

PENENTUAN HIGH DENSITY LIPOPROTEIN (HDL) PADA BEBERAPA JENIS IKAN

Determination Of High Density Lipoprotein (HDL) In Several Types Of Fish

Nur Fitriani U.A.

Email : nurfitriani.poltekpangkep@gmail.com

Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan Politeknik Pertanian Pangkep

Muhammad Yusuf

Email : upung_psm@yahoo.co.id

Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Ujung Pandang

ABSTRAK

Studi yang dilakukan pada tiga spesies ikan segar yang memiliki peran penting untuk mengembangkan metode cepat dan sederhana untuk ekstraksi. Salah satu metode kerja yang efisien, reproduktibel tinggi dan praktis telah digunakan dalam penelitian ini. Jaringan yang basah dihomogenisasi dengan campuran chloroform dan metanol dalam beberapa proporsi sistem campuran larut, dengan adanya air yang berasal dari jaringan. Pengenceran dengan chloroform dan air memisahkan homogenat kedalam dua lapisan, lapisan chloroform mengandung semua komponen lipid dan lapisan methanol mengandung semua komponen non-lipid. Ekstrak lipida murni didapatkan dengan memisahkan lapisan chloroform. Hasil analisa didapatkan kandungan kolesterol dari tiga jenis ikan yang telah dianalisis masing-masing, ikan cakalang 0,0425%, ikan mas 0,0315%, ikan bandeng 0,02475%. Kadar kolesterol diatas ditentukan dengan aspek spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 630 nm.

Kata kunci: spektrofotometer, chloroform, kolesterol, HDL.

ABSTRACT

A study was undertaken on three species of fresh fishes which have an important role to develop a fast and simple method for extraction. An efficient, practical and reproducible method was used in this study. Wet tissues were homogenized with mixtures of chloroform and methanol in several proportions of solvent and water from tissues. The dilution with chloroform and water separated the homogenate with two layers. The chloroform layer containing all lipids and the methanol layer all non lipid component. The pure lipid extraction was obtained of the chloroform layer. The result achieved from this analysis are as follows: Tuna fish contains 0,0425% chlolesterol; Common Carp contains 0,0315% chlolesterol; Milkfish contains 0,02475% chlolesterol. The cholesterol content was determined by a visible light spectrophotometer on 630 nm wave length.

Keyword: spektrofotometer, chloroform, kolesterol, HDL.

PENDAHULUAN

Masalah kolesterol sudah diawali sejak tahun 1769 ketika ahli kimia perancis *Poulletier De La Salle* bisa memurnikan kolesterol. Sebagian besar dari kolesterol dalam tubuh dihasilkan oleh hati, tapi 20 % hingga 30 % umumnya berasal dari makanan yang kita makan. Para dokter mulai berasumsi bahwa kolesterol, terutama kolesterol dari makanan terutama ketika mereka memeriksa pembuluh darah akteri korban serangan jantung, yang nampak bukan pembuluh yang lemah atau halus, tetapi semacam pipa tua yang rapuh, yang tersumbat dan diperkeras oleh tumpukan kolesterol yang tidak digunakan untuk pembakaran oleh tubuh (Bligh dan Dyer, 1959).

Kolesterol adalah metabolit yang mengandung lemak sterol yang ditemukan pada membran sel dan disirkulasikan dalam plasma darah. Merupakan sejenis lipid yang merupakan molekul lemak atau yang menyerupainya. Kolesterol ialah jenis khusus lipid yang disebut steroid. Steroids ialah lipid yang memiliki struktur kimia khusus. Struktur ini terdiri atas 4 cincin atom karbon. Kolesterol adalah senyawa lemak berlipin yang sebagian besar diproduksi tubuh di dalam liver dari makanan berlemak yang kita makan. Kolesterol diperlukan tubuh untuk membuat selaput sel, membungkus serabut saraf, membuat berbagai hormon dan asam tubuh. Kolesterol tidak dapat diedarkan langsung oleh darah karena tidak larut dalam air. Untuk mengedarkannya, diperlukan molekul “pengangkut” yang disebut lipoprotein. Ada dua jenis lipoprotein, yaitu *high*

density lipoprotein (HDL) dan *low density lipoprotein* (LDL) (Ewing, 1975).

