

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

**DISERTASI**

**OLEH:**

**WIWI WIKANTA  
NIM 108662619394**



**UNIVERSITAS NEGERI MALANG  
PROGRAM PASCASARJANA  
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI  
APRIL 2011**



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

**DISERTASI**

**OLEH:**

**WIWI WIKANTA**

**NIM 108662619394**



**UNIVERSITAS NEGERI MALANG  
PROGRAM PASCASARJANA  
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI  
APRIL 2011**

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

**DISERTASI**

OLEH:  
WIWI WIKANTA  
NIM 108662619394



**UNIVERSITAS NEGERI MALANG  
PROGRAM PASCASARJANA  
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI  
APRIL 2011**

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

**DISERTASI**

Diajukan kepada  
Univesitas Negeri Malang  
untuk memenuhi salah satu persyaratan  
dalam menyelesaikan program Doktor

Oleh

Wiwi Wikanta  
NIM 108662619394

**UNIVERSITAS NEGERI MALANG  
PROGRAM PASCASARJANA  
PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI  
April 2011**

**“Dan carilah pada apa yang telah dianugerahkan Allah kepadamu (kebahagiaan) negeri akhirat, dan janganlah kamu melupakan bahagianmu dari (kenikmatan) duniawi dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik kepadamu, dan janganlah kamu berbuat kerusakan di (muka) bumi. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berbuat kerusakan”**

**(QS. Qashash:77)**



---

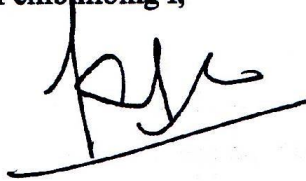
***Karya ini dipersembahkan untuk Istri tercinta,  
Siti Ainun Amelia, dan Ananda tersayang,  
Jihadi Abdillah Jabbar***

***Semoga menjadi motivasi dan memberi pencerahan  
bagi hidup dan kehidupan yang lebih baik,  
Aamiin***

Disertasi oleh **Wiwi Wikanta** ini telah diperiksa dan disetujui untuk diuji.

Malang, April 2011

Pembimbing I,



Prof. Dr. H. Yusuf Abdurrajak

NIP 130 058 186

Malang, April 2011

Pembimbing II,

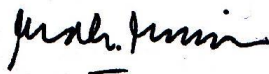


Prof. Dr. H. Sumarno, DMM., SpMK.

NIP 130 809 130

Malang, April 2011

Pembimbing III,



Dr. agr. Mohamad Amin, S.Pd., M.Si.

NIP 19670119 199203 1 002

Disertasi oleh **Wiwi Wikanta** ini telah dipertahankan di depan Dewan Penguji Disertasi pada tanggal 21 April 2011.

Dewan Penguji

*Mohamad Amin*  
Dr. agr. **Mohamad Amin, S.Pd., M.Si.** Ketua

*Yusuf Abdurajak*  
Prof. Dr. H. **Yusuf Abdurajak.** Anggota

*H. Sumarno*  
Prof. Dr. dr. H. **Sumarno, DMM., SpMK.,** Anggota

*Mohamad Amin*  
Dr. agr. **Mohamad Amin, S.Pd., M.Si.,** Anggota

*Hedi Sutomo*  
Dr. **Hedi Sutomo, S.U.,** Anggota

*Hendyat Sutopo*  
Prof. Dr. **Hendyat Sutopo, M.Pd.,** Anggota

*Umie Lestari*  
Dr. **Umie Lestari, M.S.,** Anggota



\* Prof. Dr. **I Nyoman Sudana Degeng, M.Pd.**  
NIP 19580923 198502 1 001



## ABSTRAK

Wikanta, Wiwi. 2011. *Pengaruh Penambahan Belimbing wuluh (Averrhoa bilimbi L.) dan Perebusan terhadap Residu Formalin dan Profil Protein Udang Putih (Letapenaeusa vannamei) Berformalin serta Pemanfaatannya sebagai Sumber Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan pada Masyarakat*. Disertasi, Program Studi Pendidikan Biologi, Program Pascasarjana, Universitas Negeri Malang. Pembimbing: (I) Prof. Dr. H. Yusuf Abdurrajak, (II) Prof. Dr. H. Sumarno, DMM. Sp.KM., dan (III) Dr. agr. H. Mohamad Amin, S.Pd. M.Si.

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

Bahan makanan berformalin merupakan permasalahan penting dalam kehidupan sehari-hari. Hal ini berhubungan dengan penyediaan bahan makanan sehat dan aman. Formalin merupakan senyawa kimia beracun dan berbahaya yang tidak boleh dipergunakan sebagai bahan tambahan makanan. Sementara itu, masyarakat masih banyak yang belum mengetahui dampak bahaya bahan makanan berformalin. Dampak bahaya bahan makanan berformalin, bukan saja sebagai akibat paparan langsung formalin terhadap tubuh, tetapi juga sebagai dampak kerusakan zat gizi bahan makanan. Sampai saat ini, praktek penggunaan formalin sebagai pengawet bahan makanan masih belum dapat dihentikan, sedangkan usaha untuk menghilangkan formalin dalam bahan makanan belum banyak dilakukan masyarakat. Pengolahan bahan makanan sebelum dikonsumsi merupakan salah satu upaya untuk menghilangkan formalin dalam bahan makanan. Pengolahan bahan makanan dengan menggunakan senyawa asam dapat menjadi alternatif untuk menghilangkan formalin dalam bahan makanan. Salah satu senyawa asam alami yang sering digunakan dalam pengolahan bahan makanan adalah belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*). Di sisi lain, kendala dalam mengatasi penyalahgunaan formalin dalam bahan makanan adalah rendahnya pengetahuan masyarakat tentang gizi dan keamanan pangan. Salah satu faktor penyebab rendahnya pengetahuan masyarakat tentang gizi dan keamanan pangan adalah kurang tersedianya buku sebagai sumber belajar oleh masyarakat.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan belimbing wuluh dan perebusan terhadap kadar residu formalin dan profil protein udang putih berformalin. Selain itu, penelitian ini juga bertujuan untuk menyusun buku sumber pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat.

Penelitian dibagi ke dalam dua tahap, yaitu: tahap penelitian eksperimen dan tahap implementasi hasil penelitian eksperimen. Penelitian eksperimen menggunakan rancangan faktorial acak kelompok dengan perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan. Penambahan perasan buah belimbing wuluh terdiri atas lima tingkat perlakuan, yaitu konsentrasi 0% (BW0), 20% (BW1), 40% (BW2), 60% (BW3), dan 80% (BW4). Lama perebusan terdiri dari tiga tingkat perlakuan, yaitu tanpa perebusan atau lama perebusan 0 menit (R0), lama perebusan 30 menit (R1), dan lama perebusan 45 menit (R2). Data dikumpulkan dengan metode rutin laboratoris untuk masing-masing variabel terikat yang meliputi: (1) kadar residu formalin dan (2) profil protein dengan 4

subvariabel, yaitu: kadar protein total; komposisi dan kadar asam amino, Fraksi berat molekul protein, dan sifat imunogenisitas protein. Tahap implementasi dalam penelitian ini merupakan tahap penyusunan buku yang akan digunakan sebagai sumber pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat. Data dianalisis secara deskriptif dan statistik. Analisis data secara statistik menggunakan metode analisis varian (ANOVA) dua jalan, uji korelasi, dan uji regresi, serta uji jarak ganda Duncan (UJGD) pada taraf signifikan 5%.

Penelitian ini telah memperoleh hasil sebagai berikut: (1) kadar residu formalin tertinggi sebesar 0,763 g per 100 g bahan (7630 ppm) diperoleh dari udang putih dengan perlakuan tanpa perebusan dan tanpa penambahan perasan buah belimbing wuluh dan kadar residu formalin terendah sebesar 0,009 g per 100 g bahan (90 ppm) diperoleh dari udang putih dengan perlakuan lama perebusan 45 menit dan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 80%; (2) persentase penurunan kadar residu formalin tertinggi mencapai 99,20% pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 80% dan lama perebusan 45 menit; (3) kadar protein total udang putih tertinggi sebesar 23,028 g per 100 g bahan diperoleh dari perlakuan tanpa perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh 80% dan kadar protein total terendah sebesar 8,103 g per 100 g bahan udang putih diperoleh dari perlakuan lama perebusan 30 menit dan tanpa penambahan perasan buah belimbing wuluh 0%; (4) perlakuan tanpa perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 80% memberikan penurunan kadar protein total udang putih terendah sebesar 0,76%; (5) asam amino udang putih pada semua perlakuan tidak ada perbedaan, baik jenis maupun kadarnya; (6) fraksi protein udang putih berdasarkan berat molekul yang dapat diidentifikasi pada semua perlakuan sebanyak 8 jenis protein, 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. Dari delapan jenis protein, masing-masing mengalami perubahan dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan; (7) protein udang putih segar (US) dan berformalin (UF) dengan berat molekul 37,38 kDa bersifat imunogenik pada mencit (*Mus musculus*) jantan galur BALB/C; (8) hasil penelitian eksperimen telah diimplentasikan dalam bentuk sebuah buku dengan judul **“Panduan Praktis Pengolahan Udang Berformalin dengan Belimbing Wuluh”**.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa (1) penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan berpengaruh secara signifikan terhadap penurunan kadar residu formalin pada udang putih berformalin; (2) penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan berpengaruh secara signifikan terhadap profil protein udang putih berformalin; (3) ada hubungan negatif antara kadar residu formalin dan kadar protein total udang putih dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh; dan (4) hasil penelitian ini telah diimplentasikan dalam bentuk buku sebagai sumber pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat.

## ABSTRACT

Wikanta, Wiwi. 2011. Effect of Cucumber Tree (*Averrhoa Bilimbi L.*) and Boiling to Residual Formaldehyde and Protein Profile of Formalin-contaminated Pacific White Shrimp (*Letapenaeus vannamei*) and Its Uses as a Source of Nutrition and Food Safety Education in Society. Dissertation, Graduate Program in Biology Departement, State University of Malang. Advisors: (I) Prof. Dr. H. Yusuf Abdurrajak, (II) Prof. Dr. dr. H. Sumarno, DMM. Sp.KM., and (III) Dr. Agr. H. Mohamad Amin, S.Pd. M.Sc.

Key words: residual formaldehyde, protein profiles, cucumber tree, boiling, nutrition and food safety

The formalin-contaminated foodstuffs is an important issue in everyday life. This is related to the provision of healthy and safe food ingredients. Formalin is toxic and dangerous chemical compounds that may not be used as a food additive. Meanwhile, people are still many who do not know the impact of formalin-contaminated food hazards. Impact of formalin-contaminated food hazards, not only as a result of direct exposure to formaldehyde on the body, but also as a result of damage food nutrients. Until now, the practice of the use of formalin as a preservative of food still can't be stopped, while the effort to eliminate the formaldehyde in foodstuffs has not been made public. Processing of foodstuffs prior to consumption is one attempt to eliminate the formaldehyde in foodstuffs. Food processing using acid compound may be an alternative to eliminate the formaldehyde in foodstuffs. One of the naturally acidic compounds are often used in the processing of foodstuffs is cucumber tree (*Averrhoa bilimbi L.*). On the other hand, difficulties in dealing with abuse of formaldehyde in foodstuffs is the low public knowledge about nutrition and food safety. One of the factors causing low level of public knowledge about nutrition and food safety is lack of availability of books as a learning resource by the community.

This research was conducted to determine the effect the addition of cucumber tree and boiling on levels of residual formalin and protein profiles of formalin-contaminated pacific white shrimp (*Letapenaeus vannamei*). In addition, this study also aims to develop a source book of nutrition and food safety education to the society.

The study was divided into two stages, that is, experimental research stage and the implementation phase of experimental results. The first, experimental study is using a randomized factorial design with additional treatment of cucumber tree juice and boiling duration. The addition of cucumber tree juice consists of five levels of treatment, the concentration of 0% (BW0), 20% (BW1), 40% (BW2), 60% (BW3), and 80% (BW4). The boiling duration consists of three levels of treatment, that is, without boiling or prolonged boiling 0 minute (R0), boiling 30 minutes (R1), and duration of boiling 45 minutes (R2). Data collected by routine laboratory methods for each of the dependent variables including: (1) residue levels of formalin and (2) profile of proteins with 4 sub variables, namely: total protein content, composition and amino acid levels, protein molecular weight fractions, and the nature immunogenicity of proteins. The second, implementation phase of this research is the preparation stage of a book that will be used as a source of nutrition education and food safety in society. Data were analyzed

descriptively and statistically. Statistical data analysis using two-way analysis of variance (ANOVA), *Product Moment Person* correlation, and regression test, and Duncan's multiple range test (DMRT) at 5% significant level.

This research has obtained the following results: (1) the highest residue levels of formaldehyde at 0.763 g per 100 g (7630 ppm) of material were obtained from pacific white shrimp with the treatment without boiling and without the addition of cucumber tree fruit juice ( $R_0BW_0$ ) and residue levels of formaldehyde as low as 0.009 g per 100 g (90 ppm) of material were obtained from the treatment pacific white shrimp with boiling 45 minutes and the addition of cucumber tree fruit juice on concentration of 80% ( $R_2BW_4$ ); (2) the percentage decrease in the highest residue levels of formaldehyde reached 99.20% in the treatment of the addition of cucumber tree fruit juice on concentration of 80 % and duration of boiling 45 minutes ( $R_2BW_4$ ), (3) the total protein content of pacific white shrimp high of 23.028 g per 100 g of material were obtained from the treatment without boiling and the addition of cucumber tree fruit juices on concentration of 80% ( $R_0BW_4$ ) and the lowest total protein content of 8.103 g per 100 g of material obtained from treatment with boiling 30 minutes and without the addition of cucumber tree fruit juice 0% ( $R_1BW_0$ ), (4) the treatment without boiling and the addition of cucumber tree fruit juice on concentration of 80% ( $R_0BW_4$ ) gives reduction in total protein content of pacific white shrimp lowest of 0.76%, (5) the pacific white shrimp amino acids in all treatments there is no difference, both in types and levels, (6) protein fractions based on molecular weight of pacific white shrimp that can be identified in all treatments were 8 types of proteins, namely: 93.01 kDa, 71.86 kDa, 67.60 kDa, 49.14 kDa, 40.95 kDa, 37.38 kDa, 20.66 kDa and 18.87 kDa. The eight kinds of proteins, each change with the addition of cucumber tree fruit juice and boiling water; (7) protein of fresh pacific white shrimp (US) and formalin-contaminated (UF) with a molecular weight of 37.38 kDa is immunogenic in mice (*Mus musculus*) male strain BALB/C; (8) the results of experimental studies have implemented in the form of a book titled "Practical Guide Processing of the Formalin-contaminated Shrimp with Cucumber tree".

The results of this study can be concluded that: (1) the addition of cucumber tree juice and boiling significantly affect the decline of residual formaldehyde levels in the formalin-contaminated pacific white shrimp; (2) the addition of cucumber tree and boiling significantly affect the total content, molecular weight fraction, and the nature immunogenicity protein of formalin-contaminated pacific white shrimp; (3) the addition of cucumber tree and boiling not significantly affect the amino acid levels; (4) there is a negative relationship between levels of residual formalin and total protein content of formalin-contaminated pacific white shrimp with the addition of cucumber tree fruit juice; and (5) the results of this study have been implemented in the form of a book as a source of nutrition and food safety education in society.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, atas berkat rahmat, hidayah, dan ridha-Nya, akhirnya penulisan disertasi ini dapat diselesaikan tepat waktu.

Penulisan disertasi ini, merupakan bentuk tugas akhir untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar doktor pada Program Studi Pendidikan Biologi Pascasarjana Universitas Negeri Malang. Disertasi ini disusun dengan judul **“Pengaruh Penambahan Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Perebusan terhadap Residu Formalin dan Profil Protein Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) Berformalin serta Pemanfaatannya sebagai Sumber Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan pada Masyarakat”**.

Penulis menyadari sepenuhnya atas segala kekurangan dan kelemahan dalam penulisan disertasi ini, tanpa bantuan dan dorongan dari semua pihak tidak mungkin tulisan ini dapat terselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis ingin menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya dan ucapan terima kasih yang sebanyak-banyaknya kepada yang terhormat:

1. Bapak Prof. Dr. H. Yusuf Abdurrajak, sebagai Pembimbing Utama (I) yang dengan penuh kesabaran dan pengorbanan waktu, pemikiran dan tenaga dalam memberikan perhatian, arahan, masukan dan dorongan semangat yang sangat berharga dalam penyelesaian disertasi ini.
2. Bapak Prof. Dr. dr. H. Sumarno, DMM, Sp.KM., sebagai Pembimbing II, disela-sela kesibukkannya, senantiasa meluangkan waktu untuk membimbing, memotivasi, mengoreksi, dan memantau penulis untuk secepatnya mengerjakan penulisan disertasi.

3. Bapak Dr. agr. H. Mohamad Amin, S.Pd., M.Si, sebagai Pembimbing III sekaligus sebagai Ketua Program Studi Pendidikan Biologi Program Pascasarjana Universitas Negeri Malang, atas bimbingan, motivasi, dan bantuan dalam memfasilitasi kelancaran penyelesaian studi dan penulisan disertasi ini.
4. Semua Dewan Penguji, yang telah memberikan masukan dan saran demi kesempurnaan seluruh isi disertasi ini.
5. Bapak Prof. Dr. H. Suparno, M.Pd. sebagai Rektor Universitas Negeri Malang yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan program doktor.
6. Bapak Prof. Dr. I Nyoman Sudana Degeng, M.Pd., sebagai Direktur, serta seluruh pimpinan dan staf administrasi Pascasarjana Universitas Negeri Malang yang telah banyak memberi bantuan sarana, prasarana, dan informasi serta kerja sama yang baik selama menyelesaikan studi.
7. Bapak Prof. Dr. H. Zainuddin Maliki, M.Si, sebagai Rektor Universitas Muhammadiyah Surabaya yang telah memberi kesempatan, izin, dan kelonggaran dalam melaksanakan tugas sehari-hari selama menyelesaikan studi.
8. Semua Pimpinan dan teman sejawat di lingkungan Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, khususnya di Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Muhammadiyah Surabaya yang telah memberikan dukungan moral dan masukan-masukannya selama studi.
9. Semua Pimpinan dan Staf: (1) Lab. Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Muhammadiyah Surabaya, terutama Sdri. Kamaliyah, S.Pd. dan Faula Trisna, S.Pd.; (2) Lab. Biomedik Universitas Brawijaya, terutama Sdri. Heni Triwahyuni; (3) Lab. Kimia Jurusan Pendidikan Biologi Universitas

Muhammadiyah Malang, terutama Sdr. Ariesandy, M.Si.; dan (4) Lab. Kimia Terpadu IPB, yang telah banyak membantu dalam pengumpulan data selama penelitian untuk penulisan disertasi ini.

10. Semua teman seperjuangan dalam menempuh studi di Program Pascasarjana Universitas Negeri Malang, khususnya Angkatan Tahun 2008, yang telah sama-sama saling memotivasi dan memberi masukan dalam menyelesaikan studi dari awal hingga akhir.
11. Istri tercinta, Siti Ainun Amelia, A.Md. dan Ananda Jihadi Abdillah Jabbar serta seluruh keluarga yang telah banyak membantu dan memberi dorongan moral selama penyelesaian tugas belajar ini.
12. Semua pihak yang tidak mungkin penulis sebutkan satu per satu yang telah banyak memberi masukan, motivasi, dan bantuan selama studi.

Akhirnya, penulis berharap disertasi ini dapat memberikan manfaat, baik bagi penulis sendiri maupun bagi kemajuan dunia pendidikan umumnya. Semoga segala kebaikan semua pihak dapat dibalas Allah SWT dengan pahala yang berlipat ganda, amiin.

Malang, April 2011  
Penulis

Wiwik Wikanta

## DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK .....	v
<i>ABSTRACT</i> .....	vii
KATA PENGANTAR .....	ix
DAFTAR ISI .....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiv
DAFTAR GAMBAR .....	xvi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xviii
BAB I    PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Rumusan Masalah .....	9
C. Tujuan Penelitian .....	9
D. Kegunaan Penelitian .....	10
E. Asumsi Penelitian .....	12
F. Ruang Lingkup dan Keterbatasan Peneltiaan .....	12
1. Ruang Lingkup Penelitian .....	12
2. Keterbatasan Penelitian .....	14
G. Definisi Istilah dan Operasional .....	15
BAB II    KAJIAN PUSTAKA .....	17
A. Formalin dalam Pengawetan Bahan Makanan.....	17
1. Struktur dan Sifat-sifat Formalin .....	17
2. Toksisitas Formaldehid .....	19
3. Transformasi Formaldehid .....	23
4. Formalin sebagai Bahan Pengawet .....	30
5. Formalin dalam Bahan Makanan .....	34
B. Protein Bahan Makanan .....	38
1. Struktur dan Sifat Kimia Protein .....	38
2. Kebutuhan Protein Tubuh .....	41
3. Kualitas Protein Bahan Makanan .....	48
4. Kerusakan Protein Bahan Makanan .....	50
5. Sifat Imunogenesitas Protein Bahan Makanan .....	53
C. Udang Putih ( <i>Letapenaeus vannamei</i> ) sebagai Sumber .....	59



	Protein .....	
	1. Aspek Biologi Udang Putih .....	59
	2. Komposisi Gizi dan Kualitas Udang .....	60
	3. Pengolahan Udang Pascapanen .....	62
D.	Belimbing Wuluh ( <i>Averhoa bilimbi</i> L) .....	66
	1. Karakteristik Tumbuhan Belimbing Wuluh .....	66
	2. Kandungan Gizi Buah Belimbing Wuluh .....	67
	3. Pemanfaatan Buah Belimbing Wuluh .....	68
	4. Sifat Senyawa Asam Buah Belimbing Wuluh .....	69
	5. Sifat Senyawa Flavonoid Buah Belimbing Wuluh ...	72
E.	Prinsip-prinsip Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan pada Masyarakat .....	73
	1. Arti Penting Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan .	73
	2. Model Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan pada Masyarakat .....	80
	3. Buku sebagai Sumber Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan .....	82
F.	Kerangka Berpikir Penelitian .....	86
G.	Hipotesis Penelitian .....	90
<b>BAB III</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>91</b>
	A. Rancangan Penelitian .....	91
	B. Waktu dan Tempat Penelitian .....	93
	C. Populasi dan Sampel .....	93
	D. Instrumen Penelitian .....	94
	E. Pengumpulan Data .....	95
	F. Analisis Data .....	106
	G. Implementasi Hasil Penelitian .....	107
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>109</b>
	A. Deskripsi Data Penelitian .....	109
	1. Profil Sampel Penelitian .....	109
	2. Kadar Residu Formalin Udang Putih dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Perebusan .....	111
	3. Profil Protein Udang Putih dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Perebusan. ...	115
	a. Kadar Protein Total Udang Putih .....	115
	b. Komposisi dan Kadar Asam Amino Udang Putih	118

c.	Fraksi Berat Molekul Protein Udang Putih .....	120
d.	Karakteristik Protein Udang Putih .....	125
4.	Hubungan Kadar Residu Formalin dan Kadar Protein Total Udang Putih .....	127
B.	Pengujian Hipotesis .....	129
1.	Uji Hipotesis Pengaruh Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Lama Perebusan Terhadap Kadar Residu Formalin pada Udang Putih .....	130
2.	Uji Hipotesis Pengaruh Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Lama Perebusan Terhadap Protein Total pada Udang Putih .....	135
3.	Uji Hipotesis Pengaruh Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh Terhadap Kadar Asam Amino pada Udang Putih .....	139
4.	Uji Hipotesis Hubungan antara Kadar Residu Formalin dengan Kadar Protein Total Udang Putih sebagai Pengaruh Lama Perebusan dan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh .....	140
C.	Teknik Penyusunan dan <i>Layout</i> Buku Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan .....	142
BAB V	PEMBAHASAN .....	145
A.	Efektivitas Penurunan Kadar Residu Formalin dalam Udang Putih dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Perebusan .....	145
B.	Perubahan Profil Protein Udang Putih dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Perebusan .....	149
C.	Arti Penting Buku Pendidikan Gizi dan Keamanan Bahan Makanan .....	157
BAB VI	PENUTUP .....	161
A.	Kesimpulan .....	161
B.	Saran .....	162
	DAFTAR PUSTAKA .....	164
	LAMPIRAN.....	177

## DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
1.1	Penjabaran Variabel Terikat, Indikator Empiris, dan Jenis Data Penelitian Eksperimen .....	13
2.1	Sifat-sifat Fisika dan Kimia Formaldehid .....	17
2.2	Karakteristik Bahan Makanan Mengandung Formalin .....	36
2.3	Kandungan Formalin dalam Beberapa Bahan Makanan .....	38
2.4	Energi Ikatan pada Struktur Protein ... ..	40
2.5	Daftar Anjuran Kebutuhan Protein Harian berdasarkan Kelompok Umur dan Selama Kehamilan dan Menyusui .....	43
2.6	Asam Amino yang Tersedia di Alam .....	44
2.7	Daftar <i>Provisional Amino Acid Pattern</i> .....	46
2.8	Kadar Protein Beberapa Bahan Makanan .....	48
2.9	Kandungan Asam Amino Esensial Beberapa Sumber protein nabati dan Hewani .....	49
2.10	Pengaruh Panas terhadap Protein .....	52
2.11	Faktor-faktor yang Menentukan Immunogenisitas dan Tolerogenisitas .....	59
2.12	Komposisi Gizi Sumber Protein Hewani .....	61
2.13	Kandungan Asam Amino Udang Ronggeng dan Udang Karang Segar .....	61
2.14	Beberapa Cara Pengawetan ( <i>Preservation</i> ) Bahan Makanan .....	64
2.15	Kandungan Gizi Buah BelimbingWuluh dalam setiap 100 g .....	68
2.16	Perbedaan Karakteristik Orang Dewasa dan Anak-anak .....	81
3.1	Kombinasi Perlakuan Rancangan Faktorial 3 X 5 Pengaruh Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Lama Perebusan terhadap Kadar Residu Foramalin dan Profil Protein Udang Putih ...	92
3.2	Penempatan Hasil Random Sampling Rancangan Faktorial Acak Kelompok ..	93
4.1	Karakteristik Udang Putih .....	110
4.2	Karakteristik Buah Belimbing Wuluh .....	111
4.3	Komposisi Kimia Perasan Buah Belimbing Wuluh .....	111
4.4	Rerata, Simpangan Baku, dan Persentase Penurunan Kadar Residu Formalin Udang Putih .....	112
4.5	Persentase Penurunan Kadar Residu Formalin Udang Putih pada	

Berbagai Perlakuan .....	114
4.6 Rerata, Simpangan Baku, dan Persentase Penurunan Kadar Protein Total Udang Putih .....	115
4.7 Persentase Penurunan Kadar Protein Total Udang Putih pada Berbagai Perlakuan .....	117
4.8 Komposisi dan Kadar Asam Amino Udang Putih dalam Berbagai Perlakuan .....	119
4.9 Profil Protein Udang Putih Berdasarkan Berat Molekul dalam kDa pada Berbagai Perlakuan .....	124
4.10 Hubungan Rerata Kadar Residu Formalin dan Protein Total Udang Putih pada Berbagai Perlakuan .....	127
4.11 Rangkuman Hasil ANOVA Dua Jalan Kadar Residu Formalin Udang Putih .....	132
4.12 Rangkuman Hasil Uji DMRT Rerata Kadar Residu Formalin Udang Putih Berdasarkan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh .....	133
4.13 Rangkuman Hasil Uji DMRT Rerata Kadar Residu Formalin Udang Putih Berdasarkan Penambahan Lama Perebusan .....	134
4.14 Rangkuman Hasil ANOVA Dua Jalan Kadar Protein Total Udang Putih .....	136
4.15 Rangkuman Hasil Uji DMRT Rerata Kadar Protein Total Udang Putih Berdasarkan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh ...	137
4.16 Rangkuman Hasil Uji DMRT Rerata Kadar Protein Total Udang Putih Berdasarkan Penambahan Lama Perebusan .....	138
4.17 Rangkuman Hasil ANOVA Satu Jalan Kadar Asam Amino Udang Putih .....	140
4.18 Hasil Analisis Kebutuhan Penyusunan Buku .....	141
4.19 Rangkuman Hasil Uji Regresi Linier Sederhana .....	142
4.20 Hasil Analisis Kebutuhan Penyusunan Buku .....	143

## DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
2.1	Rumus Struktur Formladehid .....	18
2.2	Reaksi Pembentukan Polimer Formaldehid (atas) dan Depolimerisasi Paraformaldehid (bawah) .....	19
2.3	Reaksi Umum Cannizzaro .....	24
2.4	Reaksi Protonasi Gugus karbonil dengan Asam H <sup>+</sup> .....	24
2.5	Reaksi Reversibel Adisi Aldehid dengan Alkohol Berkatalis Asam .....	25
2.6	Reaksi Adisi-Eliminasi Aldehid dengan Amina Primer .....	26
2.7	Reaksi Pembentukan Formaldehid dari Metanol .....	26
2.8	Reaksi Pelepasan Aldehid dari Campuran .....	27
2.9	Reaksi Pembentukan Formaldehid dari Siklus Metana di Atmosfer .....	29
2.10	Metabolisme Formaldehid .....	28
2.11	Reaksi Biologis dan Metabolisme Formaldehid .....	29
2.12	Reaksi Formaldehid dengan Protein .....	33
2.13	Pembentukan Jembatan Metilen antara Asam Amino Lisin dan Glutamin pada Protein yang berbeda .....	34
2.14	Asam Amino dalam Berbagai Suasana pH .....	39
2.15	Pembentukan Peptida .....	39
2.16	Hubungan Kuantitatif untuk Proses Pertukaran Protein dan Asam Amino .....	42
2.17	Skematik Mekanisme Alergi .....	56
2.18	Konsekuensi Pertemuan Limfosit dengan Antigen .....	58
2.19	Struktur Kimia Asam Oksalat dan Asam Sitrat .....	70
2.20	Oksidasi Asam Askorbat .....	71
2.21	Senyawa Fenol dan Terpenoid .....	73
2.22	Konsep Tanggung jawab Bersama Keamanan Makanan .....	79
2.23	Bagan Kerangka Berpikir Penelitian .....	89
3.1	Bagan Rangkuman Prosedur Penelitian .....	108
4.1	Grafik Kadar Residu Formalin pada Udang Putih dengan Perebusan dan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh .....	113

4.2	Grafik Kadar Protein Total pada Udang Putih dengan Perebusan dan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh ...	116
4.3	Diagram Batang Kadar Asam Amino Udang Putih dalam Berbagai Perlakuan .....	120
4.4	Profil Protein Udang Putih Berdasarkan Berat Molekul (BM) pada Perlakuan Berbagai Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh Tanpa Perebusan .....	121
4.5	Profil Protein Udang Putih Berdasarkan Berat Molekul (BM) pada Perlakuan Berbagai Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Lama Perebusan. 30 menit .....	122
4.6	Profil Protein Udang Putih Berdasarkan Berat Molekul (BM) pada Perlakuan Berbagai Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Lama Perebusan 45 Menit .....	123
4.7	Karakteristik Protein Udang Putih pada Mencit ( <i>Mus musculus</i> ) dengan <i>Western Blot</i> .....	126
4.8	Grafik Kadar Residu Formalin dan Protein Total Udang Putih ..	128
4.9	Grafik Hubungan Kadar Residu Formalin dan Protein Total Udang Putih .....	128

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang Masalah**

Makanan merupakan salah satu kebutuhan pokok manusia yang menentukan tingkat kesehatan tubuh. Makanan adalah sumber zat gizi atau *nutrient* bagi tubuh (Tejasari, 2005). Zat-zat gizi dari makanan dibutuhkan tubuh untuk pertumbuhan, mempertahankan dan memperbaiki jaringan tubuh, mengatur proses dalam tubuh, dan menyediakan energi bagi fungsi tubuh. Zat gizi yang harus ada dalam bahan makanan agar tubuh sehat, meliputi: protein, lemak, karbohidrat, vitamin dan mineral (Sediaoetama, 2010).

Bahan makanan yang harus dikonsumsi adalah bahan makanan yang sehat dan aman. Bahan makanan sehat menurut Sediaoetama (2010) adalah bahan makanan yang mengandung zat gizi lengkap. Bahan makanan yang dikonsumsi tidak cukup hanya sehat saja, tetapi bahan makanan harus memenuhi kriteria aman. Aman artinya bahan makanan yang dikonsumsi harus bebas dari bahan racun dan berbahaya (Widmer, 2006; Hariyadi dan Andarwulan, 2007).

Sementara itu, penyediaan bahan makanan sehat dan aman, bukan hal yang mudah. Pada umumnya, bahan makanan berasal dari komoditas pertanian, perikanan dan perkebunan yang rentan mengalami kerusakan dan pembusukan, sehingga tidak layak untuk dikonsumsi. Bahan makanan yang mengalami pembusukan, selain memiliki cita rasa yang tidak enak juga akan membahayakan kesehatan tubuh bila dikonsumsi (Supardi dan Sukamto, 1999). Oleh karena itu, pengolahan bahan makanan pasca panen sering dilakukan untuk mempertahankan kondisi bahan makanan layak konsumsi.

Di satu sisi, pengolahan bahan makanan dapat memberikan keuntungan dengan tersedianya bahan makanan yang berlimpah. Di sisi lain, pengolahan bahan makanan, juga dapat menimbulkan kerugian. Pengolahan bahan makanan, sering menyebabkan hilangnya sebagian zat gizi penting. Selain itu, pengolahan bahan makanan dapat juga menyebabkan timbulnya senyawa baru yang kadang-kadang beracun dan berbahaya (Apriyantono, 2002; Desrosier, 2008).

Pengawetan merupakan salah satu cara pengolahan bahan makanan yang umum dilakukan pasca panen. Pengawetan pada hakikatnya adalah merupakan salah satu usaha untuk menekan, mengurangi atau menghalangi mikroba yang tergolong patogen dan penghasil racun pada bahan makanan (Supardi dan Sukanto, 1999). Namun, pengawetan yang salah, baik dalam penggunaan zat pengawet maupun proses pengolahannya, bukan saja merusak zat gizi bahan makanan tetapi sering membawa zat kontaminan yang berbahaya (Widmer, 2006).

Kasus bahan makanan berformalin merupakan salah satu contoh pengawetan bahan makanan yang salah. Bahan makanan berformalin menjadi 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.

Formalin adalah larutan formaldehid dalam air dengan sedikit methanol sebagai agen penstabil larutan. Formaldehid adalah gas tidak berwarna, mudah terbakar, dan berbau menyengat. Formaldehid merupakan bahan yang biasa digunakan untuk fumigan, disinfektan, pengawetan specimen biologis, pembalsaman mayat, produksi resin dengan urea, fenol, melamin dan resin poliasetal, bahan antara pembuatan senyawa kimia industrial lain (WHO, 1989;



IARC, 2006). Formalin atau formaldehid, secara nyata telah menimbulkan dampak buruk terhadap kesehatan, baik akut maupun kronis (Ritchie dan Lehnen, 1987; Naria, 2004; Oldham, Hart, dan Bines, 1982; Patel, dkk., 2003; Shaham, dkk., 1996; Zahra, dkk., 2007; Nolodewo, dkk., 2007; Hadi, 2009).

Sementara ini, masyarakat banyak yang masih belum memahami dampak bahaya bahan makanan berformalin (wikanta, 2010; Wikipedia, 2011). 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 lain, seperti protein, lemak dan karbohidrat (Suntoro, 1983). Formaldehid mampu memodifikasi atau mendenaturasi protein dan asam nukleat melalui proses alkilasi antara gugus  $-NH_2$  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, tetapi pada konsentrasi tinggi (40%) selain akan mengeraskan jaringan, juga dapat mengendapkan protein (Suntoro, 1983).

Pengerasan jaringan pada bahan makanan menyebabkan protein menjadi sulit dicerna dan diserap (Apriyantono, 2002; Hove dan Lohrey, 1976). Protein yang sulit dicerna, akan mengganggu penyediaan kebutuhan asam amino tubuh. Kegagalan absorpsi (malabsorpsi) zat gizi menjadi salah satu penyebab kekurangan gizi sekunder (Chandrasoma dan Taylor, 2006). Perlakuan formalin pada sejumlah bahan makanan seperti ikan nila (Kartikaningsih, 2006), udang

putih (Kurnia, 2007), 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.

Selain itu, protein bahan makanan yang tidak dapat dicerna akan menjadi bahan asing (antigen) bagi tubuh, sehingga menimbulkan respon imun (Brody, 1994). Formaldehid menurut Trihapsoro (2003) termasuk ke dalam kelompok antigen haptan. Dimana, pengikatan molekul yang tidak bersifat imunogenik tetapi dapat bereaksi dengan protein yang bersifat imunogenik (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009). Anggapan sebagian masyarakat bahwa formalin dalam bahan makanan tidak berbahaya (groups.google, 2006), perlu adanya pembuktian secara ilmiah.

Sampai saat ini, praktek penggunaan formalin sebagai pengawet bahan makanan masih sering dilakukan oleh produsen, seperti terungkap dari hasil survei di beberapa daerah (Judarwanto, 2006; Kholilah, 2006; Karo-karo, Trijaya dan Fit, 2008; Darlis, 2009; Kasi BPOM Dinkes, 2009; Virdhani, 2009; Jawa Pos, 2009; Rhiizthii, 2009; Surya, 2010). Pada umumnya, bahan makanan berformalin merupakan sumber bahan makanan pokok masyarakat. Dengan demikian, bahan makanan berformalin menjadi ancaman bagi kesehatan dan keselamatan 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.

Pengetahuan masyarakat tentang pengolahan bahan makanan menjadi faktor penting dalam penyediaan bahan makanan sehat dan aman (WHO, 2005).

Penyajian atau memasak menjadi bagian penting lain dalam pengolahan bahan makanan. Secara umum, pengolahan komersial melibatkan proses pemanasan, pendinginan, pengeringan, penambahan bahan kimia, fermentasi, radiasi, dan perlakuan lain (Apriyantono, 2002). Pemanasan (pengolahan panas/*thermal*) dan penambahan bahan kimia (pengolahan kimiawi) merupakan proses pengolahan bahan makanan yang biasa dilakukan masyarakat (Sediaoetama, 2009).

Perebusan dan penambahan bahan kimia (bumbu masak) tidak dapat dipisahkan dari proses memasak. Selama ini, pengaruh perebusan dan penambahan bumbu masak terhadap zat-zat yang terkandung dalam bahan makanan belum mendapat perhatian masyarakat. Padahal, selama pengolahan panas, zat-zat gizi bahan makanan akan mengalami perubahan, baik menguntungkan maupun merugikan, karena zat-zat gizi peka terhadap pH, oksigen, cahaya, panas, dan kombinasinya (Harris dan Karmas (Eds), 1989).

Pemanasan protein dapat menyebabkan terjadinya reaksi-reaksi, baik yang diharapkan maupun yang tidak diharapkan, di antaranya denaturasi, kehilangan aktivitas enzim, perubahan kelarutan dan hidrasi, perubahan warna, derivatisasi residu asam amino, *cross-linking*, pemutusan ikatan peptida, dan pembentukan senyawa yang secara sensori aktif. Reaksi-reaksi yang terjadi selama pengolahan bahan makanan dipengaruhi beberapa faktor, di antaranya suhu, lama pemanasan, pH, adanya oksidator, antioksidan, radikal, dan senyawa aktif lain khususnya senyawa karbonil (Apriyantono, 2002).

Bumbu masak asam adalah salah satu zat tambahan yang sering digunakan dalam proses pengolahan bahan makanan. Secara umum, penambahan bahan kimia selama proses pengolahan bahan makanan akan mempengaruhi zat

gizi dan senyawa lain, sebagaimana halnya dalam pengolahan bahan makanan dengan garam dan gula (Desrosier, 2006). Keasaman (pH) lingkungan dalam pengolahan bahan makanan dapat mempengaruhi zat-zat yang terkandung dalam bahan makanan. Keasaman yang tinggi ( $\text{pH} < 7$ ) menyebabkan denaturasi protein dan hidrolisis ikatan polipeptida pada struktur primer lebih cepat (Wilbraham dan Matta, 1992).

Dalam beberapa reaksi kimia, misalnya hidrolisis, asam dapat berfungsi sebagai katalis, selain sebagai reaktan dan produk (Wilson dan Goulding (Eds.), 1989). Katalis adalah suatu zat yang meningkatkan kecepatan suatu reaksi kimia tanpa dirinya mengalami perubahan kimia yang permanen (Keenan, dkk. 1998; Nasikin dan Susanto, 2010). Kecepatan laju reaksi sangat penting dalam reaksi kimia sehingga perubahan kimia atau hasil reaksi yang diharapkan (rendeman) dapat diperoleh dalam waktu yang cepat.

Banyak macam bumbu masak asam yang sering digunakan dalam mengolah bahan makanan, baik sintetis maupun alami. Belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) adalah salah satu bumbu alami yang sering digunakan masyarakat dalam memasak (Sufi, 2009). Tetapi selama ini, penggunaan belimbing wuluh dalam memasak belum menyentuh masalah perubahan zat-zat yang terkandung dalam bahan makanan. Penggunaan belimbing wuluh lebih cenderung sebagai pemberi rasa asam.

