pangan, Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Hewan, Laboratorium Biokimia, Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perairan, Laboratorium PAU SEAFASST, Laboratorium Saraswanti Indogenetech, dan Pusat Penelitian Bioteknologi dan Bioindustri Indonesia.

Bahan dan Alat

Bahan baku minyak ikan yang digunakan berupa mata tuna (*Thunnus* sp.) hasil samping industri tuna loin di Bitung Sulawesi Utara, ikan kayu cakalang (*Katsuwonus pelamis*) diproduksi oleh PT Omereso Foods, Makassar, Sulawesi Selatan, akuades, enzim papain (Papain®, Merck), bahan penyusun emulsi suplemen (kuning telur ayam, air perasan lemon, gula, natrium benzoat, *virgin coconut oil*), indikator kanji 1%, etanol 95%, indikator PP, isooktan, NaOH, H₂SO₄, BF₃, NaCl, Na₂SO₄, CH₃COOH, KOH, HCl, dan Trichloroacetic Acid (TCA) (0.3 mol/L). Alat yang digunakan meliputi timbangan analitik, *blender* Philips HR 211, *sentrifuge* (Hitachi Model Part No. R12A6904357D0), *Gas Chromatography* (Shimadzu GC 2010 plus), *water bath shaker* (Yamato, Japan), *homogenizer* (Wiggen Hause), *software Minitab 19*, *viscometer* (Toki Sangyo model TV-10), mikroskop *Dino eye*.

Prosedur Penelitian

Preparasi, Ekstraksi, dan Determinasi Profil *Virgin Fish Oil* Mata Tuna (Murado *et al.* 2012, Clodoveo dan Hbaeib 2013)

Mata tuna (*Thunnus albacares*) berasal dari hasil samping industri tuna di Kota Bitung Sulawesi Utara ditransportasikan ke Pelabuhan Muara Baru, Jakarta Utara menggunakan kargo dilengkapi *freezer* (kardus rapat dan es mengelilingi untuk mempertahankan suhu beku) kemudian diambil menuju laboratorium sekitar 5-6 jam dipertahankan dalam keadaan beku. Mata tuna beku kemudian dilakukan *thawing* selama 12 jam pada suhu *chilling*.

Determinasi profil mata tuna meliputi kenampakan visual mata tuna menggunakan kamera digital (Canon 7D). Proporsi mata tuna, terdiri dari bagian mata tuna dan ukuran mata tuna yang dilakukan dengan penggaris (skala terkecil 0.1 cm) serta bobot mata tuna menggunakan timbangan. Analisis kesegaran mata tuna meliputi aspek sensori kenampakan mata ikan (bola mata, kornea, dan pupil) yang dilakukan mengacu pada SNI 2729:2013 tentang spesifikasi kenampakan mata ikan segar. Sampel mata tuna yang digunakan untuk determinasi profil sebanyak 30 buah. Analisis komponen kimia mata tuna, meliputi kadar air (AOAC 2000 butir 934.01), kadar abu (AOAC 2005 butir 938.08), kadar protein (AOAC 2000 butir 981.10), kadar lemak (AOAC 2005), karbohidrat (*by difference*) (AOAC 2000).

Metode pemisahan mata tuna menjadi *virgin fish oil* berupa *cold sentrifugal separation*, mengacu Clodoveo dan Hbaeib (2013) modifikasi pada *jenis* sampel. Sampel yang digunakan berupa otot mata kemudian dilumatkan hingga campuran berbentuk pasta. Pencampuran dilakukan menggunakan mesin blender selama ± 3 menit dan diberhentikan selama 15 detik dalam suhu *chilling*. Pasta tuna yang dihasilkan kemudian disentrifugasi (11 200 g, 30 menit, 4 °C). Tahapan selanjutnya berupa pemisahan *virgin fish oil* dari pengotor dengan menggunakan pipet 5 mL ± 15 menit dan disimpan dalam botol kaca tertutup *aluminium foil*.

Kenampakan visual *virgin fish oil* menggunakan kamera digital (Canon 7D), rendemen *virgin fish oil* dihitung melalui perbandingan bobot *virgin fish oil* yang dihasilkan dengan bobot mata tuna. Parameter kualitas *virgin fish oil* mata tuna terdiri dari analisis bilangan peroksida (AOAC, 2005 No. Metode Ca 5a-40), analisis asam lemak bebas (AOCS, 1998), analisis *p-anisidin* (IUPAC 1987 No.2504), analisis total oksidasi (TOTOX) (AOCS, 1997), profil asam lemak (AOAC 2005 No.969.33), analisis logam berat As (7387:2009), logam berat Cd, Pb (SNI 2354:5:2016), logam berat Hg (SNI 2354:6:2016), dan logam berat As (SNI 2354:15:2017).

Hidrolisis dan Determinasi Profil Protein Ikan Kayu (FSSAI 2012, Anggraini 2018)

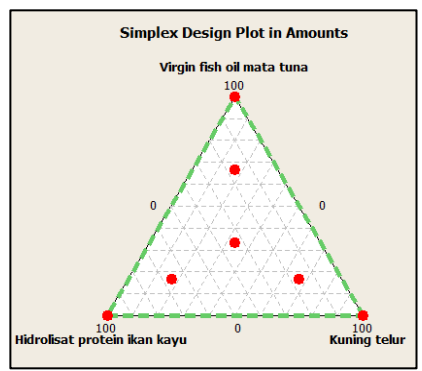
Ikan kayu utuh dengan rerata ukuran dan bobot 18 cm dan 89.47 g dihaluskan dengan blender selama satu menit hingga menjadi bubuk, hasil yang didapat disaring menggunakan *nylon mesh* 60 (FSSAI 2012). Kenampakan visual bubuk ikan kayu dilakukan dengan kamera digital (Canon 7D). Mutu bubuk ikan kayu dianalisis secara proksimat, meliputi kadar air (AOAC 2000 butir 934.01), kadar abu (AOAC 2005 butir 938.08), kadar protein (AOAC 2000 butir 981.10), kadar lemak (AOAC 2005), karbohidrat (*by difference*) (AOAC 2000).

Pembuatan hidrolisat dilakukan dengan mencampur bubuk ikan kayu dalam akuades rasio 1:5 (w/v) kemudian dihomogenisasi selama 2-3 menit. Sampel dihidrolisis dengan enzim papain 3% (pH 7, 55 °C, 67.2 g) selama 4 jam menggunakan *water bath shaker* (Anggraini 2018 modifikasi pada rasio ikan kayu dan akuades). Reaksi dihentikan dengan pemanasan selama 15 menit pada suhu 60 °C. Analisis mutu hidrolisat protein ikan kayu dengan derajat hidrolisis (Hoyle dan Merritt 1994).

Optimasi Formulasi Emulsi Suplemen Kehamilan (Brereton 2003)

Komponen bahan yang digunakan meliputi, *virgin coconut oil*, air lemon, garam, gula, dan natrium benzoat, *virgin fish oil* mata tuna, hidrolisat protein ikan kayu, dan kuning telur sebagai emulsifier. Suplemen kehamilan meliputi unsur *virgin fish oil* mata tuna sebagai penyumbang DHA, hidrolisat protein ikan kayu sebagai sumber protein, serta kuning telur sebagai emulsifier. Penetapan variabel tetap meliputi *virgin coconut oil*, air perasan lemon, garam, gula, natrium benzoat dan variabel berubah meliputi *virgin fish oil* mata tuna, hidrolisat protein ikan kayu, dan kuning telur. Rancangan yang digunakan adalah *mixture experiment {3,1} simplex-lattice design with axial points*. Jumlah variabel berubah sebanyak 3 (*virgin fish oil* mata tuna, hidrolisat protein ikan kayu, kuning telur), maka total formula yang didapat 7 formula dan dilakukan 2 ulangan.

Penentuan minimum dan maksimum dari variabel berubah didasarkan angka kecukupan gizi harian ibu hamil usia 19-29 tahun (PERMENKES 2019). Penetapan *virgin fish oil* mata tuna sebagai penyumbang komponen DHA sebanyak 0.3-0.6 g, hidrolisat protein ikan kayu tradisional sebagai penyumbang protein dibutuhkan 4.5-7.5 g, serta kuning telur sebagai komponen emulsifier 6.5-9.5 g didapat melalui *trial and error* (Gambar 1).



Keterangan:
 titik merah: titik rancangan formula
 0-100: persentase formula

Gambar 1 Rancangan *mixture experiment {3,1} simplex-lattice design with axial points* suplemen kehamilan

Hasil input jumlah variabel dan jenis rancangan yang digunakan diperoleh 7 formula. Rancangan yang dipakai adalah *mixture experiment {3,1} simplex-lattice design with axial points* (Tabel 6). Total penjumlahan variabelnya 100 persen, sehingga menghasilkan total yang sama antar formulanya. Formula yang didapat kemudian dikonversi ke bobot (g). Formulasi emulsi suplemen kehamilan dapat dilihat pada Tabel 1 dan 2.

Tabel 1 Formulasi variabel *mixture experiment* {3,1} *simplex-lattice design with axial points*

Formula	Minyak <i>Virgin</i> Tuna (%)	Hidrolisat Protein Ikan (%)	Kuning Telur (%)
1	33.33	33.33	33.33
2	16.67	66.67	16.67
3	16.67	16.67	66.67
4	66.67	16.67	16.67
5	0.00	100.00	0.00
6	100.00	0.00	0.00
7	0.00	0.00	100.00

Tabel 2 Formulasi emulsi suplemen kehamilan

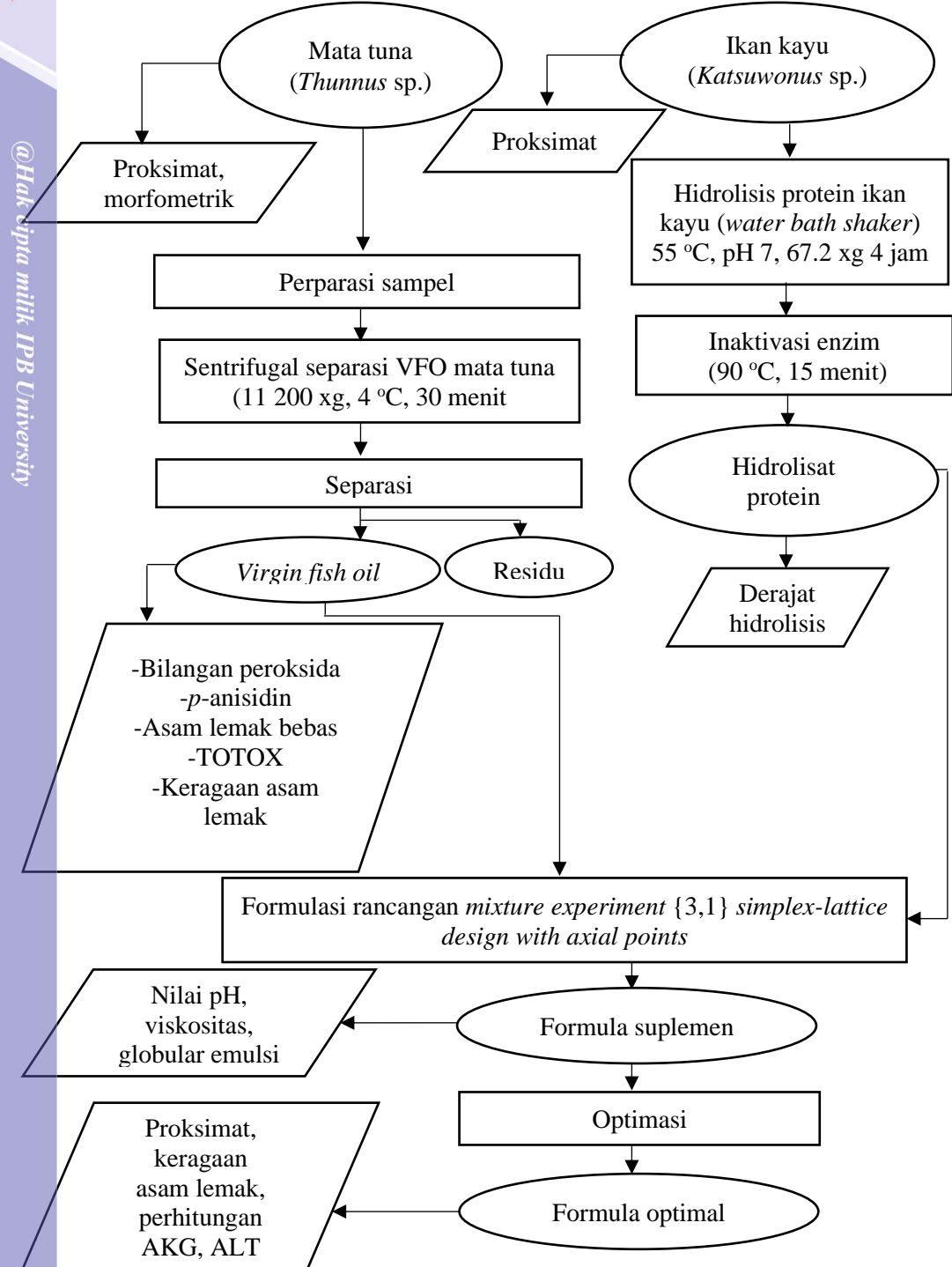
Formu- la	<i>Virgin fish oil</i> mata tuna (g)	Hidroli- sat protein ikan kayu(g)	Kuning telur (g)	<i>Virgin coconut oil</i> (g)	Air lemon (g)	Gula (g)	Garam (g)	Natrium Benzoat (g)
1	0.39	5.49	7.49	38	3	5	0.20	0.05
2	0.35	6.50	7.00	38	3	5	0.20	0.05
3	0.35	5.00	8.50	38	3	5	0.20	0.05
4	0.50	5.00	7.00	38	3	5	0.20	0.05
5	0.30	7.50	6.50	38	3	5	0.20	0.05
6	0.60	4.50	6.50	38	3	5	0.20	0.05
7	0.30	4.50	9.50	38	3	5	0.20	0.05