Steroid lain termasuk steroid hormon seperti kortisol, estrogen, dan testosteron. Nyatanya, semua hormon steroid terbuat dari perubahan struktur dasar kimia kolesterol. Saat tentang membuat sebuah molekul dari pengubahan molekul yang lebih mudah, para ilmuwan menyebutnya sintesis. Para peneliti telah mengetahui sebenarnya kadar kolesterol tinggi tidak merupakan faktor resiko yang berbahaya, tapi apabila alphakolesterol (**HDL = “High Density Lipoprotein”**) tinggi dan beta-kolesterol (**LDL = “Low Density Lipoprotein”**) rendah, resiko terkena penyakit jantungpun berkurang. Sebaliknya, apabila kadar kolesterol normal tetapi HDL rendah dan LDL tinggi, maka resiko terkena penyakit jantung adalah tinggi (Harrow, dan Mazur, 1987).

Secara alami kolesterol dibuat oleh tubuh dan diperlukan agar tubuh bisa berfungsi dengan baik. Diantaranya menjaga sel-sel tubuh tetap sehat dan memproduksi hormon esensial. Ketidakseimbangan terjadi apabila kita mengkonsumsi banyak makanan kurang sehat yang memicu tubuh memproduksi kolesterol ‘jahat’ lebih banyak. Akibat dan resikonya adalah penyakit jantung. Beberapa jenis makanan dikenal sebagai biang kolesterol seperti telur, kerang-kerangan dan jenis seafood lainnya. Padahal sebenarnya makanan tersebut memberi dampak sangat kecil pada kadar kolesterol darah. Konsumsi lemak jenis dan trans dalam makanan lain justru lebih cepat dan lebih banyak memicu kadar kolesterol ‘jahat’ dalam darah. Dengan

kata lain konsumsi lemak hewan, minyak kelapa dan lemak trans lebih berbahaya dari pada makan *seafood*.

Seafood merupakan makanan yang hampir dimakan oleh seluruh orang, makanan yang berasal dari laut ini dituding memiliki kandungan kolesterol yang sangat tinggi, padahal kenyataannya tidak. Orang Jepang yang gemar mengonsumsi seafood justru sehat dan banyak yang berumur panjang. Banyak sekali orang yang berfikir dua kali untuk makan makanan seperti Seafood mengingat makanan ini dituding memiliki kandungan kolesterol yang sangat tinggi, ini adalah mitos yang menyesatkan.

Sejauh mana senyawa kolesterol berperan sebagai salah satu faktor penyebab penyakit-penyakit tersebut telah banyak dipublikasikan, penelitian-penelitian mengenai kolesterol dan penyakit-penyakit yang diduga disebabkan telah banyak dilakukan orang, terutama yang berkecimpung dalam masalah biokimia kedokteran. Namun mengenai sumber-sumber kolesterol dan jumlah kolesterol yang terkandung dalam sumber-sumber tersebut masih belum banyak diketahui secara pasti.

Diharapkan dengan diketahuinya jumlah kandungan kolesterol dari ikan-ikan yang diteliti maka dapatlah diatur seberapa banyak dari ikan tersebut dapat dimakan. Karena bagaimanapun juga mencegah adalah lebih baik daripada mengobati. Dalam analisa ini diambil beberapa jenis ikan yang paling sering dikonsumsi oleh masyarakat, yaitu: ikan cakalang, ikan mas dan ikan air laut.

METODOLOGI PENELITIAN

Pengambilan Contoh

Contoh ikan, yaitu ikan Cakalang dari Pasar Sentral Makassar dan ikan Bandeng dari Pasar Sambung Jawa Makassar. Sedang ikan Mas diambil di Danau Mawang, Kabupaten Gowa. Ikan-ikan tersebut dipilih dalam keadaan masih segar ditinjau dari segi biologisnya yaitu, apabila keadaan anatomi morfologisnya belum berubah.

