

A006

PENGARUH PENAMBAHAN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) DAN PEREBUSAN TERHADAP KADAR RESIDU FORMALIN DAN PROFIL PROTEIN UDANG PUTIH (*Letapenaeus vannamei*) BERFORMALIN SERTA PEMANFAATANNYA SEBAGAI SUMBER PENDIDIKAN GIZI DAN KEAMANAN PANGAN PADA MASYARAKAT

Wiwi Wikanta¹, Yusuf Abdurrajak², Sumarno³, dan Moh. Amin²

¹⁾ Prodi Pendidikan Biologi FKIP UMSurabaya; ²⁾ Pascasarjana UM; ³⁾ Pascasarjana FK UB

Email: wi2umsby@yahoo.co.id

ABSTRACT

This research was conducted with the aim to determine the effect of the addition of cucumber tree (*Averrhoa bilimbi* L) and boiling on levels of residual formaldehyde and protein profiles of formalin-contaminated pacific white shrimp (*Letapenaeus vannamei*) and its utilization as a source of nutrition and food safety education in society. Research using experimental methods with a factorial randomized block design. The independent variable in this study is the long boiling with three levels of variation (0 minutes, R₀; 30 minutes, R₁; and 45 minutes, R₂) and the concentration of cucumber tree fruit juice with five levels of variation (0%, BW₀; 20%, BW₁; 40%, BW₂; 60%, BW₃; and 80%, BW₄). The results of this research has shown that (1) addition of cucumber tree concentration of 80% and boiling time 45 minutes (R₂BW₄) can reduce levels of residual formaldehyde pacific white shrimp highest, amounting to 99.20% of the formaldehyde levels from 1.127 g% to 0.009 g% (2) the addition of cucumber tree concentration of 80% and without boiling (R₀BW₄) can increase the protein levels of total return of pacific white shrimp with the smallest loss rate, amounting to 0.76% of protein levels from 23.205 g% to 23.028 g%; (3) addition of cucumber tree and boiling water can alter the existence of molecular weight protein bands of pacific white shrimp, (6) the addition of cucumber tree and boiling can eliminate immunogenicity properties of the BM 37.38 kDa protein of fresh pacific white shrimp (US) and formalin-contaminated pacific white shrimp (UF) in male mice (*Mus musculus*) strain BALB/C. From the results of this study can be concluded that the addition of cucumber tree and boiling significantly affect the residue levels of formaldehyde and protein profiles of formalin-contaminated pacific white hrimp. Further results of this study have been compiled in the form of popular science books as a nutrition and food safety education in society.

Key words: residual formaldehyde, protein profile, formalin-contaminated pacific white shrimp, cucumber tree, nutrition and food safety

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan perebusan terhadap kadar residu formalin dan profil protein udang putih (*Letapenaeus vannamei*) berformalin serta pemanfaatannya sebagai sumber pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat. Penelitian menggunakan metode eksperimen dengan rancangan acak kelompok faktorial. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah lama perebusan dengan tiga tingkat variasi (0 menit, R₀; 30 menit, R₁; dan 45 menit, R₂) dan konsentrasi perasan buah belimbing wuluh dengan lima tingkat variasi (0%, BW₀; 20%, BW₁; 40%, BW₂; 60%, BW₃; dan 80%, BW₄). Hasil penelitian ini telah menunjukkan bahwa (1) penambahan belimbing wuluh konsentrasi 80% dan lama perebusan 45 menit (R₂BW₄) dapat menurunkan kadar residu formalin udang putih paling tinggi, yaitu sebesar 99,20% dari kadar formalin asal 1,127 g% menjadi 0,009 g%; (2) penambahan belimbing wuluh konsentrasi 80% dan tanpa perebusan (R₀BW₄) dapat meningkatkan kembali kadar protein total udang putih dengan tingkat kehilangan paling kecil, yaitu sebesar 0,76% dari kadar protein asal 23,205 g% menjadi 23,028 g%; (3) penambahan belimbing wuluh dan perebusan dapat merubah keberadaan pita berat molekul protein udang putih; (6) penambahan belimbing wuluh dan perebusan dapat menghilangkan sifat imunogenisitas protein BM 37,38 kDa udang segar (US) dan udang berformalin (UF) pada mencit jantan (*Mus musculus*) galur BALB/C. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan belimbing wuluh dan perebusan berpengaruh secara signifikan terhadap kadar residu formalin dan profil protein udang putih berformalin. Hasil penelitian ini lebih lanjut telah disusun dalam bentuk buku ilmiah populer sebagai bahan pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat.

Kata kunci : residu formalin, profil protein, udang berformalin, belimbing wuluh, gizi dan keamanan pangan

PENDAHULUAN

Kasus bahan makanan berformalin merupakan permasalahan penting berhubungan dengan penyediaan bahan makanan sehat dan aman. Formalin merupakan senyawa kimia beracun dan berbahaya yang tidak boleh dipergunakan sebagai bahan tambahan makanan, sebagaimana diatur dalam Permenkes RI No. 722/MENKES/PER/IX/1988.

Sementara itu, masyarakat masih banyak yang belum memahami dampak bahaya formalin dalam bahan makanan. Bahan makanan berformalin dapat membahayakan tubuh, bukan saja sebagai akibat paparan langsung formalin yang terbawa bahan makanan, tetapi juga sebagai akibat kerusakan zat gizi bahan makanan. Formalin merupakan senyawa reaktif yang dapat berikatan dengan senyawa di dalam bahan makanan, seperti protein, lemak dan karbohidrat (Suntoro, 1983). Formalin merupakan larutan formaldehid dalam air. Formaldehid mampu memodifikasi atau mendenaturasi protein dan asam nukleat melalui proses alkilasi antara gugus -NH₂ dan -OH dari protein dan asam nukleat dengan gugus hidroksimetil dari formaldehid (Levinson dan Jawetz, 1989). Ikatan antara formaldehid dan protein, di antaranya membentuk ikatan *metilol* dan suatu ikatan silang (*crosslinks*) yang sulit dipecah (Marquie, 2001; Haberle *et al.*, 2004; Kiernan, 2006). Formalin pada konsentrasi rendah (4%) dapat mengeraskan jaringan,



sedangkan pada konsentrasi tinggi (40%), selain akan mengeraskan jaringan, juga dapat mengendapkan protein (Suntoro, 1983).