Dalam hubungannya dengan pengolahan bahan makanan berformalin, penambahan asam dapat digunakan untuk menghilangkan formalin dalam bahan makanan. Ada penelitian yang menunjukkan bahwa perendaman ikan segar dalam air cuka 5% selama 15 menit dapat menghilangkan formalin sampai mencapai 100% (Sukezi, 2006). Sumber lain mengungkapkan bahwa perendaman

ikan asin berformalin dengan air, air garam, dan air leri dapat menurunkan kadar formalin antara 60 – 89% (Raihan , 2003). Riawan (1990) mengemukakan bahwa pemisahan aldehid dalam suatu campuran, di antaranya dapat dilakukan dengan asam.

Banyak bahan makanan, sebagai sumber protein penting, telah terkontaminasi formalin, di antaranya udang (Kurnia, 2007). Udang merupakan sumber protein yang banyak dikonsumsi masyarakat. Jika udang berformalin dikonsumsi tanpa perlakuan sebelumnya, maka akan membahayakan bagi kesehatan dan keselamatan konsumen. Oleh karena itu, penggunaan belimbing wuluh dalam pengolahan udang menjadi alternatif yang dapat dilakukan masyarakat.

Permasalahan lain yang masih menjadi kendala dalam pengolahan bahan makan adalah masih rendahnya pengetahuan masyarakat tentang gizi dan keamanan pangan (Hariyadi dan Andarwulan, 2007). Rendahnya pengetahuan masyarakat tentang gizi dan keamanan pangan mengakibatkan kesalahan dalam pengolahan bahan makanan, baik proses maupun penggunaan bahan tambahan. Penyalahgunaan formalin dalam bahan makanan merupakan salah satu gambaran kurangnya pengetahuan masyarakat tentang gizi dan keamanan pangan (Wikanta, 2010).

Pengetahuan masyarakat tentang memilih dan mengolah bahan makanan sangat penting. Rendahnya pengetahuan masyarakat tentang memilih dan mengolah bahan makanan, selain disebabkan rendahnya pendidikan, juga karena masih kurang tersedianya sumber pengetahuan yang murah dan mudah dipahami masyarakat (Wikanta, 2010). Oleh karena itu, hasil-hasil penelitian perlu

dipublikasikan dalam berbagai bentuk yang dapat terjangkau oleh masyarakat luas.

Buku merupakan salah satu bentuk publikasi yang sering digunakan oleh para ilmuwan. Buku sebagai media cetak memiliki kelebihan dari bentuk publikasi yang lain, di antaranya ekonomis, lingkup sasaran luas, bersifat umum, pengadaan mudah, dan mudah penggunaannya (Duncan dalam Sadiman, dkk., 2005). Buku juga dapat ditulis dengan berbagai macam bentuk, seperti buku ilmiah populer.

Buku ilmiah populer adalah bentuk buku yang berisi pengetahuan ilmiah dengan gaya penulisan dan bahasa yang sederhana sehingga mudah dipahami masyarakat awam. Buku ilmiah populer dalam bentuk buku saku (*pocket book*) merupakan salah satu bentuk buku yang cocok untuk masyarakat awam (Brotowidjoyo, 1993). Dengan demikian, buku dapat dijadikan sebagai sumber pengetahuan dan keterampilan tentang pengolahan bahan makanan yang sehat dan aman.

Berdasarkan uraian di atas, perlu adanya penelitian tentang penggunaan belimbing wuluh dalam proses pengolahan bahan makanan berformalin dan publikasinya yang luas kepada masyarakat. Penelitian ini mengambil judul: “Pengaruh Penambahan Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Perebusan terhadap Residu Formalin dan Profil Protein Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) Berformalin serta Pemanfaatannya sebagai Sumber Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan pada Masyarakat”.

## **B. Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian latar belakang masalah di atas, masalah penelitian ini dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah ada pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin?
2. Apakah ada pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap profil protein (kadar protein total, komposisi dan kadar asam amino, fraksi berat molekul, dan sifat imunogenesitas) udang putih berformalin?
3. Apakah ada pengaruh lama perebusan terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin?
4. Apakah ada pengaruh lama perebusan terhadap profil protein (kadar protein total, komposisi dan kadar asam amino, fraksi berat molekul, dan sifat imunogenesitas) udang putih berformalin?
5. Apakah ada pengaruh interaksi antara penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan terhadap kadar residu formalin dan profil protein udang putih berformalin?
6. Apakah ada hubungan antara kadar residu formalin dan kadar protein total udang putih dengan penambahan perasan buah Belimbing Wuluh?
7. Apa bentuk implementasi hasil penelitian ini yang dapat digunakan masyarakat sebagai sumber pendidikan gizi dan keamanan pangan?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin.

2. Untuk mengetahui pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap profil protein udang putih berformalin.
3. Untuk mengetahui pengaruh lama perebusan terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin?
4. Untuk mengetahui pengaruh lama perebusan terhadap profil protein udang putih berformalin.
5. Untuk mengetahui pengaruh interaksi antara penambahan perasan buah Belimbing Wuluh dan lama perebusan terhadap kadar residu formalin dan profil protein udang putih berformalin.
6. Untuk mengetahui hubungan antara kadar residu formalin dan kadar protein total udang putih dengan penambahan perasan buah Belimbing Wuluh dan lama perebusan.
7. Untuk mengimplementasikan hasil penelitian dalam bentuk buku sebagai sumber pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat.

#### **D. Kegunaan Penelitian**

Ketersediaan bahan makanan yang sehat dan aman, sangat penting yang akan mendukung pembangunan sumber daya manusia yang berkualitas. Oleh karena itu, perlu adanya penelitian-penelitian yang secara berkelanjutan memberikan informasi tentang sumber-sumber dan teknik pengolahan bahan makanan sehat dan aman. Penelitian ini, merupakan salah satu upaya dalam mencari jalan keluar dari permasalahan yang dihadapi masyarakat tentang bahan makanan berformalin.



Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, baik dalam kehidupan praktis maupun sebagai bahan pengembangan keilmuan.

#### 1. Kegunaan Praktis untuk Masyarakat

Hasil penelitian ini dapat menjadi alternatif cara pengolahan bahan makanan berformalin yang lebih mudah dan murah bagi masyarakat dengan memanfaatkan potensi sumber daya hayati yang berlimpah.

#### 2. Kegunaan untuk Institusi

##### a. Institusi Pendidikan

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber pengayaan bahan pembelajaran pendidikan gizi dan keamanan pangan di sekolah, baik tingkat dasar, menengah maupun perguruan tinggi. Secara khusus, hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai sumber pengetahuan dan keterampilan pembelajaran muatan lokal mata pelajaran IPA dan Biologi.

##### b. Institusi Kesehatan dan Institusi lain yang terkait

Hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai bahan rujukan lembaga kesehatan masyarakat, khususnya lembaga yang bertanggung jawab terhadap kesehatan gizi dan keamanan pangan seperti BPOM, dalam memberikan pendidikan dan pelatihan pengolahan bahan makanan yang sehat dan aman pada masyarakat.

#### 3. Kegunaan untuk Pengembangan Ilmu

Hasil penelitian ini dapat memperkaya khazanah ilmu pengetahuan dan teknologi pengolahan bahan makanan, khususnya tentang pengolahan bahan makanan berformalin. Hasil penelitian ini dapat menjadi bahan pemikiran untuk penelitian serupa lebih lanjut dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi di bidang gizi dan keamanan pangan.

## **E. Asumsi Penelitian**

Penelitian ini didasarkan pada asumsi sebagai berikut:

1. Udang merupakan salah satu bahan makanan yang banyak dikonsumsi masyarakat.
2. Penggunaan formalin dalam pengolahan bahan makanan dapat mengkontaminasi seluruh bagian bahan makanan.
3. Belimbing wuluh merupakan bahan alami yang biasa digunakan dalam pengolahan bahan makanan oleh masyarakat.

## **F. Ruang Lingkup dan Keterbatasan Penelitian**

### **1. Ruang Lingkup Penelitian**

Penelitian ini dibagi kedalam dua tahap penelitian, yaitu penelitian eksperimen dan implementasi hasil penelitian eksperimen. Penelitian eksperimen merupakan tahap penelitian yang dirancang untuk memecahkan permasalahan tentang gizi dan keamanan bahan makanan berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan. Tahap implementasi penelitian merupakan tahap penerapan hasil penelitian eksperimen dalam bidang pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat.

Variabel bebas dalam penelitian eksperimen meliputi dua faktor variabel, yaitu penambahan perasan buah belimbing sebagai faktor kesatu dan lama perebusan sebagai faktor kedua. Variabel bebas faktor pertama terdiri dari lima tingkat perlakuan konsentrasi perasan buah belimbing wuluh, yaitu 0%, 20%, 40%, 60% dan 80%. Variabel bebas faktor kedua terdiri dari tiga tingkat perlakuan lama perebusan, yaitu 0 menit atau tanpa perebusan, 30 menit, dan 45 menit.

Variabel terikat dalam penelitian eksperimen meliputi dua macam variabel, yaitu kadar residu formalin dan profil protein. Penjabaran masing-masing variabel terikat disajikan pada Tabel 1.1.

Tabel 1.1 Penjabaran Variabel Terikat, Indikator Empris dan Jenis Data Penelitian Eksperimen

Jenis Variabe Terikat		Indikator Empiris	Jenis Data
Variabel Utama	Subvariabel		
1. Kadar Residu Formalin	-	Jumlah kadar formalin sampel yang dihitung secara kuantitatif dari suatu pengukuran dengan metode spektrofotometri dalam satuan g % atau ppm	Ratio
2. Profil Protein:	a. Kadar Protein Total	Jumlah kadar protein sampel yang dihitung secara kuantitatif dengan metode volumetrik semi-mikro Kjeldahl dalam satuan g %	Ratio
	b. Komposisi Asam Amino	Susunan macam asam amino sampel yang muncul dalam histogram hasil pengukuran secara kromatografi.	-
	c. Kadar Asam Amino	Jumlah kadar asam amino sampel yang dihitung secara kuantitatif dari kurva hasil pengukuran dengan metode kromatografi.	Ratio
	d. Fraksi Berat Molekul	Jenis pita berat molekul protein sampel yang muncul dalam pemisahan secara elektroforesis	-
	e. Karakterisasi isolat	Sifat imunogenik jenis protein isolat yang ditunjukkan dengan munculnya pita pada pemeriksaan secara <i>Western Blotting</i> .	-

Variabel kontrol dalam penelitian eksperimen ini adalah jenis udang, jenis, warna, dan ukuran buah belimbing wuluh, volume air dan suhu rebusan. Penelitian eksperimen menggunakan sampel udang putih berformalin hasil perendaman dengan formalin 5% selama 60 menit. Alasan penggunaan udang putih dalam penelitian eksperimen ini, karena udang merupakan jenis udang yang banyak diperjualbelikan di pasar tradisional. Penelitian eksperimen dilaksanakan pada Bulan Juli 2010-Februari 2011. Tempat penelitian di laboratorium, yaitu Lab. Biologi UMSurabaya, Lab. Kimia UMM, Lab. Biomedik UB, dan Lab. Kimia Terpadu IPB.

## 2. Keterbatasan Penelitian

Demikian luas dan kompleks-nya permasalahan yang berhubungan dengan gizi dan keamanan bahan makanan berformalin ini, serta terbatasnya waktu yang tersedia, sehingga tidak mungkin semua aspek dapat dikaji dalam penelitian ini. Oleh karena itu, penelitian ini akan membatasi pada hal-hal sebagai berikut:

1. Penelitian ini hanya mengkaji aspek kimiawi nutrisi bahan makanan dengan menitikberatkan pada perubahan kadar residu formalin dan profil protein.
2. Penelitian ini tidak mengkaji aspek fisiologi dan histopatologi tubuh akibat paparan bahan makanan berformalin.
3. Bahan makanan berformalin yang digunakan dalam penelitian ini adalah udang putih atau udang vaname hasil perendaman dengan larutan formalin 5% selama 60 menit.
4. Belimbing wuluh yang akan digunakan adalah bagian buah yang diambil dalam bentuk perasan atau sari buah (*juice*).
5. Bagian udang yang dianalisis dalam penelitian ini adalah bagian daging yang biasa dikonsumsi masyarakat.
6. Bentuk implementasi dari hasil penelitian ini adalah penyusunan buku ilmiah populer.

## G. Definisi Istilah dan Operasional

Dalam menghindari kesalahpahaman dan penyimpangan arah dari tujuan penelitian ini, beberapa istilah dan operasional variabel yang dimaksud dalam penelitian ini akan didefinisikan sebagai berikut:

1. Penambahan perasan buah belimbing wuluh adalah menambahkan perasan buah belimbing wuluh kepada udang putih berformalin dalam konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80%.
2. Lama perebusan dalam penelitian ini adalah merebus udang putih berformalin dalam berbagai konsentrasi perasan buah belimbing wuluh selama 30 menit dan 45 menit pada suhu 85-100°C.
3. Kadar residu formalin dalam penelitian ini adalah kandungan formalin yang tersisa pada sampel dalam satuan bagian per juta atau *part per million* (ppm) atau persen berat (mg %) sebagai hasil pengukuran dengan menggunakan metode spektrofotometri.
4. Profil protein adalah keadaan protein sampel berdasarkan beberapa indikator, yaitu: kadar protein total, komposisi dan kadar asam amino, fraksi berat molekul, dan sifat imunogenesitas protein.
5. Kadar protein total adalah kandungan protein dalam sampel yang diukur dalam satuan persen (% b/b) sebagai hasil pengukuran dengan menggunakan metode volumetrik semi-mikro Kjeldahl.
6. Komposisi asam amino adalah susunan jenis asam amino yang teridentifikasi dalam udang putih sebagai hasil pengukuran dengan menggunakan metode kromatografi jenis HPLC.

7. Kadar asam amino adalah banyaknya kandungan dari setiap jenis asam amino dalam satuan % b/b sebagai hasil pengukuran dengan menggunakan metode kromatografi jenis HPLC.
8. Fraksi berat molekul protein adalah macam protein yang teridentifikasi pada sampel berdasarkan berat molekul dalam satuan kilo Dalton (kDa) sebagai hasil pengukuran dengan menggunakan metode elektroforesis SDS-PAGE.
9. Sifat imunogenesitas protein adalah sifat protein berdasarkan respon imun yang ditentukan dengan menggunakan metode *Western Blot*.
10. Sumber pendidikan gizi dan keamanan pangan adalah materi tentang aspek gizi dan keamanan bahan makanan berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan yang dituangkan dalam bentuk buku ilmiah populer.

## BAB II KAJIAN PUSTAKA

### A. Formalin Dalam Pengawetan Bahan Makanan

#### 1. Struktur dan Sifat Formalin

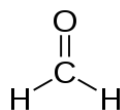
Formalin adalah larutan tak berwarna, mudah menguap, dan berbau tajam. Formalin merupakan larutan formaldehid dalam air atau formaldehid monohidrat dengan rumus molekul  $H_2C(OH)_2$ . Secara komersial, formalin dijual pada konsentrasi 37-55%, biasanya ditambah dengan methanol sekitar 0,5-15% untuk mencegah polimerisasi menjadi bentuk kristal padat (EPA, 2008; IARC, 2006; WHO, 2001). Formalin, pada dasarnya memiliki sifat-sifat sebagaimana sifat yang dimiliki formaldehid. Sifat-sifat formaldehid secara ringkas dirangkum pada Table 2.1.

Tabel 2.1 Sifat-sifat Fisika dan Kimia Formaldehid

Sifat-sifat	Nilai
Massa Molekul Relatif (gas)	30.33
Berat molekul (larutan air)	48.03
Densitas Gas Relatif (g/mL pada -20°C)	0.815
Titik Lebur (°C)	-92
Titik Didih (°C)	-19.2
Titik Nyala (°C)	60
Tekanan Uap (mmHg @ 25°C)	3,890
Rentang Eksplosivitas di Udara	
• (% v)	7 – 73
• (g/m <sup>3</sup> )	87 – 910
Laju Reaksi Khusus dengan Radikal-OH (k OH)	$15 \cdot 10^{18} \text{ m}^3 / \text{mol} \times \text{s}$
Distribusi air/udara: Konstanta Henry	0.02 Pa. m <sup>3</sup> /mol
Kelarutan dalam air	Sangat tinggi
Toksitasitas	Karsinogenik kategori 3

(Sumber: Diringkas dari WHO, 1989; IARC, 2006; EPA, 2008).

Formaldehid adalah senyawa organik dari golongan aldehyd yang paling sederhana dengan rumus molekul HCHO atau CH<sub>2</sub>O dan rumus struktur formaldehyd seperti ditunjukkan pada Gambar 2.1. Formaldehyd merupakan gas mudah terbakar, tidak berwarna, berbau tajam atau menyengat, reaktif dan berpolimerasi dengan cepat pada suhu dan tekanan normal, yang memiliki berat molekul relatif 30.03. Formaldehyd larut dalam air, etanol, dan dietil eter serta digunakan dalam bentuk larutan (formalin) atau dalam bentuk padat trimer (trioksan) dan bentuk polimer (paraformaldehid) (Fessenden dan Fessenden, 1986; Wilbraham dan Matta, 1992).

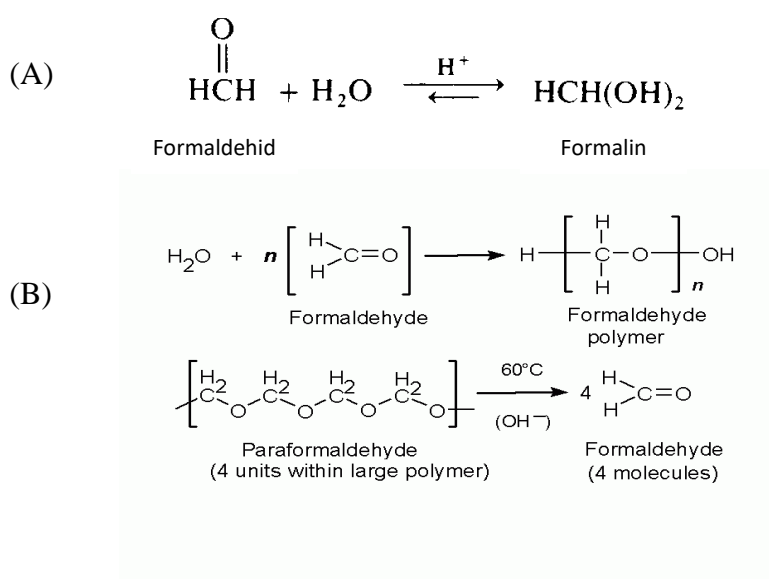


Gambar 2.1 Rumus Struktur Formaldehyd (Sumber: EPA, 2008)

Formaldehid dalam air dapat mengalami polimerisasi untuk membentuk paraformaldehid. Reaksi polimerisasi dan depolimerisasi formaldehyd ditunjukkan pada Gambar 2.2B. Hidroslisis polimer paraformaldehid dikatalisis dengan adanya ion hidroksida dari sedikit larutan basa. Molekul polimer besar dari paraformaldehid perlu perlakuan energi yang lebih banyak. Pemanasan diperlukan sebagai tambahan sumber ion hidroksida. Pada praktek yang biasa dilakukan, secara sederhana untuk memanaskan paraformaldehid pada suhu 60°C dalam air diperlukan garam yang digunakan untuk larutan buffer pada pH 7,2 – 7,6 (Kiernan, 2000).



Formalin merupakan senyawa 1,1-diol (*gem-diol*) atau metilen hidrat (HO-CH<sub>2</sub>-OH) dari formaldehid, seperti ditunjukkan pada Gambar 2.2A. Formaldehid memiliki nama umum lain, yaitu metanal (sistem tata nama *International Union of Pure and Applied Chemistry*, IUPAC), format aldehyd, metilaldehyd, metilen oksida, oksimetilen, atau oksometana (IARC, 2006).



Gambar 2.2 A. Reaksi Pembentukan Formalin (*gem-diol*) (Fessenden dan Fessenden, 1986); B. Reaksi Pembentukan Polimer Formaldehid (atas) dan Depolimerisasi Paraformaldehid (bawah) (Sumber: Kiernan, 2000).

## 2. Toksisitas Formaldehid

Racun atau agen toksik adalah bahan kimia yang berbahaya atau memberikan efek yang buruk terhadap organisme hidup atau sistem biologi (Donatus, 2001; Omaye, 2004). Suatu bahan kimia bisa menjadi racun dalam keadaan tertentu, tetapi dalam situasi yang lain, bahan tersebut tidak berbahaya, misalnya garam dapur. Sebagaimana, konsep dasar toksikologi yang dikemukakan Paracelsus (1493-1541) bahwa semua bahan kimia adalah racun dan dosis yang tepat menentukan racun dari obat (Omaye, 2004).

Istilah beracun (*toxicity*) dan berbahaya (*hazard*), dua istilah dalam toksikologi. Suatu bahan dikatakan racun, jika bahan mampu menyebabkan sakit pada kondisi khusus. Toksik adalah suatu sifat umum bahan. Misalnya, air jika digunakan dalam jumlah besar dapat menjadi racun, tetapi jika pada kondisi penggunaan normal tidak racun. Berbahaya adalah kemampuan suatu bahan menyebabkan sakit pada penggunaan normal. Dalam kedua tingkat toksisitas, apakah jumlah bahan yang dikonsumsi sedikit atau banyak, memungkinkan berpengaruh risiko. Jadi, semua bahan kemungkinan besar racun, tetapi berbahaya jika dikonsumsi dalam jumlah yang cukup besar (Williams and Caliendo, 1984).

Berdasarkan hasil evaluasi beberapa badan internasional, formaldehid ditetapkan sebagai bahan berbahaya yang bersifat racun (toksik), karsinogen pada hewan, dan cenderung karsinogen pada manusia (WHO, 1989; IARC, 2006; EPA, 2008). Mekanisme toksifikasi formaldehid di dalam tubuh sudah banyak dijelaskan dari sudut pandang yang berbeda-beda.

Cara masuk formaldehid ke dalam tubuh sangat mempengaruhi toksisitas formaldehid. Secara umum, racun akan masuk ke dalam tubuh melalui dua cara, yaitu: (1) secara intravaskuler dan (2) secara ekstrasvaskuler (Donatus, 2001). Cara intra-vaskuler adalah bila racun langsung masuk ke dalam pembuluh darah, seperti intravena, intrakardial, dan intraarteri. Dengan cara ini, racun akan segera tersebar atau ter-distribusi ke cairan atau jaringan tubuh. Cara ekstrasvaskuler ialah cara masuknya racun ke dalam tubuh tidak langsung masuk ke dalam pembuluh darah, melainkan melalui tahap absorpsi terlebih dahulu, seperti cara peroral, intramuscular, intra-peritoneal, subkutan, dan inhalasi. Keefektivan distribusi

racun akan menentukan kecepatan dan jumlah racun yang ada di sel sasaran, sehingga akan menentukan daya ketoksikan racun (Donatus, 2001).

Formaldehid dapat memapar tubuh dengan tiga cara, yaitu: pernafasan, kulit, dan pencernaan. Hal ini, sesuai dengan wujud formaldehid yang tersedia di alam. Formaldehid secara alami berada dalam wujud gas, dapat memapar tubuh melalui pernafasan dan kulit (Ritchie and Lehnen, 1987; Naria, 2004; Nolodewo, Yuslam, dan Muyassaroh, 2007). Formaldehid dalam wujud larutan (formalin), dapat memapar melalui pencernaan, baik bersama air minum maupun makanan (Santy, 2007; Innamasari, 2007; Susanti, 2007; Kurnia, 2007; Kartikaningsih, 2008; Mahdi, 2008; alfonds, 2010).

Formaldehid merupakan bahan pencemar udara, karena formaldehid banyak berlimpah di alam (Lu, 1995). Formaldehid ketika ada di udara pada tingkat di atas 0,1 ppm dapat menyebabkan mata berair, sensasi terbakar (iritasi) pada mata, hidung dan tenggorokan, sebah, mual, sakit kepala, ruam kulit, dan reaksi alergi (Ritchie and Lehnen, 1987; WHO, 1989, 2001; CPSC, 1997; Naria, 2004). Formaldehid memberi efek toksik akut pada hewan coba tikus besar yang menyebabkan kematian setengah dari seluruh hewan coba (LD<sub>50</sub>) sebesar 800 mg/kg berat badan secara oral (Othmer dalam Raihan, 2003; Smyth *et al* dalam WHO, 1989). Nilai LD<sub>50</sub> pada tikus kecil secara subkutan adalah 300 mg/kg berat badan (Skog dalam WHO, 1989).

Kajian toksisitas terhadap berbagai fungsi organ yang mengarah kepada dasar-dasar karsinogenik telah dilaporkan banyak penelitian. Formaldehid pada paparan 0, 2.5, 5, 7.5, dan 10 mg/kg berat badan secara signifikan merusak sistem reproduksi, mencit jantan (Zahra, *et al.*, 2007); zigot tikus (Mahadevan, *et al.*, 1998). Formaldehid mempengaruhi sistem endokrin tubuh, kerja kronik

formaldehid memblok sumber hormone tiroid tikus pada konsentrasi 10 dan 15 mg/kg/hari (Patel, *et al.*, 2003), protein yang diperlakukan formaldehid berpengaruh terhadap konsentrasi hormon darah (Oldham, *et al.*, 1982). Kerusakan organ hati, ginjal, dan limpa akibat paparan formaldehid sebanyak 2,5% dalam makanan telah dilaporkan oleh beberapa peneliti (Santy, 2007; Innamasari, 2007; Susanti, 2007; Kurnia, 2007; Kartikaningsih, 2008; Mahdi, 2008; Maramis, 2010).

Shaham *et al.* (1996) melaporkan bahwa formaldehid bersifat karsinogen pada manusia sebagai akibat terbentuknya DNA-protein *crosslinks* (DPC). Lebih lanjut Shaham *et al.* (1996) mengemukakan bahwa DNA-protein *crosslinks* (DPC) dapat dijadikan sebagai metode untuk memonitor sistem biologi dari paparan formaldehid. Paparan formaldehid sebagai faktor resiko kanker nasofaring pada pasien karsinoma nasofaring telah dilaporkan Nolodewo, Yuslam, dan Muyassaroh (2007). Paparan formaldehid 0,1-0,2 mg/kg berat badan dapat meningkatkan *caspase-9*, *HSP70*, *apoptosis* organ Hati, nilai *SPOT* dan *SGPT* pada mencit (Maramis, 2010).

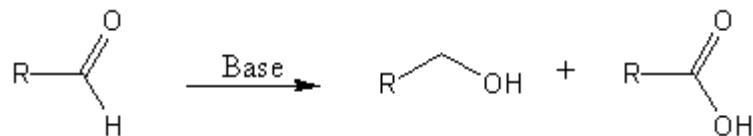
Walaupun tidak ada sumber yang menetapkan secara pasti kadar toksik formaldehid atau formalin terhadap manusia. Namun, beberapa sumber yang telah dilaporkan WHO (2001) menunjukkan bahwa iritasi mata dan saluran respiratorik secara umum terjadi pada tingkat kira-kira 1 mg/m<sup>3</sup>, tetapi perasaan tidak nyaman dilaporkan pada tingkat lebih rendah; kontak langsung dengan larutan formaldehid (1 – 2%) menyebabkan iritasi kulit pada kira-kira pada 5% pasien yang berobat di rumah sakit dermatologis; paparan jangka panjang mengarahkan kepada dermatitis alergi kontak; paparan jangka panjang formaldehid pada tingkat serendah 0.5 mg/m<sup>3</sup> menyebabkan peningkatan resistensi saluran udara ringan;

asthma yang terkait formaldehid jarang dilaporkan walaupun populasi secara luas terpapar formaldehid; tidak ada bukti yang meyakinkan bahwa formaldehid merupakan suatu teratogen, baik pada hewan maupun manusia; formaldehid tidak menghasilkan sesuatu efek yang merugikan terhadap reproduksi pada hewan coba atau pada manusia; formaldehid positif dalam rentang yang luas uji sistem mutagenisitas masih menjadi perdebatan; formaldehid telah menunjukkan pembentukan *DNA-protein crosslinks* pada konsentrasi paparan 1.1 mg/m<sup>3</sup>; formaldehid mengganggu perbaikan DNA pada sel manusia secara in vitro; bukti peran formaldehid penyebab kanker, hanya untuk kanker nasal dan nasofaring.

Hasil penelitian pada hewan percobaan menunjukkan bahwa formaldehid meningkatkan sensitisasi hewan terhadap allergen yang terhirup. Pada mencit betina galur BALB/c yang tersensitisasi ovalbumin, titer antibodi IgE anti-ovalbumin serum meningkat kira-kira 3 kali lipat pada hewan yang sebelumnya terpapar 2.0 mg/m<sup>3</sup> formaldehid selama 6 jam/hari pada 10 hari berturut-turut (Tarkowski dan Gorski (1995) dalam IPCS, 2002).

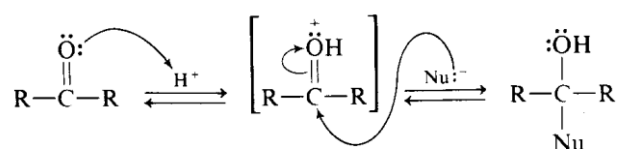
### **3. Transformasi Formaldehid**

Formaldehid sebagai senyawa aldehyd paling sederhana memiliki sifat reaktivitas yang lebih tinggi daripada aldehyda lainnya (Fessenden dan Fessenden, 1986; Wilbraham dan Matta, 1992). Formaldehida merupakan [elektrofil](#), yang bisa dipakai dalam reaksi [substitusi aromatik elektrofilik](#) dan [senyawa aromatik](#) serta bisa mengalami reaksi [adisi elektrofilik](#) dan [alkena](#). Dalam keberadaan [katalis basa](#), formaldehida akan mengalami [reaksi Cannizzaro](#), yang menghasilkan [asam format](#) dan methanol (Riawan, 1990).



Gambar 2.3 Reaksi Umum Cannizzaro (Sumber: Wikipedia, 2009)

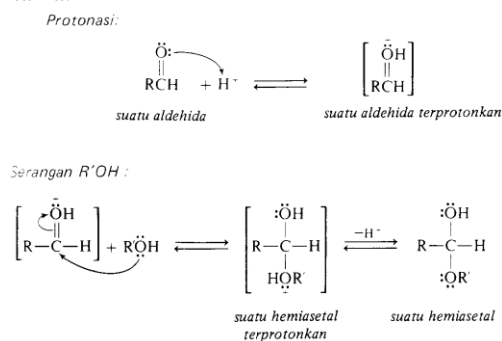
Reaksi adisi, baik dengan air maupun dengan alkohol, merupakan reaksi yang menyebabkan aldehyd menjadi bentuk senyawa yang lebih stabil. Air dan alkohol mengadisi ikatan pi ( $\rho$ ) karbon-karbonil sehingga lebih mudah diserang nukleofil atau oleh elektrofil. Asam dalam reaksi adisi bertindak sebagai 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).



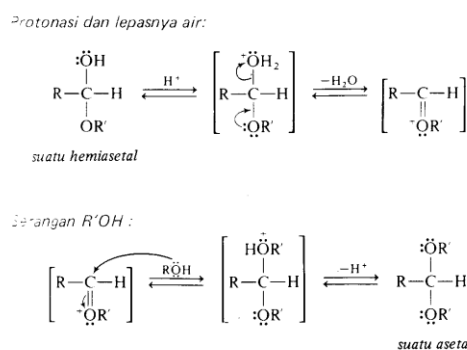
Gambar 2.4 Reaksi Protonasi Gugus Karbonil dengan Asam- $\text{H}^+$  (Sumber: Fessenden dan Fessenden, 1986).

Reaksi adisi air pada formaldehyd menghasilkan senyawa hidrat stabil, yang disebut formalin (Fessenden dan Fessenden, 1986) seperti pada Gambar 2.2A. Pada reaksi adisi aldehyd dengan alkohol, protonasi dan deprotonasi tahap kedua disertai lepasnya air merupakan tahap reaksi utama dalam pembentukan asetal dari hemiasetal. Asetal senyawa stabil pada pH netral dan akan terdekomposisi pada media asam (Zuhra, 2006).

Tahap pertama:



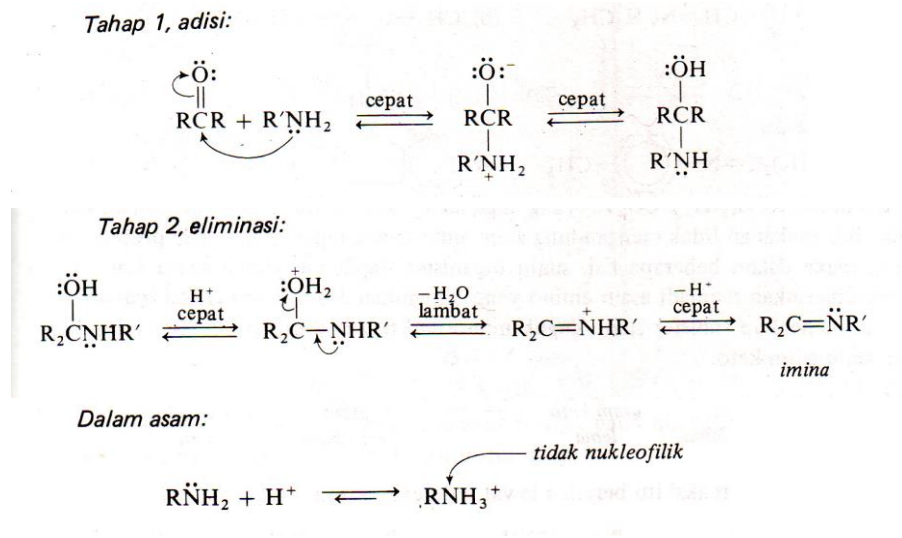
Tahap kedua:



Gambar 2.5 Reaksi Reversibel Adisi Aldehid dengan Alkohol Berkatalis-asam (Sumber: Fessenden dan Fessenden, 1986).

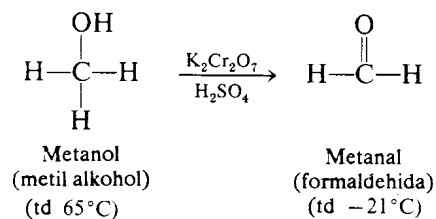
Selain adisi air dan alkohol, aldehid bereaksi dengan amina primer dalam reaksi adisi-eliminasi membentuk imina. Reaksi adisi-eliminasi aldehid dengan amina primer terjadi dalam dua tahap, seperti ditunjukkan pada Gambar 2.6. Tahap pertama ialah adisi amina pada karbon karbonil yang bermuatan positif parsial, yang diikuti dengan lepasnya proton dari nitrogen dan diperolehnya elektron oleh oksigen. Tahap kedua adalah protonasi gugus OH, yang kemudian dapat lepas sebagai air dalam suatu reaksi eliminasi.

Pembentukan imina adalah suatu reaksi yang tergantung pada pH. Laju reaksi tahap pertama dihambat bila larutan terlalu asam, sehingga konsentrasi amina bebas menjadi kecil sekali. Laju reaksi tahap kedua meningkat dengan bertambahnya konsentrasi asam. Jadi, reaksi tahap pertama menjadi penentu laju dalam rentetan adisi-eliminasi aldehid dengan amina.



Gambar 2.6 Reaksi Adisi-Eliminasi Aldehid dengan Amina Primer (Sumber: Fessenden dan Fessenden, 1986)

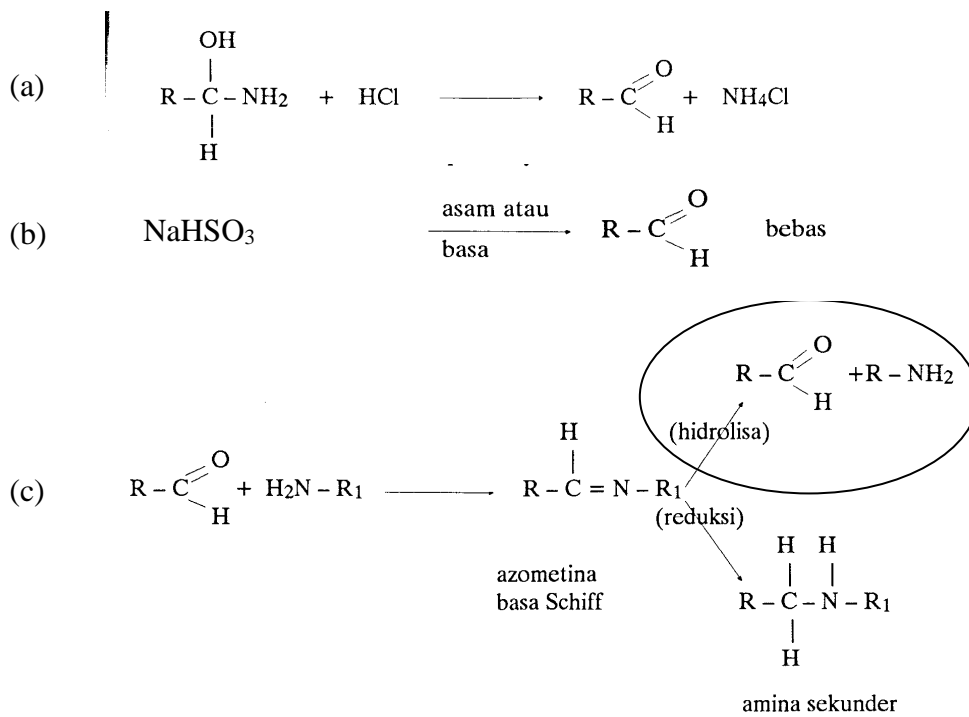
Secara umum, aldehid dapat dibuat di laboratorium dengan mengoksidasi suatu alkohol primer. Formaldehid dapat dibuat dari oksidasi metanol pada suhu sekitar 50°C dengan kalium dikromat (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) dalam suasana asam, sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7 Reaksi Pembentukan Formaldehid dari Metanol (Sumber: Wilbraham dan Matta, 1992).

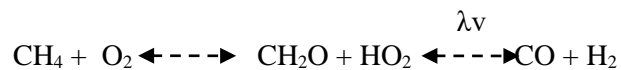
Selain itu, aldehid dapat diperoleh dari senyawa lain melalui reaksi pembebasan. Beberapa pembebasan aldehid dari campuran, di antaranya: (1) pembebasan aldehid dengan asam; (2) NaHSO<sub>3</sub> (bisulfit); (3) hidrolisa. Reaksi-reaksi pelepasan ditunjukkan pada Gambar 2.8.





Gambar 2.8 Reaksi Pelepasan Aldehid dari Campuran (Sumber: Riawan, 1990).

Secara alami, formaldehid dibentuk di troposfer selama oksidasi hidrokarbon. Dalam lingkungan alami, formaldehid adalah suatu intermediet pada siklus metana, dengan konsentrasi yang rendah. Formaldehid satu dari senyawa mudah menguap yang dibentuk pada tahap awal dekomposisi residu tumbuhan di dalam tanah.

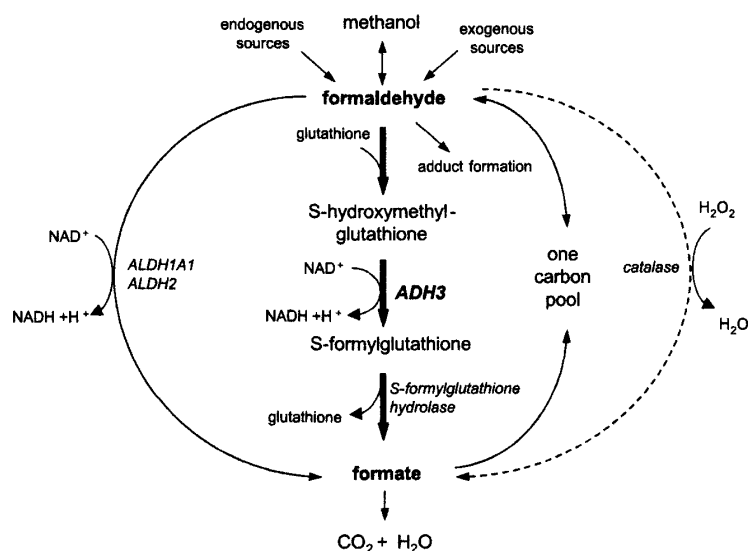


Gambar 2.9 Reaksi Pembentukan Formaldehid dari Siklus Metana di Atmosfer (Sumber: diadaptasi dari: globalenvironment-garg, 2008)

Formaldehid di alam dapat juga berasal dari hasil aktivitas manusia (antropogenik), di antaranya asap mesin kendaraan yang tidak dilengkapi dengan katalitik pengkonversi, emisi langsung, khususnya dari produksi dan penggunaan

formaldehid di lingkungan dalam rumah. Produk-produk yang mengandung formaldehid, yang umum seperti resin, lem, bahan penyekat, *chipboard*, *polywood* dan kain. Sumber lain adalah asap rokok, asap pemanggangan dan memasak (CPSC, 1997; WHO, 1989; 2001; IARC, 2006).

Formaldehid di dalam tubuh merupakan suatu metabolit normal sistem pada bangsa mammalia. Formaldehid akan segera dimetabolisme menjadi format yang sebagian bergabung dengan jalur metabolik normal, sebagian menjadi kumpulan metabolit satu karbon ( $C_1$ ) tubuh atau dimetabolisme lebih lanjut menjadi karbon dioksida (Malorny, *et al.*, 1965 dalam WHO, 1989). Formaldehid dapat juga terbentuk secara endogen setelah kontak dengan xenobiotik (Huston, 1970 dalam WHO, 1989). Lintasan metabolisme formaldehid di dalam tubuh ditunjukkan pada Gambar 2.10.

