

Tersedia online di: <http://ejournal-balitbang.kkp.go.id/index.php/btla>

ANALISIS KADAR KAROTENOID PADA PENINGKATAN KUALITAS WARNA IKAN RAINBOW KURUMOI *Melanotaenia parva* SECARA KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI (KCKT)

Bayu dan Fajriyani

Balai Riset Budidaya Ikan Hias
Jl. Perikanan No. 13, Pancoran Mas, Depok 16436
E-mail: publikasi.bppbih@gmail.com

ABSTRAK

Analisis kadar karotenoid dilakukan untuk mendukung kegiatan penelitian mengenai peningkatan kualitas warna ikan rainbow Kurumoi (*Melanotaenia parva*). Analisis ini dilakukan di laboratorium uji, Balai Riset Perikanan Budidaya Ikan Air Tawar dan Penyuluhan Perikanan (BRPBATPP) Bogor. Sampel uji berupa ikan yang diberi perlakuan pakan tiga jenis karotenoid yaitu astaksantin (AS), cantaksantin (CS), dan lutein (LS) dengan dua dosis (130 dan 260 mg kg⁻¹) yang dilambangkan dengan AS-130, AS-260, CS-130, CS-260, LS-130, LS-260, dan basal sebagai kontrol. Ikan diberi pakan selama 56 hari pemeliharaan. Setelah dilakukan preparasi sampel, di Balai Riset Budidaya Ikan Hias (BRBIH) Depok; selanjutnya sampel dibawa ke laboratorium uji BRPBATPP untuk dilakukan analisis kadar karotenoid. Metode analisis menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) dengan instrumen *high performance liquid chromatography* (HPLC). Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar karotenoid terbesar diperoleh pada sampel jaringan sirip ikan yang diberi pakan uji jenis AS-260 dengan kadar astaksantin sebesar 13,06 mg kg⁻¹; sedangkan beberapa karotenoid tidak terdeteksi (*not detected*) pada perlakuan pakan uji CS-130, CS-260, LS-130, dan LS 260.

KATA KUNCI: karotenoid; ikan rainbow Kurumoi; HPLC

PENDAHULUAN

Rainbow Kurumoi (*Melanotaenia parva*) merupakan ikan hias endemik asli Indonesia. Daerah asal ikan ini adalah Danau Kurumoi, Bintuni, Papua Barat. Keberadaan ikan ini di habitat aslinya terancam punah oleh kerusakan lingkungan (Kadarusman *et al.*, 2007). Ikan ini masuk ke dalam daftar merah *International Union Conservation of Nature* (IUCN) dengan status rentan (*vulnerable*) karena habitatnya yang terancam (Allen, 1991). Sejak tahun 2008, BRBIH Depok telah membudidayakan ikan ini di luar habitat aslinya. Potensi pengembangan spesies *Melanotaenia* sp. sangat besar dengan peminat yang beragam, nilai ekonomi yang tinggi, serta memiliki peluang pasar lokal dan internasional yang luas seperti Eropa dan Amerika Serikat. Ikan hias memiliki beberapa kriteria penting yang menentukan kualitasnya antara lain warna, bentuk tubuh, bentuk sirip, ukuran tubuh, dan pola warnanya (Paripatananont *et al.*, 1999; Yuangsoi *et al.*, 2010), sedangkan ikan rainbow Kurumoi dinilai hanya berdasarkan kualitas warnanya. Dibandingkan spesies sejenis di habitat aslinya, ikan hasil budidaya ini mengalami degradasi atau penurunan kualitas warna. Beberapa masalah lain dalam budidaya Kurumoi adalah pertumbuhan dan sintasan yang rendah sehingga mengalami stres yang disebabkan oleh pakan yang

kurang tepat, penanganan, dan faktor lingkungan. Pada awalnya, pakan alami masih menjadi pakan utama yang diaplikasikan untuk ikan rainbow Kurumoi sesuai dengan informasi dari (Allen, 1991) tentang kebiasaan makan ikan ini di habitat aslinya. Dalam beberapa tahun terakhir penggunaan pakan buatan telah diaplikasikan (Subandiyah *et al.*, 2012), namun hasilnya dianggap belum memenuhi persyaratan spesifik yang dibutuhkan terutama dalam mempertahankan atau meningkatkan kualitas warna.