Pengerasan jaringan pada bahan makanan menyebabkan sulit dicerna dan diserap (Apriyantono, 2002; Hove dan Lohrey, 1976). Bahan makanan yang sulit dicerna, akan mengganggu penyediaan kebutuhan protein dan asam amino tubuh. Kegagalan absorpsi (malabsorpsi) zat gizi menjadi salah satu penyebab kekurangan gizi sekunder (Chandrasoma dan Taylor, 2006). Selain itu, protein bahan makanan yang tidak dapat dicerna akan menjadi bahan asing (antigen) bagi tubuh, sehingga menimbulkan respon imun (Brody, 1994). Perlakuan formalin pada sejumlah bahan makanan seperti ikan nila (Kartikaningsih, 2008), udang putih (Kurnia, 2007; Wikanta, 2011), ikan asin kuniran (Innamasari, 2007), cumi-cumi asin (Santy, 2007), pindang tongkol (Susanti, 2007), tahu (Sihombing dan Sihombing, 1996), casein (Hove dan Lohrey, 1976) telah terbukti mempengaruhi nilai gizi protein bahan makanan (asam amino dan PER) dan merusak organ tubuh hewan coba.

Sampai saat ini, praktek penggunaan formalin sebagai pengawet bahan makanan masih sering dilakukan oleh produsen, seperti terungkap dari hasil survei di beberapa daerah (Jawa Pos, 2009; Surya, 2010). Dengan demikian, bahan makanan berformalin menjadi ancaman bagi kesehatan dan keselamatan jiwa masyarakat, baik dalam jangka waktu pendek maupun panjang. Oleh karena itu, perlu ada upaya yang harus dilakukan untuk menjamin bahan makanan yang akan dikonsumsi masyarakat bebas formalin.

Pembebasan formalin dalam bahan makanan perlu dilakukan selama pengolahan sebelum bahan makanan dikonsumsi. Beberapa hasil penelitian telah menunjukkan bahwa formalin dalam bahan makanan dapat menurun atau hilang selama pengolahan. Perendaman ikan segar dalam air cuka 5% selama 15 menit dapat menghilangkan formalin sampai mencapai 100% (Sukesi, 2006); perendaman ikan asin berformalin dengan air, air garam, dan air leri dapat menurunkan kadar formalin antara 60-89% (Raihan, 2003). Kartikaningsih (2008) melaporkan bahwa penggorengan dan pengukusan dapat menurunkan kadar formalin pada ikan segar, pindang, dan ikan asin sampai dengan 60%.

Pengolahan bahan makanan dengan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dapat menjadi alternatif dalam upaya menghilangkan formalin dalam bahan makanan. Belimbing wuluh adalah salah satu bahan alam yang sering digunakan masyarakat dalam pengolahan bahan makanan. Belimbing wuluh mengandung kadar asam yang tinggi dengan nilai pH 2 (Morton dan Miami, 1987; Orwa *et al.* 2009). Dalam beberapa reaksi kimia, misalnya hidrolisis, asam dapat berfungsi sebagai katalis, selain sebagai reaktan dan produk (Wilson dan Goulding (Eds.), 1989). Riawan (1990) mengemukakan bahwa pemisahan aldehid dalam suatu campuran, di antaranya dapat dilakukan dengan asam. Formaldehid adalah senyawa aldehid yang paling sederhana (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Rendahnya pengetahuan masyarakat tentang gizi dan keamanan pangan menjadi permasalahan lain yang masih menjadi kendala dalam pengolahan bahan makan (Hariyadi dan Andarwulan, 2007). Ketidaktahuan masyarakat dalam mengolah bahan makanan berformalin merupakan salah satu gambaran kurangnya pengetahuan masyarakat tentang gizi dan keamanan pangan (Wikanta, 2010). Publikasi hasil penelitian tentang gizi dan keamanan pangan dapat menjadi bahan rujukan dalam meningkatkan pengetahuan masyarakat. Oleh karena itu, penelitian tentang gizi dan keamanan pangan perlu terus dilakukan dengan publikasi yang luas dalam berbagai bentuk.

Udang putih merupakan bahan makanan sumber protein yang banyak dikonsumsi masyarakat (Kordi, 2007). Udang segar sangat rentan mengalami pembusukan setelah panen, sehingga udang rentan pula diawetkan dengan formalin. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan perebusan terhadap kadar residu formalin dan profil protein udang putih (*Leptopeneus vannamei*) berformalin serta pemanfaatannya sebagai sumber pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat.

METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan metode eksperimen dengan rancangan acak kelompok factorial (Gomez dan Gomez, 2007; Hanafiah, 2010; Oramahi, 2009). Penelitian terdiri dari 15 kelompok perlakuan hasil kombinasi dua variabel bebas, yaitu lama perebusan dan konsentrasi belimbing wuluh. Lama perebusan sebagai faktor pertama terdiri dari tiga tingkat variasi, yaitu tanpa perebusan (R0), lama perebusan 30 menit



(R1), dan lama perebusan 45 menit (R2). Konsentrasi belimbing wuluh sebagai faktor kedua terdiri dari lima tingkat variasi, yaitu tanpa penambahan belimbing wuluh (BW0), penambahan belimbing wuluh 20% (BW1), penambahan belimbing wuluh 40% (BW2), penambahan belimbing wuluh 60% (BW3), penambahan belimbing wuluh 80% (BW4).

