Jurnal Matematika dan Pengetahuan Alam
Vol. 3, No. 1, Th. 1994 ISSN : 0853 - 0033

PENGARUH IRRADIASI TERHADAP PERUBAHAN PROTEIN DARI IKAN TONGKOL SEGAR

Amri Napis, Armaini
Staf Pengajar Jurusan Kimia FMIPA Unand

ABSTRACT

Cobalt-60 irradiation with doses 3 and 6 KGy (0,3 and 0,6 Mrad) on fresh fish of *Eutynnus sp.* can decrease the amino acid content up to 26.42 % and 82 %, respectively. The decrease of the amino acids is caused by deamination reaction, carboxylation and hydrolysis of the proteins.

The effects of this irradiation couses the decrease of amino acid histidine, arginin, asparagine, threonin, serin, glutamic, glycine, alanine, valine and leucine on 3 and 6 KGy doses and the increase amino acids, lysine, proline, methionine, isoleucine and thyrosine, this happents at dose of 3 KGY which later decrease to dose of 6 KGy.

PENDAHULUAN

Setiap tahun, beberapa juta ton ikan dan kerang-kerangan ditangkap secara komersial untuk dikonsumsi masyarakat Indonesia, tetapi hanya sepertiganya saja yang dapat dimanfaatkan. Dari seluruh tangkapan ikan tersebut, penanganannya belum memadai. Sentuhan teknologi pengolahan ikan masih sangat terbatas, banyak diantaranya mengalami kerusakan dan dibuang tidak termanfaatkan.

Ikan yang merupakan bagian yang tidak terpisahkan dari menu makanan kita sehari-hari, karena ikan disamping harganya lebih murah dibandingkan sumber protein lainnya dan juga mempunyai kandungan gizi yang cukup lengkap. Menurut Suzuki *et al* (1981) dan Jhaveri *et al* (1984), komposisi nilai gizi ikan sangat bervariasi satu sama lainnya hal ini berdasarkan jenis, species, jenis kelamin, umur, bagian tubuh makanan dan kematangan gonad. Variasi nilai gizi antarspecies lebih besar dibandingkan interspecies (Novax *et al*, 1977).

Protein ikan memiliki nilai gizi yang tinggi dapat digunakan sebagai pengganti daging ternak, dengan besar potongan yang sama, kandungan protein ikan kira-kira sama dengan daging ternak. Demikian halnya dengan minyak dan lemak ikan sebagian besar terdiri dari minyak tidak jenuh atau minyak esensial yang sangat dibutuhkan oleh tubuh manusia. Protein ikan terdiri dari berbagai asam amino yang mengandung senyawa tiol, asam amino aromatis dan asam amino alifatis (Sofyan, 1984). Ikan segar mengandung protein sekitar 14-20 % (Zaitsev, 1969). Berdasarkan kelarutannya protein ikan yang dapat larut air adalah protamin. Protamin merupakan protein yang paling sederhana dibandingkan protein lain tetapi lebih komplek dibandingkan pepton dan peptida. Zaitsev *et al* (1969) mengemukakan bahwa protein yang larut dalam air pada ikan mentah rata-rata 3,3 % yang dihitung berdasarkan 16 % nitrogen.

Kandungan vitamin dalam ikan sangat bervariasi tergantung pada kandungan lemaknya, ikan dengan kadar lemak tinggi merupakan sumber vitamin A yang baik, telur ikan merupakan sumber vitamin B_1 dan vitamin B_2. Hampir semua ikan merupakan sumber vitamin B_1 dan vitamin B_2 dan niacin. Ikan merupakan sumber mineral kalsium, fosfor dan besi. Daging ikan laut maupun ikan air tawar sangat rendah kandungan natriumnya, pada umumnya merupakan sumber iodium dan flour yang lebih tinggi dari pada sumber makanan lain (Gordon, 1987; Sikorski *et al*, 1990).

Semua nilai gizi dari ikan ini akan dapat diperoleh dari ikan masih segar dan bermutu baik sebelum diolah menjadi makanan untuk dikonsumsi, tetapi nilai gizinya akan turun bila ikan tersebut telah mengalami kerusakan yang dapat menurunkan indek kesegaran dan mutu ikan tersebut sebelum ikan tersebut diolah untuk dikonsumsi.