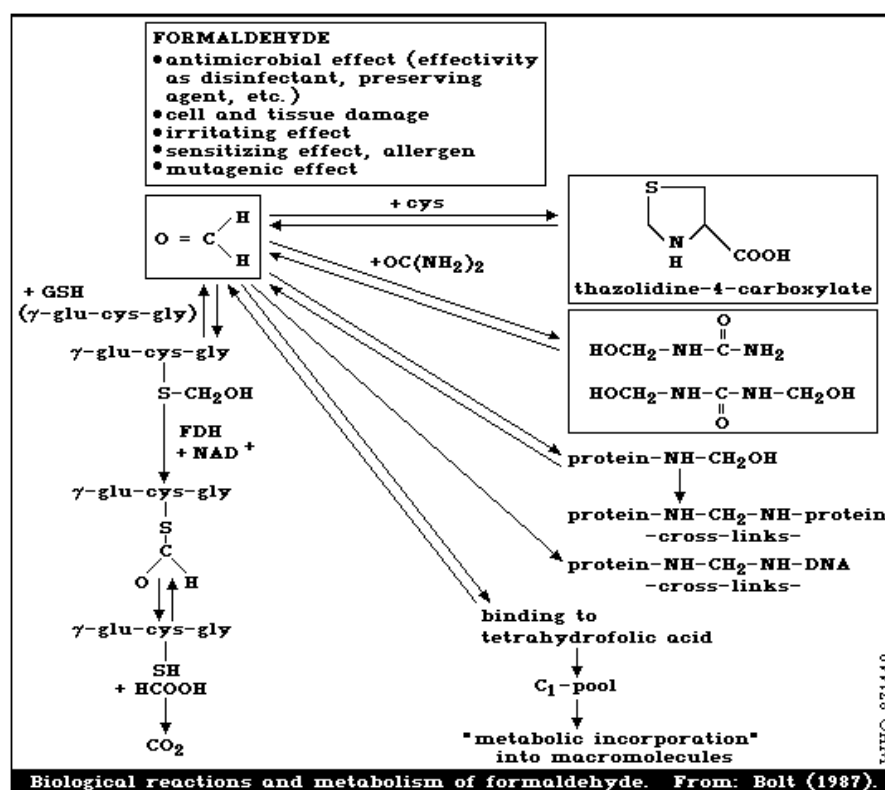


Gambar 2.10 Metabolisme Formaldehid (Sumber: Hedlberg *et al.*, 2002 dalam IARC, 2006)

Formaldehid menghilang dalam plasma dengan waktu paruh (*half-time*) kira-kira 1 – 1.5 menit. Kebanyakan formaldehid dikonversi menjadi CO<sub>2</sub> dan dikeluarkan melalui paru-paru. Dalam jumlah sangat kecil diekskresikan ke dalam

urin sebagai garam format dan beberapa metabolit lain. Fraksi formaldehid yang tidak mengalami metabolisme akan terikat secara stabil dengan glutation, dan berikatan kovalen dengan makromolekul protein dan asam nukleat, yang sebagian reversibel (WHO, 2001).

Transformasi formaldehid di dalam tubuh, ditunjukkan pada Gambar 2.11. Kitchens *et al.* (1976) dalam WHO (1989) merangkum reaksi kimia yang terjadi di dalam sistem biologis, yaitu: (1) hidrasi dengan adanya air; (2) reaksi dengan hidrogen aktif dari ammonia, amina, atau amida yang menghasilkan pembentukan jembatan metilen stabil (*methylene bridges*), dan (3) reaksi dengan hidrogen aktif dari tiol, nitroalkana, hidrogen sianida, dan fenol.



Gambar 2.11 Reaksi Biologis dan Metabolisme Formaldehid (Sumber: Bolt (1987) dalam WHO, 1989)

Di dalam tubuh, formaldehid mengalami detoksifikasi oleh glutathione (GSSH) yang menghasilkan CO<sub>2</sub> untuk dikeluarkan dari tubuh (Gambar 2.11 dan 2.12). Namun, detoksifikasi dengan GSSH ini akan mengalami kejenuhan sehingga formaldehid dapat berikatan dengan senyawa makromolekul, protein dan DNA. Peningkatan ikatan DNA-Protein *cross link* (DPC) pada jaringan akan menyebabkan terjadinya sitotoksitas dan mutasi sel (Mahdi, 2008). Peningkatan DPC diduga sebagai *marker* potensial penyebab kanker (Saham *et al.*, 1996). Detoksifikasi formaldehid di dalam tubuh dapat dibantu dengan suplementasi antioksidan dari luar tubuh seperti suplementasi Yogurt (Mahdi, 2008) dan klorofilin (Maramis, 2010). Maramis (2010) mengemukakan bahwa suplementasi klorofilin pada tikus dengan paparan ikan berformalin dapat menurunkan *Caspase-9*, *ekspresi HSP70*, *apoptosis seluler*, nilai *SGOT* dan *SGPT*.

#### 4. Formalin sebagai Bahan Pengawet

Pengawetan atau preservasi pada hakikatnya adalah merupakan salah satu usaha menekan, mengurangi atau menghilangkan mikroba yang tergolong patogen dan penghasil racun pada bahan makanan (Supardi dan Sukanto, 1999). Buckle, dkk. (2009) mengemukakan bahwa tujuan pengawetan bahan pangan secara komersial adalah:

- 1) Untuk mengawetkan bahan pangan selama perjalanan dari produsen ke konsumen, dengan menghindarkan perubahan-perubahan yang tidak diinginkan dalam hal keutuhannya, nilai gizi atau mutu organoleptik secara metode ekonomis yang mengendalikan pertumbuhan mikroorganisme, mengurangi perubahan-perubahan kimiawi, fisik, fisiologis faal dan pencemaran;
- 2) Untuk mengisi kekurangan produksi terutama kesulitan akibat musim;
- 3) Untuk menjamin, sejauh mungkin, agar kelebihan produksi lokal atau kelebihan musiman tidak terbuang;
- 4) Untuk memudahkan penanganan, yang dilakukan terutama melalui berbagai bentuk pengemasan.

Pengawetan dengan menggunakan bahan tambahan atau aditif kimia merupakan salah satu pengawetan yang umum dilakukan terhadap bahan pangan. Bahan tambahan makanan adalah bahan yang biasanya tidak digunakan sebagai makanan dan biasanya bukan merupakan ingredient khas makanan, mempunyai atau tidak mempunyai nilai gizi, yang dengan sengaja ditambahkan ke dalam makanan untuk maksud teknologi (termasuk organoleptik) pada pembuatan, pengolahan, penyiapan, perlakuan, pengepakan, pengemasan atau pengangkutan untuk menghasilkan atau diharapkan menghasilkan (langsung atau tidak langsung) suatu komponen atau mempengaruhi sifat khas makanan tersebut (Depkes RI, 1988).

Desrosier (2008) mengemukakan aturan pemakaian zat aditif dalam pengolahan bahan pangan bahwa pemakaian zat aditif bahan pangan bagi keuntungan konsumen secara teknologis dibenarkan, bila bahan tersebut dapat memenuhi persyaratan sebagai berikut: (1) pemeliharaan kualitas gizi bahan pangan; (2) peningkatan kualitas atau stabilitas simpan sehingga mengurangi kehilangan bahan pangan; (3) membuat bahan pangan lebih menarik bagi konsumen yang tidak mengarah kepada penipuan; dan (4) diutamakan untuk membantu proses pengolahan bahan pangan.

Demikian sebaliknya, bahwa pemakaian zat aditif bahan pangan yang tidak memperhatikan kepentingan konsumen tidak diperkenankan, bila: (1) untuk menutupi adanya teknik pengolahan dan penanganan yang salah; (2) untuk menipu konsumen; (3) hasilnya dapat menyebabkan terjadinya pengurangan nilai gizi bahan pangan yang besar; dan (4) pengaruh yang dikehendaki dapat diperoleh dengan praktek pengolahan yang baik yang secara ekonomis fisibel.

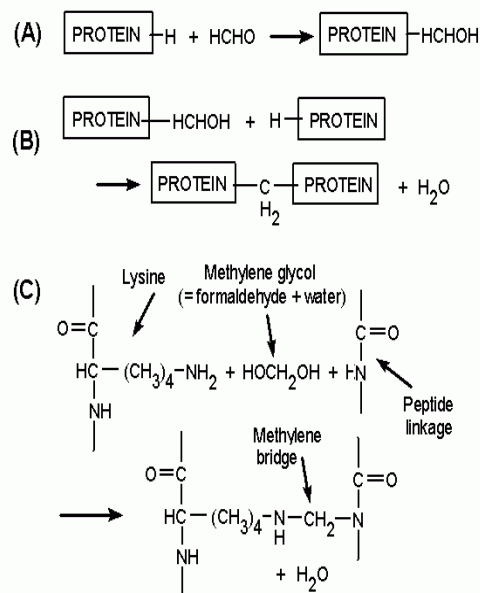
Formaldehid merupakan senyawa kimia yang memiliki arti penting dalam bidang industri dan teknologi. Produk-produk yang dihasilkan dengan bahan formaldehid telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai keperluan hidup sehari-hari. Formaldehid digunakan terutama sebagai intermedit kimia perindustrian. Formaldehid juga memiliki penggunaan minor dalam pertanian, sebagai suatu reagen analitik, aditif beton dan polister, kosmetik, disinfektan, fumigan, fotografi, dan presevasi kayu. Di bidang industri formaldehid digunakan dalam pembuatan resin formaldehid-urea, seperti produk-produk *particleboard* (WHO, 1989; CPSC, 1997; IARC, 2006; Lita, 2007; Rohati dan Prasetyaningrum, 2008; EPA, 2008).

Penggunaan formaldehid dalam pengawetan specimen biologis berawal dari suatu penemuan tidak disengaja zat sebagai antiseptik oleh F. Blum tahun 1893, dimana ada pengerasan pada jari-jari tangannya setelah kontak dengan formaldehid. Dalam suatu penelitian yang telah dilakukan F. Blum menemukan bahwa jaringan yang direndam dalam larutan formaldehid dengan konsentrasi 4% mengeras lebih cepat daripada dalam alkohol (Suntoro, 1983).

Pengerasan jaringan dalam pengawetan specimen biologis sebagai akibat reaksi formaldehid dengan molekul-molekul penyusun specimen, terutama protein. Formaldehid yang tersedia sebagai larutan 37% dalam air (formalin), mendenaturasi protein dan asam nukleat, melalui gugus  $-NH_2$  dan  $-OH$ , yang merupakan tempat utama alkilasi dengan gugus hidroksimetil dari formaldehid (Levinson and Jawetz, 1989). Formaldehid dalam konsentrasi rendah dapat menyebabkan jaringan menjadi keras (Suntoro, 1983). Jaringan yang keras dan tak larut air mencegah pembusukan specimen (Wilbraham dan Matta, 1992).

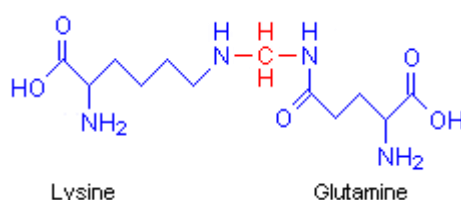
Ada beberapa model ikatan yang terbentuk antara formaldehid dengan protein, seperti ditunjukkan pada Gambar 2.12. Gugus aldehyd dari formaldehid dapat bergabung dengan nitrogen dan beberapa atom lain dari protein membentuk senyawa *methyl-ol*, atau dengan dua molekul protein yang berada sangat dekat, membentuk *cross-link-CH<sub>2</sub>* yang disebut suatu jembatan metilen atau *methylene bridge* (Kiernan, 2000).

Gustavson (1956) dalam Kiernan (2000) mengemukakan bahwa dalam penyamakan, kebanyakan tipe *cross-link* yang sering terbentuk oleh formaldehid dengan kolagen adalah antara atom nitrogen pada ujung rantai samping lisin dan atom nitrogen dari suatu ikatan peptida, seperti pada Gambar 2.12(C), dan jumlah *cross-link* meningkat sejalan dengan waktu.



Gambar 2.12 Reaksi Formaldehid dengan Protein. (A) Adisi Formaldehid dengan Protein; (B) Reaksi ikatan Formaldehid dengan Molekul Protein Lain Membentuk suatu Metilen *cross-link*; dan (C) Gambaran lebih Detil *cross-linking* dari Rantai Samping Lisin kepada Atom Nitrogen suatu Peptida (Sumber: Kiernan, 2000).

Gambaran ikatan metilen *cross-link* antara gugus samping amino lisin dan glutamin pada rantai protein yang berbeda, ditunjukkan oleh Beker dalam Nadeau dan Carlson (2005), seperti ditunjukkan pada Gambar 2.13. Nadeau dan Carlson (2005) mengemukakan bahwa *cross-link*-Protein dapat menstabilkan massa protein dan mengawetkan morfologi.



Gambar 2.13 Pembentukan Jembatan Metilen antara Asam Amino Lisin dan Glutamin pada Protein yang Berbeda (Sumber: Beker dalam Nadeau dan Carlson, 2005).

## 5. Formalin dalam Bahan Makanan

Di beberapa negara, penggunaan formalin sebagai pengawet bahan makanan, secara tegas dilarang. Di Amerika, tahun 1906, formalin dinyatakan berbahaya sebagai pengawet bahan makanan (Enie, 2006). Di Indonesia, formalin tidak boleh dipergunakan sebagai bahan tambahan makanan, berdasarkan Permenkes RI No. 722/MENKES/PER/ IX/1988 tentang Bahan Tambahan Makanan.

Di Indonesia, penyalahgunaan formalin dalam bahan makanan disebabkan oleh beberapa faktor menurut Dept. ITP-IPB (2006), di antaranya: (1) lemahnya fungsi perlindungan dan pengawasan, (2) kemiskinan yang menyebabkan hati nurani masyarakat menjadi buta, (3) penegakkan hukum belum dilakukan dengan semestinya, (4) perilaku bertanggung jawab dan saling kontrol yang masih kurang, (5) kurangnya kesadaran dan pemahaman masyarakat umum mengenai magnitude permasalahan riil keamanan pangan. Kurangnya pengetahuan dan



pemahaman masyarakat tentang bahaya formalin menyebabkan dampak fatal bagi kesehatan dan keselamatan jiwa. Pada awal 1900-an, formalin sering ditambahkan oleh para pekerja susu AS untuk botol susu sebagai metode pasteurisasi karena kurangnya pengetahuan tentang toksisitas formaldehid itu. Hal ini mengakibatkan banyak kematian di kedua panti asuhan dan rumah, terutama di negara bagian Midwestern, di mana bayi diberi makan susu tercemar, dan mengakibatkan tingkat kematian yang tinggi pada beberapa panti asuhan besar di utara Amerika (Wikipedia, 2011)

Bahan makanan berformalin dapat dibedakan dari bahan makanan tanpa formalin dalam hal warna, tekstur, dan bau. Karakteristik beberapa bahan makanan berformalin di sajikan pada Tabel 2.2. Identifikasi ciri-ciri bahan makanan, kadang-kadang mengalami kesulitan. Para pedagang biasanya membubuhi formalin dengan kadar minimal, sehingga konsumen pada umumnya bingung ketika harus membedakannya dengan bahan pangan segar. Pada daging ayam misalnya, karena hanya dibubuhi sedikit formalin, bau obat tidak tercium. Kalau ayam berformalin, ciri yang paling mencolok adalah tidak ada lalat yang mau hinggap. Jika kadar formalinnya banyak, ayam agak sedikit tegang (kaku). Yang paling jelas adalah jika daging ayam dimasukkan ke dalam reagen atau diuji laboratorium, nanti akan muncul gelembung gas (Pipit (2005) dalam duniaveteriner, 2009).

Tabel 2.2 Karakteristik Bahan Makanan Mengandung Formalin

Bahan Makanan	Tanda-tanda Berformalin	
	Khusus	Umum
Tahu	Bentuk sangat bagus, kenyal, tidak mudah hancur, awet beberapa hari dan tidak mudah busuk, bau sangat menyengat, aroma kedelai sudah tak ada lagi	Awet, kenyal, mengeluarkan bau khas formalin yang menusuk, tidak dihindangi lalat
Mi Basah	Lebih kenyal, awet beberapa hari dan tidak mudah basi, tampak mengkilat seperti berminyak, liat tidak mudah putus, tidak lengket	
Bakso	Lebih kenyal, aroma khas dari bakso tidak tercium, awet beberapa hari dan tidak mudah busuk	
Ikan asin	Daging kenyal, utuh, lebih putih dan bersih agak berwarna coklat, lebih tahan lama	
Ikan segar atau basah	Warna putih bersih, kenyal, insang berwarna merah tua bukan merah segar, awet sampai beberapa hari dan tidak membusuk	
Ayam potong	Berwarna putih bersih, lebih awet dan tidak mudah busuk	

(Sumber: Diringkas dari Widyaningsih dan Murtini, 2006)

Tahu berformalin tahan lama dan tidak rusak sampai tiga hari pada suhu kamar (25°C) dan bertahan lebih dari 15 hari pada suhu lemari es (10°C). Tahu terasa membal atau kenyal jika ditekan namun tidak padat. Bau agak menyengat berbau formalin (dengan kandungan formalin sekitar 0.5-1 ppm). Tahu tanpa pengawet hanya dapat bertahan dua hari dan biasanya mudah hancur (Pipit (2005) dalam duniaveteriner, 2009) . Sihombing dan Sihombing (1996) mendeskripsikan bahwa tahu yang direndam formalin 2%-8% selama 24 jam mempunyai tekstur yang keras dan kaku serta kadar proteinnya menurun sejajar dengan meningkatnya kadar formalin.

Ciri-ciri ikan segar yang mengandung formalin adalah tidak rusak sampai 3 hari pada suhu kamar (25°C), warna insang merah tua dan tidak cemerlang bukan merah segar, warna daging ikan putih bersih, sisik-sisiknya mengkilat dan

dagingnya kenyal. Ciri-ciri ikan asin yang mengandung formalin adalah tidak rusak sampai lebih dari 1 bulan pada suhu kamar ( 25°C), bersih cerah, tidak berbau khas ikan asin dan tidak ada lalat yang hinggap (Pipit (2005) dalam duniaveteriner, 2009).

Pada umumnya, bahan makanan cenderung terkontaminasi oleh formaldehid, baik disengaja (secara alami) maupun tidak disengaja selama proses pengolahan. Tidak dapat dipungkiri bahwa formaldehid secara alami terdapat dalam bahan makanan. Konsentrasi formaldehid paling tinggi dapat terjadi secara alami pada makanan sampai 60 mg/kg, di antaranya pada beberapa buah-buahan (Möhler & Denbsky, 1970; Tsuchiya et al., 1975) dan pada ikan laut (Rehbein, 1986; Tsuda et al., 1988) dalam IPCS (2002). Yasuhara dan Shibamoto (1995) dalam IPCS (2002) menyarankan bahwa ikan dengan kandungan formaldehid lebih tinggi dari 10-20 mg/kg tidak layak sebagai sumber makanan manusia, karena formaldehid yang terbentuk dalam ikan akan bereaksi dengan protein dan selanjutnya menyebabkan otot menjadi keras.

Formaldehid sering ditemukan dalam beberapa bahan makanan yang dikonsumsi sehari-hari. Pada tahun 2004, BPOM mensurvei 242 sampel bahan makanan (mie, tahu, dan bakso), 80 sampel (33%) di antaranya positif mengandung formalin (BPOM, 2004). Tabel 2.3 menunjukkan kandungan formalin dalam beberapa produk makanan.

Tabel 2.3 Kandungan Formalin dalam Beberapa Bahan Makanan

No	Bahan Makanan	Rerata Kandungan Formalin (ppm)
1.	Ikan Asin Kuniran	2066,67 <sup>a</sup>
2.	Ikan Asin Jambal	488,50 <sup>b</sup>
3.	Ikan Asin Teri	44,00 <sup>b</sup>
4.	Ikan Asin Layur	326,90 <sup>b</sup>
5.	Ikan Segar Kakap Merah	85,40 <sup>b</sup>
6.	Ikan segar Tongkol	210,40 <sup>b</sup>
7.	Ikan segar Tuna	510,60 <sup>b</sup>
8.	Ikan Pindang Tongkol	11,90 <sup>b</sup>
9.	Ikan pindang Salem	12,40 <sup>b</sup>
10.	Ikan Pindang Layang	10,90 <sup>b</sup>
11.	Tahu Taqwa	0,75 <sup>c</sup>

(Sumber: a. Elvandari, 2006; b. Kartikaningsih, 2008; c. Aprilianti, dkk., 2007).

## B. Protein Bahan Makanan

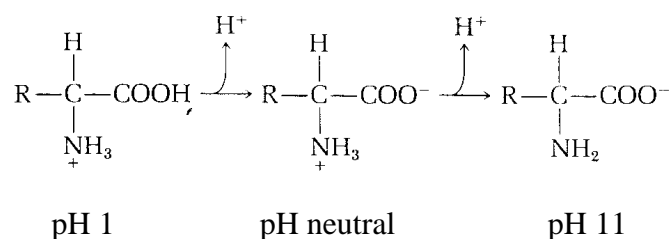
### 6. Struktur dan Sifat Kimia Protein

Protein berasal dari kata Greek “**proteios**”, yang artinya pertama atau utama. Kata protein diusulkan pertama kali oleh Jöns J. Berzelius pada 1838 untuk menegaskan pentingnya kelompok protein ini (Stryer, 1988).

Protein adalah senyawa kompleks yang tersusun atas ratusan unit terkecil penyusunnya. Asam amino merupakan unit dasar struktur protein. Suatu asam  $\alpha$ -amino tersusun atas suatu gugus amino, gugus karboksil, satu atom hidrogen, dan suatu gugus R tertentu yang terikat pada satu atom karbon yang disebut atom karbon- $\alpha$ , karena atom karbon yang terdekat kepada gugus karboksil. Suatu gugus R dalam asam amino dimaksudkan sebagai singkatan rantai samping.

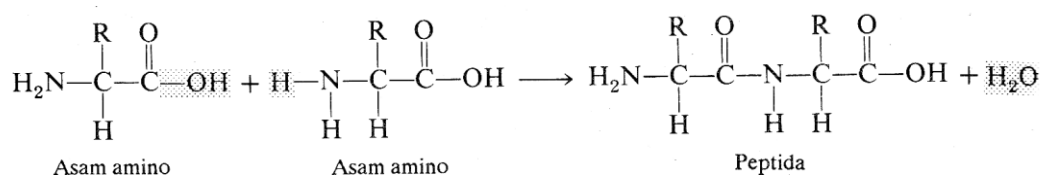
Asam amino dalam larutan pada pH neutral, terutama berada dalam bentuk ion dipolar (*zwitterions*). Dalam bentuk dipolar suatu asam amino, gugus amino terprotonisasi ( $-\text{NH}_3^+$ ) dan gugus karboksil terdisosiasi ( $-\text{COO}^-$ ). Keadaan ionisasi asam amino tergantung pada pH. Pada larutan asam (pH 1) gugus karboksil tidak terion ( $-\text{COOH}$ ) dan gugus amino terionisasi ( $-\text{NH}_3^+$ ). Pada

larutan basa (pH 11) gugus karboksil terionisasi ( $-\text{COO}^-$ ) dan gugus amino tidak terionisasi ( $-\text{NH}_2$ ) (Murray dkk, 2005). Struktur dan perubahan asam amino pada berbagai kondisi pH ditunjukkan pada Gambar 2.14.



Gambar 2.14 Asam Amino dalam Berbagai Suasana pH (Sumber: Murray, dkk., 2005)

Gugus  $\alpha$ -karboksil dari satu asam amino bergabung kepada gugus  $\alpha$ -amino asam amino lain dengan suatu ikatan peptida atau disebut juga ikatan amida. Pembentukan suatu dipeptida dari dua asam amino dengan melepaskan molekul air, seperti ditunjukkan pada Gambar 2.15. Beberapa asam amino bergabung dengan ikatan peptida untuk membentuk rantai polipeptida, yang tidak bercabang. Suatu unit asam amino dari suatu polipeptida disebut residu.



Gambar 2.15 Pembentukan Peptida (Sumber: Wilbraham dan Matta, 1992)

Tingkatan struktur dalam bangunan protein meliputi empat struktur, yaitu: (1) struktur primer; (2) struktur sekunder; (3) struktur tertier; dan (4) struktur kuarternair. Struktur bangunan protein tersebut dijelaskan Nosoh dan Sekoguchi (1991) sebagai berikut: (1) struktur primer menunjukkan kepada susunan linear residu asam amino sepanjang rantai polipeptida, dan menunjukkan kepada lokasi

ikatan kovalen, seperti ikatan disulfida antar rantai atau di dalam rantai; (2) Struktur sekunder berkaitan dengan pelipatan bagian dari rantai polipeptida menjadi struktur tertentu seperti heliks- $\alpha$  ( $\alpha$ -*helices*) dan lembar- $\beta$  ( $\beta$ -*sheets*); (3) Struktur tertier meliputi pelipatan region antara  $\alpha$ -*helices* dan  $\beta$ -*sheets* serta seluruh interaksi non-kovalen yang menjamin ketepatan pelipatan rantai polipeptida tunggal, seperti ikatan hidrogen dan hidrofobik, elektrostatik dan interaksi van der Waals; dan (4) Struktur quaterner menunjukkan kepada interaksi non-kovalen yang mengikat beberapa rantai polipeptida menjadi molekul protein tunggal, seperti yang terlihat pada beberapa protein.

Macam kekuatan ikatan non-kovalen yang membentuk struktur rantai polipeptida tiga dimensi adalah daya dispersi, interaksi elektrostatis, ikatan hidrogen, daya hidrofobik (Schulz and Schirmer (1979) dalam Nosoh and Sekiguchi, 1991). Tabel 2.4 menunjukkan berbagai kekuatan ikatan yang membentuk struktur protein.

Tabel 2.4 Energi Ikatan pada Struktur Protein

Jenis Ikatan	Energi Ikatan (kkal/mol)
C – C Kovalen	83
S – S Kovalen	50
Ikatan Hidrogen	3-7
Ikatan elektrostatik Ionik	3-7
Ikatan Hidrofob	3-5
Ikatan Van der Walls	1-2

(Sumber: deMan (1997))

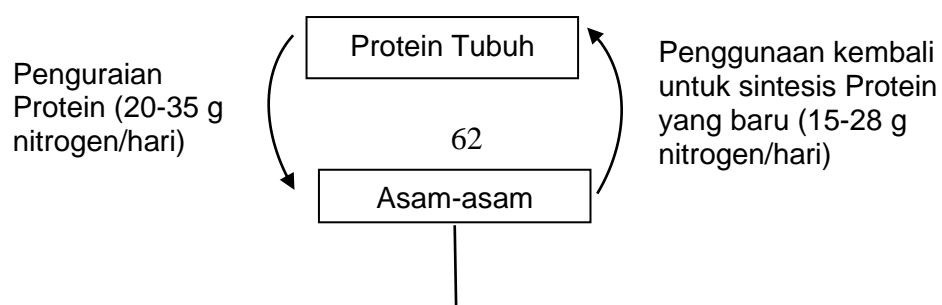
Ikatan peptida atau kovalen pada bangunan protein sulit dipecah dengan reaksi kimia biasa. Ikatan non-kovalen protein mudah dipecah dengan reaksi

kimia biasa yang menyebabkan protein kehilangan sifat alaminya (denaturasi). Suatu protein berbeda dari protein yang lainnya dalam hal berikut ini, yaitu; (1) jumlah asam amino yang ada; (2) adanya asam amino spesifik; (3) frekuensi asam amino yang kelihatan; (4) kemungkinan kombinasi asam amino; dan (5) bentuk molekul protein (Hui, 1985)

## 7. Kebutuhan Protein Tubuh

Protein dari sudut pandang ilmu makanan (nutrisi) merupakan salah satu zat makanan atau zat gizi (nutrient) penting bagi tubuh. Selain, karbohidrat, lipid, mineral, dan vitamin, protein menduduki prioritas utama yang perlu dipenuhi dalam menu makanan sehari-hari (Linder, 1992). Protein dibutuhkan tubuh untuk melakukan fungsi sebagai berikut: (1) untuk pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan; (2) pembentukan senyawa tubuh yang esensial; (3) regulasi keseimbangan air dan asam-basa; (4) pembentukan antibody (detoksifikasi); (5) transport zat gizi; dan (6) sumber energi (Hui, 1985; Muchtadi, 2010).

Protein dibutuhkan oleh manusia, baik yang sedang tumbuh maupun yang sudah dewasa. Orang yang sedang tumbuh membutuhkan tambahan protein ekstra, karena jaringan baru yang dibentuk dan cairan tubuh mengandung protein. Protein di dalam tubuh secara kontinyu dihidrolisis menjadi asam amino komponennya dan kemudian disintesis kembali. Fenomena hidrolisis dan resintesis ini disebut pergantian protein (*protein turnover*), seperti ditunjukkan pada Gambar 2.16.



Gambar 2.16 Hubungan Kuantitatif Proses Pertukaran Protein dan Asam amino (Sumber: Murray dkk, 1995)

Selama hidrolisis protein di dalam tubuh, fraksi asam amino bebas memasuki jalur katabolisme asam amino, jadi menuju kepada kehilangan protein yang permanen. Sejumlah kecil protein utuh dan asam amino utuh juga hilang bersama urin dan feces. Protein dan asam amino fecal berasal, sebagian dari protein cairan pankreatis dan dari sel-sel mati yang terkelupas dari mukosa usus. Senyawa nitrogen lain, seperti keratin dan asam urat hilang bersama urin. Sejumlah protein yang hilang dari tubuh sebagai hasil dari pemecahan protein dan asam amino tubuh disebut kehilangan nitrogen obligator (*obligatory nitrogen loss*). Oleh Karena itu, protein makanan harus dikonsumsi untuk mengganti yang hilang ini.

Jumlah protein yang diperlukan untuk mengganti kehilangan obligator disebut kebutuhan protein untuk pemeliharaan (*protein required for maintenance*). Jadi, hewan dewasa, sebagaimana halnya, hewan yang sedang tumbuh, membutuhkan pemeliharaan protein (Brody, 1991). Kebutuhan protein untuk orang dewasa menurut *National Research Council of the National Academy of Sciences* kira-kira 0,8 g/kg berat badan (Hui, 1985). Tabel 2.5 menunjukkan kebutuhan harian yang dianjurkan (*Recommended Daily Allowance* , RDA) protein untuk kelompok usia dan selama kehamilan dan menyusui.



Tabel 2.5 Daftar Anjuran Kebutuhan Protein Harian Berdasarkan Kelompok Umur dan selama Kehamilan dan Menyusui

Umur (Tahun) atau Kondisi	RDA (g protein/hari)
0.0 – 0.5	Berat badan (kg) x 2.2
0.5 – 1.0	Berat badan (kg) x 2.0
1 – 3	23
4 – 6	30
7 – 10	34
11 – 14 Pria	45
15 – 51+ Pria	56
11 – 18 Wanita	46
19 – 51+ Wanita	44
Kehamilan	+30
Menyusui	+20

(Sumber: Hui , 1985)

Manusia perlu mengkonsumsi protein makanan untuk memenuhi kebutuhan semua asam amino, terutama asam amino esensial (Linder, 1992). Ada 20 macam asam amino yang umum ditemukan dari berbagai protein yang ada di alam. Dari ke-20 asam amino ini, secara nutrisi dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu asam amino esensial dan asam amino non-esensial. Secara umum, esensial adalah suatu istilah yang digunakan untuk nutrient yang diperlukan tubuh, tetapi tubuh tidak mampu membuat. Suatu asam amino esensial adalah satu dari 8 sampai 10 asam amino, kebutuhan untuk fungsi tubuh yang tepat, yang harus dikonsumsi dari makanan karena tubuh tidak dapat membuatnya. Asam amino non-esensial dapat dibuat oleh tubuh selama bahan-bahan yang diperlukan tersedia. Tubuh manusia dapat mensintesis secara sistematis kebanyakan asam amino dari nutrient seperti karbohidrat, lemak dan sumber bernitrogen (Hui, 1985). Tabel 2.6 menunjukkan kelompok asam amino esensial dan non-esensial.

Tabel 2.6 Asam Amino yang Tersedia di Alam

Esesnsial untuk Dewasa dan Bayi	Esensial hanya untuk Bayi	Non-esensial	Diragukan†
Isoleusin	Arginin	Alanin	Hidroksiprolin
Leusin	Histidin	Asparagin	Norleusin
Lisin		Asam Aspartat	Thiroksin
Methionin		Sistein	
Fenilalanin		Sistin	
Threonin		Asam Glutamat	
Triptofan		Glutamine	
Valin		Glisin	
		Prolin	
		Serin	
		Tirosin	

† kadang-kadang disebut asam amino

(Sumber: Hui, 1985)

Kebutuhan protein bagi tubuh dapat digambarkan sebagai suatu keseimbangan nitrogen. Keseimbangan nitrogen merupakan perbedaan antara jumlah nitrogen yang dikonsumsi per hari dan jumlah nitrogen yang diekresikan per hari. Secara matematis, definisi keseimbangan nitrogen dapat dinyatakan dalam bentuk rumus sebagai berikut:

$$\text{Keseimbangan N} = \text{g N yang dimakan} - \text{g N yang hilang}$$

Berdasarkan hasil perhitungan dengan menggunakan rumus di atas, ada tiga kemungkinan kesetimbangan nitrogen dalam tubuh (Murray dkk, 1995), yaitu: (1) Konsumsi nitrogen dengan jumlah yang lebih banyak daripada jumlah yang diekresikan merupakan keseimbangan nitrogen positif, suatu keadaan khas yang dijumpai pada anak yang sedang tumbuh atau pada wanita hamil; (2) Dalam keseimbangan nitrogen, yang khas bagi manusia dewasa, masukan nitrogen mengimbangi pengeluaran nitrogen dalam feses dan urin; dan (3) Keseimbangan

nitrogen negatif, dimana pengeluaran melampaui masukan nitrogen, menjadi ciri khas pada pasien pascabedah tertentu, pasien penyakit kanker stadium lanjut, dan pasien yang mengkonsumsi nitrogen dalam jumlah yang tidak memadai (misalnya, pada pasien penyakit kwashiorkor) atau protein bermutu rendah dari makanan.

Orang dewasa normal biasanya mempertahankanimbangan nitrogen, maksudnya, pengambilan nitrogen harian sama dengan pengeluarannya. Sekitar 80% nitrogen yang dibuang lewat kemih berbentuk urea, dan hampir semua limbah nitrogen dari metabolisme dibuang ke dalam kemih; senyawa nitrogen dalam tinja terutama berasal dari bahan tak tercerna. Anak-anak mempunyaiimbangan nitrogen positif. Karena pertumbuhannya dan sel-selnya sedang membuat protein dan senyawa nitrogen lainnya, anak-anak membuang lebih sedikit nitrogen dibanding yang dikonsumsinya.

Kebutuhan protein secara individu berbeda-beda, tergantung pada beberapa faktor, di antaranya: (1) ukuran tubuh; (2) umur; (3) jenis kelamin; (4) status gizi; (5) kehamilan dan menyusui; (6) iklim; (7) aktivitas; (8) kondisional; (9) komponen makanan; (10) status emosional; dan (11) penyakit (Hui, 1985). Beberapa keadaan dapat mengakibatkanimbangan nitrogen negatif. Selama kelaparan dan pada penyakit tertentu, kerangka karbon dari asam amino yang berasal dari pemecahan protein otot harus mengalami katabolisme sebagai sumber energi. Karena tidak ada protein baru yang dimakan, orang yang lapar membuang lebih banyak nitrogen dibanding yang dikonsumsinya.

Kurangnya satu asam amino esensial dalam makanan juga mengakibatkanimbangan nitrogen negatif. Tanpa satu asam amino esensial ini, asam amino lainnya tak dapat digunakan untuk membuat protein yang lengkap. Asam amino

lainnya ini mengalami deaminasi dan nitrogennya dibuang sebagai urea. Kebutuhan protein dari makanan berdasar pada kebutuhan asam amino yang tidak dapat disintesis dalam tubuh (Linder, 1992: Sediaoetama, 1987). Oleh karena itu, FAO-WHO menetapkan angka-angka kebutuhan masing-masing asam amino esensial sebagai *Provisional Amino Acid Pattern* (PAP) atau disebut protein induk atau protein stantar sebagaimana disajikan pada Tabel 2.7.

Tabel 2.7 Daftar *Provisional Amino Acid Pattern* (PAP)

Asam Amino Esensial (AAE)	g AAE/100 g Protein
Lisin	5,5
Methionin + Sistin	3,5
Threonin	4,0
Isoleusin	4,0
Leusin	7,0
Valin	5,0
Phenilalanin + tirosin	6,0
Triptofan	1,0

(Sumber: Sediaoetama, 1987)

Gambaran tidak terpenuhinya kebutuhan protein dan zat gizi lain sering disebut malnutrisi. Malnutrisi dapat diartikan sebagai kesalahan dalam penyediaan kebutuhan zat gizi (nutrient) dari bahan makanan atau kesalahan dalam komposisi hidangan. Sediaoetama (2010) mengemukakan bahwa malnutrisi meliputi gizi kurang (defisiensi) dan gizi lebih. Keadaan gizilebih dapat terjadi bila konsumsi, baik kualitas maupun jumlahnya melebihi kebutuhan tubuh. Gizi kurang dapat terjadi bila konsumsi kurang, baik kualitas maupun jumlahnya.

Malnutrisi protein yang umum adalah defisiensi. Dua keadaan yang umum terjadi pada defisiensi protein, yaitu **kwashiorkor** dan **marasmic-kwashiorkor**. **Kwashiorkor** merupakan penyakit yang disebabkan oleh defisiensi protein yang ekstrim. Gambaran klinik kwashiorkor adalah berat badan lebih rendah dari berat

badan standar usia yang bersesuaian, tetapi tidak sampai di bawah 60%, oedema, apathies, rambut halus, jarang, warna pirang kemerahan dan kusam, kulit tampak kering (xerosis), kasar dan mengelupas, terjadi pembesaran hati (hepatomegalia), kadar protein darah menurun.

**Marasmic-kwashiorkor** sering disebut kurang kalori dan protein (KKP), atau *protein calorie malnutrition* (PCM), atau *protein energy malnutrition* (PEM). Penderita KKP mempunyai berat badan di bawah berat standar seusianya. Penyakit ini menyerang anak BALITA, dengan puncak frekuensi pada kelompok umur 2 – 4 tahun.

Kurang gizi tidak selalu disebabkan oleh kekurangan makanan, yang disebut sebagai *malnutrisi primer*. Keadaan tersebut dapat juga timbul sebagai akibat gangguan absorpsi, penggunaan, atau penyimpanan; kehilangan secara berlebih (misalnya penyakit katabolik kronik dengan demam); atau kebutuhan yang meningkat (misalnya kehamilan, pertumbuhan yang cepat dan lain sebagainya). Kurang gizi yang demikian disebut *malnutrisi sekunder* (Robbins dan Kumar, 1992; Chandrasoma dan Taylor, 2006).

Kasus gizikurang protein banyak terjadi di negara-negara dunia ketiga, dimana daging, ikan dan sumber lain berkualitas protein tinggi sangat jarang. Selain dari itu, pola makan masyarakat yang lebih cenderung kepada salah satu jenis sumber bahan makanan, hewani atau nabati, dapat menyebabkan defisiensi salah satu atau lebih kebutuhan asam amino esensial. Brody (1994) mengemukakan bahwa kualitas protein menunjukkan kepada kemampuan protein makanan mensuplai asam amino yang diperlukan tubuh. Defisiensi protein dapat juga karena susutnya jumlah kandungan protein selama pengolahan (Haris dan Karmas, 1989).

## 8. Kualitas Protein Bahan Makanan

Protein bahan makanan secara umum dibutuhkan untuk; (1) masukan yang cukup dari 8 sampai 10 asam amino esensial; (2) sumber nitrogen yang baik; dan (3) menyediakan kalori (Hui, 1985). Jenis makanan sebagai sumber protein dapat berasal dari hewan (protein hewani) dan atau dari tumbuhan (protein nabati). Tabel 2.8 menunjukkan contoh beberapa jenis bahan makanan sumber protein hewani dan nabati.

Tabel 2.8 Kadar Protein Beberapa Bahan Makanan

Bahan Makanan	Protein (g%)	Bahan Makanan	Protein (g%)
Sumber Protein Hewani		Sumber Protein Nabati	
Daging	18,8	Kacang kedelai, kering	34,9
Hati	19,7	Kacang ijo	22,2
Babat	17,6	Kacang tanah	25,3
Jerohan, iso	14,0	Beras	7,4
Daging kelinci	16,6	Jagung, panen lama	9,2
Ikan segar	17,0	Terigu, tepung	8,9
Kerang	16,4	Jampang	6,2
Udang segar	21,0	Kenari	15,0
Ayam	18,2	Kelapa	3,4
Telur	12,6	Daun singkong	6,8
Susu sapi	3,2	Singkong, tapioka	1,1

(Sumber: Sediaoetama, 1987)

Berdasarkan Tabel 2.8, bahan makanan ada yang dikelompokkan ke dalam sumber protein baik dan kurang baik. Muchtadi (2010) mengemukakan bahwa ada dua faktor yang menentukan nilai gizi suatu protein, yaitu: (1) daya cerna atau nilai cernanya dan (2) kandungan asam amino esensialnya. Jadi, protein yang mudah dicerna (dihidrolisis) oleh enzim-enzim pencernaan dan mengandung asam-asam amino esensial yang lengkap serta dalam jumlah yang seimbang merupakan merupakan protein yang bernilai gizi tinggi.