Bahan-bahan penelitian: (1) Preparasi: udang segar jenis udang putih vaname (*Letapenaeus vannamei*), belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.), formalin 37% Merck; (2) Uji Formalin: larutan acetylacetone, larutan ammonium acetate; (3) Uji Protein: Na₂SO₄-HgO (20:1), H₂SO₄ pekat (93-98% bebas N), NaOH 10%, H₃BO₄ 3%, HCl Standar 0,02N, indikator metil merah; (4) Uji asam amino: petroleum eter, HCL (6N, 0,02N, 0,01N), NaOH 0,01N, asam trikloroasetat (TCA) 10%, Larutan OPA, Larutan buffer, Seppak C-18, NaCl 5%, Gas Nitrogen; (5) Uji Fraksinasi protein: gel poliakrilamid-SDS 10% (*stacking gel* dan *separating gel*), *Reducing Buffer Sample* (RBS), phosphate buffer saline (PBS) Tween 20 Tris-Cl pH 7, PBS Tween 20-polymethyl sulfonyl flourida (PSMF), *coomassie blue staining*, larutan *destaining*, etanol absolute; (6) Uji Immunogenisitas: *Compleat Freud Adjuvant* (CFA), *Incompleat Freud Adjuvant* (IFA), *membrane nitrocelulose* (NC), TBS-Tween 0,05%, TBS skim milk 5%, larutan substrat TMB, Ponceau S, Antibody sekunder (*anti-mouse biotin*).

Cara kerja: (1) Pembuatan Stok dan Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh: memilih buah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dengan ukuran ($p \pm 6,5$ cm; $\emptyset \pm 2,5$ cm) dan warna yang relatif sama. Buah belimbing wuluh (BW) yang sudah terkumpul dibersihkan, kemudian diblender/dijus dengan alat *juicer CJ-389* merk *Cosmos*. Semua hasil perasan atau sari buah BW ditampung dalam wadah sebagai stok untuk pembuatan konsentrasi perasan BW sesuai perlakuan dalam penelitian ini. Pembuatan konsentrasi perasan buah BW dilakukan dengan cara mengukur perasan buah belimbing wuluh 0, 20, 40, 60, dan 80 ml masing-masing dimasukan ke dalam labu ukur 1000 ml dan menggenapkan volume sampai tanda batas dengan aquades; (2) Persiapan Sampel Udang Berformalin: memilih udang segar dengan ukuran dan berat yang relatif sama (70 g/ekor; panjang 13-14 cm). Kemudian, merendam udang segar di dalam formalin 5% (Merck) selama 60 menit. Menempatkan secara random udang hasil rendaman formalin (udang berformalin) ke dalam 40 buah gelas kimia 500 ml masing-masing 200 g. memberi label gelas kimia yang telah berisi udang berformalin sesuai perlakuan dengan 4 kali ulangan. Selanjutnya, secara bertahap menambahkan perasan buah BW ke dalam masing-masing gelas kimia sesuai perlakuan untuk direbus. Perebusan masing-masing gelas kimia sampel dilakukan secara bertahap sesuai dengan pemetaan rancangan acak kelompok. Perebusan dilakukan selama 30 menit dan 45 menit masing-masing pada suhu 85°C-100°C (Bartano dan Ruffino, 2006). Setelah perebusan selesai, semua udang sesuai perlakuan siap untuk uji selanjutnya sesuai dengan data yang diperlukan dalam penelitian ini; (3) Pengumpulan data: data penelitian dikumpulkan dengan metode rutin laboratorium untuk masing-masing variabel terikat, yaitu: kadar residu formalin menggunakan metode Hantzch (British Standar, 2002), kadar protein total menggunakan metode volumetrik semi mikro-Kjeldahl AOAC (Horwitz, 1975), komposisi asam amino dan kadar asam amino menggunakan metode kromatografi HPLC (Sudarmadji, Haryono, dan Suhardi, 2007), fraksi protein berdasarkan besar molekul menggunakan metode elektroforesis SDS-PAGE (Rantam, 2003; Aulanni'am, 2004), dan sifat imunogenisitas menggunakan Metode *Western Blot Protocol* (Grafin, 2003).

HASIL PENELITIAN

Kadar residu formalin dan kadar protein total udang putih telah berhasil dikumpulkan yang secara lengkap disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Rerata dan Persentase Penurunan Kadar Residu Formalin dan Kadar Protein Total Udang Putih pada Berbagai Perlakuan

Perlakuan		Kadar Residu Formalin		Kadar Protein Total	
Lama Perebusan	Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh	Rerata dan Simpangan baku (g%)	Persentase Penurunan*	Rerata dan Simpangan baku (g%)	Persentase Penurunan*
R0 (0 menit)	US	-	-	23,205 ± 0,199	-
	UF	1,127± 0,065	-	20,741 ± 0,603	10,62%
	BW0 (0%)	0,763± 0,012	32,30%	20,808±0,128	10,32%
	BW1 (20%)	0,544± 0,017	51,71%	21,145±0,166	8,88%
	BW2 (40%)	0,206± 0,007	81,72%	22,483±0,255	3,11%
	BW3 (60%)	0,095± 0,007	91,57%	22,947±0,236	1,11%
R1	BW4 (80%)	0,070± 0,005	93,79%	23,028±0,172	0,76%
	US	-	-	23,205 ± 0,199	-