Pengolahan Contoh

Pengolahan contoh selanjutnya dilakukan di laboratorium dengan cara pemisahan ekstraksi dingin, dengan sebelumnya dipisahkan antara kulit, tulang dan dagingnya. Selanjutnya analisis digunakan pada daging ikannya saja.

Uji Pendahuluan

Uji pendahuluan dimaksudkan untuk mendeteksi dengan cepat ada atau tidak steroid dalam contoh. Uji pendahuluan dilakukan dengan cara menggunakan pereaksi warna (Sthal, 1969).

Pemisahan

Pemisahan dilakukan dengan menentukan kadar airnya terlebih dahulu. Kemudian ditambahkan pelarut campuran chloroform, metanol dan air sesuai perbandingan yang sudah ditentukan. Campuran dilumat dengan blender selama beberapa menit, sehingga semua sterol bebas dan sterol ester terekstrasi. Satu bagian volume chloroform ditambahkan dengan satu bagian volume air. Dilumat lagi untuk memisahkan

larutan chloroform dengan campuran lainnya. Campuran disaring, filtrat didiamkan sehingga terjadi dua lapisan yang jelas. Kedua lapisan dipisahkan, lapisan chloroform mengandung fraksi lipida.

Uji Warna Dengan Pereaksi Liebermann-Buchard

Sedikit residu dilarutkan dengan pelarut chloroform dan ditetaskan pada plat tetes. Bagian lain dari plat tetes ditetaskan pula pereaksi Liebermann-Buchard. Kedua tetesan dicampur menggunakan pengaduk. Warna yang terjadi pada sambungan kedua tetesan diamati, bila warnanya hijau berarti uji positif (Idler dan Baumann, 1953).

Uji Kromatografi lapis tipis (3,10)n

Lempeng kromatografi lapis tipis dibuat dengan cara merayakan bubuk silika gel G.60 setebal 0,25mm di atas lempeng kaca berukuran 20 x 20 cm, dikeringkan di udara kemudian diaktifkan dalam lemari pengering pada suhu 150°C selama satu jam. Residu yang akan diuji dilarutkan dengan pelarut chloroform kemudian ditotolkan bersama-sama dengan larutan baku pada lempeng yang telah di aktifkan, kemudian dimasukkan kedalam bejana kromatografi lapis tipis yang telah dijenuhkan dengan larutan pengembang chloroform. Pelarut mengembang sampai mencapai kira-kira 1-2 cm dari pinggiran lempeng sebelah atas. Lempeng diangkat dan dibiarkan kering pada suhu kamar lalu disemprotkan dengan larutan penampak noda asam sulfat 50% dalam air. Lempeng dipanaskan pada suhu 800°C. Bila terbentuk warna merah muda

kemudian menjadi warna abu-abu, maka uji positif.

Cara menghitung nilai Rf adalah dengan membandingkan warna yang diperoleh dengan nilai Rf kolestrol baku yang dikerjakan pada lempeng yang sama. Kemudian kerok dan masukkan ke dalam sejumlah chloroform, saring, kisatkan hingga diperoleh residu. Selanjutnya ditotolkan lagi pada lempeng kaca yang telah disiapkan untuk kromatografi lapi tipis bersama pembanding, masukkan ke dalam bejana kromatografi lapis tipis hingga diperoleh jarak rambat yang diinginkan, keluarkan dari bejana kromatografi lapis tipis keringkan dan amati noda setelah disemprotkan dengan larutan penampak noda.

Penentuan titik lebur

Zat hasil kromatografi yang telah dikristalisasi dimasukkan ke dalam pipa kapiler bersama pembanding dengan zat hasil kristalisasi pada masing-masing pipa kapiler yang lain. Suhu leleh dari ketiga zat yang ada pada pipa kapiler diamati dengan alat "Fisher" (merk Elektrotermal). Pembacaan dimulai pada saat permulaan proses pelelehan hingga semua zat dari ketiga pipa kapiler tersebut meleleh secara keseluruhan. Diperoleh data perbandingan dari ketiga perlakuan diatas untuk menentukan kebenaran dan kemurniaan zat hasil isolasi (Klinier dan Orten., 1962).