Kualitas protein menunjukkan kepada kemampuan protein makanan menyediakan asam amino yang diperlukan tubuh (Brody, 1994). Pada umumnya, protein hewani, unggas, dan ikan mempunyai proporsi asam amino esensial yang cukup. Kecuali kedelai, protein nabati tidak dapat memenuhi protein ideal, karena biasanya satu atau dua asam amino esensialnya tidak mencukupi (Linder, 1992). Walaupun demikian, bahan makanan sumber protein nabati juga perlu dikonsumsi dengan cara mengkombinasikan berbagai jenis bahan makanan agar diperoleh campuran asam amino esensial yang lebih baik atau bahkan lengkap atau ideal.

Kualitas protein bahan makanan dapat ditingkatkan dengan suplementasi asam amino pembatas yang tepat pada bahan makanan tertentu, misalnya asam amino pembatas pada protein gandum adalah lisin (Brody, 1994). Tabel 2.9 menunjukkan kandungan asam amino sumber protein nabati (sereal, kacang) dan protein hewani (daging, ikan, telur, susu).

Tabel 2.9 Kandungan Asam Amino Esensial Beberapa Sumber Protein Nabati dan Hewani

Asam Amino Esensial	Pola FAO	Gandum	Beras	Jagung	Kedelai	Daging Sapi	Ikan	Telur	Susu
(mg/g)									
Isoleusin	270	250	400	330	340	327	317	415	407
Leusin	306	440	940	510	480	512	472	580	626
Lisin	270	170	140	200	400	546	518	400	496
Fenilalanin	180	320	310	310	80	155	232	361	309
Metionin	144	150	190	190	320	257	182	196	156
Treonin	180	210	230	240	250	276	271	311	294
Triptofan	90	80	40	80	90	73	62	103	90
Valin	270	270	330	330	350	347	333	464	438

(Sumber: Diadaptasi dari Aykryrd dan Doughty (1964) dalam Muchtadi, 2010).

Ketiadaan salah satu asam amino esensial dalam makanan akan menjadi penghambat dalam mensintesis suatu jenis protein. Sediaoetama (2010) mengemukakan bahwa bila satu atau lebih asam amino-asam amino esensial

ditiadakan dari susunan makanan binatang percobaan, maka binatang percobaan tersebut menunjukkan hambatan pertumbuhan dan terjadi *nitrogen balance* yang negatif.

## **9. Kerusakan Protein Bahan Makanan**

Pada umumnya, zat gizi rusak ketika makanan diolah, karena zat tersebut peka terhadap pH pelarut, oksigen, cahaya, dan panas atau kombinasinya (Harris dan Karmas (Eds.), 1989). Protein dalam bahan makanan dapat mengalami kerusakan, baik secara alami maupun selama pengolahan. Ada beberapa hasil reaksi degeneratif dari lingkungan pemrosesan dan penyimpanan yang dapat menyebabkan perubahan yang tidak diinginkan pada protein. Hasil dari reaksi degeneratif ini, protein dapat menunjukkan kehilangan nilai fungsional, nilai nutrisi, meningkatkan resiko toksisitas, dan perubahan rasa baik yang diinginkan maupun tidak diinginkan (Richardson dan Finley (Eds.), 1985).

Protein bahan makanan, secara alami akan mengalami kerusakan, karena penguraian oleh mikroorganisme. Mikroorganisme akan menguraikan struktur kompleks protein menjadi senyawa sisa yang tidak berguna dan toksik, seperti  $\text{NO}_2$ ,  $\text{NO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{H}_2\text{S}$  atau  $\text{NH}_3$  (Supardi dan Sukamto, 1999). Pengolahan bahan makanan akan merubah struktur protein menjadi senyawa-senyawa baru, baik yang bermanfaat maupun merugikan (Apriyantono, 2002).

Perubahan struktur protein dapat terjadi karena denaturasi. Secara fisik, denaturasi dapat dipandang sebagai pengacakan bentuk suatu rantai polipeptida tanpa mempengaruhi struktur primernya. Denaturasi protein oleh reagensia seperti urea, sodium dodesil sulfat (SDS), ion  $\text{H}^+$  ringan atau  $\text{OH}^-$  akan memutuskan ikatan hidrogen, hidrofobik, dan elektrostatik, tetapi tidak memutuskan ikatan



peptida atau pun disulfida (Murray dkk, 1995). Lehninger (1993) mengemukakan bahwa denaturasi yang menyebabkan hilangnya aktivitas biologi dari suatu protein ditentukan bukan oleh struktur primer, yang menunjukkan deret ikatan kovalen asam amino dalam polipeptida, tetapi oleh struktur lebih tinggi. Protein globular biasanya menjadi tidak larut dan kehilangan aktivitas biologis tanpa kerusakan kerangka polipeptida, dengan pemanasan, penambahan pH ekstrim, atau perlakuan dengan pereaksi tertentu. Denaturasi disebabkan oleh membukanya rantai polipeptida.

Walaupun, pemanasan membantu dalam denaturasi protein, namun pemanasan yang tinggi dapat merusak protein. Raseminasi, hidrolisis, desulfurasi, dan deaminasi merupakan perubahan yang terjadi pada protein yang bersifat irreversible dan beberapa reaksi dapat menghasilkan senyawa toksik (Apriyantono, 2002). Selain panas, reaksi pada kerusakan protein dipengaruhi juga faktor-faktor, seperti pH, oksidator, antioksidan, radikal, dan senyawa aktif lainnya khususnya senyawa karbonil (Apriyantono, 2002). Tabel 2.10 menunjukkan degradasi protein yang disebabkan oleh suhu.

Tabel 2.10 Pengaruh Panas Terhadap Protein

Suhu	Perubahan atau Degradasi
70-80°C	Memutus ikatan disulfida
80-100°C	Membuka struktur heliks Mengurai lebih lanjut struktur protein Menghilangkan disulfida

100-150 °C	Dekomposisi lisin Menghilangkan serin dan threonin Pembentukan isopeptida
200-250 °C	Pembentukan lisino-alanin Pyrolysis seluruh asam amino
>300 °C	Pembentukan produk-produk pyrolysis karsinogenik

(Sumber: Richardson dan Finley (Eds.), 1985).

Pengolahan bahan makanan dengan zat kimia, misalnya pengawetan dan memasak, dapat mempengaruhi kerusakan protein. Pengolahan pangan, khususnya pada pH alkali, dapat menyebabkan pembentukan *cross link*. Beberapa protein pangan mengandung *cross-link* intra- dan antar-molekul, contohnya adalah ikatan disulfide pada protein globular, di- dan trityrosine *type cross-link* pada protein serat seperti keratin, elastin dan kolagen. Salah satu fungsi *cross-link* pada protein alami adalah supaya tidak mudah dipecah oleh proteolitik. Pembentukan ikatan kovalen antara rantai polipeptida ini dapat menurunkan daya cerna dan ketersediaan biologisnya, khususnya yang melibatkan asam amino esensial (Apriyantono, 2002).

Formalin sebagai bahan pengawet memiliki kemampuan untuk membentuk protein *cross-link* (Kiernan, 2000; Nadeau dan Carlson, 2005). Ikatan silang yang diinduksi formaldehid akan merubah struktur protein yang selanjutnya akan menyebabkan endapan protein yang berhubungan dengan penyakit patologis kronik (Haberle *et al.*, 2004). Paparan formaldehid dapat menyebabkan terbentuknya pita protein baru pada organisme hidup. Mahdi (2008) menemukan bahwa tikus yang diinduksi dengan formalin membentuk jenis protein dengan berat molekul 29,6 kDa. Protein dengan berat molekul 29,6 kDa ini tidak terdapat pada tikus kontrol, sehingga dapat dijadikan indikator perubahan struktur protein akibat paparan formalin.

Secara nutrisi, penggunaan formalin dalam bahan makanan dapat menyebabkan penurunan nilai gizi protein bahan makanan. Perlakuan formaldehid pada casein dan laktalbumin pakan tikus terbukti menurunkan secara progresif tingkat kelarutan, pencapaian berat, PER, pencernaan protein total dan retensi nitrogen (Hove and Lohrey, 1976). Sihombing dan Sihombing (1996) mengemukakan bahwa nilai biologis tahu yang direndam dalam formalin mengalami penurunan dengan nilai PER dalam formalin 8‰ sebesar 0,55 dibandingkan dengan PER tahu tanpa formalin sebesar 2,15.

## **5. Sifat Immunogenesitas Protein Bahan Makanan**

Istilah antigen sering disamakan dengan istilah imunogen, walaupun keduanya berbeda dari sifatnya. Imunogen adalah bahan yang dapat merangsang respon imun. Antigen adalah bahan yang berinteraksi dengan produk respons imun. Suatu antigen memiliki dua sifat: (1) **imunogenesitas**, yaitu kemampuan untuk menstimulus pembentukan antibodi yang berhubungan, dan (2) **antigenesitas**, yaitu kemampuan untuk bereaksi secara spesifik dengan antibodinya (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Secara fungsional antigen dibagi menjadi antigen lengkap (imunogen) dan antigen tidak lengkap (hapten). Antigen lengkap adalah antigen yang menginduksi, baik respons imun maupun bereaksi dengan produknya. Antigen inkomplit atau hapten adalah antigen yang tidak dapat dengan sendirinya menginduksi respons imun, tetapi dapat bereaksi dengan produknya seperti antibodi. Hapten dapat dijadikan imunogen melalui ikatan dengan molekul besar yang disebut molekul atau protein pembawa (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Bahan kimia yang bersifat asing, biasanya bahan kimia yang memiliki berat moleku besar. Berbagai makromolekul dapat bertindak sebagai antigen, seperti seluruh protein, beberapa polisakarida, nukleoprotein, lipoprotein, sejumlah polipeptida sintetis, dan beberapa molekul kecil, jika molekul itu terikat pada protein atau polipeptida yang cocok (Esien, 1980). Leviston dan Jawetz (1989) mengemukakan bahwa ciri-ciri yang menentukan molekul imunogenisitas, yaitu: (1) keasingan (*foreignness*), (2) ukuran molekul (*molecular size*), (3) kompleksitas struktur molekul (*chemical-structural complexity*), (4) determinan antigenik/epitop (*antigenic determinat or epotopes*), dan (5) dosis, rute, dan waktu pemberian antigen (*doses, route, and timing of antigenic administration*).

Protein merupakan makromolekul yang potensial sebagai antigen. Molekul protein merupakan molekul dengan tingkat kompleksitas atau kerumitan yang tinggi (Soewoto, dkk., 2001). Protein dengan berat molekul lebih dari 100.000 kebanyakan merupakan imunogen yang poten (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009; Leviston and Jawetz, 1989). Berdasarkan sifat kimiawi, protein merupakan imunogen dengan banyak epitop yang bermacam-macam, tetapi setiap macam epitop hanya ada satu atau *multideterminan-univalen* (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Protein bahan makanan yang bersifat asing (antigen) adalah protein yang tidak rusak pada saat proses memasak dan tidak rusak pada saat berada di keasaman lambung. Protein yang lolos dari pencernaan akan memasuki peredaran darah dan menjadi antigen untuk merangsang timbulnya respon imun (Brody, 1994).

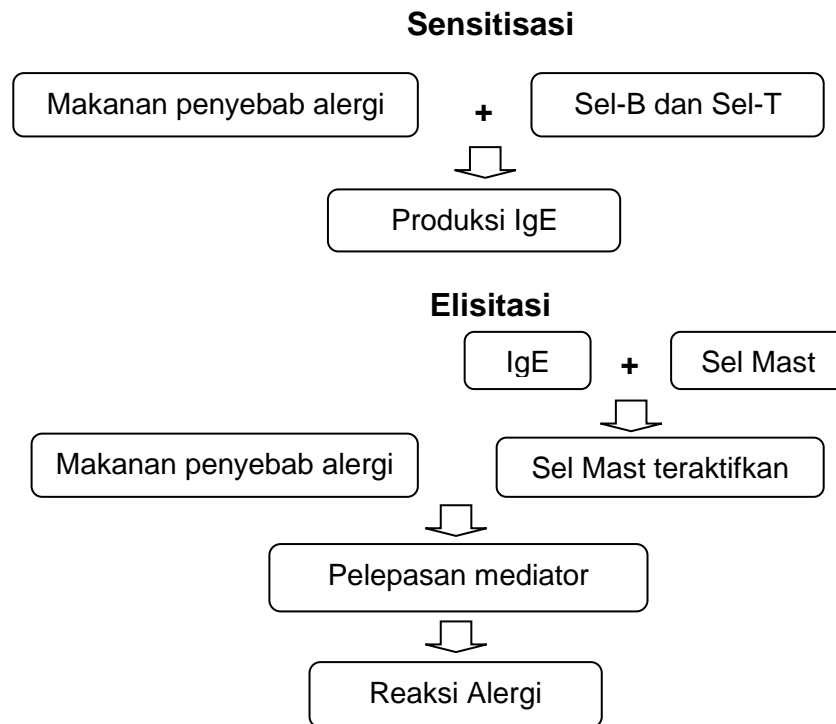
Hapten biasanya berupa molekul kecil, tetapi beberapa molekul berbobot tinggi seperti asam nukleat adalah hapten yang baik (Leviston and Jawetz, 1989).

Hapten dengan berat molekul kurang dari 500-1000 Da, termasuk hapten yang memiliki berat molekul rendah (Trihapsoro, 2003). Formaldehid menurut Trihapsoro (2003) termasuk salah satu contoh hapten dengan berat molekul rendah. Formaldehid memiliki kemampuan berikatan dengan makromolekul, seperti protein dan asam nukleat, sehingga menjadi imunogen (Leviston and Jawetz, 1989).

Efek toksik sangat beragam dalam sifat, organ sasaran, maupun mekanisme kerjanya (Lu, 1995). Reaksi alergi merupakan salah satu bentuk efek toksik pada tubuh. Alergi atau disebut hipersensitivitas dapat didefinisikan sebagai suatu respons imun yang menghasilkan reaksi berlebihan atau tidak diinginkan yang membahayakan tuan rumah (*host*) (Levinson and Jawetz, 1989).

Konsekuensi yang tidak menguntungkan dari sisa protein dalam saluran pencernaan akan berkembang menjadi alergi makanan (Brody, 1994). Banyak bahan makanan yang menjadi sumber protein tubuh, menimbulkan respons imun alergi pada sebagian orang. Susu dan produk dari susu, kacang-kacangan, kedelai, polong-polongan, gluten, dan makanan hasil laut merupakan bahan makanan yang termasuk ke dalam daftar makanan alergi (Leman dan Ambarwati, 2004; Hartemink dan Ervina, 2007). Terdapat lebih dari 40 jenis protein yang berbeda dalam susu sapi yang berpotensi untuk menyebabkan sensitivitas. Kandungan pada susu sapi yang paling sering menimbulkan alergi adalah lactoglobulin (18,3 kDa), selanjutnya casein (20-30 kDa), lactalbumin bovine serum albumin, BSA (14,2 kDa) (Samodra, 2009). Tipe reaksi alergi yang disebabkan oleh makanan, pada umumnya termasuk ke dalam reaksi hipersensitivitas tipe I, III dan IV (Judarwanto, 2005).

Alergi makanan adalah respons abnormal tubuh terhadap suatu makanan yang dicetuskan oleh reaksi spesifik pada sistem imun dengan gejala yang spesifik pula (Judarwanto, 2005; blogdokter, 2008). Mekanisme alergi terhadap makanan ditunjukkan pada Gambar 2.17.



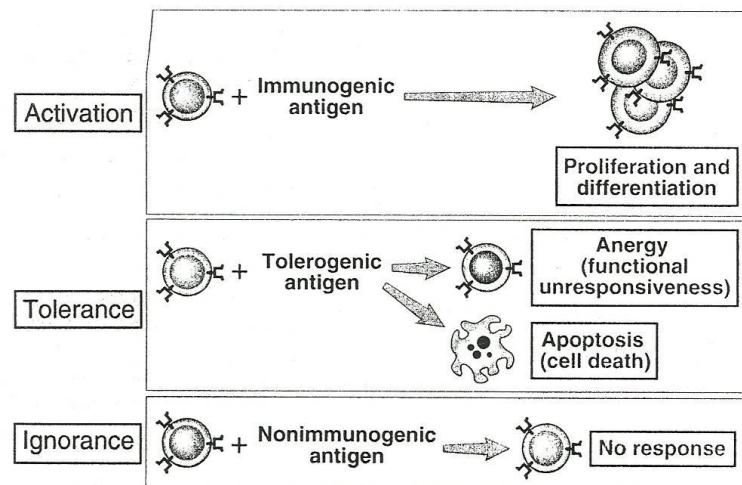
Gambar 2.17 Skematik Mekanisme Alergi (Sumber: fda.gov. dalam Sophia, 2009).

Respons imun dalam reaksi alergi terjadi melalui dua tahap, yaitu (1) tahap sensitisasi allergen dan (2) tahap elisitasi (Sophia, 2009). **Tahap sensitisasi** atau disebut tahap induksi merupakan tahap dimana tubuh memproduksi antibodi IgE yang spesifik pada saat kontak pertama dengan allergen (makanan penyebab alergi yang dikonsumsi) dan terikat pada permukaan Fc-receptor mastosit (*mast cells*) atau basofil. **Tahap elisitasi** terjadi pada paparan kedua allergen yang sama. Dimana, Immunoglobulin E (IgE) akan mengikat allergen

yang diikuti dengan proses biokimiawi yang berakhir dengan pelepasan mediator yang dikandung dalam butir-butir selnya, seperti histamine, arakhidonik, heparin, kemotripsin/tripsin dan *inflamatori factor of anaphylaxis* (IF-A). Gejala klinik yang tampak pada tahap awal adalah berkembangnya bintul dan kemerahan kulit menjadi daerah dengan eritema, indurasi, rasa panas, dan gatal dalam tempo 6-8 jam setelah terpapar oleh allergen (Sophia, 2009).

Toleransi imun merupakan mekanisme lain dalam sistem imun tubuh. Salah satu peran toleransi imun adalah untuk menyelamatkan tubuh dari mekanisme autoimun. Dalam hal ini, toleransi mengandung pengertian mekanisme proteksi untuk mencegah terjadinya penyakit autoimun, melindungi individu dari limfosit yang potensial self-reaktif terhadap antigen sel tubuh sendiri (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Toleransi imun dapat juga terjadi terhadap antigen dari luar. Abbas dan Lichtman (2004) mengemukakan bahwa ada tiga kemungkinan hasil paparan limfosit dengan antigen tertentu, yaitu respons imun, toleransi, dan pengabaian atau *ignorance*. Gambar 2.18 menunjukkan tiga kemungkinan hasil perlawanan limfosit terhadap antigen.



Gambar 2.18 Konsekuensi Pertemuan Limfosit dengan Antigen (Sumber: Abbas and Lichtman, 2004)

Berdasarkan Gambar 2.18, limfosit mungkin teraktivasi, yang mengarah kepada respons imun; antigen yang menimbulkan respons disebut imunogenik. Limfosit mungkin secara fungsional tidak teraktivasi atau terbunuh, yang menghasilkan toleransi; antigen yang menginduksi toleransi disebut tolerogenik. Dalam beberapa situasi, limfosit antigen-khusus mungkin tidak bereaksi dengan cara apapun, fenomena ini disebut *ignorance*; limfosit dengan mudah mengabaikan keberadaan antigen.

Antigen imunogenik tidak akan menimbulkan respons imun, apabila antigen tidak sampai ke jaringan limfoid. Toleransi atau kegagalan untuk membentuk antibodi atau mengembangkan respons imun seluler pasca pajanan dengan imunogen atau antigen terjadi hanya terhadap antigen tertentu saja dan tidak disertai gangguan terhadap respons antigen yang lain (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009). Terjadinya toleransi atau imunitas sebagai respons terhadap antigen tergantung banyak faktor, seperti ditunjukkan pada Tabel 2.11.

Tabel 2.11 Faktor-faktor yang Menentukan Imunogenisitas dan Tolerogenisitas

Faktor Pemicu	Respons Imun	Toleransi
Dosis	Dosis optimal bervariasi untuk berbagai antigen	Dosis tinggi
Persistensi faktor	Hidup pendek (eliminasi oleh respons imun) SK, ID; tidak ada organ generative	Diperpanjang IV, oral, ada organ generative
Tempat masuk, lokasi Adanya ajuvan	Antigen dengan ajuvan; merangsang sel T	Antigen tanpa ajuvan
Sifat APC	Kadar tinggi kostimulator	Kadar rendah kostimulator dan sitokin

(Sumber: Baratawidjaja dan Rengganis, 2009)



## C. Udang Putih sebagai Sumber Protein

### 1. Aspek Biologi Udang Putih

Udang merupakan salah satu hasil laut yang banyak dikonsumsi masyarakat. Udang merupakan bahan makanan sebagai sumber protein hewani yang potensial dan bernilai ekonomis tinggi (Kordi K, 2007). Udang adalah hewan invertebrata yang hidup di air, baik tawar maupun asin (laut).

Jenis udang yang biasa dikonsumsi sangat beragam, seperti udang putih, udang windu, udang galah, dan lobster (Bisnisukm, 2009; Murtidjo, 1992). Salah satu, di antara yang banyak dikonsumsi adalah udang putih atau udang vanname (*Litopenaeus vannamei*). Udang vanname merupakan salah satu jenis udang air laut yang sudah mulai dibudidayakan di tambak (Kordi K., 2007).

Dalam sistematika hewan, udang vanname termasuk kedalam hewan invertebrate, Filum Arthropoda, Kelas Crustacea, Famili Penaeidea (Kordi K, 2007). Udang Putih vaname dalam Bahasa Latin disebut *Litopenaeus vannamei* merupakan invertebrata dengan tubuh berbuku, jumlah kaki 5 pasang atau 10 buah, sehingga disebut decapoda (deca = sepuluh, poda = kaki). Udang Putih, juga memiliki karapak yang berkembang menutupi bagian kepala dan dada menjadi satu (*cephalothorax*). Family Penaeidae yang menetasakan telurnya di luar tubuh, setelah dikeluarkan oleh si betina dan udang ini memiliki tanduk (rostrum). Genus *Penaeus* yang ditandai dengan adanya gigi pada bagian atas dan bawah rostrum, juga ditandai dengan hilangnya bulu cambuk (setae) pada tubuhnya. Secara khusus udang ini memiliki dua gigi pada tepi rostrum bagian ventral dan 8-9 gigi pada tepi rostrum bagian dorsal. Subgenus *Litopenaeus* yang ditandai dengan adanya organ seksual (thelycum) yang terbuka tanpa adanya tempat penampung sperma pada species betina.

*Letapenaeus vannamei* berasal dari Hawaii dan kini telah banyak dikembangkan di Taiwan, Cina, Thailand, dan Vietnam. Di Indonesia, udang vannamei telah dibudidayakan di Lampung, Jawa Timur dan Sulawesi Selatan. Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) yang satu genus dengan *Penaeus merquensis* dikenal juga dengan nama lain, seperti: *Pacific White Shrimp*, *West Coast White Shrimp*, *Penaeus vannamei*, *Camaron Blanco Langostino*, *White Leg Shrimp* (FAO), *Crevette Pattes Blanches* (FAO), *Camaron Pati Banco* (FAO). Secara praktis, Udang Vanname memiliki ciri-ciri, di antaranya: kulit lunak dan licin, warna putih transparan, cepat lemah dan mati, harus cepat diproses pascapanen, habitat soliter dan melayang (Kordi K., 2007).

## 2. Komposisi Gizi dan Kualitas Udang

Pada umumnya, udang memiliki komposisi gizi yang cukup baik, dengan kandungan protein, lemak, karbohidrat, dan zat gizi lain yang cukup tinggi, sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 2.12.

Tabel 2.12 Komposisi Gizi Sumber Protein Hewani

Nama Bahan	Kandungan Gizi (per 100 g bahan)							
	Air (g%)	Energi (kal)	Protein (g%)	Lemak (g%)	Kar (g%)	Ca (mg%)	P (mg%)	Fe (mg%)
Bandeng	74	129	20,0	4,8	0	20	150	2,0
Ikan asin	40	193	42,0	1,5	0	200	300	2,5
Ikan segar	76	113	17,0	4,5	0	20	200	1,0
Kepiting	68	151	13,8	3,8	14,1	210	250	1,1
Kerang	85	59	8,0	1,1	3,6	133	170	3,1
Udang segar	75	91	21,0	0,2	0,1	136	170	8,0

(Sumber: Sediaoetama, 1987).

Udang memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dari sumber protein lain. Nilai protein udang dapat dikategorikan sebagai protein komplet (*complete protein*), karena udang mengandung asam amino yang tinggi, berprofil lengkap, dan sekitar 85-95 persen udang mudah dicerna tubuh (Zein, 2007). Tabel 2.13 menyajikan profil asam amino udang dan bahan makanan lain.

Tabel 2.13 Kandungan Asam Amino udang Ronggeng, Udang Karang, Daging Sapi, dan Telur.

No	Jenis Asam Amino	Kadar			
		Udang Ronggeng Segar (mg/100 g protein)†	Udang Karang Segar (mg/100 g protein)†	Daging sapi (mg/g protein)‡	Telur (mg/g protein)‡
1	Asam glutamat	3306 ± 11	2719	955	796
2	Asam aspartat	1555 ± 5	1648	562	601
3	Alanin	1504 ± 23	902	365	370
4	Glisin	1370 ± 33	961	304	207
5	Valin*	1016 ± 15	749	313	428
6	Threonin*	1002 ± 9	644	287	320
7	Leusin*	983 ± 7	1265	507	551
8	Lisin*	857 ± 15	1388	556	436
9	Tirosin	787 ± 10	532	225	260
10	Serin	674 ± 11	629	252	478
11	Histidin*	627 ± 7	325	213	152
12	Arginin*	624 ± 26	1393	395	381
13	Prolin	613 ± 17	526	236	260
14	Fenilalanin*	606 ± 8	672	275	358
15	Isoleusin*	599 ± 9	772	301	393
16	Metionin	561 ± 20	450	169	210
17	Sistin	300 ± 8	179	80	152

Keterangan: \*) Asam Amino Esensial

(Sumber: †) Jacoeb, dkk., 2008; ‡) deMan, 1997).

Selain kandungan protein, udang juga merupakan sumber zat gizi penting lain, seperti asam lemak esensial, vitamin larut air dan lemak, dan mineral. Udang mengandung sedikit asam lemak jenuh, tetapi kandungan asam lemak tak jenuh sangat tinggi, seperti omega-3 dan omega-6 masing-masing mencapai 540 mg dan 28 mg per 100 g udang segar. Vitamin yang terkandung dalam udang, di antaranya: Vitamin D (38%), Vitamin B12 (19%), Niacin (13%), Vitamin E (5%), Vitamin B6 (5%), Vitamin A (4%), dan Vitamin C (3%). Udang juga

mengandung berbagai mineral yang penting bagi tubuh, seperti selenium, fosfor, besi, tembaga, zinc, sodium, potassium dan kalsium (Zein, 2007).

Udang yang dapat memenuhi kebutuhan gizi tubuh adalah udang yang berkualitas baik. Udang segar dengan kualitas tinggi memiliki standar mutu sebagai berikut: (1) ukuran udang seragam; (2) baunya segar, kulit licin, dan warna alami (asli), tidak berubah menjadi merah muda; (3) badan utuh, tidak ada bagian-bagian yang patah atau lepas; (4) daging kenyal, rasanya manis; (5) mata bulat, hitam, bening, dan bercahaya; (6) tidak terdapat bercak-bercak hitam di kepala, sambungan ruas-ruas, kaki renang, sungut, dan ekor (Kordi K., 2007).

### **3. Pengolahan Udang Pascapanen**

Sebagaimana umumnya, produk komoditas pertanian, peternakan dan perikanan, udang akan segera mengalami kerusakan setelah panen (pascapanen). Suatu hal yang agaknya perlu mendapat perhatian ekstra dari produk hasil laut (*seafood*) itu adalah tingkat kemunduran mutu yang tinggi sebagai akibat dari proses pembusukan. Ikan, kerang, udang, dan lain-lain hasil laut merupakan sumber bahan pangan yang berkadar air tinggi (terutama dalam keadaan segar), kaya akan protein, dan struktur dagingnya tidak kuat (mudah dicerna) sehingga jenis pangan ini merupakan media yang empuk bagi bakteri pembusuk (Idrus, 1994; Supardi dan Sukanto, 1999; Adawyah, 2007).

Pengolahan merupakan salah satu cara untuk mempertahankan ikan dan produk perikanan lain dari proses pembusukan, sehingga mampu disimpan lama sampai tiba waktunya untuk dijadikan sebagai bahan konsumsi (Adwiyah, 2007). Pengolahan pasca panen terhadap hasil perikanan, secara umum memiliki persamaan teknik dan prosedur. Setelah ikan atau jenis hasil laut lainnya mati,

jasadnya akan memasuki tahapan **rigor mortis** (kekejangan). Dalam kondisi suhu kamar, peristiwa ini tidak berlangsung lama hanya beberapa menit. Sesudah tahapan rigor mortis berakhir, barulah dimulai proses penurunan mutu, yang diawali dengan reaksi biokimia yaitu oksida enzimatis yang merombak komponen daging. Kemudian atau bersamaan dengan proses itu, diikuti proses perombakan secara biologis oleh mikroba (bakteri) pembusuk yang biasanya terkonsentrasi di selaput lender epidermis yang menutupi tubuh, bagian dalam insang dan isi perut (Idrus, 1994).

Ada beberapa cara yang dapat dilakukan untuk menyelamatkan kebusukan makanan hasil laut hingga menjelang diolah, dimulai dari tingkat produsen sampai ke tangan konsumen. Cara pengolahan yang dilakukan terhadap hasil perikanan, secara umum meliputi empat cara, yaitu: (1) pengolahan dengan faktor fisikawi; (2) pengolahan dengan bahan pengawet (kimiawi); (3) pengolahan dengan faktor fisikawi dan kimiawi; dan (4) pengolahan dengan cara fermentasi (Adawyah, 2007).

Prinsip dasar untuk tujuan itu adalah mempertahankan ikan (atau jenis makanan laut lainnya) hidup selama mungkin, atau jika tidak memungkinkan, jalan yang harus ditempuh yaitu memperpanjang masa rigor mortis. Dengan demikian makanan hasil laut tersebut dapat diterima segar sebelum diolah. Tabel 2.14 menyajikan beberapa cara pengawetan bahan makanan.

Tabel 2.14 Beberapa Cara Pengawetan (*preservation*) Bahan Makanan

Cara Kimia	Radiasi	Cara Fisik	Cara Biologis
1. pH Rendah	1. Sinar UV	1. Temperatur rendah	Fermentasi non
a. asam benzoate & garam-garamnya (0.1 – 0.3%) pH akhir	2. Sinar $\delta$	(umumnya dalam bentuk hambatan	alkoholis/asam laktat
b. asam sorbet (maksimum	3. Sinar x		
	4. Sinar/gelombang pendek		

0.2% pH 4.0 – 6.0)	lainnya	pertumbuhan )
c. propionate (Iuprosil)		2. Temperature tinggi (khususnya untuk termofilik)
d. Asam sulfit, bisulfit, metasulfit		3. Secara pengeringan (desikasi)
e. Asetat (4 g/100 ml)		
f. Asam laktat (6 g/100 ml)		
g. Asam Nitrat, nitrit (300 ppm)		
2. Larutan garam (NaCl)		
3. Larutan gula (gula putih)		
4. Gas (fumigasi)		
a. Etilen oksida		
b. Propilin oksida		

(Sumber: Supardi dan Sukamto, 2003)

Pengawetan suhu rendah umum dilakukan terhadap ikan mati. Misalnya, dengan di-es (*icing*), atau didinginkan (dengan *freezer* atau *coolroom*) atau dengan dibekukan (di *cold storage*). Maksud dari manfaat kondisi suhu rendah ini yaitu memperlambat proses enzimatik dan menghalangi kerja dan pembiakan mikroba pembusuk (yang biasanya hidup dengan baik pada suhu 0–30°C). Cara pendinginan ini merupakan cara yang baik dan banyak ditempuh untuk mempertahankan kesegaran makanan hasil laut yang mentah, namun sayangnya cara ini dapat mengurangi rasa lezat dengan berubahnya warna, rasa, bau, dan konsistensi (Idrus. 1994).

Kendala pengawetan hasil tangkapan laut dengan es, selain memerlukan tempat khusus, biaya dan jumlah yang besar, juga lama kekuatan pengawetan yang tidak memadai dengan lama penangkapan (Kompas Cyber Media). Pengawetan dengan es hanya mampu mempertahankan tangkapan dalam waktu 10-14 hari. Lama penangkapan rata-rata nelayan selama 40 hari, sehingga tingkat susut panen (*post-harvest losses*) sangat tinggi, sekitar 27% (Irianto dan Soesilo, 2007). Namun demikian, menurut Irianto dan Soesilo (2007) penggunaan bahan

pengawet yang tidak tepat peruntukannya bagi bahan pangan, seperti formalin, harus dicegah dan dilarang.

Walaupun udang dianggap sebagai bahan makanan yang bersifat alergenik (Wageningen University and the European Federation of Food Scienc and Technology, 2007; Sophia, 2009). Namun, allergen dapat berubah dengan beberapa perlakuan selama proses pengolahan, di antaranya pemanasan (Samodra, 2009). Analisa *Immunolectrophoretic* menunjukkan bahwa casein berkurang alergenitasnya setelah pemanasan sekitar 120<sup>0</sup>C selama 15 menit, sedangkan lactoglobulin, lactalbumin berkurang terhadap pemanasan lebih dari 100<sup>0</sup>C. BSA dan gammaglobulin kehilangan antigenitasnya pada suhu antara 70<sup>0</sup>C-80<sup>0</sup>C. Jadi, udang dapat dikonsumsi dengan aman setelah dimasak.

Pengolahan udang dapat dilakukan dengan berbagai macam penyajian, di antaranya masakan udang bernuansa asam dengan belimbing wuluh sebagai penambah rasa asam, yaitu: (1) udang saos tomat; (2) pepes udang; (3) udang masak asam; (4) udang phoenix; (5) udang saos; (6) udang masak ala aceh; (7) gulai masak udang; (8) asem-asem udang pedas (Sufi, 2009; Idrus, 1994).

#### **D. Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)**

##### **6. Karakteristik Tumbuhan Belimbing Wuluh**

Belimbing Wuluh dengan nama Latin *Averrhoa bilimbi* L. merupakan tumbuhan yang termasuk ke dalam Divisio Spermatophyta, Kelas Dicotyledonae, Famili Oxalidaceae ( van Steenis, 1992). Belimbing wuluh satu genus dengan belimbing manis (*Averrhoa carambola*) berasal dari daratan Malaysia, sedangkan belimbing manis merupakan tanaman asli Indonesia. Tanaman belimbing yang

berasal dari biji, baru berbuah sesudah 5–6 tahun, sedangkan yang asal cangkokan atau okulasi lebih cepat berbuah, yaitu sekitar 2–3 tahun. Tanaman belimbing tumbuh baik pada daerah dataran rendah tropis yang bertipe iklim basah, dari ketinggian 0-1200 meter dpl. Berbuah sepanjang tahun (tidak musiman). Bunga Belimbing muncul sepanjang tahun, namun biasanya ada dua musim buah raya (Ashari, 1995). Di India, seperti di Florida, pohon berbunga mulai Februari, kemudian berbunga dan berbuah secara terus menerus sampai Desember (Orwa, *et al.*, 2009).

Belimbing wuluh merupakan suatu pohon yang menarik (*attractive*), berumur panjang (*long-lived*) dengan tinggi mencapai 5–10 m, memiliki batang pendek yang segera membagi kedalam sejumlah cabang yang tegak. tanda bekas daun bentuk ginjal atau jantung. Anak daun bulat telur atau memanjang, meruncing, 2–10 kali 1–3 cm, ke arah ujung poros lebih lebar, bawah hijau muda. Malai bunga menggantung, panjang 5–20 cm. bunga semuanya dengan panjang tangkai putik yang sama. Kelopak panjang lebih kurang 6 mm. daun mahkota tidak atau hampir bergandengan, bentuk staple atau lanset, dengan pangkal yang pucat. 5 benang sari di depan daun mahkota merduksi menjadi staminodia. Buah buni persegi membulat tumpul, kuning hijau, panjang 4–6,5 cm. Ditanam sebagai pohon buah, kadang-kadang menjadi liar (van Steenis, 1992; Orwa, *et al.*, 2009).

Belimbing wuluh ada dua varietas dengan buah yang berbeda, yaitu belimbing wuluh buah berwarna hijau dan belimbing wuluh buah berwarna kuning muda atau putih (Soedarya, 2009). Di berbagai daerah dan negara, Belimbing Wuluh dikenal dengan nama yang beragam, seperti: (1) Indonesia: Limeng, Selimeng, thlimeng (Aceh), Selemeng (Gayo), Asom, Belimbing,



Balimbingan (Batak), Malimbi (Nias), Balimbieng (Minangkabau), Belimbing Assam (Melayu), Balimbing (Lampung), Calincing (Sunda), Balimbing Wuluh (Jawa), Bhalingbhing bulu (Madura), Blimbing buloh (Bali), Limbi (Bima), Balimbeng (Flores), Libi (Sawu), Belerang (Sangi) (Iskandar, 2007); (2) Inggris: cucumber tree, bilimbi, tree sorrel; (3) Filipina: kamias; (4) Prancis: blimblim, cornichon des indes, zibeline blonde; (5) Vietnam: tralong tong; (6) Malaysia: belimbing buloh; (7) Spanyol: tiriguro, pepino de indias, mimbros, grosella china; (8) Thailand: kaling pring, taling pling (Orwa, *et al.*, 2009; Marton, 1987).

## **7. Kandungan Gizi Buah Belimbing Wuluh**

Buah belimbing wuluh terkenal dengan rasa masamnya. Selain rasa masam, buah belimbing wuluh juga mengandung banyak kandungan senyawa kimia yang bermanfaat. Setiap 100 g daging buah Belimbing Wuluh mengandung air 90 g, protein 0,75 g, total gula 3,5–11 g dan serat 0,7 g (Ashari, 1995), vitamin C sekitar 25,8 % (Marton, 2007). Selain zat gizi utama, Belimbing Wuluh, juga mengandung berbagai kandungan kimia yang memiliki arti penting dalam tubuh, seperti: saponin, tannin, glukosid, kalsium oksalat, sulfur, asam format, peroksida, kalium sitrat, flavonoid (Dzulkarnain, dkk., 1996). Dalam sumber lain ditegaskan bahwa daun, buah dan batang belimbing wuluh mengandung saponin, flavonoida, di samping itu daunnya juga mengandung tanin dan batangnya mengandung alkaloida dan polifenol (Warintek, Tanpa Tahun; Iskandar, 2007; Dzulkarnain, dkk., 1996).

Tabel 2.15 Kandungan Gizi Buah Belimbing Wuluh dalam Setiap 100 g

Komposisi Gizi	Kandungan (%)
Kadar Air	94,2-94,7 g
Protein	0,61 g
Serat	0,6 g
Abu	0,31-0,40 g
Kalsium	3,4 mg
Fosfor	11,1 mg
Besi	1,01 mg
Karotin	0,035 mg
Thiamin	0,010 mg
Riboflavin	0,026 mg
Niacin	0,302 mg
Vitamin C	15,5 mg

(Sumber: Marton , 1987)

## 8. Pemanfaatan Buah Belimbing Wuluh

Belimbing wuluh dengan rasa daging buahnya yang sangat masam, biasanya digunakan untuk acar, sayur asem, atau bahan pengawet (Sofi, 2009). Buah menghasilkan 44,2% *juice* yang memiliki pH 4,47 (Orwa, *et al.*, 2009). Buah Belimbing dapat dipergunakan untuk membersihkan bercak pada benda dari logam atau bahan obat-obatan. Soedarya (2009) mengemukakan bahwa belimbing wuluh dapat digunakan untuk membersihkan lumut pada keramik pada setiap bangunan, seperti lantai, dinding, bak kamar mandi, dan lain-lain. Masyarakat Aceh banyak yang memanfaatkan atau mengolah belimbing wuluh menjadi belimbing wuluh kering asin atau biasa disebut asam sunti (Aisyah, 2007). Buah belimbing wuluh dapat digunakan sebagai bahan pembuatan permen jeli dan selai (Wikanta, 2011).

Dari kandungan kimia yang dimiliki belimbing wuluh ini, selain dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan pembersih kotoran, belimbing wuluh telah banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat, seperti batuk, rematik, jerawat,

sariawan (Orwa, *et al.*, 2009; Soedarya, 2009), antibakteri (Dzulkarnain, dkk., 1996), antihipertensis (Iskandar, 2007), antioksidan (Kuncahyo dan Sunardi, 2007), sediaan diuretika (Yuska, 2008), antiinflamasi (Bashori, 2008), profil lipoprotein, kadar gula darah, dan asam urat (Pratiwi dan Muljopaworo, 1995). Belimbing wuluh sudah diteliti untuk menurunkan kadar kolesterol telur ayam ras (Budhi S., dkk., 1999), menurunkan kadar logam berat Kadmium (Cd) dalam hati ayam buras (Harlia, dkk., Tanpa Tahun), uji kelarutan batu ginjal kalsium (Shofa, 2006), membunuh larva nyakuk anopheles (Nopianti, 2008).