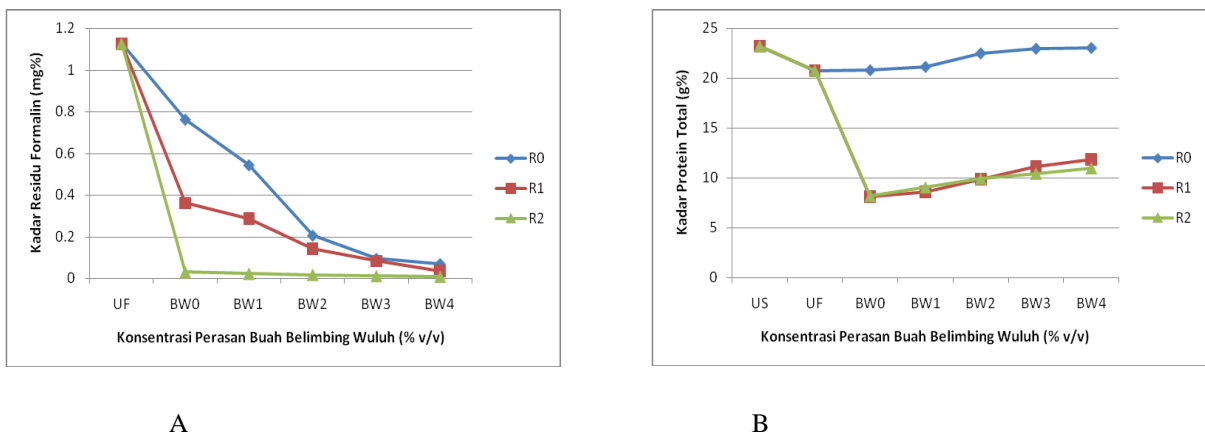


Perlakuan		Kadar Residu Formalin		Kadar Protein Total	
Lama Perebusan	Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh	Rerata dan Simpangan baku (g%)	Persentase Penurunan*	Rerata dan Simpangan baku (g%)	Persentase Penurunan*
(30 menit)	UF	1,127± 0,065	-	20,741 ± 0,603	10,62%
	BW0 (0%)	0,362± 0,011	67,88%	8,103±0,094	65,08%
	BW1 (20%)	0,287± 0,007	74,53%	8,583±0,183	63,01%
	BW2 (40%)	0,142± 0,015	87,40%	9,863±0,263	57,50%
	BW3 (60%)	0,083± 0,007	92,64%	11,171±0,136	51,85%
	BW4 (80%)	0,035± 0,003	96,89%	11,838±0,137	48,99%
R2 (45 menit)	US	-	-	23,205 ± 0,199	-
	UF	1,127± 0,065	-	20,741 ± 0,603	10,62%
	BW0 (0%)	0,030± 0,003	97,34%	8,197±0,054	64,68%
	BW1 (20%)	0,023± 0,003	97,96%	9,055±0,195	60,98%
	BW2 (40%)	0,018± 0,001	98,40%	9,923±0,123	57,24%
	BW3 (60%)	0,012± 0,001	98,94%	10,447±0,173	54,98%
BW4 (80%)	0,009± 0,001	99,20%	10,978±0,225	52,69%	

*) Persentase Penurunan (%) = $(X_0 - X_i) / X_0 \times 100\%$, dimana: X_0 = rerata UF atau US; X_i = rerata perlakuan ke- i

Berdasarkan Tabel 1, kadar residu formalin pada udang putih mengalami penurunan sejalan dengan semakin tingginya konsentrasi belimbing wuluh dan lama perebusan. Penurunan kadar residu formalin sudah mulai terjadi pada perlakuan tanpa perebusan dan tanpa penambahan perasan buah belimbing wuluh (R_0BW_0), walaupun persentase penurunan baru sekitar 32,30%. Persentase penurunan pada perlakuan tanpa perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 80% (R_0BW_4) mencapai 93,79%. Persentase penurunan kadar residu formalin tertinggi diperoleh pada perlakuan perebusan selama 45 menit dan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 80% (R_2BW_4), yaitu sebesar 99,20%.

Penambahan belimbing wuluh dan perebusan telah meningkatkan kembali kadar protein total udang putih berformalin. Berdasarkan Tabel 1, penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 80% dan tanpa perebusan (R_0BW_4) dapat meningkatkan kembali kehilangan kadar protein total udang putih sekitar 99,24% atau hanya mengalami penurunan sebesar 0,76%. Penurunan kadar protein total udang putih terjadi sangat tajam pada perlakuan perebusan dan tanpa penambahan belimbing wuluh, baik pada lama perebusan 30 menit (R_1BW_0) maupun pada lama perebusan 45 menit (R_2BW_0), yaitu mencapai 65,08% dan 64,68%. Secara visual penurunan kadar residu formalin dan kadar protein total udang putih disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik Penurunan Kadar Residu Formalin (A) dan Grafik Penurunan Kadar Protein Total (B) pada Udang Putih dengan Perebusan dan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh. US = udang segar; UF = udang berformalin; BW0 = Konsentrasi Perasan Belimbing Wuluh 0%; BW0 = Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 0%; BW1 = Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 20%; BW2 = Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 40%; BW3 = Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 60%; BW4 = Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 80%; R0 = Tanpa Perebusan; R1 = Perebusan Selama 30 Menit; R2 = Perebusan Selama 45 Menit. R0 = Tanpa Perebusan; R1 = Perebusan Selama 30 Menit; R2 = Perebusan Selama 45 Menit.



Selain kadar protein total, data tentang komposisi dan kadar asam amino udang putih telah dikumpulkan seperti disajikan pada Tabel 2.

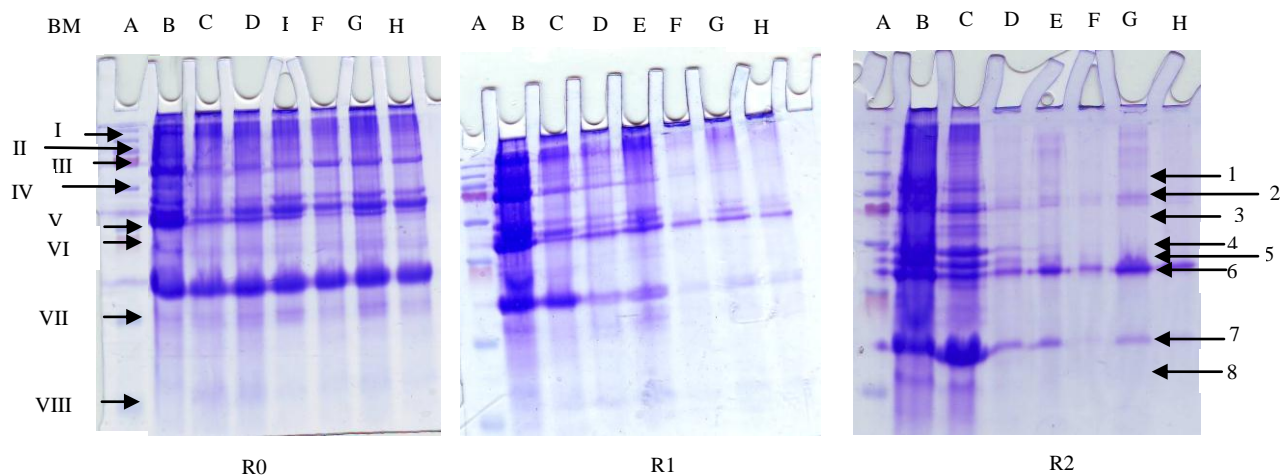
Tabel 2. Komposisi dan Kadar Asam Amino Udang Putih dalam Berbagai Perlakuan

