

Penentuan Komposisi Asam Lemak pada Minyak Ikan Patin

Determination of Fatty Acid Composition in Iridescent Shark Fish Oil

Maruba Pandiangan

Prodi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Katolik Santo Thomas, Medan
email:maruba.pandiangan@gmail.com

ABSTRACT

The research method is descriptive which aims to determine the glyceride profile and identification of the fatty acid composition of iridescent shark oil. Iridescent shark oil is obtained using a dry rendering process. Analysis of the fatty acid composition by gas chromatography (GC) was previously esterified using BF₃. The total saturated fatty acids were 49.344%, the total unsaturated fatty acids were 54.524% consisting of 39.101% MUFA and 15.423% PUFA. Omega 3 fatty acids were found consisting of linolenic acid, eicosatrienoic acid, eicosapentanoic acid (EPA) and docosahexanoic acid (DHA) and omega 6 consisting of linoleic acid, γ -linolenic acid, and omega 9, namely oleic acid and eicoceneic acid.. The ratio of omega 3 and omega 6 in iridescent shark oil is still within the range of the recommended comparison requirements. Judging from the fatty acid composition of iridescent shark oil contains omega 3 and omega 6 fatty acids, so it is very good for consumption to improve human health

Key words: *iridescent shark fish oil, fatty acids, omega 3 and 6*

ABSTRAK

Metode penelitian adalah deskriptif yang bertujuan untuk mengetahui profil gliserida dan identifikasi komposisi asam lemak pada minyak ikan patin. Minyak ikan patin diperoleh menggunakan proses rendering kering (dry rendering). Analisis komposisi asam lemak dengan kromatografi gas (GC) sebelumnya diesterifikasi menggunakan BF₃. Total asam lemak jenuh sebesar 49,344%, total asam lemak tak jenuh sebesar 54,524% yang terdiri dari MUFA sebesar 39,101% dan PUFA sebesar 15,423%. Ditemukan asam lemak omega 3 yang terdiri dari asam linolenat, asam eikosatrienoat, asam eikosapentanoat (EPA) dan asam dokosaheksanoat (DHA) dan omega 6 terdiri dari asam linoleat, asam γ -linolenat, dan omega 9 yaitu asam oleat dan asam eikosenoat. Perbandingan omega 3 dan omega 6 pada minyak ikan patin masih dalam rentang syarat perbandingan yang dianjurkan. Dilihat dari komposisi asam lemak minyak ikan patin mengandung asam lemak omega 3 dan omega 6, sehingga sangat baik dikonsumsi untuk meningkatkan kesehatan manusia

Kata kunci: minyak ikan patin, asam lemak, omega 3 dan 6

PENDAHULUAN

Minyak ikan merupakan sumber yang kaya asam lemak tak jenuh jamak (PUFA) omega 3 dan 6 yang memberi manfaat kesehatan dengan efek kardiovaskular yang terbukti menguntungkan (Simopoulos, 2016; Peltoma, *et al.*, 2018). Asam-asam lemak alami yang termasuk asam lemak omega 3 adalah asam linolenat (C18:3n-3), asam eikosapentaenoat (EPA; C20:5n-3),

asam dokosaheksaenoat (DHA; C22:6n-3), sedangkan untuk omega 6 adalah asam linoleat (C18:2n-6) dan asam arakhidonat (ARA; C20:4n-6). Kedua asam lemak EPA dan DHA adalah asam lemak utama untuk efek fungsional minyak ikan (Simopoulos, 2016; Peltoma, *et al.*, 2018).

Kandungan asam lemak omega-3 pada ikan tawar pada umumnya lebih rendah dibandingkan dengan ikan laut, tetapi bagaimanapun ikan air tawar dapat

digunakan sebagai sumber asam lemak tak jenuh majemuk. Komposisi lemak dan asam lemak pada ikan sangat bervariasi. Beberapa faktor yang sangat mempengaruhi hal ini antara lain species, musim, letak geografis, tingkat kematangan gonad dan ukuran dari ikan tersebut. Kandungan lemak dan komposisi asam lemak pada ikan dipengaruhi oleh species ikan dan musim sewaktu dipanen (Hossain, 2011; Strobel, *et al.*, 2012; Twining, *et al.*, 2016).