## **9. Sifat Senyawa Asam Buah Belimbing Wuluh**

Suatu senyawa dikatakan asam, menurut konsep Arrhenius, adalah zat yang melarut ke dalam air untuk memberikan ion-ion  $H^+$  dan sebaliknya, basa adalah zat yang melarut ke dalam air untuk memberikan ion-ion  $OH^-$  (Keenan dkk., 1998). Secara praktis, asam dan basa didefinisikan berdasarkan sifat-sifat larutan airnya. Dimana, suatu zat yang larutannya berasa asam, memerahkan lakmus biru, bereaksi dengan logam aktif untuk membentuk hidrogen, dan menetralkan basa disebut asam. Sementara itu, suatu basa didefinisikan sebagai suatu zat yang larutannya berasa pahit, membirukan lakmus merah, terasa licin sabun, dan menetralkan asam (Keenan dkk., 1998)..

Dari sekian banyak kandungan kimia Belimbing Wuluh, rasa masam merupakan ciri yang paling menonjol dalam buah belimbing wuluh. Rasa masam buah berasal dari asam sitrat dan asam oksalat (Ashari, 1995). Kedua jenis asam ini termasuk ke dalam senyawa organik dengan gugus karboksil sebagai gugus fungsional utamanya. Struktur kimia asam sitrat, asam oksalat, dan ditunjukkan

pada Gambar 2.19.



Gambar 2.19 Struktur Kimia Asam Oksalat dan Asam Sitrat (Sumber: Wilbraham dan Matta, 1992)

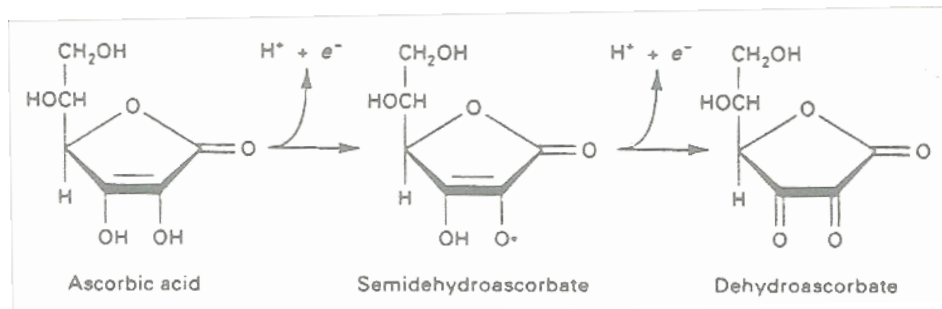
Asam sitrat merupakan asam organik yang umum terdapat pada tumbuhan-tumbuhan, seperti jeruk (Harborne, 1996). Asam sitrat merupakan asam organik lemah, dengan rumus molekul  $C_6H_8O_7$  atau  $CH_2(COOH)-COH(COOH)-CH_2(COOH)$ . Keasaman asam sitrat didapatkan dari tiga gugus karboksilat ( $-COOH$ ) yang dapat melepas proton ( $H^+$ ) dalam larutan dengan nilai  $pK_a = 3,15$ . Titik lebur asam sitrat adalah  $153^\circ C$  dan titik penguraian termal  $175^\circ C$ . Hasil pelepasan proton akan terbentuk ion sitrat.

Sitrat sangat baik digunakan dalam larutan penyangga untuk mengendalikan pH larutan. Ion sitrat dapat bereaksi dengan banyak ion logam membentuk garam sitrat. Selain itu, sitrat dapat mengikat ion-ion logam dengan pengkelatan, sehingga digunakan sebagai pengawet dan penghilang kesadahan air. Pada temperatur kamar, asam sitrat berbentuk serbuk kristal berwarna putih. Serbuk kristal tersebut dapat berupa bentuk anhydrous (bebas air), atau bentuk monohydrate yang mengandung satu molekul air untuk setiap molekul asam sitrat. Secara kimia, asam sitrat bersifat seperti asam karboksilat lainnya. Jika dipanaskan di atas  $175^\circ C$ , asam sitrat akan terurai dengan melepaskan karbon

dioksida dan air (Wikipedia, 2009a).

Sama halnya dengan asam sitrat, asam oksalat termasuk kedalam asam karboksilat. Asam oksalat merupakan asam organik kuat, 10.000 kali lebih kuat daripada asam asetat, dengan rumus molekul  $H_2C_2O_4$ . Asam oksalat merupakan asam dikarboksilat paling sederhana yang dapat digambarkan dengan rumus  $HOOC-COOH$ . Di-anionnya, dikenal sebagai oksalat, juga agen pereduksi (Wikipedia, 2009b).

Kandungan asam organik lain dalam buah belimbing wuluh adalah asam askorbat atau Vitamin C. Vitamin C merupakan senyawa asam organik dari golongan lakton (Harborne, 1996). Vitamin C merupakan vitamin larut air yang dapat melepaskan ion hidrogen satu sampai dua dalam proses oksidasi.

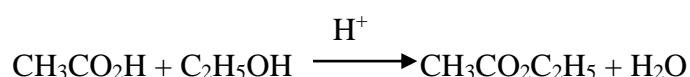


Gambar 2.20 Oksidasi Asam Ascorbat (Sumber: Brody, 1994).

Adanya senyawa asam dalam reaksi kimia sering berperan sebagai katalitis, selain sebagai pereaksi atau produk. Wilson dan Goulding (1986) mengemukakan bahwa proses biologis yang melibatkan ion hidrogen dapat berperan sebagai katalis, reaktan atau produk. Katalis adalah suatu zat yang meningkatkan kecepatan suatu reaksi kimia tanpa dirinya mengalami perubahan

kimia yang permanen (Keenan dkk, 1998). Beberapa asam seperti asam klorida, asam asetat, asam sitrat, asam sulfat, asam nitrat, dan lain-lain dapat berperan sebagai katalis dalam suatu reaksi.

Satu contoh ialah reaksi antara asam asetat dan etil alkohol yang menghasilkan etil asetat, suatu reaksi yang dikatalisis oleh asam kuat seperti H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan HCl.



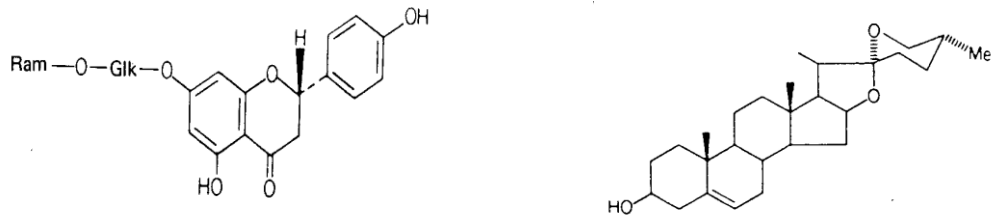
Tanpa hadirnya katalis, diperlukan waktu berminggu-minggu untuk menghasilkan etil asetat dengan rendeman maksimal, tetapi dengan hadirnya katalis asam, rendeman maksimal dicapai dalam beberapa jam (Keenan dkk, 1998).

## **10. Sifat Senyawa Flavonoid Buah Belimbing Wuluh**

Di samping kandungan asam dari Belimbing Wuluh, beberapa kandungan kimia merupakan senyawa yang memiliki sifat aktif dalam tubuh. Flavonoid dan tannin merupakan senyawa fenol dalam tumbuhan. Senyawa fenol, pada umumnya mempunyai cincin aromatik dengan satu atau dua gugus hidroksil. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam air, karena pada umumnya mereka sering kali berikatan dengan gula sebagai glikosida. Sifat lain, senyawa fenol kemampuan membentuk kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen; senyawa fenol sangat peka terhadap oksidasi enzim (fenolase) dalam tumbuhan.

Flavanon adalah salah satu senyawa fenol yang memberikan warna hijau kuning pada tumbuhan (Harborne, 1996), seperti halnya warna buah belimbing wuluh. Senyawa-senyawa yang terkandung dalam belimbing wuluh memiliki sifat kimia yang membantu dalam memelihara kesehatan tubuh, seperti

antioksidan (detoksifikasi), mengatur keseimbangan asam-basa (buffer).



(a) Flavonoid: flavanon

(b) Saponin: diosgenin

Gambar 2. 21 Senyawa Fenol dan Terpenoid (Sumber: Harborne, 1996)

## E. Prinsip-prinsip Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan pada Masyarakat

### 1. Arti Penting Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan pada Masyarakat

Ada beberapa istilah yang perlu dipahami masyarakat dalam pendidikan gizi dan keamanan pangan. Istilah yang pertama, adalah “gizi”. Gizi biasanya digunakan untuk menyatakan zat-zat yang terkandung di dalam bahan makanan (Sediaoetama, 1987). Istilah gizi sering disebut zat makanan, yang dalam bahasa inggris, “*nutrient*”. Zat-zat makanan terkait erat dengan kesehatan tubuh. Hal ini tergambar dalam batasan ilmu gizi yang dikemukakan Sediaoetama (2010), yaitu ilmu yang mempelajari hal ikhwal makanan, dikaitkan dengan kesehatan tubuh. Secara umum, zat-zat makanan memiliki fungsi di dalam tubuh (Sediaoetama, 2010), seperti:

- 1) sebagai sumber energi atau tenaga;
- 2) menyokong pertumbuhan badan;
- 3) memelihara jaringan tubuh, mengganti yang rusak atau aus terpakai;
- 4) mengatur metabolisme dan mengatur berbagai keseimbangan (air, asam-basa, mineral) di dalam cairan tubuh; dan
- 5) berperan di dalam mekanisme pertahanan tubuh terhadap berbagai penyakit (antitoksin dan antibody).

Unsur-unsur gizi yang perlu ada dalam makanan, tercermin pada komposisi tubuh, yaitu air, zat putih telur (protein), zat hidrat arang (karbohidrat), vitamin, mineral, dan berbagai komponen-komponen minor lainnya (Buckle, dkk., 2009). Istilah zat makanan sering disebut gizi pangan. Gizi pangan adalah zat atau senyawa yang terdapat dalam pangan yang terdiri atas karbohidrat, protein, lemak, vitamin, dan mineral serta turunannya yang bermanfaat bagi pertumbuhan dan kesehatan manusia (UU RI No. 7, 1996).

Kedua, bahan makanan. Bahan makanan adalah apa yang kita beli, kita masak dan kita susun menjadi hidangan (Sediaoetama, 1987). Bahan makanan merupakan sumber dari gizi yang dibutuhkan tubuh. Bahan makanan biasanya berasal dari komoditas pertanian, perikanan, perkebunan, dan peternakan, sehingga sering disebut bahan pangan. Pangan menurut UU RI No. 7 Tahun 1996 adalah:

“segala sesuatu yang berasal dari sumber hayati dan air, baik yang diolah maupun tidak diolah, yang diperuntukan sebagai makanan dan minuman bagi konsumsi manusia, termasuk bahan tambahan pangan, bahan baku pangan dan bahan lain yang digunakan dalam proses penyiapan, pengolahan, dan atau pembuatan makanan dan minuman”.

Bahan makanan, menurut Sediaoetama (2010) dapat dikelompokkan berdasarkan susunan hidangan di Indonesia, yaitu: (1) Bahan makanan pokok; (2) Bahan makanan lauk-pauk; (3) Bahan makanan sayur; dan (4) Bahan makanan buah-buahan. Kelompok bahan makanan ini menggambarkan kebutuhan zat atau gizi pangan yang dibutuhkan tubuh untuk melakukan fungsinya.

Di Indonesia, susunan hidangan empat bahan makanan ini, dalam jumlah yang mencukupi kebutuhan tubuh, dikenal dengan slogan “**empat sehat**” dan kalau ditambah dengan susu dalam jumlah yang mencukupi, menjadi “**lima**



**sempurna**". Slogan "**empat sehat, lima sempurna**", yaitu gambaran susunan hidangan yang sanggup memberikan kesehatan gizi yang baik, dan dianjurkan kepada seluruh anggota masyarakat untuk mencapainya (Sediaoetama, 1987).

Ketiga, keamanan pangan menurut UU RI No. 7 tahun 1996 adalah kondisi dan upaya yang diperlukan untuk mencegah pangan dari kemungkinan cemaran biologis, kimia, dan benda lain yang dapat mengganggu, merugikan dan membahayakan kesehatan manusia. Pangan yang aman untuk dikonsumsi adalah pangan tersebut tidak mengandung bahan-bahan yang dapat membahayakan kesehatan atau keselamatan manusia misalnya bahan yang dapat menimbulkan penyakit atau keracunan (BPOM, 2003). Makanan aman adalah makanan yang tidak mengandung cemaran yang membahayakan, cemaran kimia, fisik maupun cemaran mikrobiologi (Hariyadi dan Andarwulan, 2007). Oleh karena itu, pangan untuk konsumsi manusia harus memiliki mutu pangan, artinya pangan harus memiliki nilai yang ditentukan atas dasar kriteria keamanan pangan, kandungan gizi, dan standar perdagangan terhadap bahan makanan, makanan, dan minuman (Depkes RI, 1996).

Keempat, higiene pangan adalah kondisi dan perlakuan yang diperlukan untuk menjamin keamanan pangan di semua tahap rantai pangan (BPOM RI, 2003). Salah satu upaya untuk mencapai higiene pangan adalah sanitasi. Sanitasi pangan adalah upaya pencegahan terhadap kemungkinan bertumbuh dan berkembangbiaknya jasad renik pembusuk dan pathogen dalam makanan, minuman, peralatan, dan bangunan yang dapat merusak pangan dan membahayakan manusia (Depkes RI, 1996).

Kelima, pangan tercemar. Pangan tercemar menurut UU No. 7 tahun 1996 adalah:

- 1) pangan yang mengandung bahan beracun, berbahaya, atau yang dapat merugikan atau membahayakan kesehatan atau jiwa manusia;
- 2) Pangan yang mengandung cemaran yang melampaui ambang batas maksimal yang ditetapkan;
- 3) Pangan yang mengandung bahan yang dilarang digunakan, dalam kegiatan atau proses produksi pangan;
- 4) Pangan yang mengandung bahan yang kotor, busuk, tengik, terurai, atau mengandung bahan nabati atau hewani yang berpenyakit atau berasal dari bangkai sehingga menjadikan pangan tidak layak dikonsumsi manusia.

Pendidikan gizi dan keamanan pangan bagi masyarakat diarahkan kepada kesadaran akan pentingnya pengetahuan tentang gizi dan keamanan pangan. Hal ini, menurut Harper, dkk. (1986) didasarkan pada tiga hal kenyataan bahwa:

- 1) Status gizi yang cukup adalah penting bagi kesehatan dan kesejahteraan;
- 2) Setiap orang hanya akan cukup gizi, jika makanan yang dikonsumsi mampu menyediakan zat gizi yang diperlukan untuk pertumbuhan yang optimal, pemeliharaan, dan energi;
- 3) Ilmu gizi memberikan fakta-fakta yang perlu sehingga penduduk dapat belajar menggunakan pangan dengan baik bagi kesehatan dan kesejahteraan.

Masyarakat perlu menyadari pula bahwa makanan yang dikonsumsi tidak cukup hanya dengan memperhatikan kandungan dan komposisi gizi saja, tetapi harus juga memperhatikan keamanan bahan makanan. Ada dua hal pandangan keamanan pangan, yaitu aman secara rohani dan aman secara teknis (Hariyadi dan Andarwulan, 2007). Keamanan pangan secara rohani berhubungan dengan kepercayaan dan agama suatu masyarakat. Di Indonesia, faktor kehalalan menjadi suatu prasyarat keamanan pangan yang tidak dapat ditawar-tawar lagi bagi konsumen yang beragama Islam. Keamanan pangan secara teknis dicirikan oleh terbebasnya masyarakat dari jenis pangan yang berbahaya bagi kesehatan manusia.

Penjaminan keamanan pangan di Indonesia masih dihadapkan dengan permasalahan utama, di antaranya:

- 1) Masih banyak ditemukannya peredaran produk yang tidak memenuhi persyaratan kesehatan;
- 2) Banyak terjadi kasus penyakit dan keracunan melalui makanan yang sebagian besar belum dilaporkan dan belum diidentifikasi penyebabnya;
- 3) Banyak ditemukan sarana produksi dan distribusi pangan yang tidak memenuhi persyaratan, terutama di industry kecil/rumah tangga, industry jasa boga, dan penjual makanan jajanan; dan
- 4) Rendahnya pengetahuan dan kepedulian konsumen tentang keamanan pangan.

Pendidikan konsumen dan penjaja makanan merupakan salah satu strategi dalam mencegah penyakit akibat bawaan makanan. Hal ini, sebagaimana dimuat dalam laporan WHO (2005) bahwa strategi dalam pencegahan penyakit bawaan makanan dapat dijelaskan dalam pengertian tiga garis pertahanan, yaitu: (1) perbaikan mutu bahan pangan mentah dalam pertanian dan akuakultur, (2) penerapan teknologi pengolahan pangan yang dapat mengendalikan kontaminan, dan (3) pendidikan bagi konsumen serta penjamah makanan.

Pentingnya pendidikan bagi konsumen, selain tahap pencegahan pertama dan kedua, yaitu banyak konsumen dan penjaja makanan menyiapkan makanan menurut pengetahuan yang mereka peroleh dari generasi sebelumnya atau berdasarkan pengalaman empiris mereka sendiri. Tanpa adanya pemahaman yang benar mengenai akibat yang ditimbulkan oleh tindakan mereka, pengetahuan semacam itu tidak selalu menjamin keamanan makanan dalam segala situasi (WHO, 2005).

Makanan yang dikonsumsi sehari-hari setelah diolah tidak menjamin kesehatan dan keamanan bagi tubuh. Banyak bahan makanan yang membawa bahan beracun dan berbahaya. Selain itu, pengolahan yang tidak didasari

pemahaman tentang cara-cara mengolah makanan yang benar, sering kali dapat menyebabkan penyakit. Apriyantono (2002) menegaskan bahwa pengetahuan akan pengaruh pengolahan terhadap nilai gizi dan keamanan pangan sangat penting.

Sedikitnya ada 4 hal penting yang diperoleh dari pendidikan bagi masyarakat dan pengolah makanan, baik yang domestik maupun professional mengenai cara-cara menyiapkan makanan yang aman (WHO, 2005), yaitu: (1) menjamin agar makanan tidak terkontaminasi oleh mereka sendiri; (2) agar kontaminan yang mungkin ada dalam bahan pangan dapat dihilangkan atau dikurangi sampai ke tingkat yang aman; (3) agar pertumbuhan mikroorganisme sampai mencapai tingkat yang menimbulkan penyakit, ataupun menghasilkan toksin, dapat dicegah; (4) agar makanan terkontaminasi yang tidak bisa dianggap aman dapat dihindari.

Kasus gizi buruk yang muncul akhir-akhir ini, tahun 2005, di beberapa daerah Indonesia, merupakan sisi lain dari permasalahan gizi terkait dengan rendahnya pengetahuan dan keterampilan masyarakat memilih dan mengolah bahan makanan. Menteri Kesehatan mengungkapkan, dalam Mardiansyah (2008) bahwa ada tiga hal yang menyebabkan terjadinya gizi buruk, yaitu kemiskinan, pendidikan rendah, dan kesempatan kerja rendah. Ketiga hal itu, dipandang sebagai penyebab berkurangnya ketersediaan pangan, pola asuh anak keliru, kurangnya asupan gizi, dan terkena infeksi penyakit.

Selain itu, Taslim (Tanpa tahun) menemukan fakta bahwa hanya 22% penyuluhan yang dilakukan posyandu, 13% ibu balita yang mengerti pembacaan KMS. Taslim memandang bahwa masalah gizi buruk merupakan tanggung jawab bersama yang melibatkan banyak sektor yang terkait dengan segi pelayanan

kesehatan, pendidikan, ekonomi, sosial, budaya, maupun pertanian yang menyangkut ketersediaan pangan di tingkat rumah tangga.

Jaminan keamanan makanan menjadi tanggung jawab bersama antara pemerintah, industri, dan masyarakat/konsumen. Gambar 2.22 menunjukkan konsep tanggung jawab bersama.



Gambar 2.22 Konsep Tanggung jawab Bersama Keamanan Makanan (Sumber: WHO, 2005)

Tanggung jawab bersama ini, khususnya bagi pemerintah, merupakan tanggung jawab untuk menjamin ketahanan pangan. Ketahanan Pangan adalah kondisi terpenuhinya pangan bagi rumah tangga yang tercermin dari tersedianya pangan yang cukup, baik jumlah maupun mutunya, aman, merata, dan terjangkau oleh daya beli masyarakat (Pemerintah RI, 1996).

## 2. Model Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan pada Masyarakat

Pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat berhadapan dengan peserta didik dalam kelompok umur orang dewasa. Model pendidikan yang dipilih harus mempertimbangkan karakteristik kelompok umur orang dewasa. Donald H. Brundage (1980) dalam Marzuki (2010) mengemukakan perbedaan karakteristik orang dewasa dan anak-anak, seperti disajikan pada Tabel 2.16.

Istilah sistem pendidikan untuk orang dewasa disebut **andragogi**. Kata “andragogi” berasal dari Bahasa Yunani, yaitu “*Andros*” atau “*aner*” yang berarti orang dewasa, bukan anak; dan “*agogos*” yang berarti memimpin. Jadi, andragogi berarti memimpin orang dewasa (Marzuki, 2010). Selanjutnya, Knowles (1980) dalam Marzuki (2010) mendefinisikan andragogi sebagai seni dan ilmu tentang mengajar orang dewasa atau *the art and science of teaching adult*.

**Pendidikan dan Latihan** merupakan salah satu model pendidikan yang sering digunakan dalam andragogi. Pendidikan dan Latihan sesuai dengan karakteristik metode yang diperlukan dalam pembelajaran andragogi. Naddler (1982) dalam Marzuki (2010) mendefinisikan pendidikan sebagai kegiatan belajar yang berhubungan dengan pekerjaan pada masa yang akan datang yang diperuntukan bagi individu, sedangkan pelatihan (*training*) merupakan kegiatan belajar yang berhubungan dengan tugas-tugas individu sekarang.

Tabel 2.16 Perbedaan Karakteristik Orang Dewasa dan Anak-anak

Orang Dewasa	Anak-anak
1. Orang dewasa memiliki pengalaman praktis dan pragmatis yang luas.	1. Anak-anak mempunyai sedikit pengalaman pragmatis
2. Belajar berpusat pada pendalaman dan perluasan dari pengalaman yang lalu, baik	2. Belajar berpusat pada pembentukan dasar-dasar pengertian, nilai-nilai,

<p>pengetahuan, sikap, maupun keterampilan.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>3. Hambatan-hambatan untuk mengubah tingkah laku bersumber dari factor-faktor yang ada hubungannya dengan lingkungan soisialnya, pekerjaannya, dan kebutuhan-kebutuhan dirinya untuk kelanjutan hidupnya,</li> <li>4. Kebutuhan belajar dihubungkan dengan situasi kehidupan yang akan datang.</li> <li>5. Orang dewasa tampak lebih menggunakan pikiran generalisasi dan abstrak.</li> <li>6. Orang dewasa dapat mengemukakan kebutuhan belajarnya, sehingga dapat bernegosiasi dengan programmer dalam perencanaan.</li> <li>7. Orang dewasa telah memiliki konsep diri yang mantap (<i>organized and consistent</i>) yang memungkinkan untuk berpartisipasi dan mandiri.</li> <li>8. Orang dewasa dibebani dengan status dan tanggung jawab oleh masyarakat.</li> </ol>	<p>keterampilan,dan sikap-sikap.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>3. Hambatan untuk berubah datang dari factor-faktor yang ada hubungannya dengan pertumbuhan fisik, tuntutan sosialisasi, dan persiapan-persiapan untuk kehidupan social dan pekerjaan yang akan datang.</li> <li>4. Kebutuhan belajarnya berhubungan dengan pengembangan pola-pola pengertian untuk yang akan datang.</li> <li>5. Anak-anak tampak lebih menggunakan pikiran konkrit.</li> <li>6. Anak-anak tidak dapat mengemukakan kebutuhan belajarnya, dan karenanya cenderung ditentukan oleh <i>experts</i>.</li> <li>7. Konsep diri masih belum terorganisasikan, yang menyebabkan anak memandang diri masih bergantung.</li> <li>8. Belum dibebani tanggung jawab, dan sedang diharapkan untuk bertanggung jawab.</li> </ol>
---	--

(Sumber: Marzuki, 2010)

Keberhasilan praktek pendidikan andragogi tergantung kepada pendekatan dan strategi pembelajaran yang dipilih. Kamil (2009) mengemukakan bahwa pendekatan pembelajaran dalam praktek program pendidikan nonformal atau andragogi dapat menggunakan, di antaranya: pendekatan partisipasi, pendekatan kelompok, pendekatan personalisasi (individu). Pemilihan pendekatan dan strategi pembelajaran dalam praktik pendidikan andragogi berimplikasi terhadap kebutuhan pendukung lain, yaitu pelatih, sumber belajar, dan sarana-prasarana fisik.

### **3. Buku sebagai Sumber Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan**

Dalam praktek andragogi, sumber belajar memegang peranan penting dalam mendukung keberhasilan program pendidikan andragogi. Sumber belajar pendidikan andragogi sangat tidak terbatas, bisa manusia, buku, alat/barang, dan bahan-bahan pembelajaran lain yang dapat mendukung peningkatan pengetahuan,

keterampilan, dan perubahan sikap warga belajar/peserta didik (Kamil, 2009). Kehadiran sumber belajar harus disesuaikan dengan pendekatan pembelajaran yang digunakan dalam proses pembelajaran.

Buku merupakan salah satu bentuk sumber belajar cetak yang sering digunakan dalam proses pendidikan. Buku, sebagaimana sumber belajar cetak lain, merupakan sumber belajar penting dalam pendidikan andragogi dengan pendekatan individu. Dimana, pendidikan orang dewasa terkendala dengan waktu yang dimiliki, jika harus bersekolah kembali. Dengan demikian, buku dapat dijadikan sebagai sumber belajar yang tepat dalam meningkatkan pengetahuan, keterampilan dan perubahan sikap individu. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ibu rumah tangga yang skor terpaan media massanya lebih tinggi ternyata diikuti dengan semakin pemahannya tentang program kesehatan dibandingkan buruh wanita (Marzuki, 2010).

Buku menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia adalah lembaran kertas yang berjilid, berisi tulisan atau kosong (Pusat Bahasa, 2008). Buku yang berisi tulisan merupakan salah satu bentuk karya tulis (karangan) seseorang dalam menuangkan pikirannya tentang sesuatu obyek. Buku adalah bahan tertulis yang menyajikan ilmu pengetahuan buah pikiran dari pengarangnya (Depdiknas, 2003).

Berdasarkan sifatnya, Brotowidjojo, (1993) membedakan karangan ke dalam 3 bentuk yaitu **karangan ilmiah**, **karangan non-ilmiah**, dan **karangan tidak ilmiah**. Dimana, karangan ilmiah adalah karangan tentang ilmu pengetahuan yang menyajikan fakta umum dan ditulis menurut metodologi penulisan yang baik dan benar. Karangan non-ilmiah adalah karangan tentang ilmu pengetahuan yang menyajikan fakta pribadi dan ditulis menurut metodologi



yang baik dan benar. Karangan tidak ilmiah adalah karangan yang menyajikan fakta umum, tetapi datanya diperoleh tidak melalui prosedur yang ilmiah dan penulisannya tidak memenuhi ciri-ciri karangan ilmiah. Jadi, buku dapat juga dibedakan menjadi buku ilmiah, buku non-ilmiah, dan buku tidak ilmiah.

Buku ilmiah merupakan bentuk karya tulis yang banyak digunakan seorang ilmuwan dalam mempublikasikan hasil penelitiannya. Dalam penulisan buku ilmiah dikenal dua teknik penulisan, yaitu buku ilmiah teknik tinggi (profesi) dan buku ilmiah populer. Dimana, kedua teknik penulisan buku ilmiah ini didasarkan pada sasaran pembacanya. Sasaran buku ilmiah teknik tinggi adalah sekelompok masyarakat profesional. Sasaran buku ilmiah populer adalah anggota masyarakat umum yang cara berpikir dan tingkat berpikirnya berbeda dari anggota masyarakat profesional. Anggota masyarakat umum sering juga disebut masyarakat awam (Brotowidjoyo, 1993). Di dalam Kamus Besar Bahasa Indonesia ditegaskan pula bahwa buku ilmiah populer adalah buku ilmiah yang ditulis dengan cara yang mudah dipahami orang awam (Pusat Bahasa, 2008).

Buku, tidak hanya diperlukan oleh masyarakat pelajar (sekolah dan perguruan tinggi) dalam pendidikan formal, tetapi diperlukan juga oleh masyarakat umum atau awam dalam pendidikan nonformal sebagai salah satu sumber pembelajaran. Khususnya untuk masyarakat awam, buku sebaiknya disusun berdasarkan pada kriteria penulisan karangan ilmiah populer.

Ciri-ciri karangan ilmiah populer menurut Brotowidjoyo (1993), di antaranya:

- (1) menyajikan fakta objektif secara sistematis atau menyajikan aplikasi hukum alam dengan mengingat tingkat kecerdasan masyarakat umum;
- (2) menggunakan kata-kata sederhana, mudah diidentifikasi dan dari bahasa sehari-hari secara tepat, dengan susunan kalimat yang

- memenuhi kaidah bahasa, sehingga mudah dipahami oleh rata-rata pembacanya;
- (3) gaya bahasanya tidak selalu formal, dan bahasanya sendiri selalu ‘personal’ dan aktif objektif;
  - (4) pernyataan-pernyataan mudah dimengerti. Gagasan-gagasan disusun secara konseptual dan procedural;
  - (5) karangan ilmiah populer tidak memuat hipotesis, karena mengingat timbangan cara dan tingkat berpikir masyarakat awam;
  - (6) tidak memancing pertanyaan-pertanyaan yang bernada meragukan. Dalam karangan ilmiah populer penulis dapat sampai kepada kesimpulan-kesimpulan setelah dengan membimbing dan mendorong pembacanya untuk berpikir tentang aplikasinya, tetapi tetap membiarkan fakta berbicara diri;
  - (7) penyajian fakta objektif itu sering dibarengi dengan penyajian sejarah kerja ilmuwan penemunya, atau deskripsi proses pengamatan secara sederhana, bahkan seringkali fakta objektif itu diselipkan dalam cerita fiktif;
  - (8) judul karangan ilmiah populer itu selain harus informatif, juga harus mudah ditangkap maksudnya dan dengan cermat menimbulkan imajinasi pada pembacanya;
  - (9) penjelasan tentang sesuatu situasi didramatisasikan melalui cerita. Metode penjelasan biasanya tidak langsung terutama dalam karangan yang bukan tentang pengetahuan alam;
  - (10) penulis selalu menghibau perasaan pembacanya agar pembacanya seolah-olah melihat atau mengalami sendiri situasi yang ditulisnya.

Selain itu, menurut Rohani (1997) pemilihan sumber belajar harus didasarkan pada beberapa kriteria, di antaranya: (1) ekonomis; (2) praktis dan sederhana; (3) mudah diperoleh; (4) bersifat fleksibel; dan (5) komponen-komponen sesuai dengan tujuan. Duncan dalam Sadiman, dkk. (2005) menegaskan bahwa buku termasuk ke dalam salah satu bentuk sumber pembelajaran yang memiliki kelebihan dalam beberapa hal, yaitu ekonomis, lingkup sasaran luas, bersifat umum, pengadaan mudah, dan mudah penggunaannya.

Kelebihan buku sebagai sumber belajar cetak menurut Steffen Peter Ballstaedt (1994) dalam Depdiknas (2003) adalah:

- 1) Bahan tertulis biasanya menampilkan datar isi, sehingga memudahkan pembaca untuk menunjukkan bagian mana yang ingin dibaca;
- 2) Biaya untuk pengadaannya relatif sedikit;
- 3) Bahan tertulis cepat digunakan dan dapat dipindah-pindah secara mudah;
- 4) Susunannya menawarkan kemudahan secara luas dan kreativitas bagi individu;
- 5) Bahan tertulis relatif ringan dan dapat dibaca di mana saja;
- 6) Buku yang baik akan dapat memotivasi pembaca untuk melakukan aktivitas, seperti menandai, mencatat, membuat sketsa;
- 7) Bahan tertulis dapat dinikmati sebagai sebuah dokumen yang bernilai besar;
- 8) Pembaca dapat mengatur tempo secara mandiri.

Buku apapun yang ditulis, perlu memenuhi kriteria suatu buku. Pada umumnya, buku harus memenuhi kriteria kelayakan isi, penyajian, dan keterbacaan atau bahasa (Pusat Perbukuan, 2008). Kelayakan isi meliputi: relevansi, ruang lingkup (cakupan dan kedalaman), *up date*. Kelayakan penyajian meliputi: bentuk fisik dan susunan (ukuran buku, warna, sistematik penulisan). Kelayakan keterbacaan menurut Gilliland (1972) dalam Suheri (2008) meliputi tiga hal, yaitu: kemudahan, kemenarikan, dan keterpahaman.

Kemudahan membaca berhubungan dengan bentuk tulisan, yaitu tata huruf (topografi) seperti besar huruf dan lebar spasi. Kemudahan ini berkaitan dengan kecepatan pengenalan kata, tingkat kesalahan, jumlah fiksasi per detik, dan kejelasan tulisan (bentuk dan ukuran tulisan). Kemenarikan berhubungan dengan minat pembaca, kepadatan ide pada bacaan, dan keindahan gaya tulisan. Keterpahaman berhubungan dengan karakteristik kata dan kalimat, seperti panjang dan pendeknya dan frekuensi penggunaan kata atau kalimat, bangun kalimat, dan susunan paragraf. Keterbacaan atau bahasa menurut Pusat Perbukuan (2008) meliputi pula penyajian ilustrasi, yaitu gambar, foto, dan tabel.

Penyusunan sebuah buku perlu memperhatikan isi dan sistematik penulisan. Secara garis besar penyusunan sebuah buku meliputi tiga hal, yaitu analisis kebutuhan, pemetaan isi bahan, dan penyusunan buku (Muslich, 2010; Widodo dan Jasmadi, 2008). Secara rinci meliputi langkah-langkah sebagai berikut (disari dari Muslich, 2010; Widodo dan Jasmadi, 2008):

- 1) Melakukan analisis kebutuhan
- 2) Menentukan judul
- 3) Merancang *outline*
- 4) Mengumpulkan referensi
- 5) Menulis buku
- 6) Mengevaluasi/mengedit hasil tulisan
- 7) Memperbaiki/merevisi tulisan
- 8) Meproduksi.

#### **F. Kerangka Berpikir Penelitian**

Formalin merupakan senyawa 1,1-diol (*gem-diol*) atau metilen hidrat (HO-CH<sub>2</sub>-OH) dari formaldehid sebagai hasil reaksi adisi dengan air. Walaupun, formalin dapat dikatakan senyawa yang lebih stabil daripada formaldehid. Namun, sifat formalin masih bersifat reaktif seperti halnya formaldehid. Formaldehid dapat bereaksi dengan makromlekul, seperti protein dan asam nukleat, melalui gugus -NH<sub>2</sub> dan -OH, yang merupakan tempat utama alkilasi dengan gugus hidroksimetil dari formaldehid. Ikatan formaldehid dengan protein dapat berbentuk senyawa *methyl-ol* yang bersifat reversibel, atau dengan dua molekul protein yang berdekatan, membentuk ikatan silang (*cross-link-CH<sub>2</sub>*) yang disebut suatu jembatan metilen atau *methylene bridge* yang bersifat irreversibel.

Bahan makanan, seperti udang, merupakan bahan makanan yang kaya dengan protein. Jika udang diawetkan dengan formalin, maka protein udang akan berikatan dengan formalin. Ikatan formalin dengan protein udang akan menurunkan nilai gizi protein udang. Nilai gizi protein dapat dilihat dari beberapa indikator, di antaranya kadar protein total, komposisi dan kadar asam amino, fraksi berat molekul, dan sifat imunogenisitas.

Pemecahan ikatan antara formalin dengan protein akan mengembalikan nilai gizi protein udang. Cara pemecahan ikatan formalin-protein dapat dilakukan melalui reaksi hidrolisis dengan katalis asam. Hidrolisis merupakan reaksi yang umumnya digunakan untuk memecah senyawa-senyawa yang ada dalam suatu campuran. Hidrolisis senyawa yang rumit, biasanya dilakukan dengan pemanasan dan katalis asam. Pada umumnya, aldehid dapat dipisahkan dari campuran dengan hidrolisis dan asam.

Buah belimbing wuluh yang biasa digunakan dalam memasak memiliki potensi dalam memecah ikatan antara formalin dengan protein pada bahan makanan. Buah belimbing wuluh dengan rasa masam yang kuat mengandung senyawa asam, di antaranya asam sitrat dan Vitamin C. Senyawa asam dalam larutan air akan melepaskan sejumlah ion hidrogen ( $H^+$ ) yang akan berperan sebagai katalis dalam reaksi pelepasan ikatan formalin dengan protein.

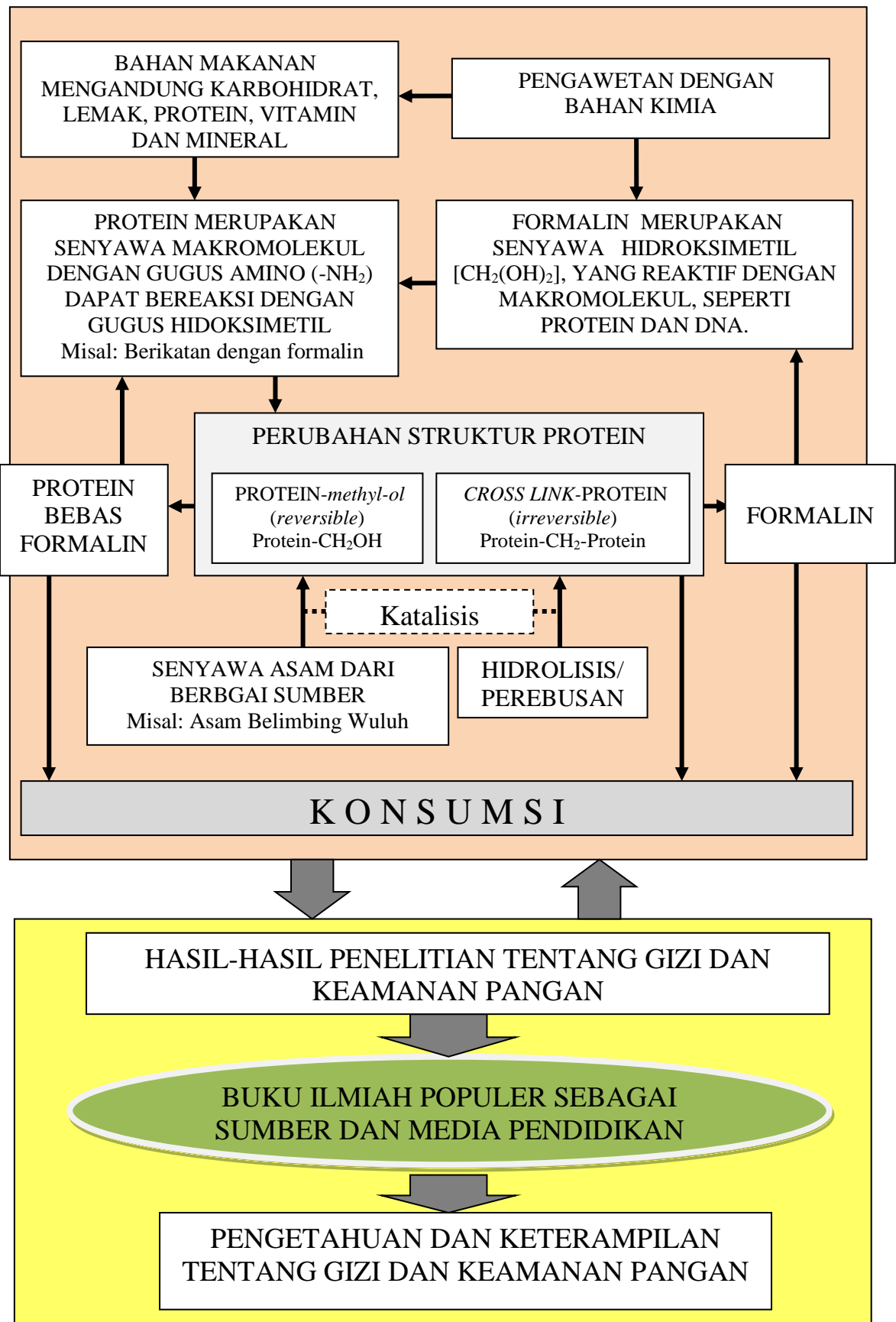
Pengetahuan gizi dan keamanan pangan akan memberikan pemahaman kepada masyarakat tentang cara pengolahan bahan makanan. Buku merupakan salah satu sumber pengetahuan yang paling mudah terjangkau masyarakat. Buku termasuk ke dalam salah satu bentuk sumber pembelajaran yang memiliki kelebihan dalam beberapa hal, yaitu ekonomis, lingkup sasaran luas, bersifat umum, pengadaan mudah, dan mudah penggunaannya. Penyusunan buku hasil

penelitian akan membantu masyarakat dalam mendapatkan pengetahuan untuk memecahkan segala permasalahan yang timbul dalam kehidupan masyarakat.