Warna yang muncul pada ikan hias berasal dari pengendapan karotenoid dalam jaringan dan oleh adanya kromatofora yang mengandung pigmen tersebut (Simpson *et al.*, 1981; Chatzifotis *et al.*, 2005). Karotenoid adalah sumber warna yang utama pada kulit ikan (Lovell, 2000; Sales & Janssens, 2003; Chatzifotis *et al.*, 2005; Sinha & Asimi, 2007). Ikan tidak mampu menyintesis karotenoid secara *de novo* (Simpson, 1981; Guillaume *et al.*, 2001; Gouveia *et al.*, 2003; Gouveia & Rema, 2005; Ahilan *et al.*, 2008; Sujath *et al.*, 2011; Jintataporn & Yuangsoi, 2012). Ikan harus memperoleh karotenoid dalam jumlah yang cukup di pakan untuk meningkatkan warna kulitnya (Sinha & Asimi, 2007). Pigmentasi kulit dengan jenis senyawa sintesis atau ekstrak pakan alami telah banyak dilakukan. Astaksantin adalah senyawa paling penting

yang secara efektif dapat meningkatkan kualitas warna pada banyak spesies ikan hias seperti tetra, siklid, gurame, maskoki, koi, danio, dan lainnya (Ohkubo *et al.*, 1999; Paripatananont *et al.*, 1999; Gupta *et al.*, 2007). Astaksantin adalah produk akhir dalam jalur metabolisme ikan sehingga dapat dimanfaatkan secara langsung tanpa melalui proses konversi (Tanaka, 1978; Latscha, 1990). Suplementasi jenis karotenoid sintesis seperti astaksantin, cantaksantin, dan lutein, pada beberapa penelitian dapat meningkatkan kualitas warna baik secara langsung maupun terkonversi dan dapat menjadi acuan untuk aplikasi karotenoid alami dalam pakan. Suplementasi ini juga mampu meningkatkan pertumbuhan dan kesehatan ikan, serta berperan penting dalam mengonversi vitamin A, memacu sistem imun, meningkatkan kesehatan tulang, dan aktivitas antioksidan.

Analisis kadar karotenoid perlu dilakukan untuk mengetahui kandungan astaksantin, cantaksantin, dan lutein pada ikan Rainbow Kurumoi. Analisis dilakukan dengan metode Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) menggunakan alat *high performance liquid chromatography* (HPLC). KCKT merupakan salah satu teknik kromatografi untuk zat cair yang biasanya disertai dengan tekanan tinggi. Cairan yang akan dipisahkan merupakan fase cair dan zat padatnya merupakan fase diam (stasioner). Teknik ini sangat berguna untuk memisahkan beberapa senyawa sekaligus, karena setiap senyawa mempunyai afinitas selektif antara fase diam tertentu dan fase gerak tertentu. Dengan bantuan detektor, serta integrator maka akan diperoleh kromatogram yang memuat waktu retensi, serta tinggi puncak suatu senyawa.

Tujuan dari analisis ini adalah untuk mengetahui kadar karotenoid yaitu astaksantin, cantaksantin, dan lutein pada ikan rainbow Kurumoi yang dilakukan dengan metode KCKT menggunakan alat HPLC. Hasil dari analisis ini dapat digunakan sebagai data dukung dalam penelitian yang terkait dengan penampilan warna ikan melalui pengamatan karotenoid yang dikandungnya.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada pengujian kadar karotenoid adalah akuabides, kloroform, metanol, asetonitril, diklorometana, metanol, dan asam propionate. Akuabides digunakan sebagai pereaksi dan fase gerak, kloroform. Adapun metanol digunakan sebagai pereaksi, asetonitril, diklorometana, metanol, dan asam propionate sebagai fase gerak.