Ikan patin (*Pangasius* sp.) adalah salah satu komoditas ikan populer dan produksinya di Indonesia telah meningkat secara signifikan selama beberapa tahun terakhir, yaitu pada tahun 2015 produksinya meningkat sebesar 11, 53% menjadi 80 ribu ton pada tahun 2015. Ikan patin adalah salah satu ikan air tawar yang sangat populer dikonsumsi di seluruh dunia (Girsang, *et al.*, 2020)

Salah satu jenis varietas ikan patin lokal yang telah menjadi komoditas ekspor hasil perikanan adalah ikan patin jambal (*Pangasius djambal*). Ikan patin mempunyai potensi dalam pemanfaatan minyaknya sebagai sumber asam lemak tak jenuh omega 3 dan dalam peningkatan pemenuhan kebutuhan pangan dan gizi masyarakat. Potensi ini terlihat dari analisis kandungan gizi ikan ini yaitu mengandung 16,08% protein, kandungan lemak sekitar 5,75%, karbohidrat 1,5%, abu 0,97% dan air 75,7%. Jika dibandingkan dengan kadar lemak ikan air tawar lain seperti ikan gabus dan ikan mas yaitu 4,0% dan 2,9%, ikan patin memiliki kadar lemak yang lebih tinggi (Suseno, *et al.*, 2020).

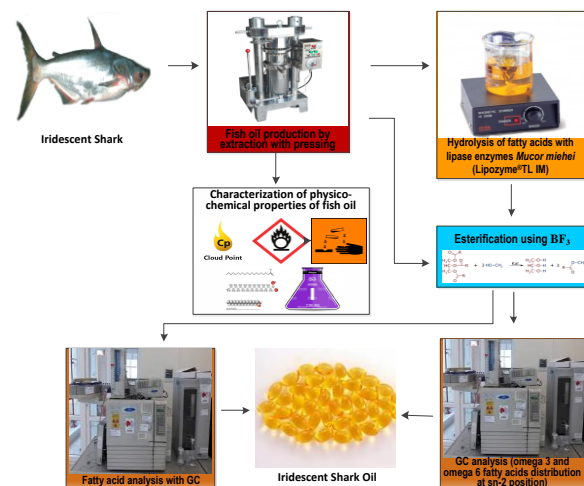
METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah ikan patin yang diperoleh dari pasar Kota Medan. Reagensia untuk uji komposisi asam lemak adalah NaOH 0,5N, metanol, BF₃, NaCl jenuh, n Heksan, dan Na₂SO₄ anhidrat. Bahan untuk uji fisiko-kimia diantaranya pelarut asam asetat-kloroform, KI jenuh, akuades, indikator pati 1%, sodium tiosulfat

0,01N, KOH 0,5 N, HCl 0,5 N, indikator pp, KOH 0,1 N, etanol 95%, kloroform, reagen iodium-bromida, KI 15%, natrium tiosulfat 0,1 N.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian adalah oven vakum, hidraulik press, corong pisah, sentrifuse, oven, kertas saring *whatman* 42, timbangan digital, penangas air, rotary evaporator, alat-alat gelas dan kromatografi gas merek Shimadzu QP 2010 ULTRA dengan detektor FID. Kolom yang digunakan adalah DB-23, panjang 30 meter, suhu kolom 40⁰-250⁰C, laju kenaikan suhu 20⁰C/menit, suhu detektor 260⁰C, gas pembawa nitrogen, laju kolom 0,72 ml/menit, laju alir 37,7ml/menit (Zhang, *et al.*, 2018).

Penelitian ini terdiri dari 5 tahap yaitu: 1. Pembuatan minyak ikan, 2. Karakterisasi sifat fisika kimia minyak ikan, 3. Esterifikasi asam lemak, 4. Analisis asam lemak dengan GC, 5. Penentuan perbandingan omega 3 dengan 6. Diagram alir metode penelitian seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram alir metode penelitian

Minyak ikan diperoleh dengan cara metode rendering kering. Sebanyak 500 g fillet daging ikan dicuci hingga bersih lalu dipotong dadu kecil kemudian dikeringkan dalam oven vakum selama 3 jam pada suhu 70⁰C, kemudian dipress diambil minyak ikannya. Minyak ikan yang diperoleh dari

pengeringan oven dan pengepresan selanjutnya dicampur. Minyak ikan yang telah dicampur selanjutnya ditambah NaCl 2,5%, lalu dipanaskan pada suhu 50 °C. Selanjutnya dipisahkan dengan corong pisah dan diambil minyaknya. Kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm selama 20 menit. Selanjutnya minyak ikan yang diperoleh dikarakterisasi sifat fisika kimia, dan komposisi asam lemak (Ivanov dan Blumberga, 2017).