No	Jenis Asam Amino	Kandungan Asam Amino (g% b/b)						
		US	UF	BW0	BW1	BW2	BW3	BW4
1	Alanin	5,354	5,135	4,477	4,739	4,975	5,093	5,185
2	Arginin**	6,667	6,205	5,859	6,032	6,234	6,378	6,565
3	Asam Glutamat	10,905	10,408	8,663	9,335	9,752	10,104	10,344
4	Asparagin	11,607	10,651	9,094	9,401	9,855	10,197	10,508
5	Fenilalanin*	3,007	2,428	2,138	2,294	2,383	2,472	2,561
6	Glisin	4,829	4,680	4,275	4,488	4,595	4,680	4,733
7	Histidin**	1,996	1,840	1,683	1,761	1,840	1,918	1,996
8	Isoleusin *	4,236	3,795	3,282	3,401	3,568	3,747	4,057
9	Leusin*	8,112	7,570	6,869	7,044	7,283	7,538	7,713
10	Lisin*	6,755	6,320	5,658	5,809	5,988	6,149	6,244
11	Methionin*	2,166	1,867	1,432	1,575	1,656	1,772	1,901
12	Prolin	2,205	1,744	0,988	1,115	1,445	1,673	1,774
13	Serin	6,000	5,471	4,200	4,830	5,420	5,670	5,840
14	Tirosin	4,492	3,794	3,035	3,338	3,612	3,885	4,036
15	Threonin*	5,347	5,077	3,742	4,383	4,630	4,799	5,069
16	Triptofan*	1,022	0,906	0,840	0,878	0,912	0,934	0,967
17	Valin*	4,004	3,787	3,490	3,679	3,768	3,853	3,900
	RERATA	5,218	4,805	4,101	4,359	4,583	4,757	4,905

Keterangan: US = udang segar UF = udang berformalin; BW0 = konsentrasi perasan belimbing wuluh 0%; BW1 = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 20%; BW2 = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 40%; BW3 = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 60%; BW4 = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 80%

Berdasarkan Tabel 2, komposisi asam amino pada berbagai perlakuan tidak mengalami perubahan. Namun, rerata kadar masing-masing asam amino terlihat ada perbedaan. Rerata kadar asam amino udang putih segar sebesar 5,218 g% lebih tinggi dibandingkan dengan rerata kadar asam amino udang berformalin, yaitu 4,805g%. Rerata udang berformalin setelah perlakuan secara umum mengalami peningkatan sejalan dengan semakin meningkatnya penambahan perasan buah belimbing wuluh, yaitu BW₀ (4,101g%), BW₁ (4,359g%), BW₂ (4,583g%), BW₃ (4,757g%), dan BW₄ (4,905g%).

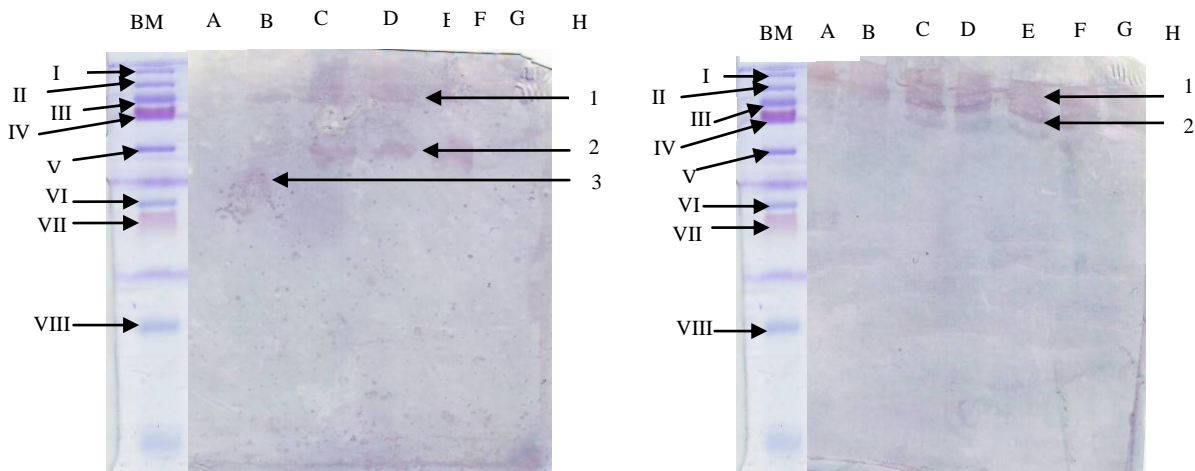
Berdasarkan hasil elektroforesis SDS-PAGE terhadap protein udang putih diperoleh data fraksi jenis protein berdasarkan berat molekulnya. Fraksi jenis protein udang putih hasil elektroforesi disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Profil Protein Udang Putih Berdasarkan Berat Molekul (BM) pada Berbagai Perlakuan. BM = berat molekul penanda (marker); I s.d VIII = marker dengan BM secara berurutan 250 kDa, 130 kDa, 95 kDa, 72 kDa, 56 kDa, 36 kDa, 28 kDa, 18 kDa; A = kolom protein marker, B = kolom protein udang segar (US), C = kolom protein udang berformalin (UF), D = kolom protein udang putih berformalin tanpa penambahan perasan buah belimbing wuluh (BW₀), E = kolom protein udang putih ber-Formalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 20% (BW₁), F = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 40% (BW₂), G = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 60% (BW₃), H = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 80% (BW₄), R₀ = tanpa perebusan, R₁ = lama perebusan 30 menit, R₂ = lama perebusan 45 menit; 1 s.d 8 = pita protein yang tampak pada setiap perlakuan dengan berat molekul secara berurutan 93,01 kDa, 71,86 kDa, 67,60 kDa, 49,14 kDa, 40,95 kDa, 37,38 kDa, 20,66 kDa, 18,87 kDa.