Keterangan: Bobot Total ± 60 g

Pembuatan emulsi diawali dengan pendispersian bahan-bahan (*virgin fish oil* mata tuna, dan *virgin coconut oil*) dengan kuning telur sedikit demi sedikit, kemudian dilanjutkan dengan fase terdispersi (hidrolisat protein ikan kayu natrium benzoat, air lemon) menggunakan *stirrer* 1008 xg selama 1.5 jam hingga tercampur sempurna. Komposisi *virgin coconut oil* ditetapkan berdasarkan konsumsi harian *virgin coconut oil* yang disarankan oleh European Food Safety Authority (EFSA 2011). Natrium benzoat berfungsi meningkatkan masa simpan produk, telah sesuai dengan *Acceptable Daily Intake* (ADI) Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia (BPOM 2013). Dosis konsumsi suplemen emulsi adalah 3 kali sehari 2 sendok makan (83.5 g) dan telah disesuaikan dengan AKG terhadap protein (PERMENKES 2019), dan DHA ibu hamil (Koletzko *et al.* 2007). Respon yang diperoleh meliputi parameter fisik (nilai pH, viskositas) dan sensori untuk melihat formula yang paling disukai.

Determinasi Profil Formula Optimal Emulsi

Respon formula yaitu nilai pH dan viskositas kemudian dioptimasi. Formula optimal yang didapat kemudian dianalisis secara kimia, meliputi kadar air (AOAC 2000 butir 934.01), kadar abu (AOAC 2005 butir 938.08), kadar protein (AOAC 2000 butir 981.10), kadar lemak (AOAC 2005), karbohidrat (*by difference*) (AOAC 2000), GC-MS (AOAC 2005 No.969.33) untuk melihat keragaan asam lemak, dan gizi (PERMENKES 2019) serta analisis secara mikrobiologi dengan perhitungan angka lempeng total (ALT) (BSN 2015). Diagram alir prosedur penelitian dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2 Diagram alir keterkaitan penelitian dalam pembuatan emulsi suplemen Kehamilan

Prosedur Analisis

Kadar Air (AOAC 2000 butir 934.01)

Analisis diawali dengan pengeringan cawan porselen dalam oven pada suhu 105 °C selama 1 jam, kemudian ditimbang. Sebanyak 5 g sampel dimasukkan ke dalam cawan, dikeringkan dengan oven pada suhu 120 °C selama 2 jam atau

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

hingga beratnya konstan. Selanjutnya, cawan tersebut diletakkan pada desikator ± 30 menit dan dibiarkan sampai dingin dan selanjutnya ditimbang kembali. Presentasi kadar air (basis basah) dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\%bb)} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

- A = Berat cawan kosong (g)
- B = Berat cawan yang diisi dengan sampel (g)
- C = Berat cawan dengan sampel yang sudah dikeringkan (g)
- bb = Basis basah

Kadar Abu (AOAC 2005 butir 938.08)

Analisis kadar abu diawali dengan pengeringan cawan pengabuan terlebih dulu dikeringkan di dalam oven selama 1 jam pada suhu $105\text{ }^{\circ}\text{C}$, kemudian ditimbang. Sebanyak 5 g sampel dimasukkan ke dalam cawan pengabuan dan dipijarkan di atas nyala api bunsen hingga tidak berasap lagi, setelah itu dimasukkan ke dalam tanur pengabuan dengan suhu $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ sampai pengabuan sempurna, selanjutnya ditimbang hingga didapatkan berat yang konstan. Kadar abu dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar abu (\%bb)} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan:

- A = Berat cawan porselen kosong (g)
- B = Berat cawan dengan sampel (g)
- C = Berat cawan dengan sampel setelah dikeringkan (g)
- bb = Basis basah

Kadar Lemak (AOAC 2005)

Sebanyak 5 g sampel (W1) dimasukkan ke dalam kertas saring, kemudian sampel yang telah dibungkus dimasukkan ke dalam labu lemak yang sudah ditimbang berat tetapnya (W2) dan disambungkan dengan tabung soxhlet. Selongsong lemak dimasukkan ke dalam ruang ekstraktor tabung soxhlet dan disiram dengan pelarut lemak. Tabung ekstraksi dipasang pada alat destilasi soxhlet, lalu dipanaskan pada suhu $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ dengan menggunakan pemanas listrik selama 16 jam. Pelarut lemak yang ada dalam labu lemak didestilasi hingga semua pelarut lemak menguap. Saat destilasi pelarut akan tertampung di ruang ekstraktor, selanjutnya pelarut dikeluarkan dan labu lemak dikeringkan dalam oven pada suhu $105\text{ }^{\circ}\text{C}$, setelah itu labu didinginkan dalam desikator sampai beratnya konstan (W3). Kadar lemak dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar lemak (\%bb)} = \frac{W3 - W2}{W1} \times 100\%$$

Keterangan:

- W1 = Berat sampel (g)
- W2 = Berat labu lemak kosong (g)
- W3 = Berat labu lemak dengan lemak (g)
- bb = Basis basah

Kadar Protein Metode Kjeldahl (AOAC 2000 butir 981.10)

Analisis protein dengan metode kjeldahl terdiri dari tiga tahap, yaitu destruksi, destilasi, dan titrasi. Tahap destruksi diawali dengan penimbangan



sampel 0.3 g, kemudian dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 mL, lalu ditambahkan 0.3 g selenium dan 20 mL H₂SO₄ pekat. Sampel didestruksi pada suhu 410 °C sampai larutan hijau-kekuningan-jernih lalu didinginkan selama 15 menit. Tahap selanjutnya yaitu destilasi, larutan yang telah jernih ditambahkan 300 mL akuades dan 100 mL NaOH 40% kemudian dilakukan proses destilasi. Hasil destilasi ditampung dalam labu Erlenmeyer 125 mL yang berisi campuran 10 mL H₂SO₄ 0.1 N yang mengandung indikator metylen blue 0.1 % dan metylen red 0.1 % dengan perbandingan 2:1 dan hasil destilat berwarna hijau kebiruan. Terakhir, titrasi dilakukan dengan menggunakan HCl 0.1 N sampai warna larutan pada Erlenmeyer berubah menjadi merah muda. Volume titran dicatat. Larutan blanko dianalisis seperti contoh. Kadar protein dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\text{Nitrogen (\% bb)} = \frac{(\text{volume HCl (mL)} - \text{volume blanko (mL)}) \times \text{N HCl} \times 14,007}{\text{bobot sampel (mg)}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar protein (\% bb)} = \% \text{ N} \times 6.25$$

Kadar karbohidrat (AOAC 2000)

Kadar karbohidrat dihitung secara *by difference*, yakni diperoleh dari hasil pengurangan 100 % dengan kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak. Hal tersebut dikarenakan karbohidrat sangat berpengaruh terhadap zat gizi lainnya. Kadar karbohidrat dapat dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar karbohidrat} = 100\% - (\text{kadar air} + \text{kadar abu} + \text{kadar lemak} + \text{kadar protein})$$

Bilangan Peroksida (AOAC 2005 No. Metode Ca 5a-40)

Sebanyak 2 g sampel ditimbang dalam labu Erlenmeyer ukuran 250 mL. Sebanyak 30 mL larutan asam asetat (CH₃COOH) dan kloroform (CHCl₃) dengan perbandingan 3:2 ditambahkan. Larutan *potassium iodide* (KI) 0.5 mL ditambah ke dalam larutan dan dikocok. Larutan yang telah terkocok kemudian ditambah 30 mL aquades dan 0.5 mL larutan indikator kanji 1%. Warna campuran sebelum dititrasi berupa biru kehitaman. Larutan kemudian dititrasi dengan 0.01 N *sodium thiosulfate* (Na₂S₂O₃). Larutan kemudian dititrasi sampai warna biru menghilang dan berubah menjadi tidak berwarna. Rumus perhitungan nilai peroksida adalah:

$$\text{Nilai Peroksida (meq/kg)} = \frac{S \times M \times 1000}{\text{berat sampel (g)}}$$

Keterangan:

S = jumlah *sodium thiosulfate* (mL)

M = konsentrasi *sodium thiosulfate* (0.01)

p-anisidin (International Union on Pure and Applied Chemistry 1987 No. 2.504)

Larutan uji dibuat menjadi 2 jenis, yakni larutan 1 dan 2. Larutan uji 1 dibuat menggunakan 0.5 g sampel yang dilarutkan dalam 25 mL isooktan. Larutan uji 2 dibuat dengan 1 mL larutan *p*-anisidin (2.5 g/L) ke dalam 5 mL larutan uji 1, kemudian dikocok dan dihindarkan dari cahaya. Larutan kemudian diukur nilai absorbansinya. Pengukuran larutan uji 1 pada panjang gelombang 350 nm dengan isooktan sebagai larutan kompensasi. Larutan uji 2 diukur pada panjang gelombang

350 nm tepat 10 menit setelah larutan disiapkan, dengan menggunakan larutan uji 2 sebagai kompensasi. Rumus perhitungan nilai *p*-anisidin adalah:

$$\text{Nilai } p\text{-anisidin (meq/kg)} = \frac{25 \times (1,2A1 - A2)}{m}$$

Keterangan:

- A1 = absorbansi larutan uji 1
 A2 = absorbansi larutan uji 2
 m = massa sampel yang digunakan pada larutan uji 1

Asam Lemak Bebas (*Free Fatty Acid*) (AOCS 1998)

Sampel minyak sebanyak 10 g ditambahkan dengan alkohol 95% netral sebanyak 25 mL ke dalam labu Erlenmeyer ukuran 250 mL. Sampel selanjutnya dipanaskan dalam penangas hingga mendidih kemudian ditetesi dengan indikator PP sebanyak 2 mL. Sampel dikocok dan dititrasi dengan KOH 0.1 N hingga timbul warna merah muda stabil dan tidak hilang dalam waktu 10 detik. Persentase nilai FFA dapat dihitung melalui persamaan berikut:

$$\text{Nilai FFA (\%)} = \frac{A \times N \times M}{10 G}$$

Keterangan:

- A = Jumlah titrasi KOH (mL)
 N = Normalitas KOH (0.1 N)
 G = Gram contoh
 M = Bobot molekul asam lemak dominan

Total Oksidasi (TOTOX) (AOCS 1997)

Analisis total oksidasi dilakukan sebanyak dua kali nilai bilangan peroksida yang ditambahkan dengan nilai anisidin. Nilai total oksidasi (TOTOX) yang dilakukan mengacu AOCS (1997). Perhitungan nilai dilakukan melalui perhitungan berikut:

$$\text{Nilai total oksidasi (meq/kg)} = (2PV + p\text{-anisidin})$$

Keterangan:

- PV = Nilai bilangan peroksida
p-anisidin = Nilai *p*-anisidin

Logam Berat Cd, Pb (SNI 2354:5:2016)

Sampel sebanyak 1 g diabukan (digesti kering) dengan tanur pada suhu 450 °C. Logam dalam abu selanjutnya diikat dalam asam klorida (HCl) 6 M dan asam nitrat (HNO₃) 0.1 M secara berurutan. Larutan yang dihasilkan selanjutnya diatomisasi menggunakan *graphite furnace*. Atom-atom unsur Pb dan Cd berinteraksi dengan sinar dari lampu Pb dan Cd. Interaksi yang berupa serapan sinar besar nilainya dapat dilihat pada tampilan (monitor) *Atomic Absorption Spectrofotometer* (AAS). Jumlah serapan menunjukkan besarnya konsentrasi logam Pb dan Cd. Rumus perhitungan kadar logam berat Pb dan Cd sebagai berikut:

$$\text{Kadar logam (mg/kg)} = \frac{(\text{Konsentrasi logam kurva rendah } (\mu\text{g/mL}) \times v \text{ pelarutan})}{\text{bobot sampel}}$$

Logam Berat Hg (SNI 2354:6:2016)

Sampel sebanyak 1 g didestruksi refluks menggunakan asam sulfat pekat dan nitrat pekat dengan bantuan pemanas listrik atau dengan *microwave*

menggunakan asam nitrat untuk dipeoleh unsur merkuri bermuatan positif (Hg^+ atau Hg^{++}). Penetapan jumlah merkuri dilakukan dengan spektrofotometer serapan atom nyala (*flameless AAS*), kemudian ion merkuri ini direduksi dengan natrium borohidrid menjadi Hg netral dalam bentuk kabut uap merkuri. Kabut uap merkuri didorong oleh gas mulia argon menuju sel penyerapan pada AAS dan berinteraksi dengan sinar yang berasal dari lampu katoda merkuri *Hallow Cathode Lamp* (HDL) atau *Electric Discharge Lamp* (EDL). Interaksi tersebut menghasilkan serapan yang besarnya dapat dilihat dari layar monitor AAS. Jumlah serapan sinar sebanding dengan kadar merkuri. Rumus perhitungan logam berat As sebagai berikut:

$$\text{Kadar logam (mg/kg)} = \frac{(\text{Konsentrasi logam kurva rendah } (\mu\text{g/mL}) \times v \text{ pelarutan})}{\text{bobot sampel}}$$

Logam Berat As (SNI 2354:15:2017)

Prosedur terdiri dari tiga tahap, yakni destruksi, reduksi, dan pembacaan kandungan. Tahapan destruksi diawali dengan sampel ditimbang sebanyak 2.0 g ke dalam tabung sampel (vessel), untuk kontrol positif (spike) ditambah larutan standar As yang telah dihitung konsentrasi dan volumenya ke dalam contoh lalu dihomogenkan dengan vortex dan diamkan selama 30 menit. Sebanyak 8 mL HNO_3 65 % ditambahkan ke sampel, kemudian tutup vessel dan diamkan pada suhu ruang selama 3 jam (tahapan pradigesti). Sebanyak 2 mL H_2O_2 pekat dimasukkan ke dalam vessel dan tutup rapat. Proses digesti dilakukan dengan *microwave*, kemudian dinginkan. Sebanyak 1 mL hasil digesti dipipet ke cawan porselen, kemudian ditambah 1 mL $Mg(NO_3)_2$ 7.5 % dan keringkan di atas *hotplate*. Cawan di tutup dan dimasukkan ke dalam tanur dengan suhu 450 °C selama 30 menit. Abu hasil tanur dilarutkan dengan menambah 2 mL HCl 8 M, ke labu takar 10 mL, encerkan dengan air deionisasi hingga tanda batas.

Tahapan reduksi diawali dengan 5 mL larutan contoh dipipet ke dalam labu takar 25 mL. Siapkan pereaksi blanko dan dipipet 2 mL HNO_3 2.87 mol/L ke dalam labu takar 25 mL. Siapkan sederet larutan standar dengan konsentrasi (0.5, 1.0, 2.5, 5.0, dan 10.0) $\mu\text{g/L}$, dicampur ke dalam labu takar 25 mL yang berbeda. Sebanyak 2 mL HCl pekat ditambah ke dalam labu takar kemudian diaduk perlahan. Selanjutnya tambahkan 2 mL larutan KI-asam askorbat (campuran 5 % KI (campuran 5 % KI dan 5 % asam askorbat) ke dalam masing-masing labu takar. Biarkan labu takar terbuka selama 45 menit pada suhu ruang agar As^{5+} direduksi secara sempurna menjadi As^{3+} . Tambahkan air deionisasi ke dalam labu takar, tepatkan volume hingga tanda batas kemudian dianalisis segera dengan instrumen HG-AAS.

Tahap pembacaan logam arsen pada AAS diawali dengan larutan $NaBH_4$ ditempatkan pada tabung *Hydride Generator* (HG-1) dan larutan HCl 3 M ke dalam tanur HG-2. Kondisikan perangkat *Hydride Generator* dan AAS dan petunjuk peralatan. Baca larutan standar kerja, contoh dan spike contoh pada instrumen HG-AAS pada panjang gelombang 193.7 nm. Tentukan konsentrasi contoh berdasarkan berdasarkan kurva kalibrasi. Perhitungan kadar arsen total adalah:

$$\text{Kadar arsen total (mg/kg)} = \frac{D-E \times fp \times V \text{ (mL)} \times \frac{1L}{1000} \text{mL}}{W}$$

Keterangan:

- D = Konsentrasi contoh $\mu\text{g/L}$ dari hasil pembacaan AAS
 E = Konsentrasi blanko contoh $\mu\text{g/L}$ dari hasil pembacaan AAS
 V = Volume akhir larutan contoh yang disiapkan (mL)
 Fp = Faktor pengenceran
 W = Berat contoh (g)

Keragaan asam lemak (AOAC 2005 No. 969.33)

Sampel sebanyak 20 mg minyak dalam tutup tabung teflon ditambah dengan 1 mL NaOH 0.5 N dalam metanol. Sampel kemudian dipanaskan dalam penangas air selama 20 menit. Larutan BF_3 20% 2 mL dan 5 mg/mL standar ditambah dalam campuran kemudian dipanaskan selama 20 menit. Campuran kemudian didinginkan dan ditambah dengan 2 mL NaCl jenuh dan 1 mL isooktan, setelah itu dilakukan pengocokan. Lapisan isooktan yang terbentuk dipisahkan dengan pipet tetes dalam tabung yang berisi 0.1 g Na_2SO_4 anhidrat dan dibiarkan selama 15 menit. Fasa cair yang terbentuk dipisah, sedangkan fasa minyak yang dihasilkan kemudian diinjeksikan ke campuran standar FAME sebanyak 1 μL (*Supelco 37 component fatty acid methyl ester mix*). Sampel kemudian diinjeksikan sebanyak 1 μL ke instrumen GC. Laju aliran N_2 pada alat GC 20 mL/menit, laju alir H_2O 30 mL/menit dengan suhu injektor 200 °C dan suhu detector 230 °C. Waktu retensi dan puncak masing-masing komponen diukur serta dibandingkan dengan waktu retensi standar untuk memperoleh informasi mengenai jenis dan komponen dalam sampel. Persentase kandungan komponen dalam contoh adalah:

$$\text{Kandungan komponen dalam contoh (\%)} = \frac{\frac{A_x}{A_s} \times C_{\text{standar}} \times \frac{V_{\text{contoh}}}{100}}{\text{bobot contoh}} \times 100\%$$

Keterangan:

- A_x = Area sampel
 A_s = Area standar
 C_{standar} = Konsentrasi standar FAME (*Supelco 37*)
 V_{contoh} = Volume contoh

Derajat Hidrolisis (DH) (Hoyle dan Merritt 1994)

Tahapan dalam menentukan derajat hidrolisis dapat dihitung berdasarkan persentase *trichloroacetic acid* (TCA). Sampel sebanyak 10 mL ditambahkan dengan TCA 10% (b/v) dengan perbandingan 1:1. Campuran kemudian didiamkan selama 30 menit hingga mengendap, kemudian disentrifugasi (kecepatan 7800 xg, selama 15 menit). Supernatan yang diperoleh dianalisis kadar nitrogen menggunakan metode Kjeldahl (AOAC 2005). Derajat hidrolisis dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Derajat hidrolisis (\%)} = \frac{\text{Nitrogen terlarut dalam TCA 10\%}}{\text{Nitrogen total sampel}} \times 100\%$$

pH Emulsi

Pengukuran pH diawali dengan kalibrasi pH-meter dengan larutan penyangga sesuai kerja alat. Elektroda yang telah dikeringkan dengan tisu kemudian dibilas dengan air suling. Elektroda kemudian dicelupkan ke dalam contoh uji sampai pH meter menunjukkan pembacaan yang tetap. Hasil yang diperoleh kemudian dicatat sebagai data hasil uji.

Viskositas Emulsi (O'Brien *et al.* 2009)

Viskositas diukur menggunakan alat *Broofield Viscometer spindle* nomor 2. Sampel sebanyak 100 ml dimasukkan dalam gelas piala ukuran 100 ml. Sampel kemudian diukur dengan kecepatan 10.08 xg selama 2 menit hingga *display* angka yang muncul stabil. Angka yang muncul menunjukkan kekentalan sampel yang dimiliki kemudian dicatat dengan satuan cP (*centiPoise*).

Pengamatan Mikroskopik Emulsi

Pengamatan struktur emulsi diamati menggunakan mikroskop Olympus model BH-2. Sampel ditempatkan pada kaca objek tanpa dilakukan pengenceran. Sampel kemudian ditutup dengan kaca penutup dan diamati struktur emulsi w/o dengan kamera digital pembesaran 100x.

Karakteristik Sensori Emulsi (SNI 01-2346-2006)

Uji sensori dilakukan secara deskriptif dan hedonik menggunakan *scoring test*. Skala angka yang digunakan adalah 1 hingga 9. Data yang diperoleh dianalisis rataannya pada selang kepercayaan 95% menggunakan analisis statistik *incomplete block design*. Teknisnya, sebanyak 32 panelis dibagi menjadi 4 blok dan setiap bloknnya terdiri dari 8 orang. Perwakilan tersebut menerima sampel, masing-masing kelompok hanya menerima 4 sampel berbeda yang telah diacak. Lembar penilaiannya terdiri dari kenampakan, warna, aroma, rasa, tekstur dan aroma dari suplemen emulsi. Pengelompokkan dilakukan untuk mengurangi bias penilaian panelis akibat terlalu banyak formula yang diujikan.

Perhitungan Kontribusi terhadap Angka Kecukupan Gizi (AKG) (PERMENKES 2019)

Suplemen optimal dilakukan perhitungan kandungan gizinya. Parameternya meliputi persen Angka Kecukupan Gizi protein, omega-3, omega-6, serta asam lemak utama, seperti *eicosapentaenoic acid* (EPA) dan *docosahexaenoic acid* (DHA). Hasil yang diperoleh disesuaikan dengan kebutuhan gizi harian ibu hamil.