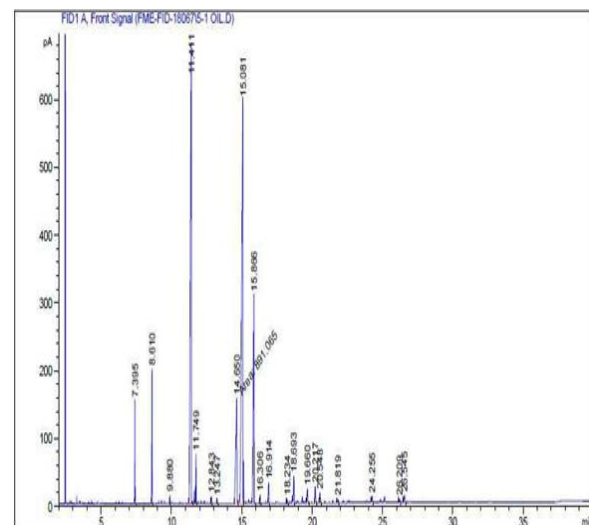
Minyak ditimbang sebanyak 25 mg di dalam tabung reaksi bertutup ditambahkan 1 ml larutan NaOH 0,5 N (dalam methanol), lalu dikocok selama 1 menit. Tabung ditutup rapat dan dipanaskan di dalam penangas air 100 °C selama 5 menit, kemudian didinginkan hingga suhu berkisar antara 30-40 °C. Ditambahkan 1 ml BF₃ dan tutup rapat kembali tabung, lalu dipanaskan di dalam penangas air 100 °C selama 5 menit. Kemudian didinginkan hingga suhu 30-40 °C lalu ditambahkan 1 ml n-heksan dan dikocok kuat selama 30 detik. Ditambahkan 2 ml larutan NaCl jenuh sehingga terbentuk dua lapisan yaitu air dan lapisan n-heksan. Lapisan n-heksan yang terbentuk dipisahkan sehingga yang tersisa hanya lapisan air. Lapisan air diekstraksi kembali dengan 1 ml n-heksan. Lapisan n-heksan yang terbentuk diambil dan disatukan dengan lapisan n-heksan yang pertama. Ekstrak n-heksan ditambahkan 50 mg Na₂SO₄ anhidrat dan biarkan selama 15 menit, selanjutnya dievaporasi. Fase cair bebas air diinjeksikan sebanyak 1 µL untuk dianalisis dengan menggunakan alat kromatografi gas (Senarath. Pengujian sifat fisika: titik keruh, pengujian sifat kimia: bilangan peroksida, bilangan penyabunan, kadar asam lemak bebas, bilangan iodium (AOAC, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis jenis dan kuantitas asam lemak yang terkandung dalam ekstrak minyak ikan dilakukan dengan GC. Analisa menggunakan GC melalui dua tahap. Asam lemak harus diesterkan terlebih dahulu

menjadi metil ester asam lemak agar lebih mudah menjadi gas karena titik uap ester rendah. Setelah itu dipisahkan dalam GC akan diperoleh kromatogram yang menunjukkan banyaknya senyawa yang terkandung dalam minyak dan kelimpahan senyawa- senyawa tersebut dalam bentuk presentase area.

Kromatogram minyak ikan patin dapat dilihat pada Gambar 2, komposisi asam lemak yang terkandung dalam minyak ikan patin dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 2. Kromatogram minyak ikan patin

Berdasarkan Gambar 2 serta Tabel 1, data yang diperoleh dari analisis GC diketahui bahwa asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh memiliki perbedaan yang cukup jauh, kandungan asam lemak jenuh adalah 49,344%, sedangkan kandungan asam lemak tak jenuh adalah 54,524 % yang terdiri dari asam lemak tak jenuh tunggal (MUFA) 39,101% dan asam lemak tak jenuh jamak (PUFA) 15,423%. Dari data ini dapat diambil kesimpulan bahwa komponen terbesar pada minyak ikan patin adalah asam lemak tak jenuh dengan persentasi MUFA yang lebih tinggi dibandingkan dengan PUFA. Hal ini sesuai dengan pendapat bahwa pada minyak ikan komponen asam lemak yang lebih tinggi adalah asam lemak tak jenuh MUFA dan

PUFA dibandingkan asam lemak jenuh (Tilami, *et al.*, 2018; Le, *et al.*, 2019).