Berdasarkan Gambar 2, pita berat molekul protein udang putih yang dapat teridentifikasi sebanyak 8 jenis pita, yaitu: 93,01 kDa, 71,86 kDa, 67,60 kDa, 49,14 kDa, 40,95 kDa, 37,38 kDa, 20,66 kDa, dan 18,87 kDa. Penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan pada semua perlakuan menunjukkan perubahan keberadaan masing-masing pita protein. Pada penambahan belimbing wuluh mulai konsentrasi 40% (BW₂) sampai dengan 80% (BW₄), baik pada perebusan 30 menit (R₁) maupun perebusan 45 menit (R₂) dapat menunjukkan perubahan pita yang mencolok, yaitu hampir semua pita protein mengalami penipisan bahkan hilang.

Dari fraksi protein yang telah diperoleh, selanjutnya diuji sifat imunogenesitasnya. Protein udang putih dengan berat molekul 37,38 kDa dipilih dari 8 protein lainnya, sebagai antigen dalam pembuatan antibodi primer pada mencit jantan (*Mus musculus*) galur BALB/C usia sapih. Pemilihan protein 37,38 kDa didasarkan pada kekhasan atau konsistensi munculnya protein 37,38 kDa pada semua perlakuan. Hasil uji imunogenesitas protein 37,38 kDa dengan Metode *Western Blot* disajikan pada gambar 3.



Gambar 3. Karakteristik Protein Udang Putih pada Mencit dengan *Western Blot*. A. Hasil *Western Blot* pada Mencit Perlakuan Protein 37,38 kDa; B. Hasil *Western Blot* pada Mencit Kontrol. BM = Berat Molekul Penanda (Marker); I s.d VIII = Marker dengan BM secara Berurutan 250 kDa, 130 kDa, 95 kDa, 72 kDa, 56 kDa, 36 kDa, 28 kDa, 18 kDa; A = Kolom Protein Marker, B = Kolom Protein Udang Segar (US), C = kolom protein udang berformalin (UF), D = Kolom Protein Udang Putih Berformalin Tanpa Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (BW₀), E = Kolom Protein Udang Putih Ber-Formalin dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh 20% (BW₁), F = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 40% (BW₂), G = Kolom Protein Udang Putih Berformalin dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh 60% (BW₃), H = Kolom Protein Udang Putih Berformalin dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh 80% (BW₄); 1 s.d 3 = Respon Positif pada BM 93,01 kDa, 67,60 kDa, dan 37,38 kDa.

Berdasarkan Gambar 4, protein dengan BM 37,38 kDa memberikan respon positif pada uji imunogenesitas pada mencit jantan galur BALB/C. Hal ini ditunjukkan dengan munculnya pita protein BM 37,38 kDa pada kolom udang berformalin mencit perlakuan, sedangkan pada mencit kontrol tidak muncul.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini telah menunjukkan bukti bahwa perebusan dan penambahan belimbing wuluh dapat menurunkan atau menghilangkan kadar residu formalin dan memperbaiki profil protein udang. Hasil penelitian ini, sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya bahwa pengolahan dapat menghilangkan formalin dalam bahan makanan (Sukei, 2006; Raihan, 2003; Kartikaningsih, 2008). Belimbing wuluh sebagai sumber asam dalam pengolahan udang putih berformalin telah mengkatalisis proses pelepasan ikatan formalin dan protein. Senyawa asam dalam larutan dapat berfungsi sebagai katalis, selain sebagai reaktan dan produk (Wilson dan Goulding (Eds.), 1989). Pelepasan ikatan formalin dan protein dapat dikatalisis



senyawa asam dikemukakan pula oleh Riawan (1990) bahwa aldehid dapat dipisahkan dalam suatu campuran dengan menggunakan asam.

Besarnya kadar formalin yang dapat dihilangkan dalam bahan makanan sangat tergantung pada jenis ikatan antara formalin dan protein dalam bahan makanan. Formalin dapat berikatan dengan protein dalam bentuk methyl-alkohol yang bersifat *reversibel* dan ikatan silang antar protein (*protein-crosslink*) yang bersifat *irreversible* (Kiernan, 2000; Nadeau dan Carlson, 2005). Dalam bentuk ikatan methyl-alkohol, ikatan akan mudah dipecah dengan adanya senyawa asam yang bertindak sebagai penyedia ion H⁺. Asam dalam reaksi adisi bertindak sebagai katalis pada reaksi tahap awal protonasi oksigen. Protonasi ini menambah muatan positif pada karbon karbonil sehingga karbon ini lebih mudah diserang oleh nukleofil yang lebih lemah (Fessenden dan Fessenden, 1986). Ikatan metilen *cross-link* antara gugus samping amino lisin dan glutamin pada rantai protein sulit dipecah (*irreversible*). Nadeau dan Carlson (2005) mengemukakan bahwa *cross-link-Protein* dapat menstabilkan massa protein dan mengawetkan morfologi.