Angka Lempeng Total (ALT) (BSN 2015)

Perhitungan mikroba diukur menggunakan media *Plate Count Agar* (PCA) yang telah disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C, 1 atm selama 15 menit dan disimpan pada suhu (50 °C). Sebanyak 10 g sampel emulsi dilarutkan dalam 90 mL garam fisiologis steril untuk didapat pengenceran 10⁻¹. Larutan 10⁻¹ kemudian dipipet sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam 9 mL garam fisiologis untuk diperoleh pengenceran 10⁻², tahapan dilakukan hingga diperoleh pengenceran 10⁻⁵. Media yang telah membeku kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 48 jam. Jumlah koloni yang tumbuh (25-250) kemudian dihitung dengan rumus:

$$N = \frac{\sum C}{[(1 \times n1) + (0.1 \times n2)] \times d}$$

Keterangan:

- N = Jumlah koloni produk (CFU/mL atau koloni/mL)
- $\sum C$ = Jumlah koloni pada semua cawan yang dihitung
- n1, n2, nX = Jumlah cawan pada pengenceran ke-1, ke-2 dan ke-X yang dihitung
- d = Pengenceran pertama yang dapat dihitung

Prosedur Analisis Data

Analisis data menggunakan rancangan *mixture experiment* {3,1} *simplex-lattice design with axial points* menggunakan *second-order degree* Scheffé model seperti yang tercantum pada persamaan 1. Kebaikan model regresi dilihat dari koefisien determinasi (R^2) yang menjelaskan persentase keragaman respon yang dapat dijelaskan oleh model. Jika R^2 mendekati 100% maka model dianggap layak. Formulasi optimum diperoleh melalui persamaan 1. Model pada persamaan 1 kemudian dipetakan dalam *contour plot* berupa gambar (2D) dan kurva respon berupa grafik (3D) sehingga dapat memberi gambaran bagaimana variabel uji mempengaruhi respon, hubungan antar variabel uji, dan penentuan bagaimana kombinasi seluruh variabel uji mempengaruhi respon (Brereton 2003). Berikut persamaan model yang digunakan:

$$E(Y) = \beta_1x_1 + \beta_2x_2 + \beta_3x_3 + \beta_{12}x_1x_2 + \beta_{13}x_1x_3 + \beta_{23}x_2x_3 \dots (1)$$

Keterangan:

$E(Y)$	= estimasi respon
β_i	= nilai koefisien ke-i
β_{ij}	= nilai respon koefisien gabungan i dan j
x_1	= proporsi <i>virgin fish oil</i> ,
x_2	= proporsi hidrolisat protein ikan kayu
x_3	= proporsi kuning telur

Analisis data organoleptik menggunakan rancangan *incomplete block design*. Persamaan yang digunakan untuk *incomplete block design* sebagai berikut (Falconer 1981):

$$Y_{ij} = \mu + \beta_i + \tau_j + \epsilon_{ij}$$

Keterangan:

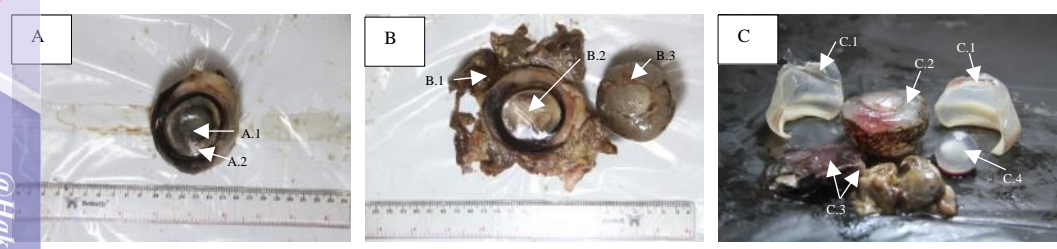
Y_{ij}	= nilai pengamatan perlakuan ke-i, blok ke-j.
μ	= rata-rata umum
β_i	= efek perlakuan ke-i
τ_j	= efek blok ke-j
ϵ_{ij}	= galat perlakuan ke-i dan blok ke-j

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik *Virgin Fish Oil* Mata Tuna

Kenampakan Visual dan Proporsi Mata Tuna

Bagian-bagian mata tuna yang dapat diamati secara langsung terdiri dari sklera, vitreous humor, lensa, otot ekstraokular, kornea, iris dan aqueous humor. Rerata panjang, diameter, dan bobot masing-masing 5.36 ± 0.52 cm, 5.58 ± 0.51 cm, dan 86.89 ± 1.49 g sedangkan bobot otot ekstrakular 27.38 ± 3.55 g, vitreous humor 23.80 ± 5.95 g, sklera 5.18 ± 0.76 g, dan bobot lensanya 2.64 ± 0.55 g. Kenampakan visual mata tuna dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3 Kenampakan visual mata tuna

Keterangan: A Kenampakan mata tuna utuh: A.1 pupil, A. 2 iris. B Kenampakan mata tuna setelah preparasi: B. 1 otot ekstrakular, B.2 kornea, B.3 vitreous humor. C Bagian-bagian mata tuna: C.1 sklera, C.2 vitreous humor, C.3 otot ekstraokuler, C.4 lensa

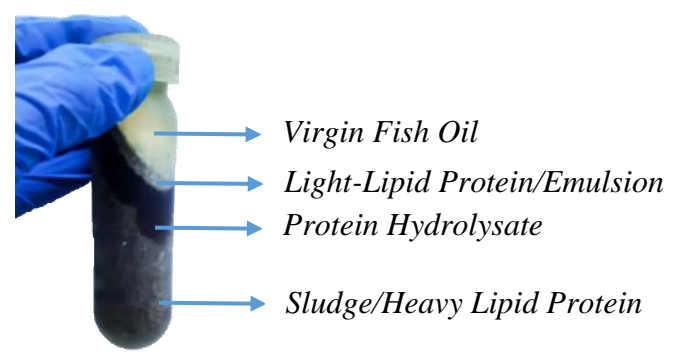
Analisis kesegaran mata tuna dilakukan mengacu SNI 2729:2013 spesifikasi kenampakan mata ikan segar, yang meliputi bola mata, kornea dan pupil. Hasil pengamatan kenampakan sampel mata tuna memperoleh rata-rata 6.4 ± 1.31 dengan bentuk yang cekung, kornea agak keruh, pupil agak keabu-abuan dan agak mengkilap spesifik jenis.

Komposisi Kimia Mata Tuna

Proporsi masing-masing bagian mata tuna terdiri dari 46% daging, 40% vitreous humor, 9% sklera, dan 4% lensa. Komposisi kimia mata tuna, berupa kadar air $67.933 \pm 1.371\%$, kadar lemak $18.437 \pm 0.473\%$. Persentase lemak pada mata tuna berkaitan dengan rendemen *virgin fish oil* yang dihasilkan. Semakin besar ukuran mata, kadar lemak yang dimiliki semakin besar (Aziz 2018) sehingga *virgin fish oil* yang dihasilkan juga semakin besar. Komponen lain seperti kadar abu, protein, serta karbohidrat (*by difference*) persentase masing-masingnya $13 \pm 0.04\%$, $11.43 \pm 0.29\%$, $1.09 \pm 0.72\%$.

Kenampakan Visual *Virgin Fish Oil* Mata Tuna

Rendemen rerata hasil ekstraksi $3 \pm 0.008\%$. *Virgin fish oil* yang didapat dengan metode *sentrifugal separation* berada pada lapisan atas, kemudian dibawahnya secara bertahap terdapat lapisan lipid-protein berbobot molekul rendah (*light lipid-protein*), lapisan hidrolisat protein cair (*aqueous protein hydrolysate*), dan endapan lipid-protein berbobot molekul besar (*sludge and heavy lipid protein*) (Ramakrishnan *et al.* 2013). Kenampakan visual *virgin fish oil* dan komponen mata tuna dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4 Kenampakan visual *virgin fish oil* dan bagian komponen mata tuna

Karakteristik Mutu *Virgin Fish Oil* Mata Tuna

Virgin fish oil mata tuna yang dihasilkan sesuai ketentuan *Codex Standard* 329-2017 tentang *fish oil* untuk seluruh parameter, kecuali bilangan peroksida, bilangan *p*-anisidin, dan total oksidasi (TOTOX) (Tabel 3). Penyebab tingginya bilangan peroksida, bilangan *p*-Anisidin, dan total oksidasi diduga berasal dari bahan baku yang mengalami kemunduran mutu akibat penyimpanan, terlebih lagi kandungan asam lemak *polyunsaturated fatty acid*-nya cukup tinggi sehingga terjadi proses oksidasi. Semakin tidak jenuh suatu asam lemak, semakin rentan pula teroksidasi (Damodaran dan Parkin 2017). Penanganan rantai dingin yang terintegrasi dari hulu ke hilir serta dilakukan dalam waktu cepat menjadi sebuah solusi untuk menekan tingkat oksidasi bahan baku.

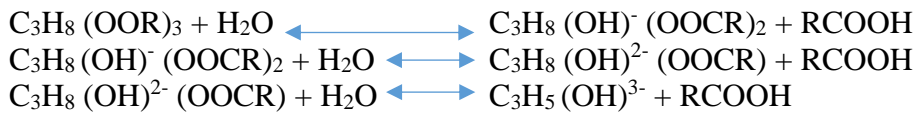
Tabel 3 Kualitas *virgin fish oil* mata tuna

Parameter Mutu Minyak Ikan	Mata Sedang	CXS 329-2017
Asam lemak bebas (% w/w)	0.59 ± 0.09	< 3.5
Bilangan <i>p</i> -Anisidin (meq/kg)	54.52 ± 1.02	< 20.0
Bilangan Peroksida (meq/kg)	121.43 ± 0.62	< 5.0
Total Oksidasi (meq/kg)	297.39 ± 0.22	< 26.0

Proses oksidasi lebih sering terjadi pada lipid tak jenuh ganda dibanding lipid jenuh, hal ini karena lipid tak jenuh ganda lebih rentan terhadap cahaya dan ion logam yang membentuk lipid bebas radikal yang sangat reaktif. Lipid bebas radikal tersebut akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil lipid, sedangkan apabila lipid bebas radikal bertemu dengan lipid baru akan terbentuk lipid hiperperoksida. Peroksida yang terdekomposisi akan berubah menjadi produk oksidasi yang mudah menguap (volatil) dengan adanya panas, ion besi atau logam (Jacobsen *et al.* 2013). Tingkat oksidasi menentukan kualitas minyak ikan. Semakin tinggi tingkat oksidasi maka kualitas minyak ikan semakin rendah.

Hidroperoksida (produk oksidasi primer) apabila terdekomposisi menyebabkan ketengikan pada minyak ikan. Tengiknya minyak ikan menandakan terbentuknya produk sampingan, seperti aldehid keton yang menandakan telah terjadi oksidasi sekunder (Ahmed *et al.* 2016). Bilangan *p*-anisidin merupakan parameter kualitas minyak ikan yang berkaitan dengan banyaknya produk oksidasi sekunder produk. Bilangan *p*-anisidin digunakan sebagai indikator oksidasi sekunder (oksidasi lanjut) akibat proses dekomposisi hidroperoksida pada lipid. Nilai oksidasi sekunder tidak selalu berbanding lurus dengan bilangan peroksida, namun semakin tinggi bilangan *p*-anisidin menandakan kualitas minyak ikan semakin menurun karena telah mengalami degradasi lebih lanjut (Baek 2012).

Asam lemak bebas terbentuk dari hidrolisis minyak atau lemak. Besar kecilnya asam lemak bebas yang terbentuk, dipengaruhi oleh faktor waktu, suhu, tingkat kelembaban, lingkungan penyimpanan, dan enzim lipase (kaitannya dengan reaksi enzimatis). Semakin tinggi persentase asam lemak bebas menyebabkan minyak ikan semakin rentan terhadap kerusakan, seperti oksidasi (Mahesar *et al.* 2014). Persen FFA yang dihasilkan pada pengujian *virgin fish oil* masih sesuai standar, faktornya disebabkan rendahnya kadar air pada minyak ikan sehingga persentase hidrolisis kecil. Reaksi hidrolisis minyak ikan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 5 Reaksi hidrolisis *virgin fish oil*

Sumber: Pinto dan Lancas (2006)

Total oksidasi, atau disingkat TOTOX merupakan parameter untuk mengukur tingkat ketengikan minyak ikan. Total nilainya diperoleh dari hasil penjumlahan bilangan oksidasi (oksidasi primer) dengan bilangan *p*-Anisidin (oksidasi sekunder). Nilai total oksidasi digunakan untuk mengukur proses deteriorasi yang terjadi pada minyak ikan (Hamilton dan Rossell 1986). Tingginya bilangan peroksida dan *p*-Anisidin menyebabkan peningkatan pada nilai TOTOX dan kualitas minyak semakin menurun.