Alat yang digunakan adalah erlenmeyer, labu ukur, *shaker*, sentrifuge, dan instrumen HPLC. Erlenmeyer,

labu ukur, *shaker*, sentrifugasi digunakan dalam preparasi sampel sedangkan alat HPLC digunakan untuk menganalisis kadar lutein dalam sampel.

Metode

Analisis kadar karotenoid pada sampel ikan rainbow Kurumoi menggunakan instrumen HPLC dilakukan pada bulan Maret 2018. Analisis meliputi preparasi sampel, membuat deret standar, pengukuran kadar karotenoid pada deret standar dan sampel ikan rainbow Kurumoi. Sampel uji terdiri atas tiga jenis karotenoid yaitu astaksantin (AS), cantaksantin (CS), dan lutein (LS) dengan dua perlakuan dosis yaitu 130 dan 260 mg kg⁻¹ yang dilambangkan dengan AS-130, AS-260, CS-130, CS-260, LS-130, LS-260, dan basal (tanpa karotenoid) sebagai kontrol. Ikan diberi pakan selama 56 hari pemeliharaan.

Preparasi Sampel

Pengukuran kadar karotenoid dalam jaringan otot, kulit, dan sirip ikan dilakukan dengan metode kromatografi cair mengikuti prosedur Guillou *et al.* (1993). Ekstraksi sampel dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan homogenisasi jaringan dengan kloroform/metanol (2/1) hingga volume 20 kali dari sampel (1 g dalam 20 mL campuran pelarut). Seluruh campuran diaduk selama 15-20 menit dalam *shaker* pada suhu ruangan. Pelarut hasil homogenisasi dicuci dengan air 0,2 volume (4 mL untuk 20 mL). Setelah itu, di-*vortex* beberapa detik, dan larutan yang dihasilkan disentrifugasi pada kecepatan rendah (2.000 rpm) untuk memisahkan dua fase. Fase atas (kloroform) dipindahkan dengan cara dievaporasi. Selanjutnya dilakukan pencucian sebanyak dua hingga tiga kali menggunakan metanol/air (1/1) tanpa mencampurkan seluruh preparasi. Setelah sentrifugasi dan evaporasi fase atas (fase kloroform) yang mengandung lipid tersisa (sekitar 2-3 mL), disimpan hingga saat akan dianalisis. Pada saat dilakukan ekstraksi menjelang dianalisis, terlebih dahulu dilarutkan dalam asetonitril/diklorometana (2:1), dan disaring menggunakan Millex-HV (0-45 µm⁻¹) filter (*Millipore*), baru kemudian dilakukan injeksi pada kromatografi.

Pembuatan Deret Standar Karotenoid

Sebelum mengukur sampel, terlebih dahulu menyiapkan larutan standar yang telah diencerkan dengan beberapa konsentrasi standar dalam pelarut yaitu 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 50,0; dan 100,0 mg kg⁻¹. Pelarut standar yang digunakan mengacu pada sertifikat analisis (*certificate of analysis*). Standar yang digunakan adalah astaksantin standard, cantaksantin standard, dan lutein standard (Sigma Aldrich).

Pengukuran Kadar Karotenoid pada Ikan Rainbow Kurumoi (*M. Parva*)