Berdasarkan uraian di atas, kerangka berpikir dalam penelitian ini dapat dirumuskan, sebagai berikut:

- (1) Jika udang putih berformalin ditambah dengan buah belimbing wuluh dan perebusan, maka kadar residu formalin pada udang putih akan menurun.
- (2) Jika kadar residu formalin udang putih menurun, maka profil protein udang (protein total, asam amino, berat molekul dan sifat imunogenisitas) akan kembali baik.
- (3) Buku hasil penelitian ini dapat membantu masyarakat dalam memecahkan permasalahan bahan makanan berformalin.

Kerangka berfikir penelitian ini secara ringkas disajikan pada Gambar 2.23.



Gambar 2.23 Bagan Kerangka Berpikir Penelitian

## **G. Hipotesis Penelitian**

Berdasarkan latar belakang masalah dan kajian pustaka serta kerangka berpikir yang telah diuraikan di atas, peneliti mengajukan hipotesis sebagai berikut:

1. Ada pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin.
2. Ada pengaruh lama perebusan terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin.
3. Ada pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan terhadap profil protein udang putih berformalin.
4. Ada pengaruh lama perebusan terhadap profil protein udang putih berformalin.
5. Ada pengaruh interaksi antara penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan terhadap kadar residu formalin dan profil protein udang putih berformalin
6. Ada hubungan antara kadar residu formalin dan kadar protein total udang putih dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh.



## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Rancangan Penelitian**

Penelitian ini terdiri dari dua tahap penelitian, yaitu: tahap penelitian eksperimen dan tahap implementasi hasil penelitian eksperimen. Penelitian eksperimen menggunakan rancangan faktorial acak kelompok atau faktorial kelompok lengkap teracak 3 x 5 (Gomez dan Gomez, 2007; Hanfiah, 2010). Tahap implementasi merupakan penerapan hasil penelitian eksperimen yang disusun dalam bentuk buku sebagai sumber pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat.

Variabel dalam penelitian eksperimen meliputi: (1) variabel bebas (*independent variable*) terdiri dari dua faktor, yaitu penambahan perasan buah belimbing wuluh (BW) sebagai faktor pertama dan lama perebusan (R) sebagai faktor kedua. Faktor pertama, penambahan perasan buah belimbing wuluh terdiri dari lima tingkat perlakuan, yaitu konsentrasi 0% (BW<sub>0</sub>), 20% (BW<sub>1</sub>), 40% (BW<sub>2</sub>), 60% (BW<sub>3</sub>), dan 80% (BW<sub>4</sub>). Faktor kedua, lama perebusan terdiri dari tiga tingkat perlakuan, yaitu tanpa perebusan atau perebusan 0 menit (R<sub>0</sub>), lama perebusan 30 menit (R<sub>1</sub>), dan lama perebusan 45 menit (R<sub>2</sub>); (2) variabel terikat (*dependent variable*) terdiri dari dua variabel, yaitu: kadar residu formalin dan profil protein dengan subvariabel, yaitu: kadar protein total; kandungan dan komposisi asam amino, macam berat molekul, dan sifat imunogenik; (3) variabel kontrol dalam penelitian ini adalah: (1) jenis, ukuran, warna dan asal buah belimbing wuluh, (2) jenis, ukuran, kondisi, dan asal udang, (3) suhu, (4) volume air rebusan, (4) konsentrasi formalin, (5) kadar formalin udang.

Ada pun kombinasi perlakuan dalam rancangan penelitian ini sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Rancangan Faktorial 3 x 5 Pengaruh Penambahan Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan Lama Perebusan terhadap Residu Formalin dan Profil Protein Udang Putih (*Letapeneus vannamei*)

Lama Perebusan (menit)	Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh (%)				
	BW <sub>0</sub>	BW <sub>1</sub>	BW <sub>2</sub>	BW <sub>3</sub>	BW <sub>4</sub>
R <sub>0</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>1</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>2</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>4</sub>
R <sub>1</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>1</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>2</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>4</sub>
R <sub>2</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>1</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>2</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>4</sub>

Keterangan:

R<sub>0</sub> = lama perebusan 0 menit

R<sub>1</sub> = lama perebusan 30 menit

R<sub>2</sub> = lama perebusan 45 menit

BW<sub>0</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 0%

BW<sub>1</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 20%

BW<sub>2</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 40%

BW<sub>3</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 60%

BW<sub>4</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 80%

R<sub>0</sub>BW<sub>0</sub>, R<sub>0</sub>BW<sub>1</sub>, R<sub>0</sub>BW<sub>2</sub>, R<sub>0</sub>BW<sub>3</sub>, R<sub>0</sub>BW<sub>4</sub>, R<sub>1</sub>BW<sub>0</sub>, R<sub>1</sub>BW<sub>1</sub>, R<sub>1</sub>BW<sub>2</sub>, R<sub>1</sub>BW<sub>3</sub>, R<sub>1</sub>BW<sub>4</sub>, R<sub>2</sub>BW<sub>0</sub>, R<sub>2</sub>BW<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>BW<sub>2</sub>, R<sub>2</sub>BW<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>BW<sub>4</sub> = interaksi antar perlakuan R<sub>i</sub> dan BW<sub>j</sub>.

Jumlah ulangan dalam penelitian ini ditentukan berdasarkan rumus menurut Hanafiah (2010), yaitu:  $(t - 1)(r - 1) \geq 15$ , dimana t = perlakuan dan r = ulangan. Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh jumlah pengulangan sebanyak empat kali untuk semua kelompok perlakuan. Pengacakan dan penempatan perlakuan dengan empat kali ulangan pada rancangan penelitian ini, ditunjukkan pada Tabel 3.2.

Tabel 3.2 Penempatan Perlakuan Random Sampling Rancangan Faktorial Acak Kelompok

ULANGAN I		ULANGAN II		ULANGAN III		ULANGAN IV	
1	9	1	9	1	9	1	9
R <sub>1</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>4</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>0</sub>
2	10	2	10	2	10	2	10
R <sub>1</sub> BW <sub>2</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>1</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>1</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>4</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>1</sub>
3	11	3	11	3	11	3	11
R <sub>1</sub> BW <sub>4</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>1</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>1</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>2</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>1</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>1</sub>
4	12	4	12	4	12	4	12
R <sub>0</sub> BW <sub>4</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>1</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>1</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>4</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>2</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>1</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>4</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>2</sub>
5	13	5	13	5	13	5	13
R <sub>0</sub> BW <sub>1</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>2</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>2</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>2</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>4</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>2</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>2</sub>
6	14	6	14	6	14	6	14
R <sub>2</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>4</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>4</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>0</sub>
7	15	7	15	7	15	7	15
R <sub>2</sub> BW <sub>2</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>0</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>2</sub> BW <sub>4</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>3</sub>	R <sub>1</sub> BW <sub>4</sub>	R <sub>0</sub> BW <sub>3</sub>
8		8		8		8	
R <sub>2</sub> BW <sub>4</sub>		R <sub>0</sub> BW <sub>2</sub>		R <sub>0</sub> BW <sub>1</sub>		R <sub>2</sub> BW <sub>2</sub>	

## B. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Juli 2010 – Januari 2011. Tempat pelaksanaan penelitian, yaitu: (1) Lab. Biologi FKIP UMSurabaya, (2) Lab. Kimia Jurusan Pendidikan Biologi UMM, (3) Lab. Biomedik FK Universitas Brawijaya (UB), (4) Lab. Farmakologi UB, dan (5) Lab. Kimia Terpadu IPB.

## C. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah udang putih atau udang vaname jenis *Letapenaeus vannamei* berformalin hasil perlakuan dengan perendaman udang segar bebas formalin pada formalin 5% selama 60 menit. Udang segar diperoleh dari hasil panen kolam/tambak air tawar Petani UD Gotong Royong Desa Kedung Peluk, Candi Sidoarjo. Sampel dalam penelitian ini adalah sebagian udang berformalin sebanyak 250 g untuk setiap ulangan dalam perlakuan. Jadi, jumlah seluruh sampel dalam penelitian ini sebanyak 10 kg udang berformalin.

#### D. Instrumen Penelitian

Dalam penelitian ini instrumen yang digunakan meliputi alat dan bahan pada setiap tahap pengumpulan data sebagai berikut:

(1) Alat dan bahan tahap persiapan sampel: Kompor gas, panci rebus, thermometer, pH meter, gelas ukur, gelas kimia, pipet, timbangan teknis Ohaus, timbangan roti, udang segar jenis udang putih atau vaname (*Letapenaeus vannamei*), kontainer perendaman bertutup, formalin komersial 37% dari Merck, belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dari pohon di Kec. Candi Sidoarjo, aquades;

(2) Alat dan Bahan Uji Kualitatif dan Kuantitatif Kadar Formalin: mortar dan alu, spektrofotometer UV-Vis, *water bath*, labu takar (50 ml, 1000 ml), botol semprot, pipet berpenhisap, botol bertutup 50 ml, timbangan dengan ketelitian sampai 0,001g, larutan acetylacetone, larutan ammonium acetate, larutan formaldehid standar 1000 ppm, larutan pati 1% (b/v), aquadest;

(3) Alat dan bahan Uji Protein Total: mortar, Labu Kjeldahl, lampu spiritus, kaki tiga, alat destilasi, Erlenmeyer, buret, pipet ukur, gelas ukur, labu ukur, statif dan klem, karet hisap, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HgO (20:1), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat (93-98% bebas N), NaOH 10%, H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub> 3%, HCl Standar 0,02N, indikator metil merah;

(4) Alat dan Bahan Uji Asam Amino: HPLC, oven, corong pemisah 100 ml, pengaduk magnetik, rotary evaporator vakum, alat-alat gelas, neraca analitik, filter Whatmann 0,2 µm, 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, ultrasonic; dan

(5) Alat dan Bahan Uji Berat Molekul: alat Elektroforesis SDS-PAGE, power supply, mortar, volumetric pipet, microtube, setrifuge, sonikator, vortex,

eppendorf, gel poliakrilamid-SDS 10% (*stacking gel* dan *separating gel*), *Reducing Buffer Sample* (RBS), larutan *coomassie blue staining*, larutan *destaining*, phosphate buffer saline (PBS) Tween 20, Tris-Cl pH 7, phosphate buffer saline Tween 20-polymethyl sulfonyl flourida, etanol absolute.

(6) alat dan bahan uji karakterisasi protein: peralatan elektroelusi, alat elektrotransfer/Trans-Blot semidry merk Bio-Rad, sentrifus, , alat suntik/spuit, eppendorf, kantong selofan, *Running buffer*, etanol absolut, hewan coba, kandang dan pakan hewan coba, *Compleat Freud Adjuvant* (CFA), *Incomplet Freud Adjuvant* (IFA), *membrane nitrocelulose* (NC), kertas Whatmann/kertas saring biasa, TBS-Tween 0,05%, TBS skim milk 5%, larutan substrat TMB, Ponceau S, gel hasil elektroforesis SDS-PAGE. Antibody sekunder (*anti-mouse biotin*).

## **E. Pengumpulan Data**

Data dalam penelitian ini terdiri atas: (1) kadar residu formalin; (2) kandungan protein total; (3) komposisi asam amino; (4) kandungan asam amino; (5) berat molekul protein, dan (6) sifat imunogenesitas protein. Seluruh data dalam penelitian ini telah dikumpulkan dengan metode dan langkah-langkah sebagaimana diuraikan di bawah ini.

### **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 untuk perlakuan penelitian ini disajikan pada Lampiran 2.

## 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. Dimana, setiap kali ulangan atau merebus terdiri atas semua perlakuan, yaitu  $R_1BW_0$ ,  $R_1BW_1$ ,  $R_1BW_2$ ,  $R_1BW_3$ , dan  $R_1BW_4$ . Perebusan dilakukan selama 30 menit dan 45 menit masing-masing pada suhu  $85^{\circ}\text{C}$ - $100^{\circ}\text{C}$  (Bartano dan Ruffino, 2006). Setelah perebusan selesai, semua udang sesuai perlakuan siap untuk diuji kadar residu formalin, protein total, komposisi dan kandungan asam amino, dan pita berat molekul sampel serta uji imunogenesistas.

### 3. Prosedur Uji Formalin

Uji formalin menggunakan metode Hantzch yang diadaptasi dari BS EN717-2:1995 (British Standar, 2002). Langkah-langkah pengujian sebagai berikut:

#### a. Uji Kualitatif

Menghaluskan sampel di dalam lumpang porslen. Menimbang sampel yang telah dihaluskan sebanyak 10 g, kemudian melarutkan dengan aquades sebanyak 100 ml dan menggojlok beberapa kali (dekantir) selama 30 menit. Menyaring filtrat sampel dan memasukan 10 ml filtrat ke dalam labu takar 50 ml, kemudian menambahkan 10 ml larutan acetalaseton, 10 ml ammonium asetat dan menggenapkan volume dengan aquades sampai tanda batas. Memanaskan labu takar yang telah ditutup di dalam penangas air selama 15 menit pada suhu 40°C. Mengamati perubahan warna yang terjadi, adanya formalin ditunjukkan dengan munculnya warna ungu muda sampai ungu tua.

#### b. Uji Kuantitatif

##### 1) Pembuatan Larutan dan Kurva Standar Formalin

Membuat larutan standar formalin 1000 ppm dengan menempatkan larutan formalin sebanyak 0,25 ml (formalin 37% Merck) ke dalam labu takar 100 ml, kemudian mengencerkan dengan aquades sampai tanda batas. Kemudian, membuat seri larutan standar formalin konsentrasi 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, dan 10 ppm dengan cara mengambil larutan standar formalin 1000 ppm sesuai dengan konsentrasi yang akan dibuat ke dalam labu takar 100 ml dan mengencerkan dengan aquades sampai tanda batas. Mengambil masing-masing seri larutan standar formalin sebanyak 10 ml dan dimasukan ke dalam labu takar 50 ml. Kemudian, menambahkan 10 ml larutan acetalaseton, 10 ml ammonium asetat dan

mengenapkan dengan aquades sampai tanda batas. Memanaskan labu takar yang telah ditutup di dalam penangas air selama 15 menit pada suhu 40°C. Mengangkat dan mendinginkan semua labu pada suhu kamar yang terhindar dari cahaya selama 1 jam. Kemudian, memindahkan larutan sampel ke dalam kuvet dan mengukur asorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 412 nm. Sebagai larutan blangko menggunakan aquades. Mencatat hasil asorbansi semua seri konsentrasi standar formalin dalam tabel. Memplot hubungan antara konsentrasi dan asorbansi larutan standar formalin, kemudian membuat persamaan regresi linier yang akan digunakan untuk menghitung kadar formalin dalam sampel.

## 2) Penentuan Kadar Formalin Sampel

Mengambil 10 ml filtrat dari masing-masing perlakuan ke dalam labu takar 50 ml, kemudian menambahkan 10 ml larutan acetilaseton, 10 ml ammonium asetat dan mengenapkan volume dengan aquades sampai tanda batas. Memanaskan labu takar yang telah ditutup di dalam penangas air selama 15 menit pada suhu 40°C. Mengangkat dan mendinginkan semua labu pada suhu kamar yang terhindar dari cahaya selama 1 jam. Kemudian, memindahkan larutan sampel ke dalam kuvet dan mengukur asorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 412 nm. Mencatat hasil asorbansi semua sampel dalam tabel dan menentukan kadar formalin berdasarkan persamaan regresi hasil dari seri larutan standar formalin.

## 4. Penentuan Kadar Protein Total

Kadar protein total ditentukan dengan menggunakan metode volumetrik semi mikro-Kjeldahl AOAC (Horwiitz, 1975; Sudarmadji, Haryono, dan Suhardi, 2007) dengan langkah-langkah sebagai berikut: menghaluskan sampel dalam



mortar. Kemudian, menimbang sampel sebanyak 2 g. memasukan sampel ke dalam labu Kjeldahl dan didestruksi dengan menggunakan 2 ml asam sulfat pekat dan 2 g campuran Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HgO (20:1) sebagai katalisator, serta aquades sebanyak 10ml. mendidihkan sampai terjadi larutan berwarna jernih (sekitar 4 jam). Kemudian, melanjutkan pendidihan sampai 30 menit lagi. Setelah dingin, menambahkan 35 ml aquades dan 8,5 ml NaOH 45%, ke dalam larutan hasil destruksi untuk selanjutnya mendestilasi. Menampung destilat sebanyak 25 ml dalam 6,5 ml larutan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 4%. Mentitrasi larutan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 4% sebanyak 5 ml dengan larutan standar HCl 0,1N dengan menggunakan metil merah sebagai indikator. Kadar protein sampel dihitung dengan mengalikan total nitrogen dengan faktor koreksi.

$$\text{Total Nitrogen (\%)} = \frac{\text{ml titran} \times N \text{ HCl} \times fp \times 14,008}{\text{Bobot sampel}} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Protein (\%)} = \text{Total Nitrogen} \times 6,25$$

fp = Faktor pengenceran sebesar 5 dari 25ml.

## 5. Penentuan Jenis dan Kadar Asam Amino

Adapun prosedur penentuan jenis dan kadar asam amino berdasarkan pada metode kromatografi HPLC (Sudarmadji, Haryono, dan Suhardi, 2007) dengan cara sebagai berikut:

### a. Preparasi sampel

Menimbang sampel yang telah dihaluskan sebanyak 5 g dan memasukan ke dalam labu Erlenmeyer bertutup asah. Kemudian, menambahkan 50 ml petroleum eter dan mengaduk dengan pengaduk magnetic selama 5 menit untuk menekstraksi lipidnya. Menyaring dengan kertas saring whatmann no. 41 dan

mencuci residu dengan petroleum eter 10 ml, kemudian menuangkan filtratnya. Mengekstraksi residu dengan 25 ml garam encer (NaCl 5%) dalam Erlenmeyer, mengaduk dengan pengaduk magnetik selama 10 menit. Mensentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm untuk memisahkan residu sebanyak tiga kali dengan garam encer seperti di atas. Mengumpulkan seluruh beningan dan menambahkan aquades sehingga volume beningan mencapai 100 ml. mengambil 10 ml beningan dan menambahkan 60 ml larutan TCA 10% dalam Erlenmeyer, kemudian mengaduk dengan pengaduk magnetic selama kurang lebih 1 menit sampai endapan protein terbentuk. Mensentrifugasi campuran tadi, selama 15 menit pada kecepatan 3000 rpm untuk memisahkan endapan protein. mendekantasi beningnya dan membuangnya, mengeringkan residu dengan tiupan gas nitrogen.

#### b. Hidrolisis Protein

Menimbang 50 mg protein dan memasukan ke dalam tabung reaksi yang bertutup ulir (dengan volume 10-15 ml), kemudian menambahkan 4 ml HCL 6N. mengalirkan gas nitrogen selama satu menit ke dalam tabung untuk menghilangkan udara di dalam tabung, kemudian menutup rapat-rapat. Memanaskan campuran dalam oven selama 24 jam pada temperature 110°C. Setelah dingin, membuka tutup tabung reaksi, kemudian menuangkan isinya ke dalam botol alas bulat 50 ml, mencuci tabung reaksi bekasnya beberapa kali dengan larutan HCL 0,01N. menguapkan campuran dalam rotary evaporator sampai kering dengan temperature pemanasan sekitar 40°C. Kemudian, menambahkan 2 ml NaOH 0,01N, membiarkan dalam keadaan terbuka pada temperature kamar selama sekitar 4 jam, menambahkan 6 ml HCl 0,02N, kemudian mengencerkan larutan ini dengan eluen HPLC yang mempunyai pH paling rendah sehingga volumenya menjadi 25 ml.

### c. Penentuan Jenis dan Kadar dengan HPLC

Mengambil cuplikan dengan *micropipette* sebanyak 20  $\mu$ l dan menginjeksikan ke dalam alat HPLC yang telah disiapkan. Adapun kondisi HPLC sebagai berikut:

Kolom	: spherogel amino acid 4,0%, 250 mm.
Fase gerak	: A. Buffer Na-asetat pH 6,5 B. Buffer borat pH 10,4
Sistem elusi	: Gradian 0% sampai 100% A selama 45 menit kemudian diteruskan 100% B atau isokratik bertahap
Kecepatan eluen	: 1 ml/menit
Temperatur kolom	: 50°C
Reagent OPA	: 0,4 ml/menit
Detector	: 1,0 RFU
Volume cuplikan	: 20 $\mu$ l
Kecepatan kertas	: 2 mm/menit

Melakukan injeksi asam amino standar untuk mengetahui jenis dan jumlah asam amino sampel. Standar diinjeksi sebelum dan setelah 3-4 kali injeksi sampel.

### d. Perhitungan Jumlah kadar asam amino

Perhitungan hasil analisis dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar asam Amino(g/100 g)} = \frac{\text{Luas Kurva Sampel} \times \text{Konsentrasi Standar} \times \text{fp}}{\text{Luas Kurva Standar}}$$

Dimana, fp = faktor pengenceran 10/5

## 6. Pemisahan/Fraksinasi Berat Molekul Protein Udang Putih

Pemisahan protein berdasarkan kepada mobilitas elektroforetiknya dengan menggunakan metode elektroforesis SDS-PAGE (Davis dalam Wilson dan Goulding (Eds.), 1987; Rantam, 2003; Aulanni'am, 2004).

### a. Preparasi sampel

Menimbang sebanyak 0,5 g sampel daging udang yang direndam dalam phosphate buffer saline (PBS), digunting menjadi ukuran kecil-kecil. Kemudian, digerus dalam mortar dingin sambil ditambah PBS Tween 20 mM sebanyak

100  $\mu$ L, ditambah 50  $\mu$ L PBS polymethyl sulfonyl fourida (PMSF) 40mM. Homogenat yang terbentuk, dimasukkan kedalam microtube, disonifikasi selama 10 menit, divorteks selama 10 menit, disertifuge pada 6000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Supernatant dipisahkan dari pellet dan disimpan dalam refrigerator pada suhu -40°C.

#### b. Preparasi Gel

Plate gel dibuat dengan merangkai dua plat kaca dengan jarak antara palt 1 mm. Gel dibuat dua lapis, yaitu gel sebagai tempat pengumpulan sampel (*stacking gel*) dan gel sebagai media untuk pemisahan protein (*separating gel*). Campuran *separating gel* dimasukan dengan hati-hati kedalam plat (tempat lapisan gel) dengan menggunakan micropipette. Dibiarkan selama 10-30 menit sampai terbentuk gel. Berikutnya, *stacking gel* dituang di atas *separating gel* sambil dipasang sisir sampai terbentuk gel berikut sumurannya. Didiamkan selama 30 menit. Setelah terbentuk gel, sisir diangkat dengan hati-hati, selanjutnya plate dipasang pada alat eletroforesis. Selanjutnya, larutan buffer dituangkan pada bejana elektroforesis (Aulani'am, 2004; Kapoor, tanpa tahun).

#### c. Injeksi Sampel

Sebanyak 10  $\mu$ l sampel isolate protein ditambahkan 10  $\mu$ l Tris-HCl + 20  $\mu$ L RBS (*Reducing Buffer Sample*), dimasukan ke dalam *microtube*, kemudian dipanaskan dalam penangas air pada susu 100°C selama 5 menit. Setelah didinginkan sampel dimasukan kedalam sumur-sumur gel dengan volume 20  $\mu$ L untuk setiap sumur. Menghubungkan anoda pada reservoir bawah dan katoda pada reservoir atas. *Power supplay* dihidupkan dengan arus listrik 30mA dan 120V. Proses pemisahan (*running*) dihentikan setelah warna biru dari penanda (*maker*) mencapai ketinggian 0,5 cm dari batas bawah plat gel, atau selama 60 menit.

d. Pewarnaan dan Pencucian Gel

Pewarnaan dilakukan dengan merendam gel dalam larutan *coomassie blue staining* sambil dishaker selama 60-120 menit. Penghilangan warna dilakukan dengan merendam gel dalam larutan *destaining* sambil digoyang-goyangkan dengan penggoyang otomatis sampai gel menjadi jernih.

e. Penentuan Berat Molekul

Berat molekul diperoleh dengan cara membandingkan hasil elektroforesis sampel dengan standar protein marker. Penentuan berat molekul masing-masing pita dihitung dengan rumus *retardation factor* (Rf) (Soewoto, dkk., 2001) sebagai berikut:

$$Rf = \frac{\text{Jarak (cm) pita- pita protein dari batas atas gel pemisah}}{\text{Jarak (cm) tracking dye dari batas atas gel pemisah}}$$

Kemudian dibuat kurva standar dengan harga Rf sebagai sumbu X dan harga logaritma berat molekul sebagai sumbu Y. Berat moleku sampel ditentukan berdasarkan kurva standar dari protein petanda (maker) dengan mengukur jarak pita protein sampel yang timbul.

## 7. Karakterisasi Protein Udang

Berat molekul protein dari hasil elektroforesi SDS-PAGE yang muncul dipilih beberapa pita protein untuk mengetahui karakterisasinya. Karakterisasi jenis protein udang putih dilakukan dengan prosedur sebagai berikut:

### a. Isolasi protein

Isolasi protein udang putih dilakukan dengan metode elektroelusi pada pita yang muncul dalam running SDS-PAGE (Aulani'am, 2004; Mahdi, 2008). Pelaksanaan isolasi diawali dengan menyiapkan potongan selofan sekitar (6-8 cm) yang dididihkan secara bertahap dalam 5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 50 mM EDTA pH 8, dan aquades mendidih masing-masing selama 15 menit. Memotong pita protein yang ingin diisolasi, yaitu pita BM 37,56 kDa yang sebelumnya sudah diproduksi dengan elektroforesis SDS-PAGE, di dalam cawan petri yang berisi *running buffer*. Memasukan potongan pita protein ke dalam kantong selofan yang telah berisi *running buffer*. Kemudian, me-*running* di dalam *chamber* elektroforesis horizontal 120V selama 60 menit dalam elektroeluen 2,5mM buffer Tris glisin (pH 8,5).

Hasil elektroelusi dilanjutkan dengan dialisa untuk menghilangkan bahan kimia lain yang tidak diperlukan. Dialisa dilakukan di dalam gelas kimia yang telah berisi aquades steril/PBS steril dingin sambil distirer selama 24 jam pada temperature 4°C. Setiap 8 jam PBS diganti dengan yang dingin dan baru. Mengoleksi supernatant setelah mengangkat selofannya. Memasukan supernatant ke dalam eppendorf masing-masing 500 µl. Mempresipitasi protein dengan menambahkan etanol dingin dengan perbandingan (1:1), kemudian disimpan selama semalam pada suhu 4°C. Selanjutnya, mensentrifus hasil presipitasi pada 12.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Membuang supernatant, didekantasi

dan mengering-anginkan. Menimbang protein hasil isolasi dan menyimpan pada suhu  $-40^{\circ}\text{C}$ .

#### b. Imunisasi

Hasil isolasi protein (isolat protein 37,56 kDa) digunakan sebagai antigen untuk pembuatan antibodi dengan cara melakukan imunisasi pada mencit jantan (*Mus musculus*) galur BALB/c, umur sapih 6 minggu dengan berat 35-38 g. Imunisasi dilakukan dengan cara injeksi *intraperitoneal* pada 5 ekor mencit selama 4 minggu sebanyak 0,2 ml (200  $\mu\text{g/ml}$ ) setiap minggu. Setelah aklimasi selama 2 minggu, pada minggu ke-3 dilakukan imunisasi pertama kepada 5 ekor mencit dengan campuran emulsi protein 37,56 kDa dan *Complete Freud Adjuvant* (CFA) dengan perbandingan 1:1. Pada minggu ke-4 sampai minggu ke-6, imunisasi menggunakan campuran protein 37,56 kDa dengan *Incomplete Freud Adjuvant* (IFA) dengan perbandingan 1:1. Sebagai kontrol digunakan 5 ekor mencit jenis yang sama dengan injeksi campuran CFA/IFA dengan PBS (1:1). Jadwal dan formula pemberian imunisasi disajikan secara lengkap disajikan pada Lampiran 10

Pada minggu ke-7, semua mencit dianastesis untuk diambil darah melalui ruang jantung. Darah ditampung di dalam tabung EDTA, kemudian memindahkan ke dalam *microtube* untuk selanjutnya disentrifus pada 3000 rpm. Supernatan atau serum diambil sebagai antibodi primer.

#### c. Western Blotting

Karakterisasi protein 37,56 kDa dilanjutkan dengan Metode *Western Blot Protocol* untuk mengetahui sifat imunogenesitas protein (Grafin, 2003) dalam AES, 2007; de lange lab, tanpa tahun; abcam, tanpa tahun). Langkah-langkah *Western Blotting* sebagai berikut: merendam membrane blotting nitrocelulosa

(NC) dan gel SDS-PAGE masing-masing dalam transfer buffer selama 30 menit. Kemudian, menyiapkan alat *trans-blot semidry* (Bio-Rad) dengan susunan *sandwich*, yaitu kertas saring, membrane NC, dan gel SDS-PAGE, kertas saring. Me-running *trans-blot* pada 300 mA, 20V selama 2 jam. Mengangkat NC dari alat *trans-blot*, selanjutnya mencuci dengan aquades. Merendam NC di dalam ponceau untuk memastikan keberhasilan transfer. Mem-*blocking* NC dalam blocking buffer (TBS skim milk 5%) selama semalam pada suhu 4oC. Mencuci NC dalam TBS Tween 0,05% sebanyak 2 x 10 menit. Menginkubasi antibody primer (serum mencit) dengan perbandingan 1:200 dalam TBS skim milk 0,5% selama 2 jam pada suhu kamar. Mencuci dengan TBS Tween 0,05% sebanyak 2 x 10 menit. Menginkubasi kembali dengan antibodi sekunder anti mouse biotin (1:500 dalam TBS) selama 1 jam pada suhu ruang. Mencuci dengan TBS Tween 0,05 sebanyak 1x10 menit. Menginkubasi kembali dengan substrat TMB dalam ruang gelap sampai muncul pita. Menghentikan reaksi dengan mencuci dengan aquades, mengering-anginkan dan men-*scan* hasil.

## **F. Analisis Data**

Data yang telah terkumpul dianalisis secara deskriptif dan statistik. Metode statistik menggunakan ANAVA dua jalan, uji korelasi, dan uji regresi dengan taraf signifikan 5% yang sebelumnya dilakukan uji normalitas dan homogenitas. Metode statistik lanjutan ANAVA menggunakan Uji Jarak Ganda Duncan (UJGD) atau *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf signifikan 5% (Gomez dan Gomez, 2007; Hanafiah, 2010). Analisis data secara statistik menggunakan program pengolah data SPSS Versi 17.00 (Priyatno, 2009; Oramahi, 2009).

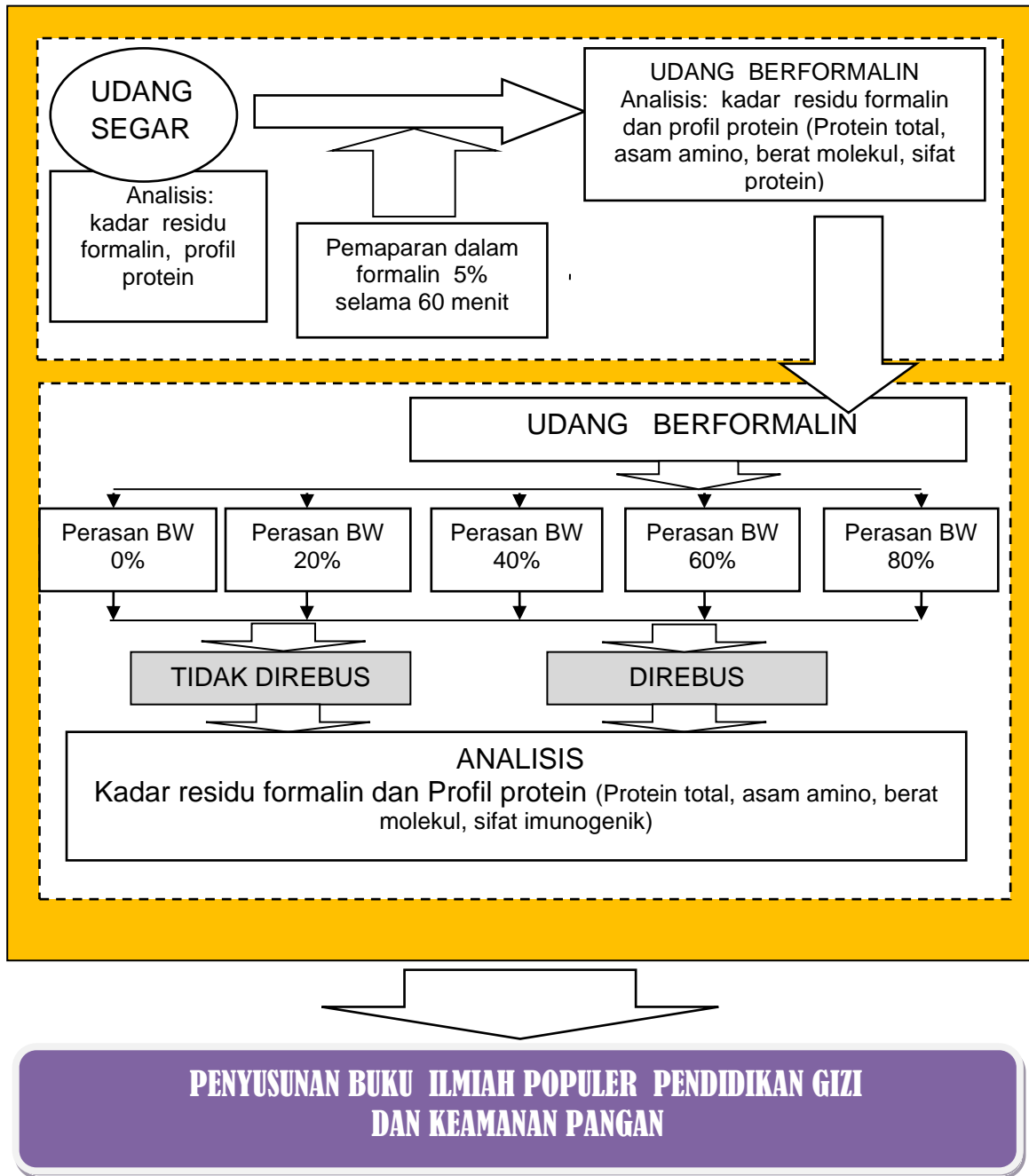


## **G. Implementasi Hasil Penelitian Eksperimen**

Hasil penelitian ini digunakan untuk membuat buku ilmiah populer sebagai sumber pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat. Ada pun prosedur penyusunan produk sebagai berikut.

- a. Analisis kebutuhan
- b. Penyusunan *layout* buku
- c. Penyusunan materi
- d. *Editing*
- e. Revisi
- f. Produk akhir buku

Metode penelitian ini, secara garis besar ditunjukkan pada Gambar 3.1



Gambar 3.1 Bagan Rangkuman Metode Penelitian

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN**

Ada dua tujuan utama dalam penelitian ini, yaitu: (1) untuk mengetahui perbedaan kadar residu formalin dan profil protein Udang Putih dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Perebusan; dan (2) untuk mengimplemtasikan hasil temuan penelitian ini dalam pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat. Oleh karena itu, data hasil penelitian ini disajikan dalam dua bagian, yaitu: (1) penyajian data hasil penelitian eksperimen tentang kadar residu formalin dan profil protein Udang Putih dengan perebusan dan penambahan perasan buah Belimbing Wuluh dan (2) penyajian materi pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat dalam bentuk buku.

#### **A. Deskripsi Data Penelitian Eksperimen**

##### **1. Profil Sampel Penelitian**

Penelitian ini telah menggunakan udang putih atau udang vaname (*Letapenaeus vannamei*) sebagai sampel bahan makanan berformalin. Udang segar diperoleh dari petani tambak udang U.D. Gotong Royong, Ds Kedung Peluk, Kecamatan Candi Kabupaten Sidoarjo. Udang segar bebas formalin, secara sengaja dipapar dengan larutan formalin 5% selama 60 menit untuk menghasilkan sampel udang berformalin. Ada pun karakteristik udang putih segar dan berformalin disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Karakteristik Udang Putih

Parameter	Karakteristik Udang Putih*)	
	Segar	Berformalin
Ukuran/Berat	13,65 cm/14,28 g	13,65 cm/14,28 g
Bagian Tubuh	Utuh tidak ada yang hilang (kepala, badan, ekor, kaki, mata, sungut, antene), lentur	Utuh tidak ada yang hilang (kepala, badan, ekor, kaki, mata, sungut, antene), kaku
Kulit Tubuh	Licin, segar, putih-gelap alami (tidak berubah menjadi merah muda)	Kesat, putih bersih (tidak berubah menjadi merah muda)
Keadaan Mata	Bulat, hitam-kebiruan, bening, bercahaya	Bulat, hitam kebiruan, bening tidak bercahaya
Bagian Daging	Empuk-lentur, bau amis alami	Kenyal kaku, bau menyengat
Noda di tubuh	Tidak ada bercak hitam di bagian kepala, sambungan ruas-ruas, kaki renang, sungut, dan ekor	Tidak ada bercak hitam di bagian kepala, sambungan ruas-ruas, kaki renang, sungut, dan ekor
Kadar formalin	Negatif	1127 ppm

\*) Sumber Data pada Lampiran 4.

Selain udang putih, dalam penelitian ini juga menggunakan belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) sebagai salah satu variabel bebas. Belimbing wuluh yang digunakan dalam penelitian ini adalah belimbing wuluh jenis buah putih atau hijau kekuningan. Buah belimbing wuluh dikumpulkan dari pohon langsung di sekitar rumah-rumah penduduk Desa Wedoroklurak, Kecamatan Candi, Kabupaten Sidoarjo. Karakteristik dan komposisi kimia buah belimbing wuluh disajikan secara berturut-turut pada Tabel 4.2. dan Tabel 4.3.

Dalam pembuatan perasan buah belimbing wuluh diperoleh data bahwa dalam setiap 100 gram buah belimbing wuluh yang terdiri dari 3 butir buah dengan ukuran rata-rata panjang 6,8 cm dan diameter 3 cm diperoleh sari buah sebanyak 72 ml. Data lengkap tentang pembuatan perasan buah belimbing wuluh tersedia pada Lampiran 2.

Tabel 4.2 Karakteristik Buah Belimbing Wuluh

Parametar	Karakteristik	
	Referensi*	Hasil Penelitian**
Umur	-	Tua
Bentuk	Bulat lonjong, berlekuk bersegi 5 tumpul	Bulat lonjong, berlekuk bersegi 5 tumpul,
Ukuran (panjang , p/diameter, Ø )	p. 4-10 cm	p. 6,8 cm; Ø 3 cm
Kulit Buah (tekstur, warna)	mengkilat, sangat tipis, lembut dan lengket, daging hijau	Mengkilat, sangat tipis, lembut dan Lengket, hijau kekuningan
Rasa	Sangat masam (pH 4.47)	Sangat masam (pH 2,0)

\*) Sumber: Orwa,*et al.*, 2009.; \*\*); Sumber Data pada Lampiran 3 dan 4.

Tabel 4.3 Komposisi Kimia Perasan Buah Belimbing Wuluh

Komposisi	Jumlah Kandungan*)
Energi (kkal)	39
Karbohidrat (g%)	9,63
Protein (g%)	0,07
Lemak (g%)	0
Vitamin A (SI%)	88,87
Vitamin C (mg%)	25.08
Asam Sitrat (mg%)	351.75
Oksalat (ppm)	28,83

\*) Sumber Data pada Lampiran 4.