Kandungan logam berat timbal (Pb), kadmium (Cd), dan merkuri (Hg) minyak ikan mata tuna tidak terdeteksi, sedangkan arsen (As) terdeteksi <0.005 mg/kg. Hasil menyatakan bahwa *virgin fish oil* tergolong aman berdasarkan *Codex Standard 193-1995* tentang *contaminants and toxins in food and feed*. Kandungan logam berat pada ikan disebabkan kondisi perairan yang tercemar. Semakin tinggi tingkatan trofiknya serta semakin besar ukuran mata dan bobot ikan, semakin banyak logam berat yang terakumulasi (Arain *et al.* 2008). Analisis logam berat minyak ikan mata tuna disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4 Kandungan logam berat *virgin fish oil* mata tuna

Parameter Mutu Minyak Ikan	Mata Sedang	CXS 193-1995
Logam berat Pb (mg/kg)	Tidak terdeteksi	0.1
Logam berat Cd (mg/kg)	Tidak terdeteksi	0.1
Logam berat Hg (mg/kg)	Tidak terdeteksi	0.1
Logam berat As (mg/kg)	<0.005	0.1

Keragaan Asam Lemak *Virgin Fish Oil* Mata Tuna

Analisis keragaan asam lemak *virgin fish oil* mata tuna dilakukan untuk mengetahui komponen dan proporsi asam lemak penyusun. Asam lemak *docosahexaenoic acid* menempati urutan tertinggi (32.12%) sedangkan asam lemak palmitat (C16:0) memiliki persentase kedua terbesar (19.13%). Persentase asam lemak *virgin fish oil* mata tuna secara keseluruhan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tingginya asam palmitat pada mata tuna diduga fungsinya dalam memproduksi musin pada mata guna mempertahankan kelembaban dalam bentuk retinol palmitat (Diao *et al.* 2017). Gamarro *et al.* (2013) dan Renuka *et al.* (2016) dalam penelitiannya mengenai asam lemak minyak ikan mata tuna menyatakan asam lemak DHA menjadi urutan tertinggi. Hal itu diperkuat dengan adanya penelitian mengenai salah satu bagian mata, yakni retina yang membutuhkan DHA dalam fungsinya sebagai fotoreseptor (Jeffrey *et al.* 2015).

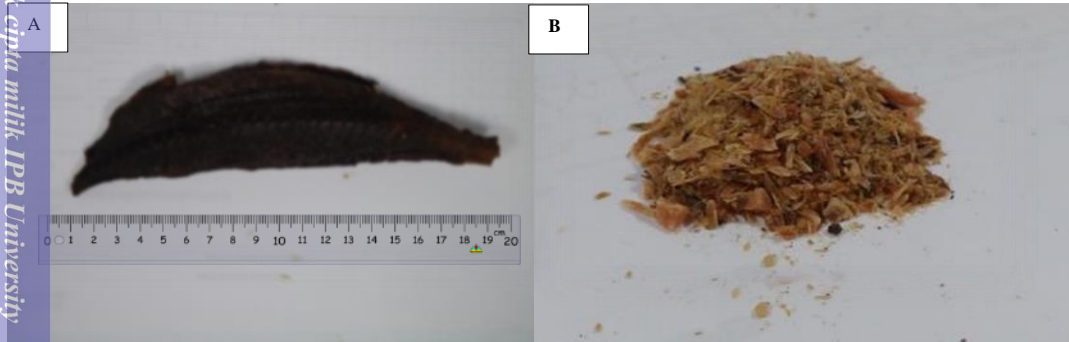
Tabel 5 Keragaan asam lemak *virgin fish oil* mata tuna

Asam Lemak	Asam Lemak (%b/b)
Asam Laurat, C12:0	0.0463
Asam Tridekanoat, C13:0	-
Asam Miristat, C14:0	2.6337
Asam Pentadekanoat, C15:0	0.9213
Asam Palmitat, C16:0	19.133
Asam Heptadekanoat, C17:0	1.4218
Asam Stearat, C18:0	5.3423
Asam Arakhidat, C20:0	0.4986
Asam Behenat, C22:0	-
Asam Trikosanoat, C23:0	0.2188
Asam Lignoserat, C24:0	0.8814
Total SFA (<i>Saturated Fatty Acid</i>)	31.0972
Asam Miristoleat, C14:1	0.0583
Asam Palmitoleat, C16:1	5.7605
Cis-10-Asam Heptadekanoat, C17:1	1.0686
Asam Elaidat, C18:1n-9t	-
Asam Oleat, C18:1n-9c	16.6708
Cis-11-Asam Eikosenoat, C20:1	1.12
Asam Nervonat, C24:1	-
Total MUFA (<i>Monounsaturated Fatty Acid</i>)	24.6782
Asam Linoleat, C18:2n-6c	1.3789
Asam Linolenat, C18:3n-3	0.5758
Asam γ -Linolenat, C18:3n-6	0.1074
Cis-11,14-Asam Eikosadinoat, C20:2	0.2931
Cis-8,11,14-Asam Eikosantrianoat, C20:3n-6	0.2056
Asam Arakhidonat, C20:4n-6	3.0293
Asam Eikosapentanoat (EPA), C20:5n-3	6.4087
Asam Dokosaheksaenoat (DHA), C22:6n-3	32.1169
Total PUFA (<i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>)	44.1157
Total asam lemak teridentifikasi	99.8911
Total asam lemak tak teridentifikasi	0.1089
n-3	39.1014
n-6	4.7212
n-9	16.8094

Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan Kayu

Kenampakan Visual Ikan kayu

Ikan kayu yang digunakan memiliki warna kehitaman di permukaan. Panjang dan rerata bobot 18 cm dan 89.47 g. Kenampakan visual ikan kayu utuh dan bubuk dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 6 Kenampakan visual ikan kayu

Keterangan: A Kenampakan ikan kayu utuh, B Kenampakan bubuk ikan kayu

Karakteristik Kimia Ikan Kayu

Ikan kayu yang digunakan dalam penelitian berasal dari Sulawesi Selatan. Persentase tertingginya adalah protein, mencapai $69.32 \pm 0.00\%$, sedangkan persentase terendah adalah karbohidrat (*by difference*) 0.10% . Komposisi kimia ikan kayu dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6 Komposisi kimia ikan kayu

Parameter	Kadar (% bb)	SNI (% bb)
Air	20.44 ± 0.028	< 20
Abu	2.95 ± 0.021	-
Lemak	7.18 ± 0.014	-
Protein	69.32 ± 0.00	-
Karbohidrat	0.10^*	-

**By difference*

Hasil yang diperoleh menunjukkan kadar air melebihi SNI 2691.1:2009 (ikan kayu), dengan selisih $0.440 \pm 0.028\%$. Perbedaan hasil, disebabkan terjadi peningkatan kadar air selama penyimpanan suhu beku. Protein pada ikan kayu memiliki persentase tertinggi, hal itu disebabkan selama pengasapan dan pengeringan telah terjadi penurunan kadar air.

Derajat Hidrolisis Protein Ikan Kayu

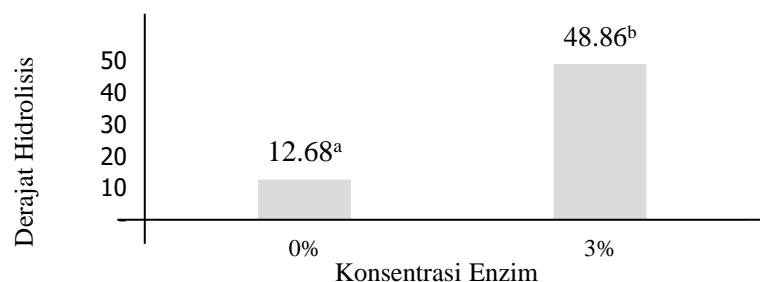
Derajat Hidrolisis (DH) merupakan presentase protein yang terhidrolisis menjadi peptida-peptida dan asam amino. Derajat hidrolisis mengalami kenaikan ketika konsentrasi enzim ditingkatkan. Konsentrasi enzim 3% menghasilkan derajat hidrolisis 48.86% sedangkan pada konsentrasi enzim 0% hanya 12.68% (Lampiran 2). Konsentrasi enzim 3% dipilih karena menghasilkan derajat hidrolisis yang optimum pada beberapa penelitian sebelumnya, namun ketika dinaikkan konsentrasinya justru derajat hidrolisis mengalami penurunan (Anggraini 2018). Haslaniza *et al.* (2010) dalam penelitiannya menyatakan konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, suhu, pH dan waktu dapat mempengaruhi

Hak cipta milik IPB University

IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

kondisi hidrolisis. Nilai derajat hidrolisis pada pembuatan hidrolisat protein ikan kayu dengan enzim papain dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 7 Derajat hidrolisis hidrolisat protein ikan kayu

Proses hidrolisis protein secara enzimatis berkaitan dengan mekanisme perombakan protein (proteolitik), melibatkan enzim dan substrat (jaringan daging ikan) menjadi senyawa nitrogen yang terlarut. Penggunaan enzim dalam proses hidrolisis lebih menguntungkan dibanding asam karena tidak menyebabkan kerusakan terhadap peptida dan asam amino (Baehaki *et al.* 2015).

Mekanisme hidrolisis enzim papain ditandai dengan pemecahan substrat oleh gugus histidin dan sistein pada sisi aktif. Selama hidrolisis berlangsung gugus sistein (Cys-25) yang reaktif membentuk ikatan kovalen tetrahedral dengan substrat, sedangkan gugus histidin (His-159) berikatan dengan nitrogen yang terkandung dalam substrat karena terprotonasi. Molekul air kemudian berdifusi menggantikan gugus amin setelah berdifusi dan terjadi proses hidrolisis produk intermediet dan pengembalian posisi enzim (fungsi dan bentuk) semula (Kristinsson dan Rasco 2000).

Proses hidrolisis oleh molekul-molekul air mengakibatkan penurunan ikatan peptida kompleks menjadi sederhana, sehingga meningkatkan gugus yang terionisasi (NH^{4+} , COO^-) (sifat hidrofilik meningkat) dan terjadi perubahan struktur molekul yang lebih terbuka (Kristinsson dan Rasco 2000). Struktur yang sederhana ini meningkatkan sifat fungsional (bioaktif peptida), penyerapan, dan kelarutan. Proses inaktivasi enzim dilakukan ketika kondisi hidrolisis telah tercapai. Inaktivasi dilakukan dengan pengubahan pH maupun suhu, kemudian pemisahan larutan melalui teknik sentrifugasi atau filtrasi. Inaktivasi diperlukan guna mencegah enzim tetap aktif di substrat yang dapat menghidrolisis produk lebih lanjut.

Karakteristik Emulsi Suplemen Kehamilan

Kenampakan Visual Emulsi

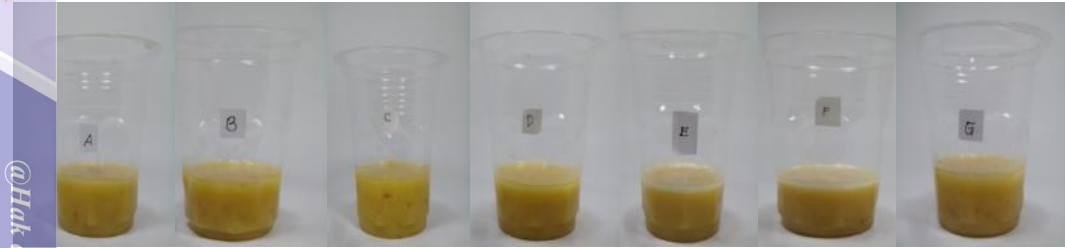
Kenampakan visual emulsi suplemen kehamilan dapat dilihat pada Gambar 7. Produk dihasilkan memiliki karakteristik warna kuning gelap dan tekstur yang kental. Emulsifier yang digunakan dalam adalah kuning telur. Kuning telur digunakan karena lesitinnya tersusun phospholipid (PL) (10%) dan asam lemak yang lebih jenuh dibanding lesitin kedelai, sehingga lebih baik dalam stabilitas oksidatif (Palacios dan Wang 2005).