Kerusakan pada ikan dapat disebabkan oleh kerusakan fisik, mekanik, kimiawi, enzimatis, mikrobiologis dan biologis. Untuk menghindari kerusakan ini perlu dilakukan penanganan yang lebih baik, dapat berupa penanganan pada waktu penangkapan dan penyimpanan. Agar penyimpanan dapat berlangsung lama maka diperlukan suatu teknologi pengawetan. Untuk pengawetan ikan dalam bentuk segar atau tanpa pengolahan salah satu cara yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan teknologi nuklir yaitu menggunakan sistim irradiasi. Irradiasi ini dapat menghambat kerusakan enzimatis, kimiawi, mikrobiologis dan biologis.

Irradiasi untuk tujuan pengawetan pangan biasanya paling banyak menggunakan sinar gamma karena daya penetrasinya tinggi. Sebagai sumber sinar gamma umumnya digunakan Cobalt-60 dan Cesium-137 (Jhonson dan Peterson, 1974). Irradiasi pada pengawetam ikan segar adalah untuk memperpanjang masa simpan tanpa mengalami kehilangan yang nyata akan sifat kualitasnya (Desrosier, 1988). Untuk mempertahankan kesegaran, dosis yang digunakan adalah 1-5 KGy (0,1-0,5 Mrad) yaitu dosis yang bertujuan untuk pasteurisasi. Apabila dosis ini dikombinasikan dengan penyimpanan suhu rendah (0 - 5^{O}C), maka akan diperoleh berbagai keuntungan ditinjau dari segi mutu , waktu simpan dan perlindungan terhadap kesehatan konsumen (Sofyan, 1984).

Penggunaan irradiasi untuk memperpanjang masa simpan ikan segar tidak menutup kemungkinan akan mempengaruhi komponen kimia terutama protein ikan. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Jhonson dan Moser (1975) pemakaian dosis 2 sampai 5 Mrad (20 sampai 50 KGy) akan mengakibatkan perubahan terhadap protein ikan yang meliputi reaksi oksidasi deaminasi, reaksi reduksi deaminasi dan reaksi dekarboksilasi, dari penelitian tersebut terlihat bahwa dosis yang dipergunakan cukup tinggi.

Pada penelitian ini digunakan dosis yang rendah yaitu 0,3 dan 0,6 Mrad (3 dan 6 KGy), tetapi telah dapat membunuh mikrobial pembusuk dan menginaktifkan enzim yang terdapat pada ikan dan akan dilakukan pengamatan sejauh mana perubahan yang dialami oleh protein ikan segar akibat irradiasi pada dosis rendah ini.

BAHAN DAN METODA

BAHAN

Ikan tongkol sebagai sampel yang diberi perlakuan sebagai berikut; ikan tongkol tanpa radiasi sebagai kontrol dan ikan tongkol yang diradiasi dengan dosis 3 KGy dan 6 KGy. Perlakuan terhadap ikan tongkol segar sebelum di irradiasi sebagai berikut: Ikan tongkol segar dengan besar atau berat yang sama dikeluarkan isi perutnya, dipotong kepala, ekor, siripnya, dan dicuci bersih, kemudian dikemas dengan membungkusnya dengan kantong plastik. Ikan di irradiasi dengan sinar Cobalt-60 dosis 3 KGy dan 6

KGy dengan waktu 1 menit. Irradiasi dilakukan di BATAN Pasar Jumat Jakarta.

Bahan kimia yang dipergunakan untuk (1) Kromatografi kolom Sphadex adalah sebagai berikut: Sphadex G-50, buffer fosfat, blue dextran, riboflavin dan gliserin (2) Amino acid analizer dibutuhkan : dray ice, aseton, HCl 6 N, n-octyl-alkohol, NaOH, nihinrin, Na-sitrat, K-sitrat, n-caprylic acid, tio-diglikol, poli-oksietilen lauril alkohol, metanol, methyl cellosolve, Sn Cl_2 $2H_2O$, asam asetat glasial.

Peralatan yang dipergunakan adalah; kromatografi kolom, Fraction collector SF-100, Amino acid analizer, Spectrofotometer UV, Spray drayer, Rotary evaporator, Centrifuge, blender, pH meter, pompa vakum dan alat gelas kimia.

METODA

Kolom Kromatografi dan Fraction Collector

Persiapan sampel.

Sampel (ikan tongkol) sebanyak 50 g ditambah 50 ml air destilata dihancurkan dengan blender sampai menjadi bubur. Bubur ikan ini disentrifus dengan kecepatan 3500 rpm selama 2 menit dan kemudian dengan kecepatan yang sama selama 15 menit. Supernatannya diambil, untuk memekatkan dilakukan spray drying sampai hampir kering (kurang dari 5 ml), dicatat volumenya.