Kandungan asam lemak jenuh yang banyak terkandung adalah asam palmitat (C:16-0) sebesar 33,340%. Asam lemak tak jenuh C:18-3 (asam linolenat), C:20-3 (asam eikosatrienoat), C:20-5 (EPA), C:22-6 (DHA) merupakan omega 3, asam lemak tak jenuh C:18-2 (asam linoleat), C:18-3 (asam γ -linolenat) merupakan omega 6, dan asam lemak tak jenuh C:18-1 (asam oleat), C:20-1 (asam eikosenoat) merupakan omega 9. Asam lemak omega 3 sebesar 2,554% yang terdiri dari asam linolenat 0,828%, asam eikosatrienoat 0,617%, EPA 0,556%, DHA 0,553%. Asam lemak omega 6 sebesar 12,083% yang terdiri dari asam linoleat 11,580% dan asam γ -linolenat 0,503%. Asam lemak omega 9 sebesar 36,979% yang terdiri dari asam oleat 35,810% dan asam eikosenoat.

Kandungan asam lemak jenuh yang banyak terkandung adalah asam palmitat (C:16-0) sebesar 33,340%. Asam lemak tak jenuh C:18-3 (asam linolenat), C:20-3 (asam eikosatrienoat), C:20-5 (EPA), C:22-6 (DHA) merupakan omega 3, asam lemak tak jenuh C:18-2 (asam linoleat), C:18-3 (asam γ -linolenat) merupakan omega 6, dan asam lemak tak jenuh C:18-1 (asam oleat), C:20-1 (asam eikosenoat) merupakan omega 9.

Asam lemak omega 3 sebesar 2,554% yang terdiri dari asam linolenat 0,828%, asam eikosatrienoat 0,617%, EPA 0,556%, DHA 0,553%. Asam lemak omega 6 sebesar 12,083% yang terdiri dari asam linoleat 11,580% dan asam γ -linolenat 0,503%. Asam lemak omega 9 sebesar 36,979% yang terdiri dari asam oleat 35,810% dan asam eikosenoat 1,169%.

Berdasarkan data dapat disimpulkan bahwa kandungan asam lemak omega 9 pada minyak ikan patin lebih tinggi dibandingkan dengan asam lemak omega 3 dan omega 6. Hal ini sesuai dengan pernyataan bahwa pada minyak ikan diketahui kandungan omega 9 lebih besar dibandingkan dengan omega 6 dan 3 (Demir dan Sarogoz, 2019).

Tabel 1. Komposisi asam lemak yang terkandung dalam minyak ikan patin dengan gas chromatography

Asam Lemak		Jumlah (%)
Asam Lemak Jenuh (SFA)		
Asam Miristat	C:14-0	4,373
Asam Pentaodekanoat	C:15-0	0,464
Asam Palmitat	C:16-0	33,340
Asam Heptadekanoat	C:17-0	0,558
Asam Stearat	C:18-0	8,809
Asam Arakidat	C:20-0	0,509
Asam Heneikosanoat	C:21-0	0,800
Asam Lignosenat	C:24-0	0,491
Σ SFA		49,344
Asam lemak tak jenuh tunggal (MUFA)		
Asam Palmitoleat	C:16-1	1,599
Asam Cis-10-Heptadekanoat	C:17-1	0,523
Asam Oleat ^{W-9}	C:18-1	35,810
Asam Eikosenoat ^{W-9}	C:20-1	1,169
Σ MUFA		39,101
Asam lemak tak jenuh jamak (PUFA)		
Asam Linoleat ^{W-6}	C:18-2	11,580
Asam γ -Linolenat ^{W-6}	C:18-3	0,503
Asam Linolenat ^{W-3}	C:18-3	0,828
Asam Eikosadienoat	C:20-2	0,786
Asam Eikosatrienoat ^{W-3}	C:20-3	0,617
Asam Eikosaheksaenoat ^{W-3}	C:20-5	0,556
Asam Dokosaheksaenoat ^{W-3}	C:22-6	0,553
Σ PUFA		15,423
Σ USFA (MUFA+PUFA)		54,524

Perbandingan asam lemak omega 3 dan omega 6 dari minyak ikan patin yang diperoleh dari analisis dengan kromatografi gas disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Rasio/perbandingan asam lemak omega 3 dan omega 6

Sampel	Σ Omega 3	Σ Omega 6	Perbandingan (ω -3/ ω -6)
Minyak Ikan Patin	2,554 %	12,083 %	(1:4,7)