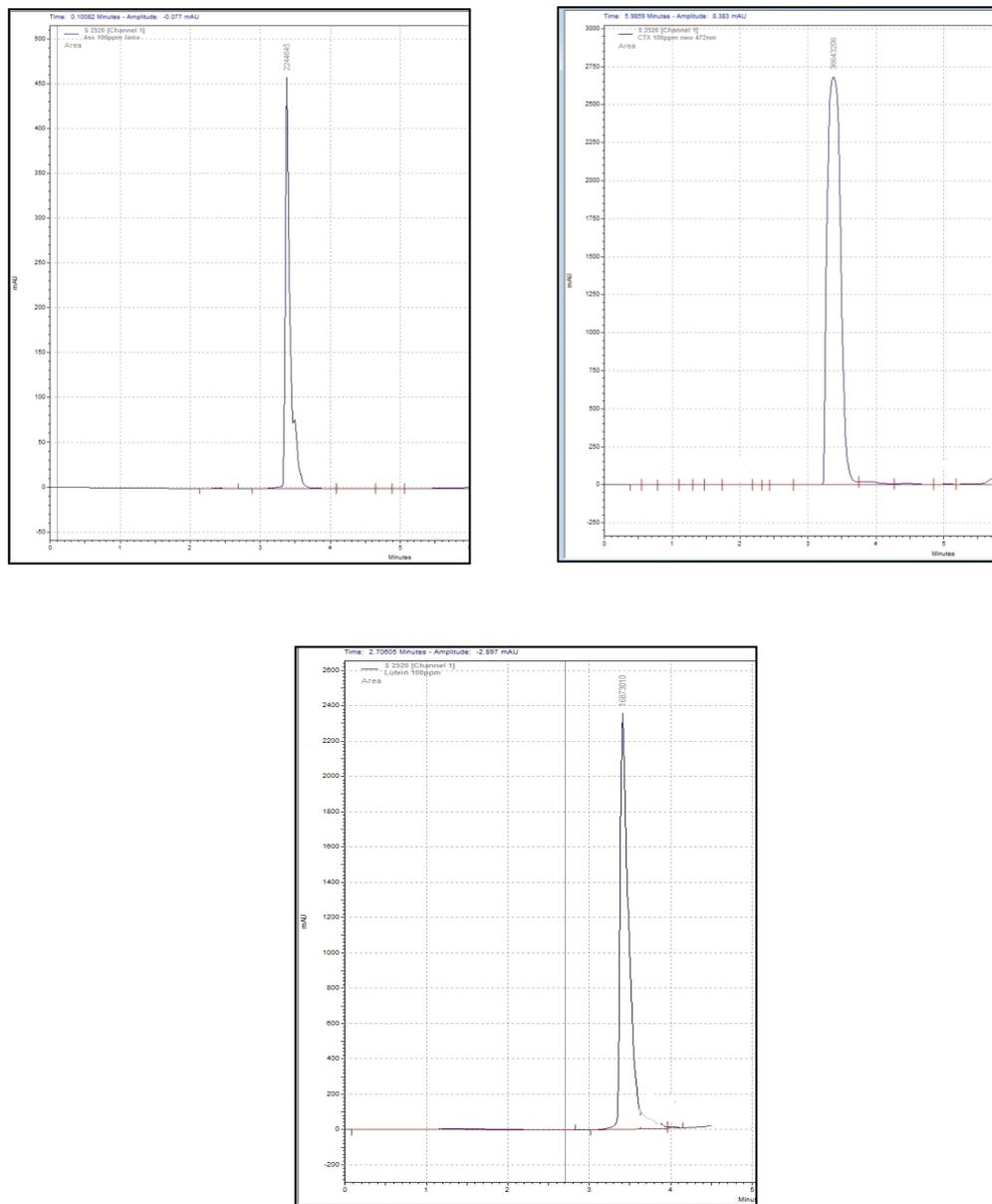
Kromatografi cair dilakukan menggunakan alat HPLC merk KNAUER, column C18 dimensi 250 x 4.6 mm, dengan metode *isocratic* detector UV-vis, volume injeksi 100 μ L menggunakan fase gerak (71:22:4:2:1 v/v/v/v/v) terdiri atas asetonitril: diklorometana: metanol: air: asam propionat.