Diambil 2 ml supernatan ditambahkan 0,5 ml blue dextran 2,5 % dan 0,5 ml riboflavin 0,5 % aduk sampai rata diperoleh warna campuran hijau. Kemudian diambil 2 ml diinjeksikan kedalam kolom sphadex.

Persiapan Kolom Sphadek

Sphadex G-50 sebanyak 20 g direndam dalam air destilata 500 ml selama 1 malam, kemudian air rendaman dibuang diganti perlahan- lahan dengan buffer fosfat pH 6,8 sambil diaduk perlahan-lahan sampai diperkirakan semua air destilata telah tergantikan oleh buffer. Disiapkan kolom kemudian diisi dengan buffer fosfat pH 6,8 kira-kira 1/4 bagian dari

tinggi kolom, dimasukkan bubur sphadex yang telah mengembang dalam keadaan terendam oleh buffer secara perlahan-lahan sambil terus diaduk agar pengendapan sphadex merata secara perlahan-lahan sampai diperkirakan sphadex terisi 4/5 bagian dari tinggi kolom. Setelah semua dimasukkan, buffer harus selalu terisi penuh untuk menghindari adanya gelembung udara dan sphadex tidak boleh sampai kering. Setelah kolom terbentuk letakkan penyaring sampel secara perlahan-lahan tepat diatas kolom. Kemudian kolom dielusi dengan buffer fosfat pH 6,8 sampai kolom yang terbentuk menjadi padat dan merata, dibutuhkan waktu 2 sampai 3 jam.

Fraksinasi Sampel

Sebanyak 2 ml sampel diinjeksikan kedalam kolom sphadex dibagian dasar tempat penyaringan sampel dengan kran kolom dalam posisi tertutup, setelah itu baru kran dibuka dan diatur jumlah tetesan/menit yaitu 20 tetesan/menit. Ditunggu sampai semua sampel merembes kekolom sphadex lalu ditambahlan buffer sampai kolom terisi penuh kemudian dipasangkan slang yang menghubungkan kolom dengan tempat buffer.

Setelah beberapa saat akan terlihat larutan mulai terpisah membentuk 3 band. Yang turun pertama kali adalah senyawa dengan BM tinggi yaitu blue dextran yang berwarna biru, kedua diperkirakan senyawa protamin dan terakhir adalah riboflavin yang berwarna kuning. Apabila blue dextran sudah turun sampai kedasar kolom sphadex pasangkan slang yang menghubungkan kolom dengan fraction collector. Kemudian atur jumlah larutan yang menetes pada tube yaitu 20 tetesan/tube atau lama tetesan/tube misalnya 2 menit/tube pada tombol pengatur.

Larutan sampel yang telah terpisahkan oleh kolom sphadex akan mengalir kefraction collector melalui slang kecil, maka setelah setiap 20 tetesan tertampung pada test tube maka akan terjadi perpindahan test tube secara otomatis.

Hasil dari fraction collector diperoleh 3 fraksi yaitu: fraksi I adalah blue dextran, fraksi II adalah protamin yang diperkirakan dan fraksi III adalh riboflavin. Hasil tampungan pada fraksi II pada test tube dikumpulkan menjadi satu, kemudian di spray drying untuk memekatkan konsentrasi.

Pengukuran Dengan Spektrofotometer UV

Fraksi II yang merupakan protamin diukur dengan spektrofotometer UV pada panjang gelombang 280 dengan menggunakan standar bovin serum albumin (BSA). Serapan dari protamin dibandingkan dengan standar untuk menghitung konsentrasi protamin.

Amino Acid Analizer
Persiapan Untuk Analisa

Kedalam ampul yang telah dipersiapkan dimasukkan 3 mg protamin yang telah diperoleh, dilarutkan dengan 1 ml HCl 6 N, kemudian dibekukan dengan menggunakan dry ice-aseton. Udara dikeluarkan dengan menggunakan pompa vakum, ampul dikeluarkan dari dry ice, pada saat campuran mencair, udara yang terlarut dalam campuran dikeluarkan dengan pompa vakum dan masukkan kembali ampul kedalam dry ice. Cara ini dapat diulang sampai udara dalam campuran keluar semua, jika udara dalam campuran masih banyak dapat ditambahkan 1 atau 2 tetes n-octyl alkohol sebagai anti bubbling. Ampul divakum kembali selama 20 menit kemudian ditutup dengan cara membakar diatas api propan-udara.