Dari Tabel 2 dapat dilihat perbandingan omega 3 dan omega 6 yaitu (1:4,7). Untuk mempertahankan status asam lemak tak jenuh rantai panjang yang sehat dianjurkan perbandingan antara omega 3 dan

omega 6 adalah (1:1) atau setidaknya (2:1) yang merupakan rasio optimal. Asupan yang berlebihan dari omega 3 dapat menimbulkan efek yang tidak baik terhadap aktivitas enzimatis dan efek terhadap permeabilitas membran. Asupan omega 6 yang berlebihan jika melebihi perbandingan (n-6:n-3) yaitu (20:1) dapat memicu patogenesis dari inflamptini, meningkatkan resiko terkena kanker, kerusakan penglihatan, autoimun juga penyakit neurodegeneratif. Perbandingan omega 3 dan omega 6 pada minyak ikan patin masih dalam rentang syarat perbandingan sehingga masih memenuhi persyaratan (Wang dan Daggy, 2017).

Sifat fisika dan kimia minyak ikan patin dianalisa dengan penentuan titik keruh, total padatan, bilangan peroksida, bilangan penyabunan, kadar asam lemak bebas, bilangan jodium yang disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Sifat fisika dan kimia minyak ikan patin

Karakteristik	Satuan	Jumlah
Sifat Fisika		
Titik Keruh	°C	34,50
Total Padatan	°Brix	52,00
Sifat Kimia		
Bilangan Peroksida	meq/kg	10,40
Bilangan Penyabunan	mg KOH/g	108,84
Kadar Asam Lemak	%	4,70
Bilangan Iodium	mg/100g	17,87

Pengujian titik keruh ini dilakukan untuk mengetahui adanya pengotoran oleh bahan asing atau pencampuran minyak. Total padatan untuk mengetahui kejernihan dan kemurnian minyak yang diperoleh. Dari nilai titik keruh dan total padatan menunjukkan minyak ikan patin masih belum murni.

Tabel 3 memperlihatkan bahwa angka peroksida dari hasil rata-rata sampel minyak ikan patin yang diuji adalah 10,40 meq/kg. Hal ini menunjukkan bahwa angka peroksida dari minyak ikan patin belum memenuhi

persyaratan standar peroksida pada minyak ikan maksimal 5,0 meq/kg. Angka peroksida memperlihatkan tingkat kerusakan dari suatu minyak ikan, dimana semakin besar angka peroksida maka kualitas minyak ikan semakin rendah (Mason dan Sherratt, 2017).

Bilangan penyabunan minyak ikan patin adalah 108,84 mg KOH/g, menunjukkan lebih rendah dibandingkan standar SNI yaitu 196-200 mg KOH/g. Rendahnya nilai penyabunan menunjukkan bahwa asam lemak yang rantainya panjang dalam minyak rendah sehingga mempunyai berat molekul besar dan angka penyabunan yang kecil (CAC, 2017).

Berdasarkan Tabel 3 diperoleh kadar asam lemak bebas 4,70 mg KOH/g, lebih besar dari standar angka asam menurut BPOM yaitu 0,6 – 1,0 mg KOH/g. Semakin besar angka asam maka kualitas minyak akan semakin rendah. Bilangan iodium minyak ikan patin yaitu 17,87 mg/100g yang menunjukkan nilai lebih rendah dibandingkan standar bilangan iodium menurut SNI 04-7182-2006 yaitu sebesar 45 - 46 mg/100g. Maka dapat disimpulkan bahwa bilangan iodium yang rendah menunjukkan bahwa minyak tersebut mengandung asam lemak tak jenuh yang rendah (Haile, *et al.*, 2019).

KESIMPULAN

Hasil analisis komposisi asam lemak minyak ikan patin menunjukkan bahwa total asam lemak tak jenuh (MUFA dan PUFA) lebih besar dari total asam lemak jenuh. Asam lemak omega 3 sebesar 2,554% yang terdiri dari asam linolenat 0,828%, asam eikosatrienoat 0,617%, EPA 0,556%, DHA 0,553%. Asam lemak omega 6 sebesar 12,083% yang terdiri dari asam linoleat 11,580% dan asam γ -linolenat 0,503%. Perbandingan omega 3 dan omega 6 pada minyak ikan patin masih dalam rentang syarat perbandingan yang dianjurkan sehingga masih memenuhi persyaratan. Dilihat dari kandungan asam lemak minyak ikan patin mengandung asam lemak omega 3

dan omega 6 dengan perbandingan dalam batas yang dianjurkan, sehingga sangat baik dikonsumsi untuk meningkatkan kesehatan manusia.