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

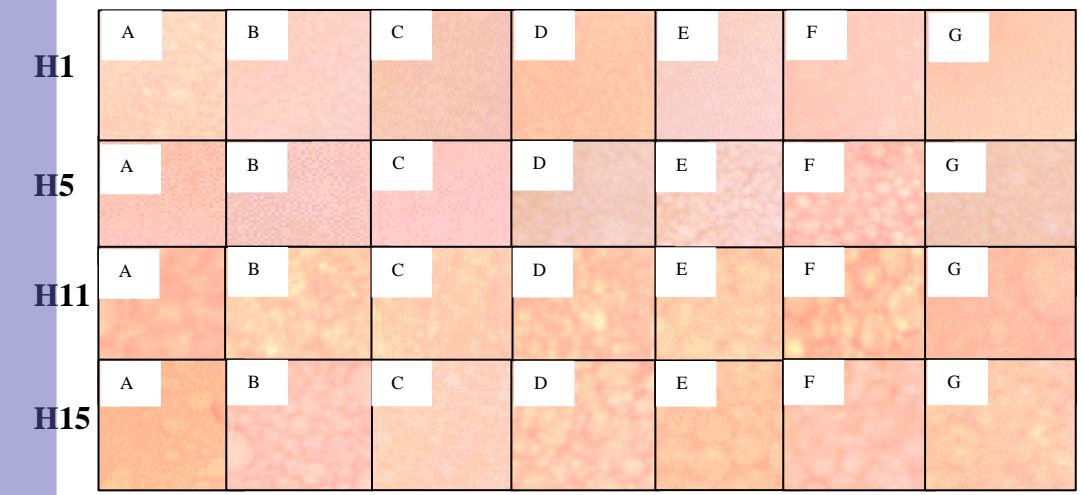
Kenampakan Visual Struktur Emulsi Suplemen Kehamilan

Ukuran dan penyebaran globular emulsi semakin besar seiring dengan lama penyimpanan (Gambar 8). Ukuran droplet globular seluruh formula pada hari pertama cenderung kecil dengan penyebaran yang homogen. Perubahan ditandai dengan terbentuknya flokulasi pada globul, mengakibatkan droplet semakin besar dan heterogen di hari terakhir penyimpangan produk (hari ke-15).

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Gambar 8 Kenampakan visual emulsi suplemen kehamilan dengan warna kuning, kental dan keseluruhan formula relatif sama



Gambar 9 Kenampakan struktur emulsi suplemen kehamilan menggunakan mikroskop *dinoeye*

Peningkatan ukuran globular emulsi selama penyimpanan pada Gambar 13 kemudian dihitung jumlahnya (Tabel 8). Diameter emulsi hari ke-1 memiliki rentang 11.37-20.18 μm sedangkan untuk diameter hari ke-15 meningkat menjadi 22.94-54.68 μm . Rentang persen kenaikan diameternya 88.90% hingga 262.20%. Ukuran diameter dan persen kenaikannya dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 7 Diameter formula emulsi suplemen kehamilan

Formula	Diameter emulsi H1 (μm)	Diameter emulsi H15 (μm)	Selisih (H15-H1)	Persen kenaikan diameter (%)
A	20.183	54.682	34.499	170.9
B	16.022	38.912	22.890	142.9
C	11.371	22.936	11.565	101.7
D	11.466	41.529	30.063	262.2
E	20.419	41.680	21.261	104.1
F	19.818	37.442	17.624	88.9
G	13.712	32.657	18.944	138.2

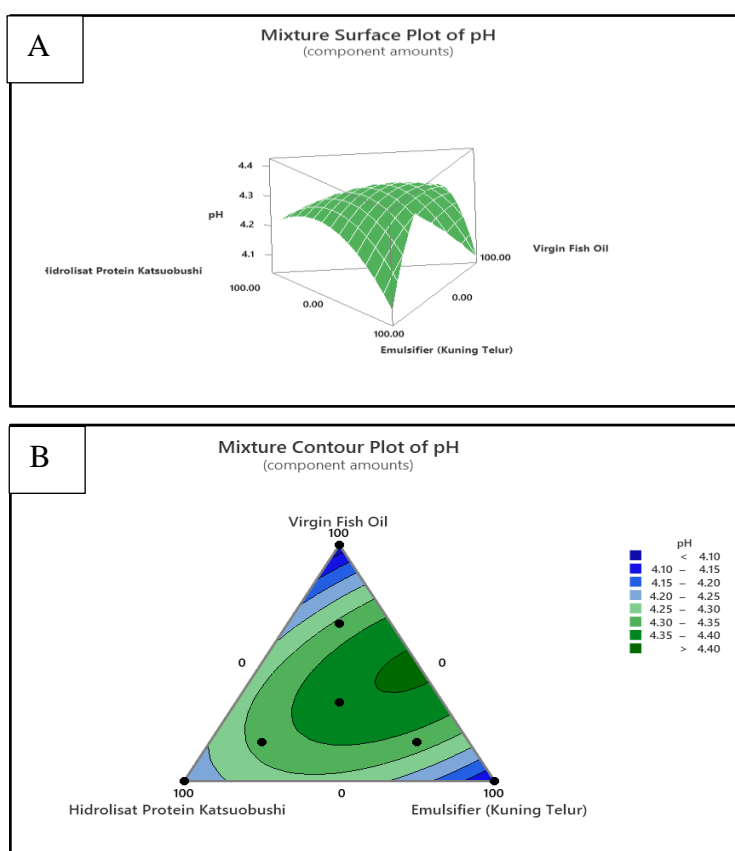
Karakteristik Sensori

Hasil pengujian sensori untuk seluruh blok menunjukkan formula yang tidak berbeda nyata. Artinya bahwa optimasi formula produk hanya ditentukan berdasarkan karakteristik pH dan viskositas terbaik. Formula yang tidak berbeda nyata disebabkan beberapa hal, yakni usia panelis yang seragam serta termasuk kategori panelis yang tidak terlatih, sehingga tidak dapat melihat perbedaan antar formula. Peningkatan rentang pada setiap variabel perlu dilakukan agar rentang semakin besar, sehingga perbedaannya lebih mudah diketahui.

Nilai pH

Gambar 9A merupakan grafik *surface plot* respon pH untuk model yang didefinisikan pada Persamaan 1. Area rendah menunjukkan respon nilai pH yang rendah, sedangkan area tinggi menunjukkan respon maksimal. Respon maksimal pada grafik *surface plot* dipetakan pada grafik *contour plot* (Gambar 9B) dengan warna hijau tua.

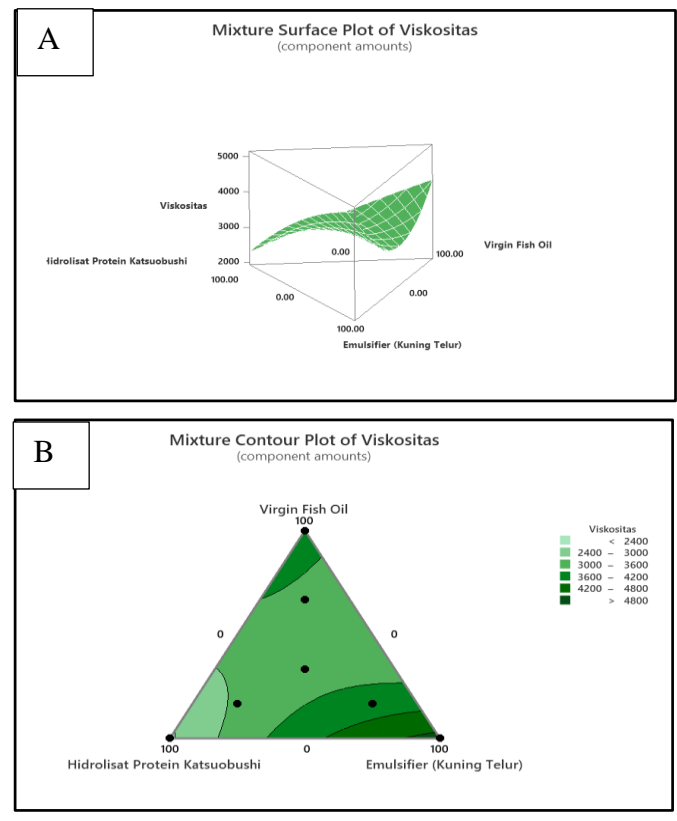
Respon pH maksimal (4.69 ± 0.3) berdasarkan grafik berada di tengah wilayah *virgin fish oil* dan emulsifier. Rerata dugaan pH yang dihasilkan seluruh formula, 4.24 ± 0.21 berada condong diantara hidrolisat protein ikan kayu dan kuning telur yang ditandai dengan warna hijau muda. Nilai dugaan rata-rata pH yang didapat sesuai dengan McClements (2005) yang mengatakan nilai pH produk pangan baiknya berkisar 2.5-4.5, karena dalam rentang tersebut kualitas produk terjaga dan pertumbuhan mikroba perusak dapat dicegah.



Gambar 10 Grafik *mixture design* respon pH
Keterangan: A Grafik *surface plot*, B Grafik *contour plot*

Viskositas

Pengukuran viskositas produk emulsi suplemen kehamilan dilakukan dengan *viscometer Brookfield* menggunakan *spindle 7*, kecepatan 100 rpm. Grafik *surface plot* (Gambar 10A) respon viskositas menunjukkan model yang didefinisikan pada Persamaan 1. Kenampakan visual *surface plot* dijelaskan melalui perbedaan ketinggian untuk respon yang dihasilkan. Semakin tinggi grafik maka semakin besar nilai responnya.



Gambar 11 Grafik *mixture design* respon viskositas
Keterangan: A Grafik *surface plot*, B Grafik *contour plot*

Berdasarkan grafik, diperoleh respon minimal viskositas (bentuk grafik *surface plot* berupa parabola keatas). Respon minimal grafik *surface plot* (2360 ± 0.5 cPs) dipetakan dalam grafik *contour plot* (Gambar 10B) dengan warna hijau yang berada di wilayah kuning telur. Dugaan rata-rata viskositas produk 3600 ± 0.6 cPs, tidak berbeda jauh dengan viskositas komersil (3347 cPs) menurut Amertaningtyas dan Jaya (2012).

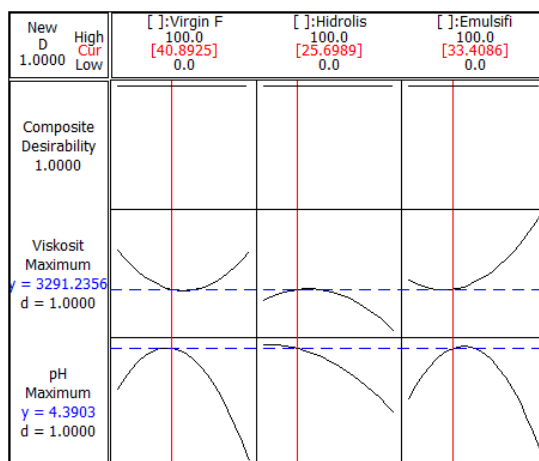
Karakteristik Formula Optimal Emulsi Suplemen Kehamilan

Karakteristik Fisik

Tujuh formula produk yang dihasilkan pada rancangan *mixture experiment* {3,1} *simplex-lattice second orde* kemudian dioptimasi. Optimasi dilakukan untuk mendapatkan formula produk terbaik sesuai respon yang diinginkan. Formula optimal yang diperoleh 40.89% untuk variabel *virgin fish oil* mata tuna, 25.69% hidrolisat protein ikan kayu serta kuning telur 33.40%. Nilai maksimum respon pH

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang menggunakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

dan viskositas adalah 4.39 dan 3291.23 cPs. Respon yang didapat kemudian diverifikasi di laboratorium untuk dilihat kesesuaian perkiraan rancangan dengan hasil sesungguhnya. Hasil pengujian laboratorium didapat nilai pH dan viskositas, 4.29 ± 0.007 dan 3880 ± 1.13 cPs. (Gambar 11).



Gambar 12 *Profiling plot* emulsi suplemen kehamilan melalui rancangan *mixture experiment {3,1} simplex-lattice design with axial points*

Hasil yang diperoleh melalui perkiraan rancangan statistik dengan hasil sesungguhnya tidak berbeda jauh. Nilai pH dan viskositas yang didapat sesuai dengan McClements (2005) dan Amertaningtyas dan Jaya (2012). McClements (2005) dalam risetnya mengatakan pH yang baik untuk emulsi mayones berkisar 2.5 hingga 4.5, untuk mencegah pertumbuhan mikroba perusak, sedangkan viskositas rata-rata mayones komersil dipasaran menurut Amertaningtyas dan Jaya (2012) adalah 3347 cPs. Grafik optimasi yang dihasilkan melalui rancangan *mixture experiment* sangat membantu meningkatkan efisiensi pada riset, karena mengurangi *trial and error* di lapangan.