Panaskan ampul didalam oven dengan temperatur $110^{0}C + 1^{0}C$ selama 22 - 24 jam. Ampul kemudian didinginkan pada suhu kamar, potong tutupnya dan dipindahkan isinya kedalam labu evaporator (50 ml) bilas ampul dengan 2 ml HCl 0,01 N masukkan kedalam labu ulangi sampai 2 atau 3 kali, dan dikeringkan dengan menggunakan evaporator dibawah kondisi vakum. Untuk merubah sistein menjadi sistin ditambahkan 10-20 ml air kedalam contoh dan dikeringkan kembali dengan rotary evaporator. Tambahkan 10 ml HCl 0,01 N kedalam sampel yang telah dikeringkan. Sampel siap untuk dianalisa dengan Amino acid analizer.

HASIL DAN DISKUSI

Dari hasil penelitian terlihat bahwa perlakuan iradiasi terhadap ikan tongkol segar dengan dosis 3 dan 6 KGy (0,3 dan 0,6 Mrad) menunjukkan perubahan kadar asam amino dibandingkan tanpa iradiasi (kontrol).

Perubahan menunjukkan kecenderungan penurunan jumlah total protein sebanding dengan bertambahnya dosis irradiasi, seperti yang terlihat pada Tabel 1.

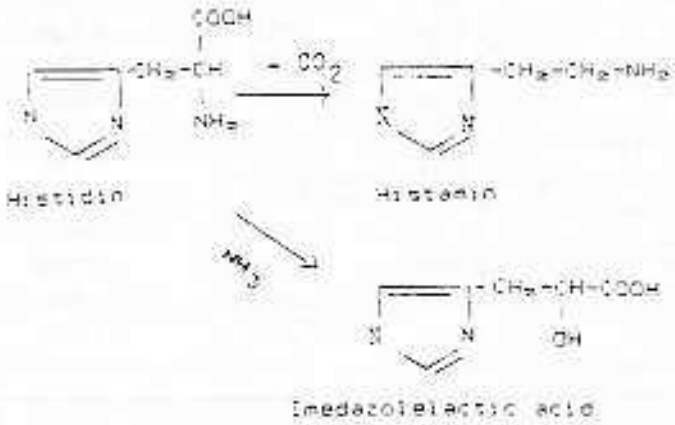
Tabel 1. Pengaruh Irradiasi pada Asam Amino Ikan Tongkol Segar (*Eutynnus sp.*)

Asam Amino	Konsentrasi (umol/ml)		
	Kontrol	3 KGy	6 KGy
Lisin	0.1534	0.1961	0.0314
Histidin	0.1540	0.1171	0.0271
Arginin	2.0345	1.0588	0.0392
Asparagin	3.9505	2.0966	0.8142
Threonin	1.5860	1.3863	0.3206
Serin	2.0780	1.3617	0.3589
Glutamat	2.7973	1.5520	0.8500
Prolin	0.6386	0.8107	0.0651
Glisin	2.9054	1.8943	0.5117
Alanin	2.9774	1.8847	0.6363
Valin	2.2595	2.2140	0.2958
Metionin	0.5787	0.7033	0.0913
Isoleusin	1.1684	1.5270	0.2040
Leusin	2.2466	1.6015	0.4502
Tirosin	0.4662	0.6708	0.0963
Phenilalanin	1.3716	1.0908	0.1106
Total Protein	27.3661	20.1357	4.9136

Penurunan total protein ikan tongkol dari 27.3661 umol/ml (kontrol) menjadi 20.1357 umol/ml pada dosis 3 KGy dalam hal ini terjadi kehilangan protein sebesar 26.42 % dan 82 % pada dosis 6 KGy, ini disebabkan terjadinya perubahan dari protein menjadi asam amino dan asam amino mengalami

reaksi-reaksi deaminasi, dekarboksilasi dan hidrolisasi (Anglemier dan Montgomery, 19776) yang terjadi diakibatkan oleh perlakuan irradiasi.