HASIL DAN BAHASAN

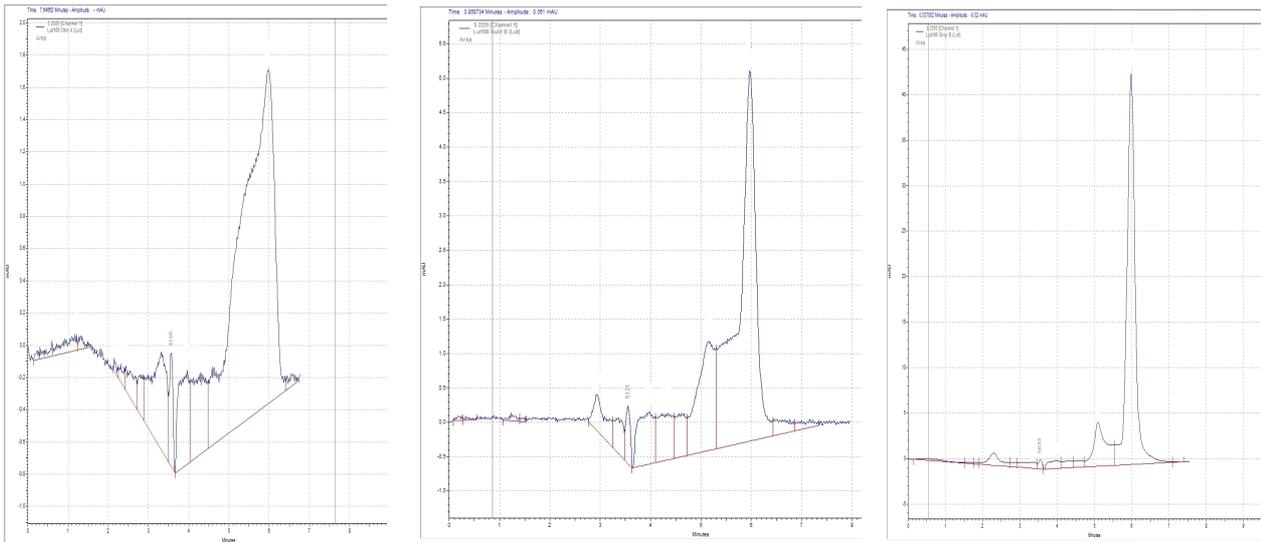
Hasil analisis kadar karotenoid berupa astaksantin, cantaksantin, dan lutein pada standar dan sampel ikan rainbow Kurumoi (*M. Parva*) menggunakan instrumen HPLC seperti disajikan pada Gambar 1 dan 2.

Pengukuran standar dilakukan pada hari ke-1 dan ke-2, sedangkan analisis sampel dilakukan pada hari ke-3—5. Hasil absorbansi dan luas area pada masing-masing konsentrasi standar (Gambar 1) digunakan untuk membuat kurva standar (Gambar 3). Persamaan regresi akan digunakan untuk menghitung konsentrasi pada sampel yang terukur.