Karakteristik Kimia

Emulsi suplemen kehamilan dengan formula terbaik hasil rancangan *mixture experiment {3,1} simplex-lattice design with axial points* kemudian dianalisis karakteristik kimianya. Persentase tertinggi yang dihasilkan adalah kadar lemak $74.45 \pm 0.121\%$ sedangkan terendah adalah kadar abu $0.42 \pm 0.006\%$, selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 8 Karakteristik kimia emulsi suplemen kehamilan formula terbaik

Parameter	Kadar (% bb)
Air	14.74 ± 0.308
Abu	0.42 ± 0.006
Lemak	74.45 ± 0.121
Protein	3.35 ± 0.061
Karbohidrat*	7.04 ± 0.308

*By difference

Spesifikasi produk formula terpilih dengan mengacu SNI 01-4473-1998 mayones, yakni minimal kadar lemak 65%. Penambahan *virgin fish oil* mata tuna dan *virgin coconut oil* pada formula emulsi memberikan kontribusi terhadap kadar

lemak suatu bahan. Besarnya *virgin coconut oil* dan *virgin fish oil* mata tuna pangan menyebabkan aroma khas pada emulsi suplemen yang dihasilkan.

Keragaan Asam Lemak

Keragaan asam lemak emulsi suplemen kehamilan formula optimal didominasi oleh *saturated fatty acid* (SFA). Persentase asam lemak tertinggi adalah asam laurat (C12:0) 27.71% diikuti oleh asam miristat (C14:0) 11.49%. Persentase *polyunsaturated fatty acid* (PUFA) 1.79%, asam dokosaheksaenoat (DHA) 0.36% serta asam eikosapentaenoat (EPA) 0.04% (Tabel 10).

Tabel 9 Keragaan asam lemak emulsi suplemen kehamilan formula terbaik

Asam Lemak	Asam Lemak (%b/b)
Asam Kaproat, C6:0	0.36
Asam Kaprilat, C8:0	4.36
Asam Kaprat, C10:0	3.43
Asam Undekanoat, C11:0	0.01
Asam Laurat, C12:0	27.71
Asam Tridekanoat, C13:0	0.02
Asam Miristat, C14:0	11.49
Asam Pentadekanoat, C15:0	0.01
Asam Palmitat, C16:0	6.92
Asam Heptadekanoat, C17:0	0.02
Asam Stearat, C18:0	2.28
Asam Arakhidat, C20:0	0.06
Asam Behenat, C22:0	0.01
Asam Lignoserat, C24:0	0.02
Total SFA (<i>Saturated Fatty Acid</i>)	56.72
Asam Palmitoleat, C16:1	0.12
Asam Heptadekanoat, C17:1	0.01
Asam Oleat, C18:1n-9c	5.81
Asam Eikosenoat, C20:1	0.04
Total MUFA (<i>Monounsaturated Fatty Acid</i>)	5.98
Asam Linoleat, C18:2n-6c	1.47
Asam Linolenat, C18:3n-3	0.01
Asam Eikosadinoat, C20:2	0.01
Asam Eikosatrienoat, C20:3n-6	0.01
Asam Arakhidonat, C20:4n-6	0.07
Asam Eikosapentanoat (EPA), C20:5n-3	0.04
Asam Dokosaheksaenoat (DHA), C22:6n-3	0.36
Total PUFA (<i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>)	1.79
Total asam lemak teridentifikasi	64.50
Total asam lemak tak teridentifikasi	35.50
n-3	0.13
n-6	1.55
n-9	5.81

Perbandingan omega-3 dan omega-6 formula terpilih adalah (1:4.7). Simopoulos (2002) melalui *review*-nya yang mengumpulkan beberapa riset terkait rasio konsumsi omega-6:omega-3 yang disarankan, yakni (2.5:1) yang berkhasiat menurunkan proliferasi sel rektal pada pasien kanker kolorektal, rasio (2-3:1)

@Hakcipta © PB University

PB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar PB University.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin PB University.

berkhasiat menekan peradangan pada pasien rheumatoid arthritis, rasio (5:1) untuk pasien gangguan asma. Simopoulos (2002) mengatakan penetapan rasio optimal omega-6:omega-3 bervariasi sesuai fungsi dan khasiat yang ingin dicapai.

Hasil keragaan asam lemak formula terpilih didominasi asam laurat, hal itu disebabkan besar *virgin coconut oil* yang ditambahkan. Dumancas *et al.* (2016) mengatakan bahwa asam lemak pada *virgin coconut oil* murni didominasi asam laurat yang mencapai 46.36%-48.42%. Sandhaya *et al.* (2016) mengatakan asam laurat memiliki berbagai khasiat dalam kesehatan, diantaranya mencegah penyakit kulit, menurunkan kolesterol jahat, hingga kemampuan antioksidan, antibakteri, antijamur, antivirus dan antikanker.

Karakteristik Mikrobiologi

Angka Lempeng Total (ALT) menurut SNI 7388:2009 merupakan jumlah mikroba aerob mesofilik yang didapat dalam per gram atau per milliliter contoh yang ditentukan melalui metode standar. Mikroba yang dimaksud berupa bakteri, kapang, dan ragi dengan metode standar merujuk FDA (BSN 2009). Angka Lempeng Total (ALT) menjadi indikator penting dalam proses *hygiene & sanitasi* produk serta mikroba lingkungan. Hasil analisis angka lempeng total emulsi suplemen kehamilan 3×10^3 koloni. Hasil menunjukkan produk memenuhi ketentuan cemaran mikroba berdasarkan SNI 01-4473-1998 mayones, yakni sebesar 1×10^4 koloni, sehingga aman untuk dikonsumsi.

Karakteristik Gizi

Sumbangan gizi formula terbaik dapat dilihat pada Tabel 11. Pemenuhan Angka Kecukupan Gizi (AKG) yang dihitung mengacu Peraturan Menteri Kesehatan (PERMENKES) Nomor 28 Tahun 2019, jika jumlah konsumsi sesuai saran (*serving size*) maka memenuhi kebutuhan harian protein 3.35%, MUFA sebesar 5.67 g, PUFA 1.10 g per hari, serta omega-6 dan omega-3 masing-masing 1.46 g dan 210 mg. Koletzko *et al.* (2007) dalam *World Organization of Perinatal Depression* menganjurkan konsumsi DHA harian spesifik untuk ibu hamil dan menyusui sebesar 200 mg. Jumlah konsumsi asam dokosaheksaenoat (DHA) yang disarankan perharinya mencapai 210 mg, sehingga memenuhi kebutuhan harian DHA ibu hamil.

Tabel 10 Informasi nilai gizi emulsi suplemen kehamilan formula terbaik

	Jumlah Konsumsi Sesuai Saran*	%AKG
Protein		3.35%
MUFA (<i>Mono Unsaturated Fatty Acid</i>)	5.67 g	
PUFA (<i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>)	1.10 g	
Total Omega-6	1.46 g	10.43%
Asam Linoleat (C18:2n-6c)	900.00 mg	
Asam Arakhidonat (C20:4n-6)	60.00 mg	
Total Omega-3	230.00 mg	16.43%
Asan Linolenat (C18:3n-3)	10.00 mg	
EPA (C20:5n-3)	20.00 mg	
DHA (C22:6n-3)	210.00 mg	

* 3 kali sehari 2 sendok makan atau 83.5 g



WHO dalam risetnya menyebut 3 kunci utama dalam pencegahan *stunting*, yakni melalui sanitasi dan *hygiene*, pola asuh serta pemenuhan kebutuhan gizi harian ibu hamil dan anak dibawah usia 2 tahun (WHO 2010). Harapannya dengan mengkonsumsi emulsi suplemen kehamilan dapat memenuhi kebutuhan harian DHA ibu hamil, yakni mencegah *stunting* melalui poin ke-3. Pengaplikasian rancangan *mixture experiment {3,1} simplex-lattice design with axial points* pada formulasi pembuatan emulsi suplemen kehamilan menjadi suatu inovasi untuk memperoleh formula optimal karena mengurangi *trial and error* di lapangan (Bezerra *et al.* 2019).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Seluruh variabel yang diolah menggunakan rancangan *mixture experiment {3,1} simplex-lattice design with axial points* menghasilkan formula optimal dengan persentase 40.89% *virgin fish oil* mata tuna, 25.69% hidrolisat protein ikan kayu, serta kuning telur 33.40%. Formula optimal kemudian dilakukan perhitungan angka kecukupan gizi dan disesuaikan terhadap kebutuhan ibu hamil. Sumbangan gizi, berupa DHA formula optimal memenuhi kebutuhan harian DHA, sehingga rancangan suplemen yang dihasilkan diharapkan menjadi solusi dalam mencegah *stunting*.

Saran

Jarak pengambilan bahan baku mata tuna hingga tahapan ekstraksi disarankan tidak terlalu lama serta dalam prosesnya perlu diterapkan rantai dingin secara ketat, hal tersebut bertujuan meminimalisasi kemunduran mutu bahan baku. Pengujian Pemurnian *virgin fish oil* mata tuna dapat dilakukan agar bilangan peroksida dan *p-anisidin* memenuhi standar.

DAFTAR PUSTAKA

- Adler-Nissen J. 1979. Determination of the degree of hydrolysis of food proteins hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic acid. *Journal Agricultural Food Chemistry* 27(6): 1256-1262.
- Ahmed M, Pickova J, Ahmad T, Liaquat M, Farid A, Jahangir M. 2016. Oxidation of lipids in foods. *Sarhad Journal of Agriculture*. 3(32): 230-238.
- Aini NQ. 2017. Optimasi enzim papain pada pembuatan hidrolisat protein ikan baronang (*Siganus sp.*) [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

- Amertaningtyas D, Jaya F. 2012. Sifat Fisiko Kimia Mayonnaise dengan berbagai tingkat konsentrasi minyak nabati dan kuning telur ayam buras. *Jurnal Ilmu-ilmu Peternakan*. 21(1): 1-6.
- Anggraini VR. 2018. Aktivitas inhibitor ace dari hidrolisat peptida ikan kayu tradisional [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- [AOCS] American Oil Chemists Society. 1998. *Free Fatty Acids*. In: *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society*. Vol. 5a. 5th ed. Champaign (US): AOCS Press.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2000. *Official Methods of Analysis of the Association of Agricultural Chemists, 17th edition*. Washington (US): AOAC Int.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical of Chemist*. Virginia (US): Published by The Association of Analytical Chemist, Inc.
- [AOCS] American Oil Chemists Society. 1997. *Official Methods and Recommended Practices of AOCS International*. Illinois (US): AOCS Press.
- [AOCS] American Oil Chemists Society. 2004. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society*. Champaign (US): AOCS Press.
- Arain MB, Kazi TG, Jamali MK, Jalbani N, Afridi HI, Shah A. 2008. Total dissolved and bioavailable elements in water and sediment samples and their accumulation in *Oreochromis mossambicus* of polluted manchar lake. *Chemosphere*. 70(10): 1845-1856.
- Aziz HA. 2018. Mikroenkapsulasi minyak ikan mata tuna untuk sediaan fortifikasi pada makanan pendamping asi [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Baek N. 2012. Effects of natural antioxidants on lipid oxidation of menhaden oil. [tesis]. Virginia (US): Virginia polytechnic Institute and State University.
- [Balitbangkes] Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. 2018. *Riset Kesehatan Dasar (Riskesdas) 2018*. Jakarta (ID): Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Bezerra MA, Lemos VA, Novaes CG, de Jesus RM, Filho HRS, Araújo SA. 2019. *Microchemical Journal*. 152: 1-13.
- [BPOM RI] Badan POM RI. 2009. Penetapan Batas Maksimum Cemaran Mikroba dan Kimia dalam Makanan. Jakarta (ID): Badan Pengawas Obat dan Makanan RI. 1-28.
- [BPOM] Badan Pengawas Obat dan Makanan. 2013. Batas maksimum penggunaan bahan tambahan pangan pengawet. Jakarta (ID): Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Brereton RG. 2003. *Chemometrics: Data Analysis for the Laboratory and Chemical Plant*. British (UK): John Wiley & Sons, Ltd.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 1998. *SNI 01-4473-1998 tentang Mayones*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.

- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2009. *SNI 691.1:2009 tentang Ikan Kayu*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2009. *SNI 7388:2009 tentang Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2013. *SNI 2729-2013 tentang Ikan Segar*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2013. *SNI 2354:5:2016 tentang Penentuan Kadar Logam Berat Timbal (Pb) dan Kadmium (Cd) Total pada Produk Perikanan*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2016. *SNI 2354:6:2016 tentang Penentuan Kadar Merkuri (Hg) Total pada Produk Perikanan*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2016. *SNI 2354-12:2017 tentang Penentuan Kadar Arsen (As) Total pada Produk Perikanan*. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Nasional.
- [CAC] Codex Alimentarius Commission. 1995. *Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed CODEX STAN 193-1995*. Roma (IT): Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- [CAC] Codex Alimentarius Commission. 2017. *Standard for Fish Oils CODEX STAN 329-2017*. Roma (IT): Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Chalamaiah M, Kumar BD, Hemalatha R, Jyothirmayi T. 2012. Fish protein hydrolysates: Proximate composition, amino acid composition antioxidant activities and applications: A review. *Food Chemistry*. 3020-3038.
- Clodoveo ML dan Hbaieb RH. 2013. Beyond the traditional virgin olive oil extraction systems: Searching innovative and sustainable plant engineering solutions. *Food Research International*. 54(2): 1926–1933.
- Cornell JA. 1990. *Experiments with Mixtures: Designs, Models, and The Analysis of Mixture Data*. 3rd ed. New York (US): John Wiley & Sons, Inc.
- Damodaran S, Parkin KL. 2017. *Fennema's Food Chemistry Fifth Edition*. New York (US): CRC Press.
- Diao Y, Deng A, Wang J, Hong J. 2017. Original Article Vitamin A palmitate eye gel improves the density of conjunctival goblet cells and the production of mucin-5 subtype AC in rabbits with dry eye syndrome. *International Journal of Clinical Practice*. 10(12): 16181-16188.
- Dumancas GG, Viswanath LCK, de Leon AR, Raamasahayan S, Maples R, Koralege RH, Perera UDN, Langford J, Shakir A, Castles S. 2016. Health benefits of virgin coconut oil. *Nova Science Publishers, Inc*. 1-33.
- [EFSA] European Food Safety Authority. 2011. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to olive oil and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1316, 1332), maintenance of

normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 1316, 1332), maintenance of normal blood HDL-cholesterol concentrations (ID 1316, 1332) and maintenance of normal blood glucose concentrations (ID 4244) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006 EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). *EFSA Journal*. Parma(IT): European Food Safety Authority. 9(4): 2044.

[EPA] Environmental Protection Agency. 1984. Method 610: Polynuclear aromatic hydrocarbons. Washington DC (US): Environmental Protection Agency.

Esbensen KH, Guyot D, Westad F, Houmoller LP. 2002 . “Multivariate data analysis,” in Practice: An Introduction to Multivariate Data Analysis and Experimental Design. Esbjerg (DK): Denmark. Aalborg University.

[EU] European Union. 2011. *Commission Regulation (EU) No 835/2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs*. Brussel (BE): European Union.

[FAO] Food and Agriculture Organization. 2019. *Policy recommendations and smallholder guidelines for improved fish smoking systems*. Rome (ITA): Food and Agriculture Organization.

Foh MBK, Amadou I, Foh BM, Kamara MB, Xia W. 2010. Functionality and antioxidant properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) as influenced by the degree of hydrolysis. *International Journal of Molecular Science*. 11. 1851-1869.

[FSSAI] Food Safety and Standards Authority of India. 2012. *Manual Methods of Analysis of Foods (Meat and Meat Products & Fish and Fish Products)*. New Delhi (IN): Ministry of Health and Family Welfare.

Fujita H, Yamagami TBS, Ohshima KMD. 2001. Effects of an ace-inhibitory agent, katsuobushi oligopeptide, in the spontaneously hypertensive rat and in borderline and mildly hypertensive subjects. *Nutrition Research*. 21:1149-1158.

Gamarro EG, Orawattanamatekul W, Sentina J, Gopal TKS. 2013. *By-Product of Tuna Processing*. FAO Globefish.

Hădărugă DI, ŪnlŪsayin M, Gruia AT, Birău C, Rusu G, Hădărugă NG. 2016. Thermal and oxidative stability of atlantic salmon oil (*Salmo salar* L.) and complexation with β -cyclodextrin. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. 12: 179-191.

Hamilton RS, Rossell JB. 1986. *Analysis of Oils and Fats*. London (UK): Elsevier Applied Science. *View Article Online*. 1-29.

Haslaniza H, Maskat MY, Aida W, Mamot WMS. 2010. The effects of enzyme concentration, temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water. *International Food Research Journal*. 17: 147-152.

Hoyle NT, Merritt JH. 1994. Quality of fish protein hydrolysates from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*. 59(1): 76-79.

ICI Americas. 1976. The HLB SYSTEM a time-saving guide to emulsifier selection. Wilmington: ICI Americas Inc. 3-4.

[IUPAC] International Union of Pure and Applied Chemistry. 1987. Standard methods for the analysis of oils and fats and derivatives, 7th. Paquot C dan Hautfenne A (ed). Oxford (UK): Blackwell Scientific.

Jacobsen C, Nielsen NS, Horn AF, Sørensen AM. 2013. Food Enrichment With Omega-3 Fatty Acid. Sawston (UK): Woodhead Publishing Limited.

Jeffrey BG, Weisinger HS, Neuringer M, Mitchell DC. 2015. The role of docosahexaenoic acid in retinal function. *Lipids*. 36(9): 859-871.

[KEMENKES RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2016. INFODATIN: Pusat Data dan Informasi Kementerian Kesehatan RI. SITUASI BALITA PENDEK. Jakarta (ID): Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. www.depkes.go.id.

Kim SK. 2013. Marine Protein and Peptides. Chennai (IN): Laserwords Private Limited.

[KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2021. *Profil Pengasapan UPI Skala Mikro dan Kecil*. Jakarta (ID): Kementerian Kelautan dan Perikanan.

Koletzko B, Cetin I, Brenna T. Dietary fat intakes for pregnant and lactating women. *British Journal of Nutrition*. 98: 873-877.

Kristinsson HG, Rascon BA. 2000. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical and Functional Properties. *Critical of Reviews in Food Science*. 40(1): 43-81.

Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*. 227(10): 680-685.

Lee JK, Jeon JK, Byun HG. 2015. Characterization of an antioxidant peptide from katsuobushi (dried bonito) protein hydrolysates. *Journal Marine Biomolecular Biotechnology*. 7(1): 19-27.

Mahesar SA, Sherazi STH, Khaskheli AR, Kandhro AA, Sirajuddin. 2014. Analytical approaches for free fatty acids assessment in oils and fats.

McClements DJ. 2005. Food Emulsions: Principles, Practices and Techniques. 2nd Ed. New York (US): CRC Press.

McClements DJ. 2007. Critical review of techniques and methodologies for characterization of emulsion stability. New York (US): CRC Press.

McClements DJ. 2015. Third Edition Food Emulsions Principles, Practices, and Techniques. New York (US): CRC Press.

Mohanty BP *et al.* 2016. DHA and EPA content and fatty acid profile of 39 food fishes from India. *Biomed Research International*. 1-14.

Murado MA, Montemayor MI, Cabo ML, Vazquez JA, Gonzalez MP. 2012. Optimization of extraction and purification process of hyaluronic acid from fish eyeball. *Food and Bioprocess Technology*. 90(3): 491-498.

- O'Brien RD. 2009. *Fats and oils: Formulating and processing for application 3rd edition*. London (UK): CRC Press.
- Ono S, Hosokawa M, Miyashita K, Takahashi K. 2006. Inhibition properties of dipeptides from salmon muscle hydrolysate on angiotensin I-converting enzyme. *International Journal of Food Science and Technology*. 41: 383-386.
- Palacios LE, Wang T. 2005. Egg-yolk lipid fractionation and lecithin characterization. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 82(2): 571-578.
- [PERMENKES] Peraturan Menteri Kesehatan. 2019. Angka Kecukupan Gizi Yang Dianjurkan Bagi Bangsa Indonesia. Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor 28 tahun 2019.
- Pinto JSS, Lancas FM. 2006. Hydrolysis of corn oil using subcritical water. *Journal of Brazilian Chemical Society*. 17(1): 85-89.
- Ramakrishnan VV, Ghaly AE, Brooks MS, Budge SM. 2013. Extraction of proteins from mackerel fish processing waste using alcalase enzyme. *Journal Bioprocess Biotechniq*. 3(2): 1-9.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Evans CR. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26:1231-1237.
- Renuka V, Anandan R, Suseela M, Ravishankar Cn, Sivaraman GK. 2016. Fatty acid profile of yellowfin tuna eye (*Thunnus albacares*) and oil sardine muscle (*Sardinella longiceps*). *Fishery Technology*. 53: 151-154.
- Roslan J, Md. Yunos KF, Abdullah N, Mazlina S, Kamal M. 2014. Characterization of fish protein hydrolysate from tilapia (*Oreochromis niloticus*) by-product. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 2. 312-319.
- Rubilar M, Morales E, Contreras K, Ceballos C, Acevedo F, Villarroel M, Shene C. 2012. Development of a soup powder enriched with microencapsulated linseed oil as a source of omega-3 fatty acids. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 114: 423-433.
- [SACN] Scientific Advisory Committee for Nutrition. 2004. Advice on Fish Consumption: Benefits and Risks. London (UK): Food Standards Agency and the Department of Health.
- Salindeho N, Pandey E. 2019. Karakteristik fisiko kimia dan polisiklik aromatik aromatik hidrokarbon ikan julung (*Hemirhampus marginatus*). Asap cair cangkang pala. *Jurnal MIPA*. 8(3): 184-187.
- Sandhaya S, Talukdar J, Bhaishya D. 2016. Chemical and biological properties of lauric acid: a review. *International Journal of Advanced Research*. 4(7): 1123-1128.
- Simopoulos AP. 2002. The importance of the ratio of omega-6/omega-3 essential fatty acid. *Biomed Pharmacother*. 56(8): 365-379.

Swastawati F, Cahyono B, Wijayanti I. 2017. Perubahan karakteristik kualitas ikan tongkol (*Euthynnus affinis*) dengan metode pengasapan tradisional dan penerapan asap cair. *Jurnal Info*. 19(2): 55-64.

Tkaczewska J, Borawska-Dziadkiewicz, Kulawik P, Duda I, Morawska M, Mickowska B. 2020. The effects of hydrolysis condition on the antioxidant activity of protein hydrolysate from *Cyprinus carpio* skin gelatin. *Food Science and Technology*. 108616: 1-9.

Trilaksani W, Riyanto B, Azzahra F, Santoso J, Tarman K. 2020. Recovery of tuna virgin fish oil and formulation as a product model of emulsion food supplement. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 414 012027.

WHO] World Health Organization. 2010. Nutrition Landscape Information System (NLIS) Country Profile Indicators: Interpretation Guide. Jenewa (CH): World Health Organization.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang menggunakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



RIWAYAT HIDUP

Penulis lahir di Tangerang, pada tanggal 29 Desember 1997. Penulis merupakan anak tunggal dari pasangan Bapak Ahmad Asparudin dan Ibu Kusnira. Pendidikan Penulis ditempuh di Jember dimulai dari TK YWKA (2003-2004), SDN Jember Lor 02 (2004-2010), SMP Negeri 1 Jember (2010-2013), dan SMA Negeri 2 Jember (2013-2016). Penulis diterima sebagai mahasiswa program studi Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor di tahun 2016 melalui jalur SNMPTN (Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri).

Selama masa perkuliahan penulis aktif mengikuti organisasi kemahasiswaan Himpunan Mahasiswa Teknologi Hasil Perikanan (HIMASILKAN) pada tahun 2019 sebagai anggota Divisi Keilmuan. Penulis juga aktif sebagai asisten praktikum mata kuliah Diversifikasi dan Pengembangan Produk Hasil Perairan pada tahun 2019 dan Teknologi Pengolahan Limbah dan Pemanfaatan Hasil Samping Perairan pada tahun 2020.

Penulis melakukan kegiatan praktik lapangan pada tahun 2019 di perusahaan pembekuan paha kata di PT Oriens Prima Lestari, Cirebon-Jawa Barat. Prestasi akademis yang pernah diraih penulis antara lain, Finalis Pekan Ilmiah Mahasiswa Nasional (PIMNAS) XXXII dalam bidang PKM-Penelitian Eksakta tahun 2019 di Universitas Udayana Bali, Finalis PKM lolos didanai DIKTI pada tahun 2020 dengan bidang PKM-Kewirausahaan sebagai anggota dan Penelitian Eksakta sebagai ketua tim, serta menjadi anggota lapangan dalam tim riset RISPRO yang lolos didanai oleh LPDP pada tahun 2020.