DAFTAR PUSTAKA

- Akerele, O. A dan Cheema, S. K. 2016. A balance of omega-3 and omega-6 polyunsaturated fatty acids is important in pregnancy. *Journal of Nutrition & Intermediary Metabolism*, Vol 5.23-33.
- Association of Official Analytical Chemists. 2016. Rockville, MD 20850-3250 USA.
- Codex Alimentarius Commission. 2017 *Standard for Fish Oil CXS 329-2017*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, WHO Roma Italy.
- Girsang, V, Reveny, J., and Nainggolan, M. 2020 Isolation And Characterization Collagen Of Patin Fish Skin (*Pangasius sp.*), *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. Vol. 8(1): 47-51.
- Haile M, Duguma, H. T, Chameno, G., and Kuyu, C. G. 2019. Effects of Location and Extraction Solvent on Physico Chemical Properties of Moringa Stenopetala Seed Oil. *Heliyon*, Vol. 5. e02781.
- Hossain, M. A. 2011. Fish as source of n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFAs) which one is better-farmed or wild. *Advance Journal of Food Science and Technology*. Vol. 3(6): 455-466.
- Ivanovs, K., dan Blumberga, D. 2017. Extraction of fish oil using green extraction methods: a short review *Energy Procedia* 128 . 477-483
- Le, H. V., Nguyen, D. V., Nguyen, Q. V., Malau-Aduli, B. S., Nichols, P. D dan Malau-Aduli, A.E.O. 2019. Fatty acid profiles of muscle, liver, heart and kidney of Australian prime lambs fed diferent polyunsaturated fatty acids enriched pellets in a feedlot system. *Scientific Reports*. 9:1238
- Mason, R. P dan Sherratt, S.C.R. 2017 Omega-3 Fatty Acid Fish Oil Dietary Supplements Contain Saturated Fats and Oxidized Lipids That May Interfere with Their Intended Biological Benefits. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 483.425-429
- Peltoma E, Johnson, M. D., dan Taipale, S. J. 2018. Marine cryptophytes are great sources of EPA and DHA. *Marine Drugs* 16, 3: 1-11
- Pereira, F. E., Medeiros, X. G., Rocha, H. A. L., dan Silva, K. S. 2019. Effects of Omega-6/3 and Omega-9/6 Nutraceuticals on Pain and Fertility in Peritoneal Endometriosis in Rats. *Acta Cir Bras*. 34 (4).
- Senarath, S., Yoshinaga, K., Nagai, T., Yoshida, A., Beppu, F., Jayasinghe, C., Devadawson, C., dan Gotoh, N. 2017 Quantitative Analysis of The Distribution of Cis-Eicosenoic Acid Positional Isomers in Marine Fishes from The Indian Ocean. *J. Oleo Sci*. Vol. 66 (2), 187-197.
- Simopoulos, A. P. 2016. An increase in the omega-6/omega-3 fatty acid ratio increases the risk for obesity. *Nutrients*, 8, 128: 1-17.
- Suryaningrum, T. D. dan Syamdidi. 2013. Quality changes of boiled salted carp fish (*Cyprinus carpio*) using steaming and boiling methods, during chilling storage. *Squalen Bulletin of Marine & Fisheries Postharvest & Biotechnology*. Vol. 8(2). 77-86.
- Suseno, S. H., Rizkon, A. K., Jacob, A M., Nurjanah, dan Supinah, P. 2020 Ekstraksi Dry Rendering dan Karakterisasi Minyak Ikan Patin (*Pangasius sp.*) Hasil Samping Industri Filet di Lampung. *JPHPI* Vol. 23 (1), 38-46.
- Tilami, S. K., Sampels, S., Zajíc, T., Krejsa, J., Másílko, J., and Mráz, J. 2018. Nutritional Value of Several Commercially Important River Fish Species from the Czech Republic. *Peer J* 6:e5729; DOI 10.7717/peerj.5729

- Twining, C. W, Brenna, J. T., Lawrence P., Shipley, J.R., Tollefson, T. N., dan Winkler, D. W. 2016. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids support aerial insectivore performance more than food quantity. *PNAS*, Vol. 113 (39): 10920-10925.
- Wang, H., dan Daggy, B. P. 2017. The Role of Fish Oil in Inflammatory Eye Diseases. *Biomed. Hub.* 2:455818
- Zhang, H., Shen, Y., Zhang, Y., Li, L., dan Wang, X. 2018 Regiospecific analysis of fatty acids and calculation of triglyceride molecular species in marine fish oils . *BioMed Research International*, Vol. 7.