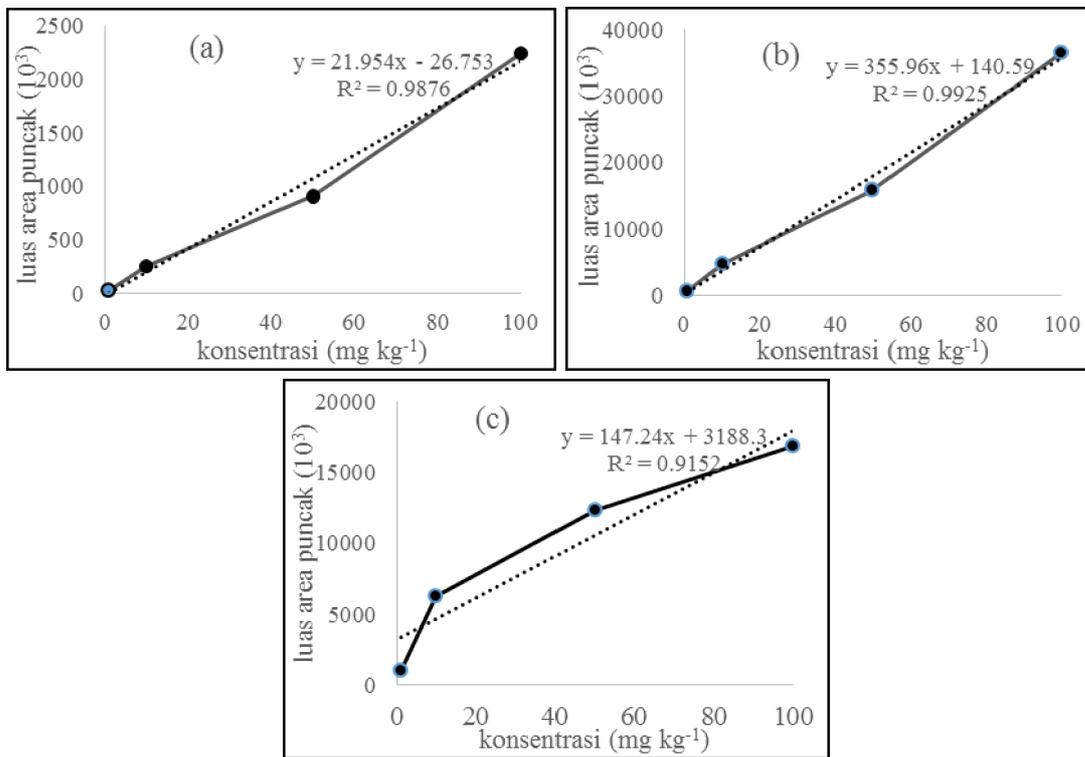
Pada ikan hias, warna yang muncul diketahui berasal dari pengendapan karotenoid dalam jaringan tubuhnya dan oleh adanya kromatofora yang mengandung pigmen tersebut (Chatzifotis *et al.*, 2005). Ikan tidak mampu menyintesis karotenoid secara *de novo* (Jintataporn & Yuangsoi, 2012) sehingga ikan harus memperoleh asupan karotenoid optimal dalam pakan.



Gambar 1. Kromatogram standar (a) astaksantin, (b) cantaksantin, (c) lutein pada konsentrasi 100 mg kg⁻¹.



Gambar 2. Kromatogram sampel jaringan otot, kulit, dan sirip ikan.



Gambar 3. Kurva standar (a) astaksantin, (b) cantaksantin, (c) lutein pada beberapa konsentrasi.

Pigmentasi kulit dengan sumber karotenoid sintesis atau diekstraksi dalam pakan telah banyak dilakukan. Astaksantin adalah karotenoid yang paling penting dan dapat efektif meningkatkan kualitas warna pada banyak spesies ikan hias lainnya (Das & Biswas, 2016). Penggunaan jenis karotenoid lain seperti cantaksantin dan lutein terbukti juga mampu memberikan penampilan warna yang baik, serta memberikan dampak positif bagi pertumbuhan dan kesehatan (Rahman *et al.*, 2016; Chow *et al.*, 2016).

Dari hasil analisis yang dilakukan, diperoleh kadar karotenoid pada masing-masing bagian dari ikan mulai jaringan otot, jaringan kulit, dan jaringan sirip ikan dengan berbagai kadar yang terukur dengan satuan mg kg⁻¹ yang disajikan pada Tabel 1, 2, dan 3.

Hasil analisis menunjukkan bahwa kadar karotenoid terbesar diperoleh pada sampel jaringan sirip ikan yang diberi pakan uji jenis AS-260 dengan kadar astaksantin sebesar 13,06 mg kg⁻¹; sedangkan beberapa karotenoid tidak terdeteksi (*not detected*) pada jaringan otot,

Tabel 1. Kandungan astaksantin, cantaksantin, lutein, dalam jaringan otot ikan rainbow Kurumoi, *M. parva* selama 56 hari pemeliharaan

Parameter (mg kg ⁻¹)	Pakan uji						
	Basal	AS-130	AS-260	CS-130	CS-260	LS-130	LS-260
Astaksantin	nd	0,67	0,84	nd	nd	nd	nd
Cantaksantin	nd	0,75	0,97	0,95	0,97	0,77	0,87
Lutein	1,06	1,11	1,35	nd	nd	1,08	1,11

Keterangan: nd = tidak terdeteksi (*not detected*)Tabel 2. Kandungan astaksantin, cantaksantin, lutein, dan vitamin A1 dalam jaringan kulit ikan rainbow Kurumoi, *M. parva* selama 56 hari pemeliharaan