Penentuan kadar kolesterol (5,7 ,11)

Residu yang diperoleh dari masing-masing contoh ditimbang dalam jumlah bobot tertentu. Kemudian dilarutkan dalam chloroform, diamati

serapannya setelah ditambah dengan pereaksi Liebermann-Burchard dengan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 625 nm. Resapan yang diperoleh diplotkan pada kurva baku yang dibuat dari kolesterol murni dengan deret kepekatan tertentu (Munro, 1967).

Penyiapan Larutan Baku

Kolesterol murni ditimbang 2 mg kemudian dilarutkan didalam chloroform. Selanjutnya dibuat volumenya hingga 50 ml. Larutan ini digunakan sebagai larutan induk. Larutan induk ini diambil berturut-turut 1,25ml, 2,5 ml, 3,75 ml, 5 ml, 6,25 ml, 7,5 ml, 8,75 ml, 10 ml, kemudian masing-masing dibuat menjadi 50 ml dengan chloroform. Larutan ini sebagai larutan baku. Masing-masing larutan baku diambil 5 ml dan ditambahkan 2 ml larutan pereaksi Liebermann-Buchard, diukur serapannya pada panjang gelombang 630 nm.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan bulan Mei 2014 bertempat di Laboratorium Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Ujung Pandang dan Laboratorium Biokimia Politeknik Pertanian Negeri Pangkep.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemisahan kolesterol dari ikan segar dengan menggunakan ekstraksi dingin dengan analisis spektrofotometri *Liebermann-Buchard* dapat diperoleh hasil yang baik. Tapi pada penelitian ini disadari bahwa masih banyak tahapan-tahapan yang perlu disempurnakan. Spektrofotometri adalah salah satu cara

analisa instrumen yang didasarkan atas pengukuran sifat optis tertentu dari zat yang dianalisa, sebagai akibat dari penyerapan enersi radiasi oleh zat tersebut. Analisa dengan cara spektrofotometri mempunyai banyak keuntungan. Cara ini dapat mengganti konsentrasi yang relatif kecil sehingga dapatlah dianalisa suatu zat dengan jumlah yang sedikit.

Spektra elektromagnetik yang digunakan adalah spektra visible yakni spektra yang mempunyai panjang gelombang antara 400nm – 800 nm. Spektra visible ini atau sinar tampak terjadi akibat peristiwa eksitasi elektris molekul karena menyerap cahaya tampak, sehingga elektron akan berpindah ke keadaan energi yang lebih tinggi. Spektrofotometri sinar tampak sangat umum digunakan dalam kimia analitik, karena banyak zat yang mempunyai serapan pada daerah sinar tampak. Atau banyak zat yang dapat dirubah strukturnya dengan pengompleks untuk dapat meberikan serapan pada daerah ini. Ppenggunaan analisa spektrofotometri sinar tampak sangat baik untuk pngukuran-pengukuran dalam analisa kuantitatif, dimana zat yang akan diukur merupakan suatu senyawa yang berwarna ataupun dibuat supaya berwarna dengan jalan mreaksikannya dengan suatu pereaksi tertentu sehingga membentuk senyawa yang berwarna (Schoeheimer dan Spree, 1934).

Pengambilan contoh dalam penelitian ini tidak memperhatikan umur dari ikan-ikan yang diteliti dan juga tidak memperhatikan dari mana asal ikan-ikan tersebut. Selain itu makanannya yang mungkin sangat mempengaruhi kadar

Tabel 1. Hasil Pengukuran Resapan Larutan Steroid Dalam Masing-Masing Contoh.

Contoh	Resapan awal	Resapan akhir	Resapan rata-rata
Ikan cakalang	0,3565	0,3767	0,3665
Ikan mas	0,2596	0,2840	0,2716
Ikan bandeng	0,1643	0,2716	0,2147

kolesterol dari ikan-ikan yang diteliti ini. Pada proses pemisahan digunakan metode ekstraksi dingin. Ekstraksi dingin hanya memerlukan waktu yang sangat singkat, juga karena jaringan ikan sangat lunak. Pada penelitian ini tidak digunakan metode ekstraksi panas, karena bukan untuk membandingkan metode. Hanya ingin mengetahui apakah benar-benar dengan cara ekstraksi dingin dapat menarik semua steroid (Tabel 1) yang ada dalam jaringan ikan.