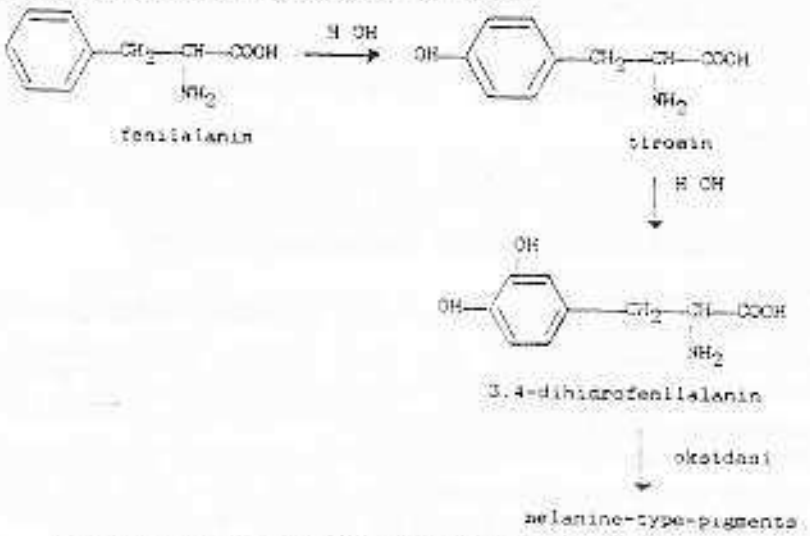
Asam amino yang mengalami penurunan dibandingkan terhadap kontrol seperti arginin, asparagin, threonin, serin, glutamat, glisin, alanin, valin dan leusin (Tabel 1.) hal ini disebabkan asam amino mengalami reaksi deaminasi membentuk amonia dan asam karboksilat, disamping itu dapat juga mengalami dekarboksilasi membentuk senyawa amin yang jumlahnya akan bertambah dengan bertambahnya dosis. Demikian halnya dengan histidin yang mengalami penurunan dari 0,1540 umol/ml (kontrol) menjadi 0,1171 umol/ml pada dosis 3 KGy dan menjadi 0,0271 umol/ml pada dosis 6 KGy hal ini disebabkan histidin mengalami reaksi deaminasi membentuk senyawa imedazole lactic acid dan mengalami reaksi dekarboksilasi membentuk histamin, dalam hal ini reaksi deaminasi lebih dominan (Gambar 1).



Gambar 1. Reaksi deaminasi dan dekarboksilasi histidin.

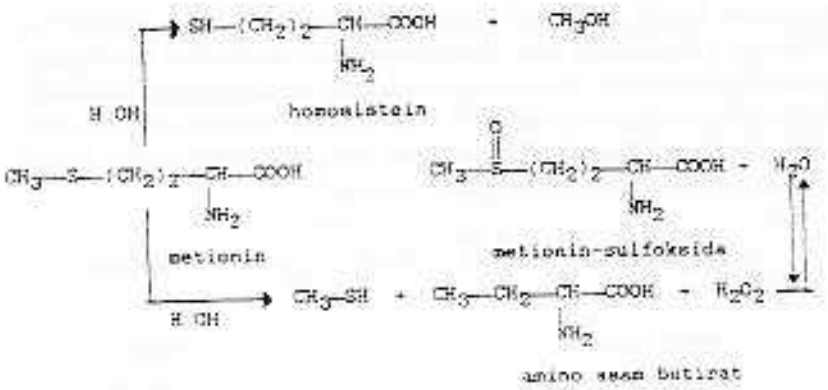
Asam amino yang mengalami reaksi hidrolisasi adalah phenilalanin dan tirosin. Phenilalanin yang mengalami reaksi hidrolisis membentuk tirosin pada dosis 3 KGy yang mengakibatkan meningkatnya jumlah tirosin yang pada mulanya 0,4662 umol/ml (kontrol) menjadi 0,6708 umol/ml, jumlah tirosin ini akan turun pada dosis 6 KGy menjadi 0,0963 umol/ml hal ini

disebabkan tirosin mengalami reaksi hidrolisasi lebih lanjut menjadi 3,4 dihidroksi phenilalanin yang selanjutnya akan teroksidasi membentuk melanin-typepigments. Perubahan phenilalanin menjadi tirosin menyebabkan jumlah phenilalanin turun dari 1.3716 umol/ml (kontrol) menjadi 1.0608 umol/ml dan pada dosis 6 KGy turun lagi menjadi 0,1106 umol/ml. Reaksi perubahan phenilalanin terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2 : Reaksi hidrolisasi phenilalanin dan tirosin.