Parameter (mg kg ⁻¹)	Pakan uji						
	Basal	AS-130	AS-260	CS-130	CS-260	LS-130	LS-260
Astaksantin	nd	0,76	0,71	nd	nd	nd	nd
Cantaksantin	0,92	0,85	0,82	0,89	0,88	0,81	0,83
Lutein	1,63	1,66	1,65	nd	nd	1,66	1,67

Keterangan: nd = tidak terdeteksi (*not detected*)Tabel 3. Kandungan astaksantin, cantaksantin, lutein, dan vitamin A1 dalam jaringan sirip ikan rainbow Kurumoi, *M. parva* selama 56 hari pemeliharaan

Parameter (mg kg ⁻¹)	Pakan uji						
	Basal	AS-130	AS-260	CS-130	CS-260	LS-130	LS-260
Astaksantin	nd	11,17	13,06	nd	nd	nd	nd
Cantaksantin	6,07	6,94	8,29	6,94	7,43	5,48	7,25
Lutein	1,36	1,58	1,57	nd	nd	1,59	1,7

Keterangan: nd = tidak terdeteksi (*not detected*)

kulit, dan sirip dengan pakan uji CS-130, CS-260, LS-130, dan LS-260.

Suplementasi jenis karotenoid sintetis seperti astaksantin, cantaksantin, dan lutein pada dosis yang tepat, diharapkan dapat meningkatkan kualitas warna ikan, baik secara langsung maupun terkonversi untuk pengembangan budidaya dan peningkatan nilai ekonominya. Sebagaimana fungsinya, suplementasi ini diharapkan mampu meningkatkan pertumbuhan dan status kesehatan ikan dalam sistem budidaya. Selain itu, hal ini menjadi penting untuk mengkaji kemampuan deposisi karotenoid pada beberapa jaringan, serta mengevaluasi karotenoid dalam beberapa peran-peran penting lainnya.

KESIMPULAN

Dari hasil analisis kadar karotenoid berupa astaksantin, cantaksantin, dan lutein dalam jaringan otot, kulit, dan sirip ikan; diperoleh kadar karotenoid terbesar (13,06 mg kg⁻¹) yaitu pada sampel jaringan

sirip ikan yang diberi pakan uji jenis AS-260, sedangkan beberapa karotenoid tidak terdeteksi (*not detected*) pada jaringan otot, kulit, dan sirip dengan pakan uji CS-130, CS-260, LS-130, dan LS-260.

DAFTAR ACUAN

- Allen, G.R. (1991). Field guide to freshwater fishes of New Guinea. Publication No. 9 of the Christensen Research Institute. Papua New Guinea, 268 pp.
- Chatzifotis, S., Pavlidis, M., Jimeno, C.D., Vardanis, G., Sterioti, A., & Divanach, P. (2005). The effect of different carotenoid sources on skin coloration of cultured red porgy *Pagrus pagrus*. *Aquaculture Research*, 36(15), 1517-1525.
- Guillou, A., Choubert, G., & De la Nolle, J. (1993). Separation and determination of carotenoids, retinol, retinal, and their dehydro forms by Isocratic reversed-phase HPLC. *Food Chemistry*, 47(6), 93-99.

Kadariusman, Pouyaud, L., Slembrouck, J., & Sudarto. (2007). Studi pendahuluan diversitas jenis, habitat, domestikasi dan konservasi ex-situ ikan rainbow, *Melanotaenia* di Kawasan Vogelkop Papua. Tidak dipublikasikan, IRD Indonesia, Akademi Perikanan Sorong dan Badan Riset Kelautan dan Perikanan, Departemen Kelautan dan Perikanan.

Rahman, M.M., Khosravi, S., Chang, K.H., & Lee, S.M. (2016). Effects of dietary inclusion of astaxanthin on growth, muscle pigmentation and antioxidant capacity of juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Preventive Nutrition of Food Science*, 21, 281-288.