Pemeriksaan kualitatif secara kromatografi lapis tipis dengan menggunakan eluen chloroform diketahui bahwa ternyata bila chloroform yang dipakai untuk mengelusi disimpan kemudian dipakai lagi untuk mengelusi zat yang sama, akan memberikan hasil elusi yang berbeda (Tabel 2 dan Tabel 3).

Tabel 2. Hasil Pengukuran Resapan Kolesterol Baku Pada Panjang Gelombang 630 nm.

Konsentrasi (ppm)	%T	A
10	90	0,0458
20	81	0,0915
30	74	0,1308
40	67	0,1739
50	60	0,2218
60	55	0,2596
70	50	0,3010
80	45	0,3468

Jika kromatografi lapis tipis steroidnya dengan menggunakan eluen

Tabel 3. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Larutan Kolesterol Baku Dalam Choloroform.

Panjang gelombang	Resapan
580	0,3665
590	0,4089
600	0,4815
610	0,5302
620	0,5528
630	0,5607
640	0,5528
650	0,5376
660	0,5229
670	0,5086
680	0,4949
690	0,4881

chloroform, ternyata warna noda yang tinggi noda sama dengan warna noda dan tinggi noda dari kolesterol baku (Tsuda, *et al.*, 1960).

Uji untuk menetapkan tetapan fisis hasil pemisahan ini dilakukan dengan menentukan titik lebur sebagai pendukung data atau hasil yang lebih teliti (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil Pengamatan Titik Lebur.

Bahan/contoh	Titik lebur (°C)
Pembanding	148,5 – 150
IC	149 – 151
IM	148 – 150,5
IB	148,5 – 152
Campuran I	147 - 149
Campuran II	147,5 – 151
Campuran III	146 - 149

Keterangan:

IC = ikan cakalang
 IM = ikan mas
 IB = ikan bandeng
Campuran I = kristal ikan cakalang +
 pembanding
Campuran II = kristal ikan mas +
 pembanding
Campuran III = kristal ikan bandeng +
 pembanding
 Suhu kamar waktu pengamatan 29°C

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat ditarik kesimpulan, yaitu Ikan Cakalang mempunyai kandungan kolesterol 0,0425 %, Ikan Mas mempunyai kandungan kolesterol 0,0315 %, Ikan Bandeng mempunyai kandungan kolesterol 0,02475 %, Ikan-ikan yang dianalisis ternyata kandungan kolesterolnya rata-rata rendah, sehingga aman dikonsumsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Bligh, E.G., dan Dyer, W.J. (1959), "A Method of Total Lipid Extraction And Purification", Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37, 911, 917.
- Ewing, G.W. (1975) "Instrumental Method of Chemical Analysis", Fourth Edition, International Student Edition, McGraw Hill Kogakusha. Ltd., Tokyo, 59-62.
- Harrow, B., dan Mazur, A. (1987), "Text Book of Biochemistry", Eight Edition., W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, 55-56.
- Idler, D.R., dan Baumann, C.A. (1953), "Skin Sterol", J. Biol. Chem. 203, 389-390.
- Klinier dan Orten. (1962), "Biochemistry", Sixth Edition., The C.V. Mosby Company, St. Louis, 96 - 99.
- Munro, I.S.R. (1967), "The Fishes Of New Guinea", Dep. AGRIC, stock fish, port Moresby, New Guinea: 650 pp.
- Sthal, E. (1969), "Thin Layer Chromatography", Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 311 - 331, 458 - 459.
- Schoeheimer, R., dan Spree, W.M. (1934), "A Micromethod for The Determination of free and Combined Sterol", J. Biol. Chem., 106, 745 - 760.
- Tsuda, T., Hayatsu, R., Kishida, Y., and Akagi, S. (1960), "Studies on The Constitution of Sargasterol" J. Am. Chem. Soc., 80, 921-925.