Asam amino yang mengalami peningkatan adalah metionin, prolin, tirosin, lisin dan isoleusin, hal ini terjadi pada dosis 3 KGy dan akan menurun pada dosis 6 KGy. Peningkatan jumlah metionin dari 0,5787 umol/ml (kontrol) menjadi 0,7033 umol/ml. Metionin yang mengandung sulfur menurut Desrosier (1988) pada dosis irradiasi tertentu mengalami kenaikan, hal ini disebabkan karena gugus sulfhidril yang tadinya terurai akan bergabung kembali membentuk asam amino yaitu metionin (terlihat pada reaksi keseimbangan antara metionin dan metionin sulfoksida pada Gambar 3). Namun karena asam amino yang mengandung sulfhidril merupakan asam amino yang labil terhadap radiasi maka pada dosis yang lebih tinggi akan terjadi pemecahan yang lebih lanjut (Gambar 3), seperti yang terlihat pada hasil (Tabel 1) terjadi penurunan metionin dari 0,5787 umol/ml (kontrol) menjadi 0,0913 umol/ml pada dosis 6 KGy.



Gambar 3. Reaksi perubahan metionin karena irradiasi.

Peningkatan jumlah tirosin disebabkan perubahan phenilalanin menjadi tirosin (lihat perubahan phenilalanin karena reaksi hidrolisasi). Peningkatan jumlah prolin dari 0,6386 umol/ml (kontrol) menjadi 0,8107 umol/ml pada dosis 3 KGy, hal ini dapat disebabkan terjadinya pembentukan struktur lingkar dari asam amino alifatik lain dan disamping itu prolin adalah asam amino yang gugus-α-aminonya tidak bersifat bebas maka agak sulit untuk mengalami reaksi deaminasi pada dosis rendah, tetapi dapat mengalami reaksi deaminasi pada dosis tinggi yaitu 6 KGy ini terlihat dengan terjadinya penurunan jumlah prolin dari 0,6386 umol/ml (kontrol) menjadi 0,0651 umol/ml.

KESIMPULAN

Asam amino yang mengalami penurunan akibat irradiasi adalah histidin, arginin, asparagin, threonin, serin, glutamat, glisin, alanin, valin, leusin dan phenilalanin dimana penurunannya sebanding dengan pertambahan dosis.

Asam amino yang mengalami peningkatan pada dosis 3 KGy dan turun pada dosis 6 KGy adalah metionin, prolin, tirosin, lisin dan isoleusin.

Irradiasi yang diberikan pada ikan tongkol segar dengan dosis 3 dan 6 KGy memberikan perubahan pada total protein ikan. Penurunan total

protein pada dosis 3 KGy adalah 26.42 % dan pada dosis 6 KGy adalah 82 % . Pemberian dosis 3 KGy dapat mempertahankan kadar protein sebesar 73.58 % ini masih layak untuk dikonsumsi dan dapat memperpanjang masa simpan karena pada dosis ini telah dapat membunuh mikroba pembusuk pada ikan.

DAFTAR PUSTAKA

Andrews, P., (1964) Determination of moleculer weights of Protein by gel filtration on sephadex, *J. Biochem.*, 91:222.

Andrews, P., (1965) The gel fitration behaviour of proteins related to their molecular weighs over a wide range, *J. Biochem.*, 96:595.

Anglemier, A.T., and M.W. Monthomery, (1976) Amino acid, peptides and protein, dalam Owen R. Fennema ed. *Principles of Food Science*, Marcel Dekker, Inc., New York.

Desrosier N.W. *Food Preservation by Irradiation*, 1978 Vol. 1 & 2 International Atomic Energy Agency, Vienna.

Gordon, D.T., (1987) Mineral in seafood availability and interaction dalam D.E. Kramer ed., *Seafoods quality determination*, Elsevier, Amsterdam.

Jhonson, A.H., and M.S. Peterson, (1974) *Encyclopedia of Food Technology*, AVI Publishing Company, Inc. Westpor, Connecticut.

Laurent, T.C., and J. Killander, (1964) A Theory of gel filtration and its experimental verification, *J. Chromatography*, 14:317.

Sofyan, R., (1984) *Penganuh radurisasi terhadap berbagai sifat protein dan aktifitas enzim ikan*, Makalah Seminar.

Zaitsev, V.I. Kizevetter, L. Lagunov, T. Makarova, L. Minder, and V. Podsevalov, (1969) *Fish curing and processing*, Mir Publisher, Moskow.