Penggunaan formalin sebagai pengawet bahan makanan telah dilarang, sebagaimana diatur dalam Permenkes RI No. 722/MENKES/PER/IX/1988. Walaupun, formalin dalam bahan makanan dapat dihilangkan, tetapi formalin tidak dapat dihilangkan secara keseluruhan. Formalin dalam bahan makanan sekecil apapun akan tetap menjadi ancaman bagi kesehatan dan keselamatan jiwa konsumen. Yasuhara dan Shibamoto dalam CICADS (2002) mengemukakan bahwa ikan dengan kandungan formaldehid lebih tinggi dari 10-20 mg/kg (10-20 ppm) tidak layak sebagai sumber makanan manusia, karena formaldehid yang terdapat di dalam ikan akan bereaksi dengan protein dan selanjutnya menyebabkan otot menjadi keras.

Perlu disadari pula bahwa upaya menghilangkan formalin dalam bahan makanan dapat berdampak terhadap kerusakan zat gizi bahan makanan. Perebusan dalam penelitian ini, walaupun memberikan dampak baik terhadap penurunan kadar residu formalin, tetapi telah memberikan dampak yang kurang baik terhadap kadar protein udang putih. Udang mengalami kehilangan protein yang sangat besar dengan perebusan. Hal ini, sesuai dengan sifat protein bahwa protein mudah terdenaturasi dan terdegradasi dengan temperatur, sehingga protein banyak yang terlarut dalam air (Richardson dan Finley (Eds.), 1985).

SIMPULAN DAN SARAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa penambahan belimbing wuluh dan perebusan berpengaruh secara signifikan terhadap kadar residu formalin dan profil protein udang putih berformalin. Penambahan belimbing wuluh pada konsentrasi 80% dan tanpa perebusan merupakan perlakuan terbaik dengan memberikan penurunan kadar residu sebesar 93,79% dan tingkat kehilangan protein total terendah hanya 0,76%.

Hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai sumber ilmu pengetahuan dan keterampilan oleh masyarakat dalam menyediakan bahan makanan sehat dan aman. Penelitian ini perlu ditindaklanjuti dengan penelitian-penelitian serupa dengan variabel dan sampel yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono, A. 16-22 Desember 2002. *Pengaruh Pengolahan terhadap Nilai Gizi dan Keamanan Pangan*. Makalah disampaikan pada Seminar Online Kharisma ke-2, (online), Dunia Maya. (<http://www.pdf-search-engine.com>, diakses 2 Oktober 2009).
- Aulanni'am. 2004. *Prinsip dan Teknik Analisis Biomolekul*. Malang: Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Press.
- Bartano P.H. dan Ruffino E.M. 2006. *Dasar-dasar Food Product: Dilengkapi dengan Resep-resep Istimewa*. Yogyakarta: Andi.
- B POM. 2004. *Bahan Tambahan Ilegal Borak, Formalin dan Rhodamin B. Food Watch Sistem Keamanan Pangan Terpadu*. B POM RI Bekerja sama dengan Balai Besar Industri Agro, Deptan RI, IPB dan WHO.
- British Standard. 2002. *Wood-based Panels – Determination of Formaldehyde Release – Part 2: Formaldehyde Release by the Gas Analysis Method. BS EN 717-2: 1995*. London: BSI. (online). (<http://www.sheet.com/pdf/EN717.2.pdf>. Diakses 7 Juni 2009).
- Brody, T. 1994. *Nutritional Biochemistry*. San Diego California: Academic Press, Inc.
- Chandrasoma, P. dan Taylor, C.R. 2006. Ringkasan Patologi anatomi. Ed. 2. Penerjemah: Roem Soedoko, Lydia I. Mander dan Vivi Sadikin. Jakarta: EGC.
- CICADS. 2002. Formaldehyde. The International Programme on Chemical Safety (IPCS). (online). (<http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad40.htm>. diakses 23 Januari 2010).