## 2. Kadar Residu Formalin Udang Putih dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Perebusan.

Kadar residu formalin merupakan salah satu variabel terikat utama dalam penelitian ini. Data residu kadar formalin telah dikumpulkan secara kuantitatif dengan metode fotometri dan menggunakan alat Spektrofotometer UV-Vis di Laboratorium Kimia Program Studi Pendidikan Biologi Universitas

Muhammadiyah Malang. Data kadar residu formalin pada udang putih dalam berbagai perlakuan disajikan pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Rerata, Simpangan Baku dan Persentase Penurunan Kadar Residu Formalin Udang Putih

Lama Perebusan	Kadar Residu Formalin (g%)						Rerata Total	Persentase penurunan*	
	US	UF	BW0	BW1	BW2	BW3			BW4
R0	-	1,127± 0,065	0,763± 0,012	0,544± 0,017	0,206± 0,007	0,095± 0,007	0,070± 0,005	0,336± 0,280	70,19%
R1	-	1,127± 0,065	0,362± 0,011	0,287± 0,007	0,142± 0,015	0,083± 0,007	0,035± 0,003	0,182± 0,127	83,85%
R2		1,127± 0,065	0,030± 0,003	0,023± 0,003	0,018± 0,001	0,012± 0,001	0,009± 0,001	0,018± 0,007	98,40%
Rerata Total			0,385± 0,313	0,284± 0,222	0,122± 0,082	0,063± 0,038	0,038± 0,026	0,179± 0,218	
Persentase penurunan			65,84%	74,80%	89,18%	94,41%	96,63%		

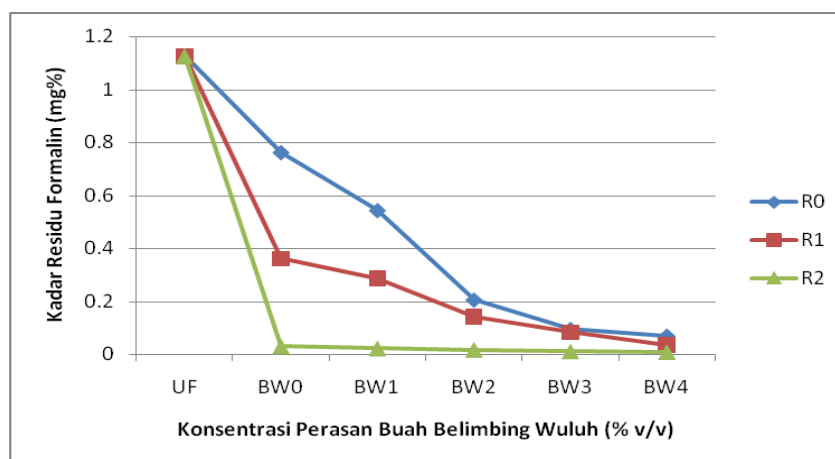
Ket : R0 = lama perebusan 0 menit (tanpa perebusan); R1 = lama perebusan 30 menit; R2 = lama perebusan 45 menit; US = udang segar; UF = udang berformalin; BW<sub>0</sub> = dalam aquades tanpa perasan belimbing wuluh (0%); BW<sub>1</sub> = perasan belimbing wuluh 20%; BW<sub>2</sub> = perasan belimbing wuluh 40%; BW<sub>3</sub> = perasan belimbing wuluh 60%; BW<sub>4</sub> = perasan belimbing wuluh 80%.

\*) Persentase Penurunan (%) =  $(X_0 - X_i) / X_0 \times 100\%$ , dimana: X<sub>0</sub> = rerata UF; X<sub>i</sub> = rerata perlakuan ke-i.

Dari Tabel 4.4, kadar formalin awal pada udang putih adalah 1,127 g per 100 g bahan (11270 ppm). Kadar residu formalin udang putih setelah perlakuan dari masing-masing kelompok perlakuan dapat dideskripsikan sebagai berikut:

- (1) kadar residu formalin tertinggi sebesar 0,763 g per 100 g bahan (7630 ppm) terdapat pada udang putih dengan perlakuan tanpa perebusan dan tanpa penambahan perasan buah belimbing wuluh (R<sub>0</sub>BW<sub>0</sub>)
- (2) kadar residu formalin terendah sebesar 0,009 g per 100 g bahan (90 ppm) terdapat pada udang putih dengan perlakuan lama perebusan 45 menit dan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 80% (R<sub>2</sub>BW<sub>4</sub>).

Secara visual data kadar residu formalin udang putih dengan berbagai perlakuan disajikan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Grafik Kadar Residu Formalin pada Udang Putih dengan Perebusan dan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh. UF = udang berformalin;  $BW_0$  = konsentrasi perasan belimbing wuluh 0%;  $BW_0$  = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 0% (aquades 100%);  $BW_1$  = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 20%;  $BW_2$  = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 40%;  $BW_3$  = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 60%;  $BW_4$  = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 80%;  $R_0$  = tanpa perebusan;  $R_1$  = perebusan selama 30 menit;  $R_2$  = perebusan selama 45 menit. .

Berdasarkan Gambar 4.1, kadar residu formalin udang putih pada semua perlakuan mengalami penurunan. Besar penurunan kadar residu formalin pada masing-masing kelompok perlakuan disajikan pada Tabel 4.4 dan 4.5. Tabel 4.4, menunjukkan penurunan kadar residu formalin per perlakuan, yaitu penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan. Persentase penurunan terendah diperoleh pada perlakuan tanpa penambahan perasan buah belimbing wuluh ( $BW_0$ ), yaitu 65,84%; dan persentase tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 80% ( $BW_4$ ), yaitu 96,63%. Demikian juga, pada perlakuan lama perebusan, persentase penurunan kadar residu formalin terendah diperoleh pada perlakuan tanpa perebusan ( $R_0$ ),

yaitu 70,19%; dan persentase penurunan kadar residu formalin tertinggi diperoleh pada perlakuan lama perebusan 45 menit (R<sub>2</sub>), yaitu 98,40%.

Tabel 4.5 Persentase Penurunan Kadar Residu Formalin Udang Putih pada Berbagai Perlakuan

Lama Perebusan	Perlakuan		Kadar Residu Formalin	
	Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh		Rerata (g%)	Persentase Penurunan*
R0 (0 menit)		UF	1,127± 0,065	
		BW0 (0%)	0,763± 0,012	32,30%
		BW1 (20%)	0,544± 0,017	51,71%
		BW2 (40%)	0,206± 0,007	81,72%
		BW3 (60%)	0,095± 0,007	91,57%
		BW4 (80%)	0,070± 0,005	93,79%
R1 (30 menit)		UF	1,127± 0,065	
		BW0 (0%)	0,362± 0,011	67,88%
		BW1 (20%)	0,287± 0,007	74,53%
		BW2 (40%)	0,142± 0,015	87,40%
		BW3 (60%)	0,083± 0,007	92,64%
		BW4 (80%)	0,035± 0,003	96,89%
R2 (45 menit)		UF	1,127± 0,065	
		BW0 (0%)	0,030± 0,003	97,34%
		BW1 (20%)	0,023± 0,003	97,96%
		BW2 (40%)	0,018± 0,001	98,40%
		BW3 (60%)	0,012± 0,001	98,94%
		BW4 (80%)	0,009± 0,001	99,20%

\*) Persentase Penurunan (%) =  $(X_0 - X_i) / X_0 \times 100\%$ , dimana: X<sub>0</sub> = rerata UF; X<sub>i</sub> = rerata perlakuan ke-i

Penurunan kadar residu formalin dapat dilihat juga berdasarkan interaksi antar perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan. Berdasarkan data pada Tabel 4.5, penurunan kadar residu formalin sudah mulai terjadi pada perlakuan tanpa perebusan dan tanpa penambahan perasan buah belimbing wuluh (R<sub>0</sub>BW<sub>0</sub>), walaupun persentase penurunan baru sekitar 32,30% dan penurunan pada perlakuan tanpa perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 80% (R<sub>0</sub>BW<sub>4</sub>) penurunan kadar residu formalin mencapai 93,79%. Penurunan kadar residu formalin tertinggi diperoleh pada perlakuan perebusan selama 45 menit dan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 80% (R<sub>2</sub>BW<sub>4</sub>), yaitu sebesar 99,20%.



### 3. Profil Protein Udang Putih dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Perebusan.

#### e. Kadar Protein Total Udang Putih

Kadar protein total merupakan salah satu subvariabel dari variabel terikat profil protein udang putih dalam penelitian ini. Kadar protein total dikumpulkan dari sampel dengan menggunakan metode volumetrik Semi-mikro Kjeldahl. Kadar protein total adalah hasil kali antara kadar Nitrogen dengan faktor konversi sebesar 6,25. Tabel 4.6 menyajikan data kadar protein total udang putih hasil perlakuan lama perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh .

Tabel 4.6 Rerata, Simpangan Baku dan Penurunan Kadar Protein Total Udang Putih

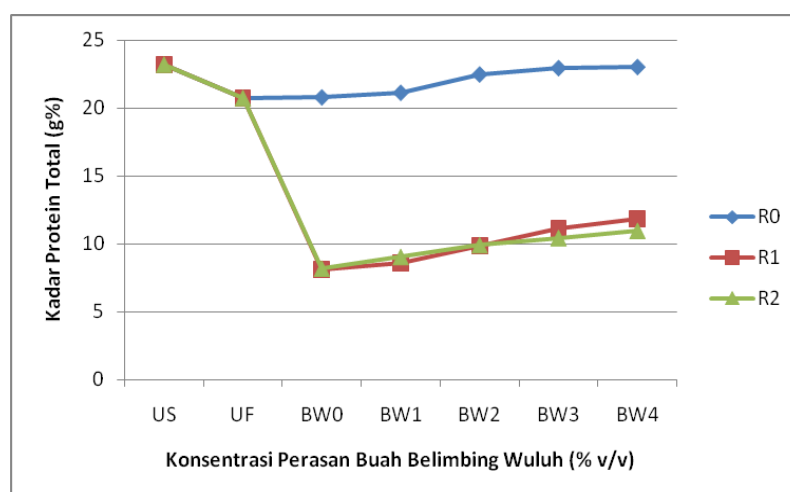
Lama Perebusan	Kadar Protein Total (%)							Rerata Total	Persentase Penurunan
	US	UF	BW0	BW1	BW2	BW3	BW4		
R0	23,205 ± 0,199	20,741 ± 0,603	20,808 ± 0,128	21,145 ± 0,166	22,483 ± 0,255	22,947 ± 0,236	23,028 ± 0,172	22,082 ± 0,968	4,84%
R1	23,205 ± 0,199	20,741 ± 0,603	8,103 ± 0,094	8,583 ± 0,183	9,863 ± 0,263	11,171 ± 0,136	11,838 ± 0,137	9,912 ± 1,483	57,29%
R2	23,205 ± 0,199	20,741 ± 0,603	8,197 ± 0,054	9,055 ± 0,195	9,923 ± 0,123	10,447 ± 0,173	10,978 ± 0,225	9,720 ± 1,028	58,11%
Rerata Total			12,369 ± 6,233	12,928 ± 6,074	14,090 ± 6,202	14,855 ± 5,986	15,281 ± 5,735	13,905 ± 5,946	
Persentase Penurunan			46,70%	44,29%	39,28%	35,98%	34,15%		

Ket: R0 = lama perebusan 0 menit (tanpa perebusan); R1 = lama perebusan 45 menit; US = udang segar; UF = udang berformalin; BW<sub>0</sub> = dalam aquades tanpa perasan belimbing wuluh (0%); BW<sub>1</sub> = perasan belimbing wuluh 20%; BW<sub>2</sub> = perasan belimbing wuluh 40%; BW<sub>3</sub> = perasan belimbing wuluh 60%; BW<sub>4</sub> = perasan belimbing wuluh 80%

Kadar protein total udang segar dan udang berformalin berturut-turut adalah 23,205 g per 100 g bahan dan 20,741 g per 100 g bahan. Kadar protein total udang setelah perlakuan adalah kadar tertinggi sebesar 23,028 g per 100 g bahan terdapat pada udang putih dengan perlakuan tanpa perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh 80% (R<sub>0</sub>BW<sub>4</sub>) dan kadar terendah sebesar 8,103 g per 100 g bahan terdapat pada udang putih dengan perlakuan

lama perebusan 30 menit dan tanpa penambahan perasan buah belimbing wuluh 0% ( $R_1BW_0$ ).

Secara visual data kadar protein total udang hasil perlakuan lama perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh disajikan pada Gambar 4.2. Kadar protein total udang putih menunjukkan adanya penurunan pada semua perlakuan dibandingkan dengan kadar protein total pada udang segar (US). Kadar protein total udang putih mengalami peningkatan kembali dengan perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh. Persentase penurunan kadar protein total udang putih disajikan pada Tabel 4.6 dan 4.7.



Gambar 4.2 Kadar Protein Total pada Udang Putih dengan Perebusan dan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh. US = udang segar UF = udang berformalin;  $BW_0$  = konsentrasi perasan belimbing wuluh 0%;  $BW_1$  = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 20%;  $BW_2$  = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 40%;  $BW_3$  = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 60%;  $BW_4$  = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 80%;  $R_0$  = tanpa perebusan;  $R_1$  = perebusan selama 30 menit;  $R_2$  = perebusan selama 45 menit.

Tabel 4.6 di atas, menunjukkan penurunan kadar protein total per perlakuan, yaitu penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan. Berdasarkan perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh kadar protein total mengalami penurunan terbesar pada perlakuan tanpa penambahan perasan

buah belimbing wuluh (BW<sub>0</sub>) dengan persentase penurunan sebesar 46,70% dan persentase penurunan terendah pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 80% (BW<sub>4</sub>), yaitu 34,15%. Penurunan kadar protein total terendah pada perlakuan lama perebusan diperoleh pada perlakuan tanpa perebusan (R<sub>0</sub>) sebesar 4,84% dan penurunan tertinggi diperoleh pada perlakuan lama perebusan 45 menit (R<sub>2</sub>), yaitu 58,11%.

Tabel 4.7 Persentase Penurunan Kadar Protein Total Udang Putih pada Berbagai Perlakuan

Lama Perebusan	Perlakuan Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh	Kadar Protein Total	
		Rerata (g%)	Persentase Penurunan*
R <sub>0</sub> (0 menit)	US	23,205 ± 0,199	
	UF	20,741 ± 0,603	10,62%
	BW <sub>0</sub> (0%)	20,808±0,128	10,32%
	BW <sub>1</sub> (20%)	21,145±0,166	8,88%
	BW <sub>2</sub> (40%)	22,483±0,255	3,11%
	BW <sub>3</sub> (60%)	22,947±0,236	1,11%
	BW <sub>4</sub> (80%)	23,028±0,172	0,76%
R <sub>1</sub> (30 menit)	US	23,205 ± 0,199	
	UF	20,741 ± 0,603	10,62%
	BW <sub>0</sub> (0%)	8,103±0,094	65,08%
	BW <sub>1</sub> (20%)	8,583±0,183	63,01%
	BW <sub>2</sub> (40%)	9,863±0,263	57,50%
	BW <sub>3</sub> (60%)	11,171±0,136	51,85%
	BW <sub>4</sub> (80%)	11,838±0,137	48,99%
R <sub>2</sub> (45 menit)	US	23,205 ± 0,199	
	UF	20,741 ± 0,603	10,62%
	BW <sub>0</sub> (0%)	8,197±0,054	64,68%
	BW <sub>1</sub> (20%)	9,055±0,195	60,98%
	BW <sub>2</sub> (40%)	9,923±0,123	57,24%
	BW <sub>3</sub> (60%)	10,447±0,173	54,98%
	BW <sub>4</sub> (80%)	10,978±0,225	52,69%

\*) Persentase Penurunan (%) =  $(X_0 - X_i) / X_0 \times 100\%$ , dimana: X<sub>0</sub> = rerata US; X<sub>i</sub> = rerata perlakuan ke-i

Penurunan kadar protein total dapat dilihat berdasarkan interaksi antar perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan. Berdasarkan Tabel 4.7, kadar protein total udang putih pada perlakuan tanpa perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 80%

(R<sub>0</sub>BW<sub>4</sub>), hanya mengalami penurunan sebesar 0,76% atau meningkat kembali sekitar 99,24%. Kadar protein total udang putih pada perebusan tanpa penambahan perasan belimbing wuluh mengalami penurunan sangat tajam, baik pada perebusan 30 menit sekitar 65,08% maupun 45 menit sekitar 64,68%.

#### f. Komposisi dan Kadar Asam Amino Udang Putih

Subvariabel lain dari variabel terikat profil protein dalam penelitian ini adalah komposisi dan kadar asam amino. Komposisi dan kadar asam amino dari sampel udang putih dengan perlakuan perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh telah dikumpulkan dengan metode kromatografi liquid kinerja tinggi atau *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Data komposisi dan kadar asam amino udang putih dalam berbagai perlakuan disajikan pada Tabel 4.8.

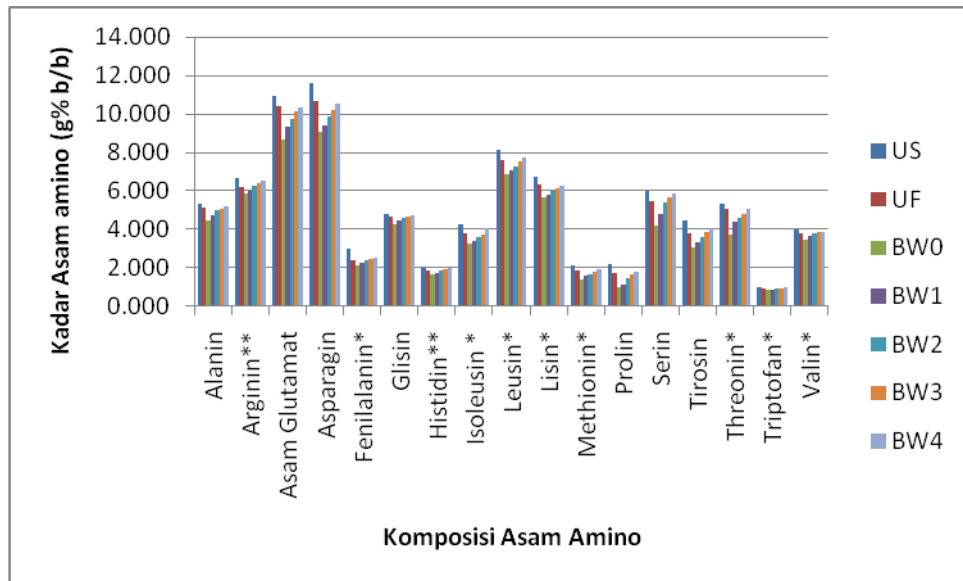
Berdasarkan Tabel 4.8, asam amino protein udang putih yang dapat terdeteksi dari semua perlakuan sejumlah 17 jenis asam amino. Asam amino-asam amino tersebut dapat golongkan ke dalam 2 kelompok jenis asam amino, yaitu: (1) kelompok asam amino esensial yang terdiri dari arginin, fenilalanin, histidin, isoleusin, leusin, lisin, metionin, threonin, triptifan, valin; dan (2) kelompok asam amino non esensial yang terdiri dari alanin, asam glutamat, asparagin, glisin, prolin, serin, tirosin. Tidak ada jenis asam amino yang hilang pada semua perlakuan dengan jumlah yang relatif sama. Secara visual kadar masing-masing asam amino dari semua perlakuan disajikan pada Gambar 4.3.

Tabel 4.8 Komposisi dan Kadar Asam Amino Udang Putih pada perlakuan berbagai konsentrasi penambahan belimbing wuluh dan perebusan 30 menit

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	10408	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; BW<sub>0</sub> = konsentrasi perasan belimbing wuluh 0%; BW<sub>1</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 20%; BW<sub>2</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 40%; BW<sub>3</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 60%; BW<sub>4</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 80%.

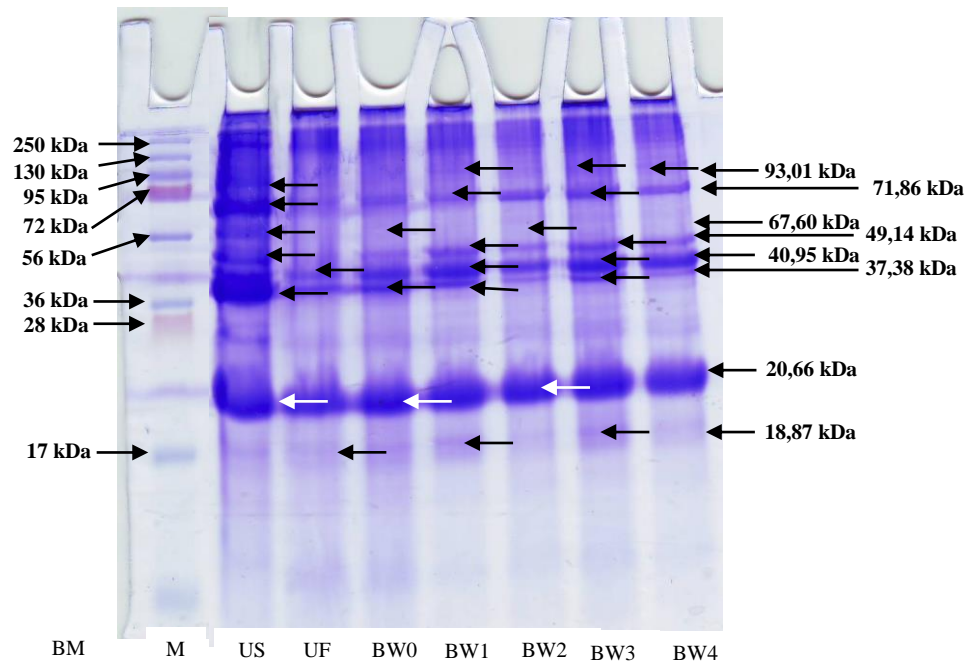
Rerata kadar asam amino udang putih segar sebesar 5,218g% lebih tinggi dibandingkan dengan rerata kadar asam amino udang berformalin, yaitu 4,805g%. Rerata udang berformalin setelah perlakuan secara umum mengalami peningkatan sejalan dengan semakin meningkatnya penambahan perasan buah belimbing wuluh, yaitu BW<sub>0</sub> (4,101g%), BW<sub>1</sub> (4,359g%), BW<sub>2</sub> (4,583g%), BW<sub>3</sub> (4,757g%), dan BW<sub>4</sub> (4,905g%).



Gambar 4.3 Diagram Batang Kadar Asam Amino Udang Putih pada berbagai Perlakuan. US = udang segar UF = udang berformalin; BW<sub>0</sub> = konsentrasi perasan belimbing wuluh 0%; BW<sub>1</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 20%; BW<sub>2</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 40%; BW<sub>3</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 60%; BW<sub>4</sub> = konsentrasi perasan buah belimbing wuluh 80%.

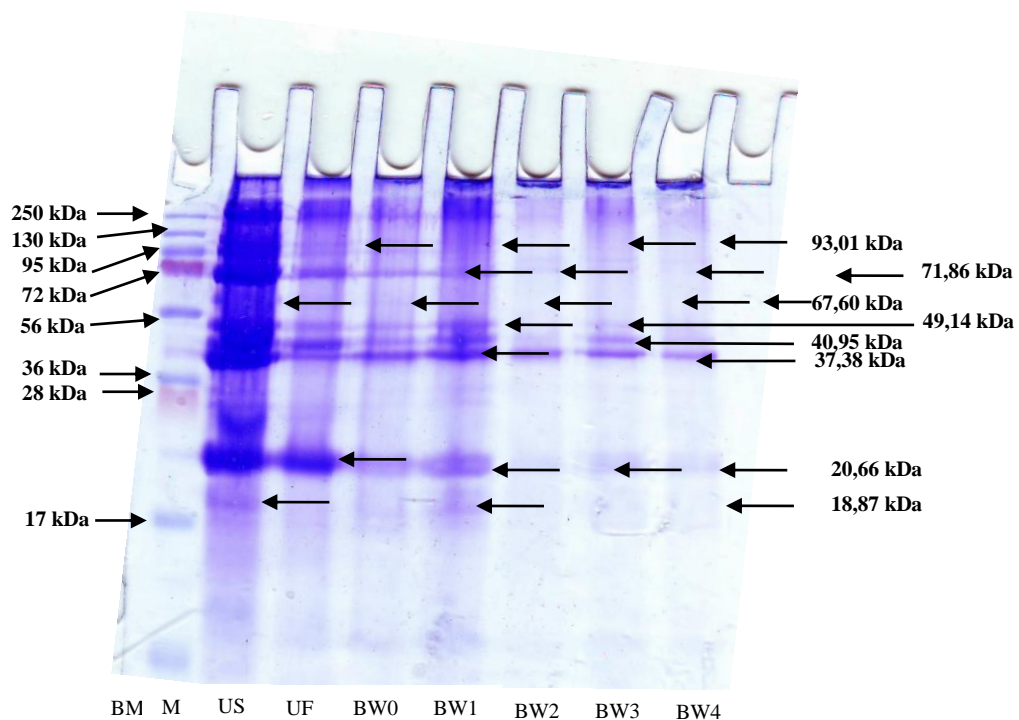
#### g. Fraksinasi Berat Molekul Protein Udang Putih

Pada dasarnya, protein suatu bahan memiliki struktur dan berat molekul yang berbeda-beda. Perbedaan struktur dan berat molekul menggambarkan kekompleksan suatu protein dan menjadi salah satu karakteristik suatu protein. Jenis protein berdasarkan berat molekulnya dapat dipisahkan satu sama lain dengan metode pemisahan tertentu. Jenis berat molekul protein dalam penelitian ini menjadi salah satu subvariabel dari variabel terikat profil protein udang putih dengan perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh. Data jenis berat molekul protein udang putih telah dikumpulkan dengan metode elektroforesis jenis *sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)*. Hasil elektroforesis protein udang putih dengan berbagai perlakuan ditunjukkan secara berturut-turut pada Gambar 4.4, 4.5, dan 4.6.



Gambar 4.4 Profil Protein Udang Putih Berdasarkan Berat Molekul (BM) pada Perlakuan Berbagai Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh Tanpa Perebusan. BM = berat molekul protein marker; M = kolom protein *marker*; US = kolom protein udang segar; UF = kolom protein udang berformalin; BW<sub>0</sub> = kolom protein udang putih berformalin tanpa penambahan perasan buah belimbing wuluh; BW<sub>1</sub> = kolom protein udang putih ber-Formalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 20%; BW<sub>2</sub> = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 40%; BW<sub>3</sub> = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 60%; BW<sub>4</sub> = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 80%; ← = fraksi BM protein pada setiap kolom perlakuan.

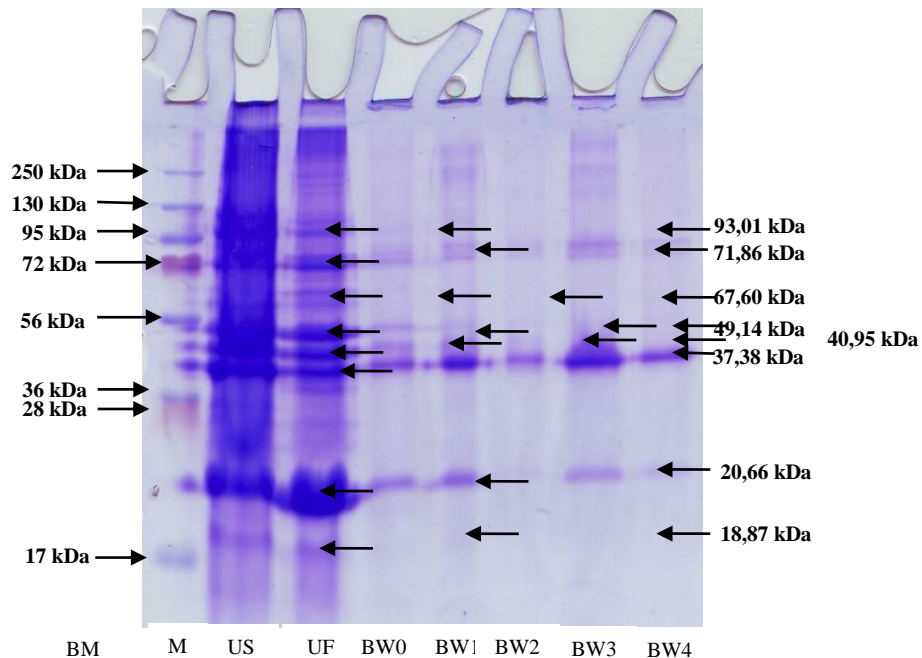
Berdasarkan Gambar 4.4 di atas, dapat teridentifikasi pita berat molekul protein udang putih sebanyak 8 jenis pita, yaitu: 93,01 kDa, 71,86 kDa, 67,60 kDa, 49,14 kDa, 40,95 kDa, 37,38 kDa, 20,66 kDa, dan 18,87 kDa. Penambahan perasan buah belimbing wuluh pada semua perlakuan secara deskriptif tidak merubah jumlah pita berat molekul yang muncul.



Gambar 4.5 Profil Protein Udang Putih Berdasarkan Berat Molekul (BM) pada Perlakuan Berbagai Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Lama Perebusan 30 Menit. BM = berat molekul protein marker; M = kolom protein *marker*; US = kolom protein udang segar; UF = kolom protein udang berformalin; BW<sub>0</sub> = kolom protein udang putih berformalin tanpa penambahan perasan buah belimbing wuluh; BW<sub>1</sub> = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 20%; BW<sub>2</sub> = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 40%; BW<sub>3</sub> = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 60%; BW<sub>4</sub> = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 80%; ← = fraksi BM protein pada setiap kolom perlakuan.

Berdasarkan Gambar 4.5 di atas, pita berat molekul protein udang putih yang dapat diidentifikasi sama dengan hasil pada gambar 4.4, yaitu sebanyak 8 jenis pita. Namun, perebusan selama 30 menit telah merubah penampilan pita berat molekul pada beberapa perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh, terutama konsentrasi 40% (BW<sub>2</sub>), 60% (BW<sub>3</sub>), dan 80% (BW<sub>4</sub>).





Gambar 4.6 Profil Protein Udang Putih Berdasarkan Berat Molekul (BM) pada Perlakuan Berbagai Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Lama Perebusan 45 Menit. BM = berat molekul protein marker; M = kolom protein *marker*; US = kolom protein udang segar; UF = kolom protein udang berformalin; BW<sub>0</sub> = kolom protein udang putih berformalin tanpa penambahan perasan buah belimbing wuluh; BW<sub>1</sub> = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 20%; BW<sub>2</sub> = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 40%; BW<sub>3</sub> = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 60%; BW<sub>4</sub> = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 80%; ← = fraksi BM protein pada setiap kolom perlakuan.

Berdasarkan Gambar 4.6 di atas, pita berat molekul protein udang putih yang dapat diidentifikasi sama dengan hasil, baik pada Gambar 4.4 maupun Gambar 4.5. Perebusan selama 45 menit menghasilkan perubahan penampilan pita berat molekul yang hampir sama dengan hasil perebusan 30 menit. Beberapa pita berat molekul protein mengalami penipisan, bahkan menghilang, mulai dari perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi 20% (BW<sub>1</sub>), 40% (BW<sub>2</sub>), 60% (BW<sub>3</sub>), dan 80% (BW<sub>4</sub>).

Pada umumnya, baik perlakuan lama perebusan maupun penambahan perasan buah belimbing wuluh dapat merubah kemunculan hampir semua jenis pita berat molekul protein. Penambahan perasan buah belimbing wuluh pada konsentrasi lebih tinggi dapat menghilangkan beberapa jenis pita protein, baik pada lama perebusan 30 menit maupun 45 menit. Kecuali, pita protein dengan berat molekul 71,86 kDa dan 37,38 kDa tidak hilang, baik dengan perebusan maupun penambahan perasan buah belimbing wuluh. Perubahan jenis pita berat molekul protein dalam berbagai perlakuan secara lengkap disajikan dalam Tabel 4.9.

Tabel 4.9 Profil Protein Udang Putih berdasarkan Berat Molekul dalam kDa pada Berbagai Perlakuan

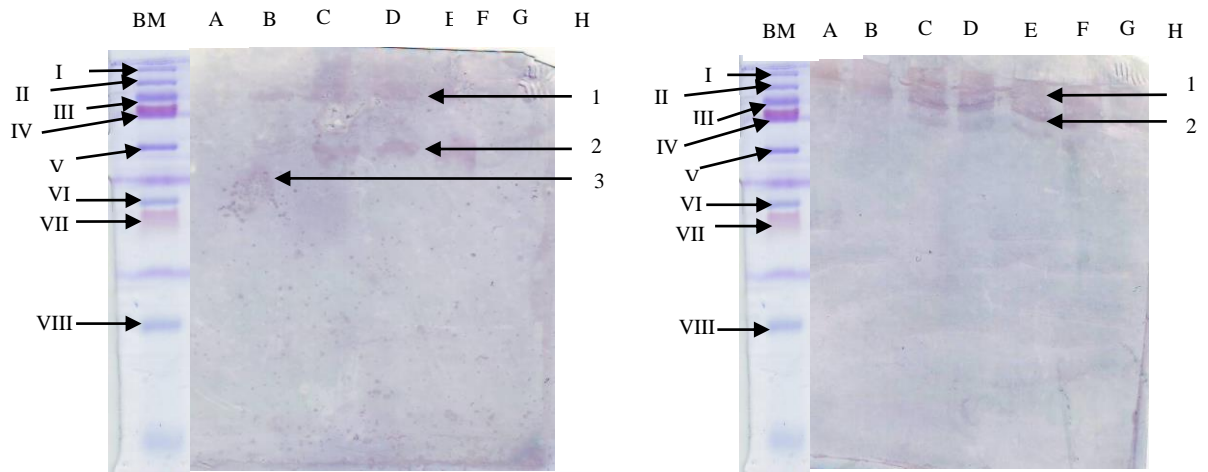
No. Kode	Fraksi Berat Molekul Protein (kDa)	Perlakuan						
		R0						
		US	UF	BW0	BW1	BW2	BW3	BW4
1	93,01	++	-	-	-	-	+	+
2	71,86	+++	+	+	++	++	++	++
3	67,60	+	-	-	-	-	-	-
4	49,14	++	-	+	+	+	+	+
5	40,95	++	+	+	++	++	++	++
6	37,38	+++	++	++	+	+	+	+
7	20,6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
8	18,87	+	+	+	+	+	+	+
		R1						
1	93,01	+++	-	-	-	-	-	-
2	71,86	+++	++	+	+	-	-	-
3	67,60	+++	-	-	-	-	-	-
4	49,14	+++	+	+	+	-	-	-
5	40,95	+++	++	++	++	+	-	-
6	37,38	+++	++	++	++	++	++	++
7	20,6	++	+++	+	+	-	+	-
8	18,87	++	+	-	+	-	-	-
		R2						
1	93,01	+++	+	-	-	-	-	-
2	71,86	++	++	+	+	+	+	+
3	67,60	+	+	-	-	-	-	-
4	49,14	++	++	+	+	-	-	-
5	40,95	++	++	+	-	-	-	-
6	37,38	++	++	++	++	++	++	++
7	20,6	+++	+++	+	+	-	+	-
8	18,87	++	++	-	-	-	-	-

Keterangan: -) tidak tampak; +) pita berat molekul nampak tipis; ++) pita berat molekul nampak tebal; ++++) pita berat molekul nampak sangat tebal.

#### h. Karakteristik Protein Udang Putih

Karakterisasi protein udang putih dalam penelitian ini adalah penting. Hal ini perlu untuk mengetahui bahwa kontaminasi formalin dalam bahan makanan dapat menyebabkan dampak buruk terhadap kesehatan. Selain, kadar protein total, komposisi dan kadar asam amino, sifat protein udang putih juga merupakan salah satu bagian dari variabel terikat profil protein.

Karakterisasi protein udang putih dilakukan dengan salah satu metode *imunoblotting*, yaitu *Western Blotting*. *Western Blotting* digunakan untuk mengidentifikasi sifat beberapa protein dalam sampel dengan antibodi spesifik. 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 didasarkan pada kekhasan atau konsistensi munculanya protein 37,38 kDa pada semua perlakuan, sebagaimana data pada Tabel 4.9. Hasil *Western Blot* dengan menggunakan Protein 37,38 kDa pada berbagai perlakuan disajikan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 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 (BW<sub>0</sub>), E = kolom protein udang putih ber-Formalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 20% (BW<sub>1</sub>), F = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 40% (BW<sub>2</sub>), G = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 60% (BW<sub>3</sub>), H = kolom protein udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh 80% (BW<sub>4</sub>); 1 s.d 3 = respon positif pada BM 93,01 kDa, 67,60 kDa, dan 37,38 kDa.

Dari gambar 4.7 di atas, beberapa pita protein muncul, di antaranya pita berat molekul 37,38 kDa, 67,60 kDa, dan 93,01 kDa. Adanya pita dari hasil *Western Blot* menunjukkan bahwa terjadi ikatan antara protein udang putih sebagai antigen dengan antibodi spesifiknya. Dalam hal ini, pita dengan berat molekul 37,38 kDa muncul pada kolom elektroforesis SDS-PAGE udang berformalin. Artinya, bahwa protein dengan berat molekul 37,38 kDa bersifat imunogenik pada mencit. Kemunculan pita protein lain merupakan respons imun secara spesifik dari antibodi poliklonal pada mencit.

#### 4. Hubungan Kadar Residu Formalin dan Kadar Protein Total Udang Putih

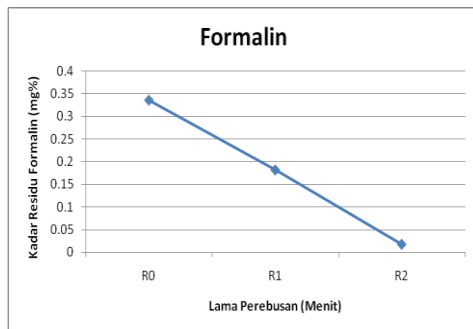
Data kadar residu formalin dan protein total udang putih berdasarkan perlakuan lama perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh disajikan pada Tabel 4.10.

Tabel 4.10 Hubungan Rerata Kadar Residu Formalin dan Protein Total Udang Putih pada Perlakuan Lama Perebusan dan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh

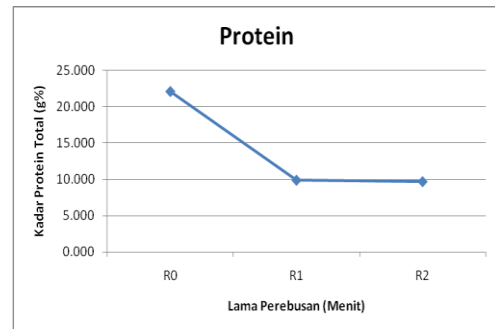
Perlakuan		Rerata Kadar Residu Formalin (mg%)	Rerata Kadar Protein Total (g%)
Lama Perebusan (Menit)	R0	0,336± 0,280	22,082 ±0,968
	R1	0,182± 0,127	9,912 ±1,483
	R2	0,018± 0,007	9,720 ±1,028
Konsentrasi Perasan Buah Belimbing wuluh (% v/v)	BW0	0,385± 0,313	12,369 ±6,233
	BW1	0,284± 0,222	12,928 ±6,074
	BW2	0,122± 0,082	14,090 ±6,202
	BW3	0,063± 0,038	14,855 ±5,986
	BW4	0,038± 0,026	15,281 ±5,735

Keterangan: R0 = tanpa perebusan; R1 = perebusan selama 30 menit; R2 = perebusan selama 45 menit; BW<sub>0</sub> = tanpa perasan buah belimbing wuluh 0%; BW<sub>1</sub> = perasan buah belimbing wuluh 20%; BW<sub>2</sub> = perasan buah belimbing wuluh 40%; BW<sub>3</sub> = perasan buah belimbing wuluh 60%; BW<sub>4</sub> = perasan buah belimbing wuluh 80%

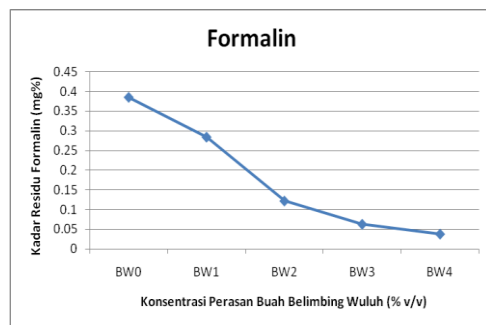
Dari tabel 4.10 di atas, pada perlakuan lama perebusan, kadar residu formalin kadar protein total udang putih mengalami penurunan, sedangkan pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh, kadar residu formalin udang putih mengalami penurunan, tetapi kadar protein total mengalami peningkatan sejalan dengan besarnya konsentrasi penambahan perasan buah belimbing wuluh. Secara terpisah gambaran pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan, baik terhadap kadar residu formalin maupun kadar protein total udang putih ditunjukkan pada Gambar 4.8.



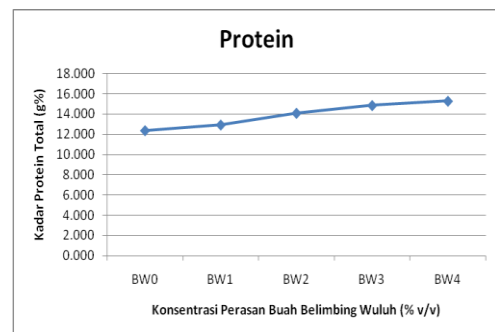
A



B



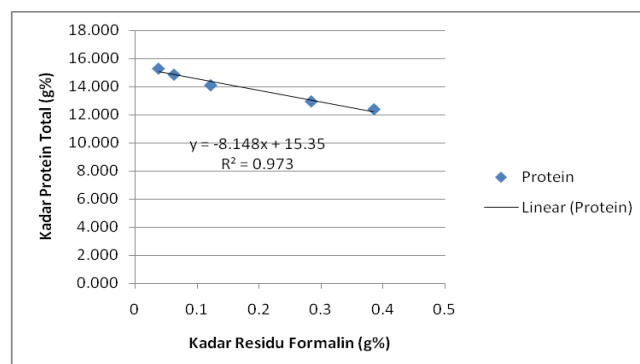
C



D

Gambar 4.8 Grafik Kadar Residu Formalin dan Protein Total Udang Putih . A dan B Berdasarkan Lama Perebusan; C dan D Berdasarkan Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh

Hubungan antara kadar residu formalin dengan kadar protein total pada udang putih berdasarkan penambahan perasan buah belimbing wuluh dapat diilustrasikan seperti diperlihatkan pada Gambar 4.9



Gambar 4. 9 Hubungan Kadar Residu Formalin dan Protein Total pada Udang Putih

Berdasarkan gambar 4.9, grafik hubungan antara kadar residu formalin dan kadar protein total menunjukkan grafik hubungan negatif. Artinya, kenaikan kadar residu formalin menyebabkan menurunnya kadar protein total pada udang putih. Besarnya kekuatan dan arah serta kecenderungan hubungan antara kadar residu formalin dan kadar protein total udang putih perlu ditindaklanjuti dengan uji statistik.