- Fessenden dan Fessenden. 1986. *Kimia Organik*. Terjemahan oleh Aloysius Handyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Gomez, K.A dan Gomez, A.A. 2007. *Prosedur Statistik untuk Penelitian Pertanian. Terjemahan oleh Endang Sjamsuddin dan Justika S. Baharsjah*. Jakarta: UI-Press.
- Grafin. 2003. *Western Blotting. AES application focus*. (online). (<http://www.aesociety.org/areas/Grafin> Western Blotting Web Article 9-07.pdf. diakses 6 November 2010).
- Haberle, D. G., Hill, W., Kazachkov, Mychaylo., Richardson, J. S., and Peter, H. Y. 2004. Protein Cross-Linkage Induced Formaldehyde Derived from Semicarbazide-Sensitive Amine Oxidase-Mediated Deamination of Methylamine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutic Fast Forward*. 310: 1125-1132. (online), (<http://jpet.aspetjournals.org/cgi/content/full/310/1125>, diakses 19 Februari 2009).
- Hanafiah, K.A. 2010. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi. Ed. Ke-3*. Jakarta: Rajawali Pers.
- Hariyadi, P. dan Andarwulan, N. 2007. *Menghentikan Peredaran Pangan Bermasalah di Pasar: Konsolidasi Keamanan Pangan di Indonesia*. Depok: Piramedia.
- Hortwitz, W. (Ed.). 1975. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists*. 12th ed. Washington, DC: AOAC.
- Hove, E.L and Lohrey, E. 1976. The effect of Formaldehyde on the Nutritive Value of Casein and Lactalbumin in the diet of Rat. *J. Nutr.* 106: 382-387.
- Innamasari, D. 2007. *Pengaruh Konsumsi Ikan Asin Kuniran (Ipeneus sulphureus) Berformalin terhadap Pertumbuhan dan Organ Dalam Tikus Putih Wistar (Rattus norvegicus)*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.
- Jawa Pos. 2009. *Gerebek Pabrik Tahu Berformalin*. (online), (<http://www.jawapos.co.id>. diakses 13 November 2009).
- Kartikaningsih, H. 2008. *Pengaruh Paparan Berulang Ikan Berformalin Terhadap Kerusakan Hati dan Ginjal Mencit (Mus musculus) Sebagai Media Pembelajaran Keamanan Pangan*. Disertasi tidak diterbitkan. Malang: PSSJ Pendidikan Biologi Pascasarjana UM.
- Kiernan, John A. 2000. *Formaldehyde, Formalin, Paraformaldehyde, and Glutaraldehyde: What They Are and What They Do. Microscopy Today 00-1: 8-12*. (online), (<http://publish.uwo.ca/~jkiernan/formglut.htm>, diakses 20 Januari 2010).
- Kordi K., M. G. H. 2007. *Pemeliharaan Udang Vanname*. Surabaya: Indah.
- Kurnia, T.A. 2007. *Pengaruh Konsumsi Udang Putih (Penaeus merquensis) Berformalin terhadap Berat Badan dan Histologis Tikus Wistar (Rattus norvegicus)*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.
- Levinson, W. E. and Jawetz, E. 1989. *Medical Microbiology & Immunology: Examination and Board Review*. San Francisco: aLANGE medical book.
- Marquie, C. 2001. Chemical Reactions in Cottonseed Protein Cross-Linking by Formaldehyde, Glutaraldehyde, and Glyoxal for the Formation of Protein Films with Enhanced Mechanical Properties. *J. Agric. Food Chem.* 49(10): 4676-4681.
- Morton, J.F and Miami, F.L. 1987. *Fruits of Warm Climates: Bilimbi*. (online). (<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/bilimbi.html>. Diakses 27 November 2010).
- Nadeau, O.W. and Carlson, G.M. 2007. *Protocol: Protein Interactions Captured by Chemical Cross-linking: One-Step Cross-linking with Formaldehyde*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.(online). (<http://cshprotocols.cshlp.org/cgi/content/full/2007/4/pdb.prot4634>. Diakses 19 Januari 2009).
- Oramahi, H.A. 2009. *Perancangan Percobaan: Aplikasi dengan SPSS dan SAS*. Yogyakarta: Gava Media.
- Orwa et al. 2009. *Averrhoa bilimbi L. Agroforestry Database 4.0*. (online). diakses 12 Desember 2009.
- Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 722/MENKES/PER/IX/1988 tentang *Bahan Tambah Makanan*. Departemen Kesehatan RI.
- Raihan, C. F. 2003. *Pengaruh Waktu Perendaman terhadap Serapan Formalin dan Proses Deformalinisasi Ikan Asin Jambal Hasil Proses Penggaraman Kering*. Skripsi tidak diterbitkan. Surabaya: Jurusan Kimia FMIPA ITS.
- Rantam, F.A. 2003. *Metode Immunologi*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Richardson, T. and Finley, J.W. 1985. *Chemical Changes in Food during Processing*. Westport, Connecticut: AVI Publishing Company, Inc.
- Riawan, S. 1990. *Kimia Organik. Edisi ke-1*. Jakarta: Binarupa Aksara
- Santy, M. 2007. *Pengaruh Konsumsi Cumi-cumi Asin (Loligo fealei) Berformalin terhadap Pertumbuhan Berat dan Organ Dalam Tikus Putih Wistar (Rattus norvegicus)*. Skripsi tidak diterbitkan.. Malang: Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 2007. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian. Edisi ke-4*. Yogyakarta: Liberty.
- Suntoro, S. H. 1983. *Metode Pewarnaan*. Jakarta: Bhartara Karya Aksara.
- Sukei, Humas/rin. 2006. *Cara Baru Kurangi Kadar Formalin*. *Kimia ITS*, (Online), (<http://www.its.ac.id>, diakses 2 Oktober 2009).
- Surya. Kamis 3 Juni 2010. *Awas Ada Ikan Pari Berformalin*. (online). <http://gresnews.com/ch/Metropolitan/ci/PE/id/1188706/read/1/Awas-Ada-Ikan-Pari-Berformalin>. Diakses 4 Maret 2011.
- Susanti, F.D. 2007. *Pengaruh Konsumsi Pindang Tongkol (Thunnus sp.) Berformalin terhadap Berat Badan dan Histologis Tikus Wistar (Rattus norvegicus)*. Skripsi tidak diterbitkan.. Malang: Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.



- Wikanta, W. 2010. Persepsi Masyarakat Tentang Penggunaan Formalin Dalam Bahan Makanan dan Pelaksanaan Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan Di Kota Sidoarjo. *Bioedukasi Jurnal Pendidikan Biologi FKIP UM Metro*. 1(2): 110-121.
- _____. 2011. *Perubahan Nilai Gizi Protein Udang Putih (Letapenaeus vannamei) Terkontaminasi Formalin*. Proceedings Seminar Nasional Kimia Unesa 19 Pebruari 2011. ISBN: 978-979-028-378-7. Surabaya: B392-B396.
- Wilson K and Goulding K.H (Eds.), 1986. *Biologist's Guide to principle and Techniques of Practical Biochemistry*. London: Edward Arnold Publisher , Ltd.

PERTANYAAN

Penanya: Rini fitri (Universitas Syiah Kuala)

Bagaimana sosialisasi dampak formalin kepada masyarakat?

Jawab:

Sebenarnya dari BPOM sudah ada sosialisasi, tapi faktanya masih banyak masalah tentang banyaknya formalin yang beredar. Tapi, disini kami memberikan solusi alternatif memakai belimbing wuluh sehingga kandungan formalin berkurang hingga 93%

Penanya: Ari Nidhi (Universitas Negeri Yogyakarta)

Apa dasar bapak memilih belimbing wuluh? Dan bagaimana kandungan dari belimbing?

Jawab:

Belimbing wuluh mengandung asam sitrat sebagai katalisator yang berfungsi mempercepat lepasnya ikatan formalin.

Penanya: Nur

Bagaimana karakteristik udang setelah diberi perlakuan belimbing wuluh?

Jawab:

Kita bisa melihat melalui warna kulit udang yang segar.