## **B. Pengujian Hipotesis**

Dari data hasil penelitian yang telah dideskripsikan pada bagian awal bab ini, ada beberapa data yang perlu diolah lebih lanjut secara statistik. Hal ini berhubungan dengan beberapa rumusan masalah yang perlu pembuktian terhadap jawaban sementara (hipotesis) yang telah dirumuskan. Pengujian hipotesis menjadi bagian pokok dalam uraian selanjutnya.

Uji hipotesis pengaruh penambahan belimbing wuluh dan perebusan terhadap kadar residu formalin dan profil protein dilakukan dengan metode analisis sidik ragam atau *Analysis of variance* (ANOVA) dua jalan pada taraf signifikans 0,05. Uji hipotesis hubungan antara kadar residu formalin dengan kadar protein total dilakukan dengan menggunakan metode statistik korelasi *product moment pearson* dilanjutkan uji rehgresi linier sederhana. Sebelum ANOVA, data diuji normalitas dan homogenitasnya pada taraf signifikans 0,05. Kemudian, jika hasil ANOVA terbukti ada pengaruh dari perlakuan, maka uji statistik akan dilanjutkan dengan uji beda antar perlakuan dengan metode Uji Wilayah Berganda Dancan (*Duncan's Multiple Range Test*, DMRT) pada taraf signifikansi 0,05. Perhitungan uji hipotesis menggunakan program pengolah data SPSS versi 17 (Priyatno, 2009; Oramahi, 2009).

## **5. Uji Hipotesis Pengaruh Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan Lama Perebusan terhadap Kadar Residu Formalin pada Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) Berformalin**

Hipotesis tentang “pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan terhadap kadar residu formalin pada udang putih ” dirumuskan sebagai berikut:

### 1. Rumusan 1:

Ho : Tidak ada pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin.

Ha : Ada pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin.

### 2. Rumusan 2:

Ho : Tidak ada pengaruh lama perebusan terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin.

Ha : Ada pengaruh lama perebusan terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin.

### 3. Rumusan 3:

Ho : Tidak ada pengaruh interaksi lama perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar residu formalin udang putih berformalin.

Ha : Ada pengaruh interaksi lama perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar residu formalin udang putih berformalin.

Sebelum uji hipotesis dilakukan, terlebih dahulu data perlu diketahui distribusi dan homogenitasnya. Uji normalitas berdasarkan nilai *skewness* dan *kurtosis*, dengan kriteria: jika nilai *skewness* dan *kurtosis* berada di antara -2 dan 2, maka data berdistribusi normal (Priyatno, 2009). Setelah uji normalitas



dilakukan, ternyata data kadar residu formalin diketahui berdistribusi normal. Berdasarkan hasil uji homogenitas data kadar residu formalin pada sampel udang putih tidak homogen. Oleh karena itu, sebelum Uji ANOVA data perlu dihomogenkan terlebih dahulu sebagai syarat uji parametrik.

Data kadar residu formalin sampel perlu ditransformasi untuk menghasilkan data yang homogen. Transformasi data dilakukan dengan menggunakan teknik transformasi akar kuadrat sesuai dengan jenis data sampel, yaitu persentase antara 0-30% (Gomez dan Gomez, 2007). Hasil uji normalitas dan homogenitas setelah transformasi data, terbukti data berdistribusi normal dan homogen pada taraf signifikan 0,05. Hasil uji normalitas dan homogenitas data secara lengkap tersedia pada Lampiran 10.

Setelah terbukti bahwa data berdistribusi normal dan homogen, pengolahan data dilanjutkan dengan uji sidik ragam atau analisis variansi (ANAVA). Uji ANAVA ini dilakukan untuk menguji hipotesis pengaruh penambahan belimbing wuluh dan perebusan terhadap kadar formalin dan profil protein (kadar protein total dan kadar asam amino). Ada pun kriteria uji hipotesis sebagai berikut:

1. Jika signifikansi  $> 0,05$ , maka  $H_0$  diterima
2. Jika signifikansi  $< 0,05$ , maka  $H_0$  ditolak atau  $H_a$  diterima.

Hasil sidik ragam ANOVA dua jalan kadar residu formalin sampel udang putih dengan penambahan perasan buah buah belimbing wuluh dan perebusan disajikan pada Tabel 4.11.

Tabel 4.11 Rangkuman Hasil ANOVA Rancangan Faktorial Acak Kelompok Pengaruh Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Lama Perebusan terhadap Kadar Residu Formalin Udang Putih

Sumber	df	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F	Sig.*)
Ulangan	3	.000	4.884E-5	.503	.683
Perebusan	2	1.623	.811	8349.041	.000
Konsentrasi	4	1.166	.291	2999.224	.000
Perebusan * Konsentrasi	8	.466	.058	599.721	.000
Galat	42	.004	9.717E-5 <sup>a</sup>		
Total	59				

a. MS(Error)

\*) Signifikans pada  $\alpha = 0,05$

Berdasarkan Tabel 4.11 di atas, penambahan perasan buah belimbing wuluh, perebusan, dan interaksi antar perlakuan memiliki nilai signifikans 0,000. Karena nilai signifikansi untuk semua perlakuan  $< 0,05$ , maka semua hipotesis yang diajukan diterima. Jadi, kesimpulan uji hipotesis menyatakan bahwa: (1) ada pengaruh yang signifikan penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin; (2) ada pengaruh yang signifikan lama perebusan terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin; dan (3) ada pengaruh yang signifikan interaksi antara penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin.

Hasil uji ANOVA terhadap hipotesis “ada pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan terhadap kadar residu formalin pada udang putih ” menjadi dasar untuk melanjutkan uji beda antar perlakuan dalam penelitian ini. Hasil uji beda dengan metode DMRT berturut-turut dirangkum pada Tabel 4.12 dan Tabel 4.13.

Tabel 4.12 Rangkuman Hasil Uji DMRT Rerata Kadar Residu Formalin Udang Putih Berdasarkan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh

Perlakuan	Rerata Kadar Residu Formalin (g%)	
	Data Transformasi	Data Asli*
Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 80% (BW4)	.1824	.03808 <sup>a</sup>
Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 60% (BW3)	.2357	.06342 <sup>b</sup>
Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 40% (BW2)	.3207	.12175 <sup>c</sup>
Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 20% (BW1)	.4740	.28433 <sup>d</sup>
Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 0% (BW0)	.5495	.38517 <sup>e</sup>

\*) Rerata yang diikuti dengan notasi huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf signifikan 0,05.

Berdasarkan Tabel 4.12 menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan rerata kadar residu formalin pada udang putih antar perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh. Rerata kadar residu formalin pada udang putih pada perlakuan penambahan per asan buah belimbing wuluh 80% (BW<sub>4</sub>) berbeda nyata dengan rerata kadar residu formalin pada udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 60% (BW<sub>3</sub>), 40% (BW<sub>2</sub>), 20% (BW<sub>1</sub>), dan 0% (BW<sub>0</sub>). Rerata kadar residu formalin pada udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 60% (BW<sub>3</sub>) berbeda nyata dengan rerata kadar residu formalin pada udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 40% (BW<sub>2</sub>), 20% (BW<sub>1</sub>), dan 0% (BW<sub>0</sub>). Rerata kadar residu formalin pada udang putih pada perlakuan penambahan perasan Buah Belimbing Wuluh 40% (BW<sub>2</sub>) berbeda nyata dengan rerata kadar residu formalin pada udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 20% (BW<sub>1</sub>), dan 0% (BW<sub>0</sub>). Demikian juga, rerata kadar residu formalin pada udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 20% (BW<sub>1</sub>) berbeda nyata dengan rerata kadar residu

formalin pada udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 0% (BW<sub>0</sub>).

Tabel 4.13 Rangkuman Hasil Uji DMRT Rerata Kadar Residu Formalin Udang Putih Berdasarkan Lama Perebusan

Perlakuan	Rerata Kadar Residu Formalin (mg%)	
	Data Transformasi	Data Asli*
Lama Perebusan 45' (R <sub>2</sub> )	0,1324	0,01830 <sup>a</sup>
Lama Perebusan 30' (R <sub>1</sub> )	0,3974	0,18165 <sup>b</sup>
Lama Perebusan 0' (R <sub>0</sub> )	0,5276	0,33570 <sup>c</sup>

\*) Rerata yang diikuti dengan notasi huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf signifikan 0,05.

Berdasarkan Tabel 4.13, memperlihatkan bahwa adanya perbedaan yang nyata rerata kadar residu formalin pada udang putih antar perlakuan lama perebusan. Rerata kadar residu formalin udang putih pada perlakuan lama perebusan 45 menit (R<sub>2</sub>) berbeda dengan rerata kadar residu formalin pada perlakuan lama perebusan 30 menit (R<sub>1</sub>) dan 0 menit (R<sub>0</sub>). Demikian juga, rerata kadar residu formalin pada udang putih pada perlakuan lama perebusan 30 menit (R<sub>1</sub>) berbeda dengan rerata kadar residu formalin pada perlakuan lama perebusan 0 menit (R<sub>0</sub>).

## **6. Uji Hipotesis Pengaruh Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Lama Perebusan terhadap Protein Total pada Udang Putih**

Hipotesis tentang “pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan terhadap kadar protein total pada udang putih ” dirumuskan sebagai berikut:

### (1) Rumusan 1:

Ho : Tidak ada pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar protein total pada udang putih berformalin.

Ha : Ada pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar protein total pada udang putih berformalin.

### (2) Rumusan 2:

Ho : Tidak ada pengaruh lama perebusan terhadap kadar protein total pada udang putih berformalin.

Ha : Ada pengaruh lama perebusan terhadap kadar protein total pada udang putih berformalin.

### (3) Rumusan 3:

Ho : Tidak ada pengaruh interaksi lama perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar protein total udang putih berformalin.

Ha : Ada pengaruh interaksi lama perebusan dan penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar protein total udang putih berformalin.

Uji hipotesis untuk kadar protein total dilakukan dengan prosedur yang sama seperti uji hipotesis kadar residu formalin. Berdasarkan hasil uji prasyarat ANOVA, yaitu uji homogenitas dan normalitas data kadar protein total udang putih , ternyata data berdistribusi normal dan homogen. Oleh karena itu, analisis data dilanjutkan dengan Uji ANOVA dua jalan pada taraf signifikan 0,05. Rangkuman hasil Uji ANOVA kadar protein total udang putih dengan

penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan disajikan pada Tabel 4.14.

Tabel 4.14 Rangkuman Hasil ANOVA Rancangan Faktorial Acak Kelompok Pengaruh Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dan Lama Perebusan terhadap Kadar Protein Total Udang Putih

Sumber	df	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F	Sig.*
Ulangan	3	.095	.032	.990	.407
Perebusan	2	2006.503	1003.252	31299.279	.000
Konsentrasi	4	73.744	18.436	575.161	.000
Perebusan * Konsentrasi	8	4.489	.561	17.506	.000
Galat	42	1.346	.032 <sup>a</sup>		
Total	59				

a. MS(Error)

\*) Signifikan pada taraf  $\alpha = 0,05$

Berdasarkan Tabel 4.14 di atas, menunjukkan bahwa penambahan perasan buah belimbing wuluh, perebusan, dan interaksi antar perlakuan memiliki nilai signifikansi 0,000. Karena nilai signifikan semua perlakuan  $< 0,05$ , maka hipotesis yang diajukan diterima. Jadi, kesimpulan uji hipotesis menyatakan bahwa: (1) ada pengaruh yang signifikan penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar protein total udang putih berformalin; (2) ada pengaruh yang signifikan lama perebusan terhadap kadar protein total udang putih berformalin; dan (3) ada pengaruh yang signifikan interaksi antara penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan terhadap kadar protein total udang putih berformalin.

Setelah uji ANOVA dilanjutkan dengan uji beda antar perlakuan. dilakukan melakukan uji beda rerata antar perlakuan dengan metode DMRT pada taraf signifikan 0,05. Hasil uji DMRT terhadap rerata kadar protein total udang putih antar perlakuan dirangkum pada Tabel 4.15 dan Tabel 4.16.

Tabel 4.15 Rangkuman Hasil Uji DMRT Rerata Kadar Residu Formalin Udang Putih Berdasarkan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh

Perlakuan	Rerata Kadar Protein Total (g%)
Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 0% (BW4)	12,369 <sup>a</sup>
Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 20% (BW3)	12,928 <sup>b</sup>
Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 40% (BW2)	14,090 <sup>c</sup>
Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 60% (BW1)	14,855 <sup>d</sup>
Konsentrasi Perasan Buah Belimbing Wuluh 80% (BW0)	15,281 <sup>e</sup>

\*) Rerata yang diikuti dengan notasi huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf signifikan 0,05.

Dari Tabel 4.15 di atas, menunjukkan bahwa rerata kadar protein udang putih berbeda secara nyata antar semua perlakuan. Rerata kadar protein total udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 0% (BW<sub>0</sub>) berbeda secara signifikan dengan rerata kadar protein total udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 20% (BW<sub>1</sub>), 40% (BW<sub>2</sub>), 60% (BW<sub>3</sub>), dan 80% (BW<sub>4</sub>). Rerata kadar protein total udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 20% (BW<sub>1</sub>) berbeda nyata dengan rerata kadar protein total udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 40% (BW<sub>2</sub>), 60% (BW<sub>3</sub>), dan 80% (BW<sub>4</sub>). Rerata kadar protein total udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 40% (BW<sub>2</sub>) berbeda nyata dengan rerata kadar protein total udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 60%

(BW<sub>3</sub>), dan 80% (BW<sub>4</sub>). Demikian juga, rerata kadar protein total udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 60% (BW<sub>3</sub>) berbeda nyata dengan rerata kadar protein total udang putih pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 80% (BW<sub>4</sub>).

Tabel 4.16 Rangkuman Hasil Uji DMRT Rerata Kadar Protein Total Udang Putih Berdasarkan Lama Perebusan

Perlakuan	Rerata Kadar Protein Total (g%)
Lama Perebusan 45' (R <sub>2</sub> )	9,720 <sup>a</sup>
Lama Perebusan 30' (R <sub>1</sub> )	9.912 <sup>b</sup>
Lama Perebusan 0' (R <sub>0</sub> )	22.082 <sup>c</sup>

\*) Rerata yang diikuti dengan notasi huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf signifikan 0,05.

Dari Tabel 4.16 di atas, menunjukkan bahwa rerata kadar protein total udang putih berbeda nyata antar perlakuan. Hal ini dapat dilihat pada notasi yang tercantum pada masing-masing rerata perlakuan. Dimana, rerata kadar protein total udang putih pada perlakuan lama perebusan 45 menit (R<sub>2</sub>) berbeda nyata dengan rerata kadar kadar protein total udang putih pada perlakuan, baik lama perebusan 30 menit (R<sub>1</sub>) maupun lama perebusan 0 menit (R<sub>0</sub>). Demikian juga, rerata kadar protein total udang putih pada perlakuan lama perebusan 30 menit (R<sub>1</sub>) berbeda nyata dengan rerata kadar kadar protein total udang putih pada perlakuan lama perebusan 0 menit (R<sub>0</sub>).



## **7. Uji Hipotesis Pengaruh Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh terhadap Kadar Asam Amino pada Udang Putih**

Hipotesis tentang “Pengaruh Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh terhadap Kadar Asam Amino pada Udang Putih” dirumuskan sebagai berikut:

- Ho : Tidak ada pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar asam amino pada udang putih.
- Ha : Ada pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar asam amino pada udang putih.

Kriteria pengujian berdasarkan nilai signifikansi:

1. Jika signifikansi  $> 0,05$ , maka Ho diterima
2. Jika signifikansi  $< 0,05$ , maka Ho ditolak atau Ha diterima.

Sebelum Uji ANOVA, uji normalitas data dilakukan dengan menggunakan nilai *skewness* dan *kurtosis*. Uji homogenitas data sampel dilakukan dengan menggunakan nilai *Levene statistic*. Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas, diketahui bahwa data kadar asam amino udang putih berdistribusi normal dan homogen. Uji statistik normalitas dan homogenitas data dapat dilihat pada Lampiran 10.

Setelah terbukti bahwa data berdistribusi normal dan homogeny, uji hipotesis dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA satu jalan. Hasil uji ANOVA kadar asam amino dirangkum pada Tabel 4.17.

Tabel 4.17 Rangkuman Hasil Uji ANOVA Rancangan Acak Lengkap Pengaruh Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimib* L) terhadap Kadar Asam Amino Udang Putih berformalin

Sumber Variasi	df	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F	Sig.*
Between Groups	4	6.926	1.732	.245	.912
Within Groups	80	564.861	7.061		
Total	84	571.787			

\*) Signifikan pada taraf  $\alpha = 0,05$

Dari Tabel 4.17, kadar asam amino udang putih dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh memiliki nilai signifikansi 0,912. Karena, nilai signifikansi  $> 0,05$ , sehingga  $H_0$  diterima. Jadi, kesimpulan uji hipotesis menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar asam amino udang putih berformalin. Berdasarkan hasil uji ANOVA di atas, uji lanjutan terhadap perbedaan rerata kadar asam amino antar perlakuan tidak perlu dilakukan.

#### 8. Uji Hipotesis Hubungan antara Kadar Residu Formalin dengan Kadar Protein Total Udang Putih

Uji korelasi untuk membuktikan kekuatan dan arah hubungan antara kadar residu formalin dan kadar protein total telah dilakukan dengan Metode Korelasi *Product Moment Pearson* pada taraf signifikan 0,05. Uji hipotesis berdasarkan rumusan sebagai berikut:

$H_0$  : Tidak ada hubungan antara kadar residu formalin dengan kadar protein total udang putih berformalin.

$H_a$  : Ada hubungan antara kadar residu formalin dengan kadar protein total udang putih

Kriteria uji berdasarkan nilai signifikansi:

1. Jika signifikansi  $> 0,05$ , maka  $H_0$  diterima
2. Jika signifikansi  $< 0,05$ , maka  $H_0$  ditolak atau  $H_a$  diterima.

Hasil uji korelasi Product Moment Person disajikan pada Tabel 4.18.

Tabel 4.18 Rangkuman Hasil Uji Korelasi *Product Moment Person* hubungan antara kadar residu formalin dengan kadar protein total udang putih berformalin

		FORMALIN	PROTEIN
FORMALIN	Pearson Correlation	1	-.987**
	Sig. (2-tailed)		.002
	N	5	5
PROTEIN	Pearson Correlation	-.987**	1
	Sig. (2-tailed)	.002	
	N	5	5

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Berdasarkan Tabel 4.18, diperoleh nilai koefisien hubungan ( $r$ ) sebesar -0,987. Artinya, hubungan antara kadar residu formalin dan kadar protein total sangat erat atau kuat dengan arah negatif. Nilai koefisien negatif menunjukkan bahwa peningkatan kadar residu formalin berbanding terbalik dengan kadar protein total pada udang putih.

Berdasarkan nilai signifikansi yang diperoleh dari hasil uji korelasi, yaitu 0,002. Nilai signifikansi ini kurang dari 0,05 ( $p < 0,05$ ), sehingga  $H_0$  ditolak. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa ada hubungan yang signifikan antara kadar residu formalin dan kadar protein total dengan arah negatif.

Selanjutnya, untuk mengetahui kecenderungan hubungan antara kadar residu formalin dan kadar protein total dilakukan uji regresi linier sederhana.

Kecenderungan hubungan dapat ditentukan dengan suatu persamaan regresi linier sederhana seperti berikut:  $Y = a + bX$ , dimana:  $Y$  = nilai prediksi variabel terikat;  $a$  = konstanta;  $b$  = koefisien regresi; dan  $X$  = variabel bebas. Dalam penelitian ini, variabel terikat adalah kadar protein total sebagai  $Y$  dan variabel bebas adalah kadar residu formalin udang putih sebagai  $X$ .

Tabel 4.19 Rangkuman Hasil Uji Regresi Linier Sederhana

Model	Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
	B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	15.359	.175	87.760	.000
	FORMALIN	-8.146	.783	-.986	.002

a. Dependent Variable: PROTEIN2

Berdasarkan Tabel 4.19, diperoleh nilai konstanta,  $a = 15,359$  dan nilai koefisien  $b = -8,146$ , sehingga persamaan regresi linier sederhana adalah  $Y = 15,359 - 8,146X$ . Artinya, jika kadar residu formalin bernilai 0 g%, maka kadar protein total sebesar 15,359 g%. Jika nilai kadar residu formalin 1 g% , maka kadar protein total pada sampel udang putih akan berkurang sebesar 8,146 g%. Jadi, dapat disimpulkan bahwa ada hubungan negatif yang signifikan antara kadar residu formalin dengan kadar protein total pada udang putih berformalin.

### C. Teknik Penyusunan Dan *Layout* Buku Pendidikan Gizi Dan Keamanan Pangan

Sesuai dengan rancangan penelitian ini, hasil dari penelitian eksperimen akan diimplementasikan dalam bentuk buku ilmiah populer tentang pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat. Ada pun langkah-langkah

penyusunan buku meliputi: (1) analisis kebutuhan; (2) penentuan *layout*; (3) penyusunan materi; (4) pengeditan; (5) revisi; dan (6) produksi.

## 1. Analisis Kebutuhan Penyusunan Buku

Analisis kebutuhan penyusunan buku dilakukan untuk menentukan hal-hal berikut: (1) karakteristik sasaran; (2) judul buku; (3) ruang lingkup dan kedalaman; dan (4) referensi. Hasil analisis kebutuhan disajikan pada Tabel 4.18.

Tabel 4.20 Hasil Analisis Kebutuhan Penyusunan Buku

No	Aspek Analisis	Kondisi	Akar Permasalahan	Alternatif Pemecahan
1.	Karakteristik Sasaran	Masyarakat umum, terutama ibu rumah tangga; Pengetahuan gizi dan keamanan pangan masih kurang; Pengolahan bahan makanan didasarkan pada tradisi turun temurun; Minat dan daya beli sumber bacaan rendah.	Waktu terbatas; Penghasilan rendah; Sumber bacaan tebal, mahal, tidak menarik, bahasa sulit dipahami	Penyediaan buku yang terjangkau, menarik, dan mudah dipahami.
2.	Judul Buku	Banyak yang kurang menarik masyarakat awam	Tidak kontekstual	Judul yang kontekstual
3.	Ruang Lingkup dan Kedalaman	Luas dan bertele-tele	Kurang dipahami; Tidak praktis	Simple dan praktis
4.	Referensi	Tidak ilmiah; Tidak relevan	Sumber fiktif	Ilmiah dan relevan

## 2. Tata Letak (*Layout*) Buku

Hasil penelitian ini diimplementasikan dalam bentuk buku ilmiah populer. Sifat ilmiah, karena isi dari buku ini sebagian besar merupakan implementasi dari hasil penelitian disertai dan dilengkapi sumber referensi ilmiah lain yang relevan. Sifat populer, karena buku ini menggunakan kata-kata, bahasa, dan istilah-istilah yang sederhana sehingga akan mudah dipahami dan menarik oleh orang awam.

Berdasarkan hasil analisis kebutuhan, buku implementasi hasil penelitian ini berjudul **“Panduan Praktis Pengolahan Udang Berformalin dengan**

**Belimbing Wuluh”.** Tata letak atau *layout* buku terdiri dari: (1) bagian awal, meliputi: kulit luar, halaman judul, halaman penerbitan, kata pengantar, dan daftar isi; (2) bagian isi, meliputi: bab dan subbab; dan (3) bagian penutup, meliputi: daftar pustaka dan riwayat penulis.

### **3. Garis Besar (*outline*) Isi Buku**

Isi buku hasil implementasi penelitian ini, secara garis besar meliputi hal-hal berikut ini.

KATA PENGANTAR

DATAR ISI

 PENDAHULUAN

 PENGOLAHAN UDANG BERFORMALIN DENGAN BELIMBING WULUH

1. Mengapa Belimbing Wuluh
2. Proses Pengolahan Udang Berformalin dengan Belimbing Wuluh
  - ❖ Alat dan Bahan
  - ❖ Pembuatan Sari Buah Belimbing Wuluh
  - ❖ Pemberian Sari Buah pada Udang/Bahan Makanan

DAFTAR PUSTAKA

Hasil penulisan buku secara lengkap disajikan pada Lampiran 12.

## **BAB V**

### **PEMBAHASAN**

Bahan makanan berformalin merupakan masalah penting dalam kehidupan sehari-hari. Bahaya bahan makanan berformalin, bukan saja sebagai dampak langsung formalin yang terbawa bahan makanan, tetapi juga lebih jauh sebagai akibat dari kerusakan gizi bahan makanan, baik kuantitas maupun kualitas. Sementara itu, pengetahuan masyarakat tentang gizi dan keamanan bahan makanan dipandang masih kurang. Penelitian ini dilakukan dalam upaya menyelamatkan masyarakat dari kedua bahaya bahan makanan berformalin dan memberi pencerahan pengetahuan tentang gizi dan keamanan bahan makanan berformalin. Bagian pembahasan ini akan menguraikan 3 hal penting hasil penelitian, yaitu (1) efektivitas penurunan residu formalin, (2) perubahan profil protein sampel udang putih, dan (3) arti penting buku pendidikan gizi dan keamanan bahan makanan atau pangan.

#### **A. Efektivitas Penurunan Kadar Residu Formalin dalam Udang Putih dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Perebusan.**

Setiap pengolahan bahan makanan seharusnya ditujukan pada penyediaan bahan makanan sehat dan aman untuk konsumsi. Kenyataan di lapangan tidak selalu demikian, pengolahan sering kali merubah bahan makanan menjadi bahan yang berbahaya bagi kesehatan. Pengawetan yang salah, baik dalam penggunaan zat pengawet maupun proses pengolahannya, bukan saja merusak zat gizi bahan makanan tetapi sering membawa zat kontaminan yang berbahaya (Widmer, 2006).

Dalam hal ini, salah satu contoh kasus pengawetan bahan makanan dengan formalin.

Penggunaan zat tambahan makanan dalam pengolahan bahan makanan untuk menutupi adanya teknik pengolahan dan penanganan yang salah serta untuk menipu konsumen adalah tidak dibenarkan (Desrosier, 2008). Penggunaan formalin sebagai pengawet bahan makanan, telah dilarang berdasarkan Permenkes RI No. 722/MENKES/PER/ IX/1988 tentang Bahan Tambahan Makanan.

Sampel dalam penelitian ini adalah udang putih yang mengandung formalin kurang lebih 1,127 g per 100 g bahan (11270 ppm). Nilai kadar residu formalin udang putih ini, berada dikisaran nilai kadar formalin ikan asin yang beredar di pasaran Kota Malang, yaitu sekitar 0,2-1,3% (Elvandari, 2006). Kadar residu formalin ini sudah termasuk kedalam tingkat kadar yang sangat tinggi, untuk ukuran kadar formalin dalam bahan makanan. Karena, menurut Yasuhara dan Shibamoto (1995) dalam CICADS (2002) menyarankan bahwa ikan dengan kandungan formaldehid lebih tinggi dari 10-20 mg/kg (10-20 ppm) tidak layak sebagai sumber makanan manusia.

Penghilangan formalin dalam bahan makanan adalah upaya penting yang perlu dilakukan dalam menyelamatkan konsumen dari bahaya formalin. Formalin dalam bahan makanan dapat dihilangkan dengan cara memutus ikatan antara formalin dan molekul penyusun bahan makanan, di antaranya protein. Reaksi pemisahan formalin dapat dilakukan melalui hidrolisis dengan katalis asam. Hal ini, sejalan dengan pendapat Riawan (1990) bahwa aldehid dapat dipisahkan dari campuran, di antaranya dengan penambahan asam dan hidrolisis.

Belimbing wuluh dalam penelitian ini adalah bahan yang mengandung asam. Asam dalam pengertian, senyawa yang apabila ada dalam larutan air akan



melepaskan ion hidrogen ( $H^+$ ) (Keenan dkk, 1998). Asam dalam buah belimbing wuluh adalah asam sitrat, asam oksalat dan asam askorbat atau vitamina C (Ashari, 1995). Ion-ion hidrogen yang dilepaskan dari senyawa asam buah belimbing wuluh memberikan suasana larutan udang berformalin menjadi bersifat asam. Kondisi ini akan membantu reaksi pelepasan ikatan formalin-protein dalam udang putih.

Penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan sebagai variabel bebas dalam penelitian ini, telah memberikan pengaruh terhadap kadar residu formalin pada udang putih. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar formalin udang secara umum mengalami penurunan setelah penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan. Penurunan kadar residu formalin pada perlakuan tanpa penambahan perasan buah belimbing wuluh dan tanpa perebusan atau hanya direndam dalam air biasa (kelompok kontrol) hanya mencapai 32,30%. Persentase penurunan kadar residu pada kelompok perlakuan dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan jauh lebih besar dibandingkan kelompok control, yaitu mencapai 99,20%.

Penambahan buah belimbing wuluh dalam pengolahan udang berformalin dapat dipandang sebagai pemberian senyawa asam yang berperan, baik sebagai reaktan maupun sebagai katalis. Hal ini sesuai dengan pendapat Wilson dan Goulding (1986) bahwa ion hidrogen yang terlibat dalam proses biologis dapat berperan sebagai katalis, reaktan atau produk. Pada hidrolisis, reaksi umumnya dipercepat dengan adanya katalis asam. Pemecahan aldehid dari suatu senyawa asetal atau glikosida menjadi bentuk-bentuk hemiasetal dibantu dengan adanya asam (Fessenden dan Fessenden, 1986). Senyawa asetal menurut Zuhra (2006) adalah senyawa stabil pada pH netral dan akan terdekomposisi pada media asam.

Asam belimbing wuluh dalam reaksi hidrolisis senyawa protein-formalin bahan makanan akan memecah ikatan, baik dalam bentuk *methyl-ol* maupun *cross linkage* atau jembatan metilen (*methylene bridges*). Penurunan kadar residu formalin pada udang putih yang tidak mencapai 100% menunjukkan bahwa ikatan silang formalin-protein (*Protein-crosslink*) merupakan ikatan yang sulit dipecah. Hal ini, dikemukakan oleh Kiernan (2000) dan Harberle (2004) bahwa ikatan formaldehid dengan protein dalam bentuk ikatan silang (*cross-link-CH<sub>2</sub>*) merupakan ikatan yang bersifat *irreversible* (Kiernan, 2000; Haberle *et al.*, 2004).

Panas dengan perebusan merupakan faktor lain yang dapat mempercepat laju reaksi kimia. Laju kecepatan reaksi dapat diketahui dari perubahan konsentrasi bahan yang bereaksi dan atau produk yang dihasilkan. Laju atau kecepatan suatu reaksi adalah perubahan konsentrasi pereaksi ataupun produk dalam satuan waktu (Keenan dkk, 1998). Hasil penelitian ini telah menunjukkan bahwa penurunan kadar residu formalin udang putih pada perlakuan tanpa perebusan hanya mencapai 32,30%, sedangkan penurunan kadar residu formalin udang putih dengan perebusan selama 30 menit dan 45 menit pada 85°C dapat mencapai 67,88% dan 97,34%. Ini artinya, bahwa perebusan telah meningkatkan penurunan kadar residu formalin udang putih. Hasil penelitian ini, sejalan dengan hasil penelitian sebelumnya bahwa deformalinisasi ikan asin dengan perendaman dalam air garam yang diikuti penggorengan menghasilkan penurunan kadar sebesar 90,61%, yang lebih besar dibandingkan tanpa penggorengan, yaitu 89,53% (Raihan, 2003).

Panas dalam suatu reaksi menurut Keenan, dkk. (1998) lebih berperan sebagai faktor yang dapat mempercepat gerak molekul-molekul yang bereaksi, sehingga laju reaksi akan lebih cepat. Selain itu, panas juga dapat memutus ikatan

antar unsur penyusun senyawa, seperti pemutusan ikatan disulfide, membuka struktur heliks antara asam amino pada suatu protein (Richardson dan Finley (Eds.), 1985). Beberapa reaksi hidrolisis senyawa yang rumit, selain perlu adanya katalis, juga biasanya dilakukan dengan kalor. Ikatan glikosida dapat diputus oleh reaksi hidrolisis dan hidrolisis gula yang lebih rumit dilakukan dengan memanaskan larutan karbohidrat dengan air dan sedikit katalis asam (Wilbraham dan Matta, 1992). Demikian juga, hidrolisis protein menghasilkan asam-asam amino dikatalisis asam dan panas (Fessenden dan Fessenden, 1986).

Hasil penelitian ini telah menunjukkan bahwa efektivitas penurunan kadar residu formalin dalam udang putih dipengaruhi oleh kombinasi penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan dengan persentase penurunan kadar residu formalin tertinggi diperoleh pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi tertinggi (80%) dan perebusan 45 menit atau pada perlakuan R<sub>2</sub>BW<sub>4</sub>.

## **B. Perubahan Profil Protein Udang Putih dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh dan Perebusan**

Selama ini, kekhawatiran masyarakat terhadap bahaya makanan berformalin, lebih banyak melihat dampak formalin yang terbawa dalam bahan makanan. Hal ini tidak dapat dipungkiri, karena penelitian-penelitian yang selama ini dilakukan lebih banyak terfokus pada dampak formalin atau formaldehid terhadap fungsi tubuh. Data telah membuktikan bahwa formaldehid, baik dalam bentuk gas maupun larutan air (formalin), dapat mengganggu kesehatan secara akut dan kronik (Hadi, 2009; Judarwanto, 2006; Ritchie and Lehnen, 1987; Naria, 2004; Nolodewo, dkk. (2007; Oldham *et al.*, 1982; Patel *et al.*, 2003;

Zahra *et al.*, 2007; Ishak, 2007; Shaham *et al.*, 1996). Sementara itu, penelitian dampak formalin terhadap kerusakan gizi bahan makanan belum ada, sehingga masyarakat tidak menyadari bahwa dampak bahaya bahan makanan berformalin, juga dapat disebabkan oleh kerusakan zat gizi dalam bahan makanan.

Perubahan nilai gizi bahan makanan, khususnya nilai gizi protein telah buktikan dari hasil penelitian pendahuluan bahwa ada perbedaan yang nyata antara kadar protein total dan kadar asam amino udang putih segar dengan udang putih berformalin (Wikanta, 2011). Data menunjukkan bahwa rerata kadar protein total udang putih segar lebih tinggi (23,205 g%) daripada kadar protein total udang putih berformalin (20,741 g%). Demikian juga, kadar semua jenis asam amino udang putih segar lebih tinggi daripada udang putih berformalin. Hal serupa dilaporkan oleh Kartikaningsih (2008) bahwa kontaminasi formalin pada beberapa jenis ikan segar dan pindang yang beredar di pasaran telah menurunkan kadar asam amino ikan.

Kerusakan zat gizi bahan makanan menjadi penyebab beberapa gangguan kesehatan tubuh terkait gizi. Paparan formalin terhadap bahan makanan menyebabkan terbentuknya ikatan antara zat gizi dengan formalin. Suntoro (1983) mengemukakan bahwa formaldehid dapat berikatan dengan senyawa lain, seperti protein, lemak dan karbohidrat. Hal serupa dikemukakan oleh Levinson and Jawetz (1989) bahwa formaldehid mampu memodifikasi atau mendenaturasi protein dan asam nukleat melalui proses alkilasi antara gugus  $-NH_2$  dan  $-OH$  dari protein dan asam nukleat dengan gugus hidroksimetil dari formaldehid.

Gugus aldehid dari formaldehid dapat berikatan dengan nitrogen dan beberapa atom lain dari protein membentuk senyawa *methyl-ol*, atau dengan dua molekul protein yang berada sangat dekat, membentuk *cross-link-CH<sub>2</sub>* yang

disebut suatu jembatan metilen atau *methylene bridge* (Kiernan, 2000). Ikatan formaldehid dengan protein dalam bentuk ikatan silang (*protein-CH<sub>2</sub>-protein*) bersifat *irreversible*. Formaldehid menyebabkan protein berikatan silang dalam suatu pertautan, yang menstabilkan massa protein dan mengawetkan morfologi (Nadeau dan Carlson, 2005).

Formaldehid dalam konsentrasi rendah (4%) dapat menyebabkan jaringan menjadi keras. Sedangkan, formaldehid dalam konsentrasi tinggi (40%) selain mengeraskan jaringan, juga dapat mengendapkan protein (Suntoro, 1983). Pengerasan jaringan bahan makanan akan menyulitkan pencernaan dan penyerapan zat gizi oleh tubuh, sehingga kebutuhan gizi tubuh akan terganggu (Hove and Lohrey, 1976; Wilbraham dan Matta, 1992). Hal ini ditegaskan oleh Sihombing dan Sihombing (1996) bahwa tahu yang direndam dalam formalin menyebabkan tekstur yang keras, daya cerna dan Nilai PER-nya mengalami penurunan. Kegagalan absorpsi (malabsorpsi) zat gizi menjadi salah satu penyebab kekurangan gizi sekunder (Chandrasoma dan Taylor, 2006).

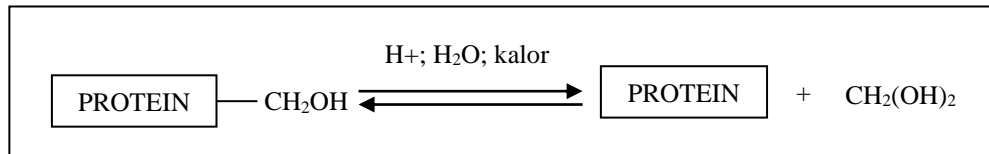
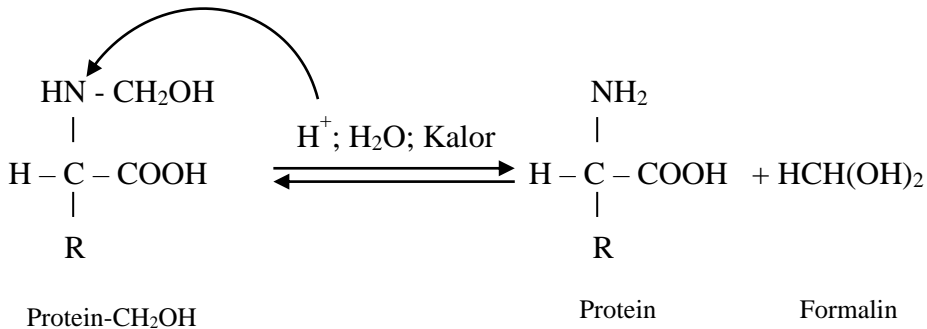
Daya cerna dan nilai PER protein menunjukkan kualitas protein (Muhctadi, 2010). *Protein efficiency ratio* (PER) adalah nilai perbandingan antara pertambahan berat badan dengan jumlah protein yang dikonsumsi. Nilai PER dihitung berdasarkan daya cerna dan komposisi asam amino suatu protein. Daya cerna adalah perbandingan antara asam amino yang dapat diserap oleh usus halus dengan jumlah protein yang dikonsumsi (Muchtadi, 2010). Selanjutnya, Muchtadi (2010) mengemukakan bahwa nilai gizi protein akan menentukan jumlah yang harus dikonsumsi. Protein dengan nilai gizi rendah harus dikonsumsi dalam jumlah lebih banyak dibandingkan dengan protein yang bernilai gizi tinggi.

Di sisi lain, dampak bahaya lebih jauh bahan makanan berformalin dapat menyebabkan kerusakan-kerusakan anatomis dan fisiologis tubuh. Protein yang tidak dapat dicerna akan masuk ke dalam peredaran darah dan menjadi senyawa asing yang dapat menimbulkan respon imun tertentu (Brody, 1994). Ikatan silang yang diinduksi formaldehid akan merubah struktur protein yang selanjutnya akan menyebabkan endapan protein yang berhubungan dengan penyakit patologis kronik (Haberle *et al.*, 2004).

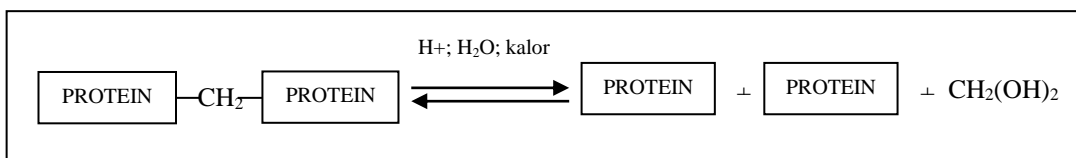
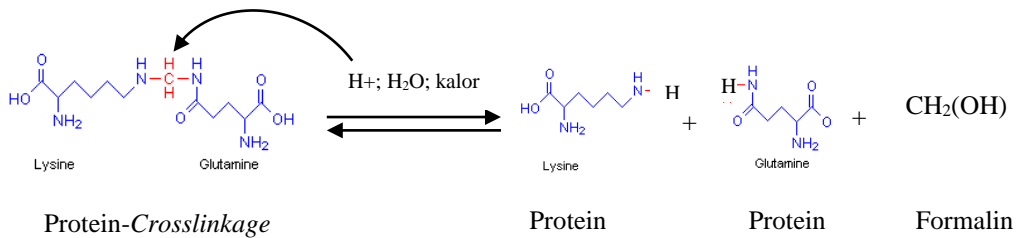
Penambahan perasan buah belimbing wuluh dalam penelitian ini telah merubah profil protein udang putih. Asam adalah senyawa yang dapat mempengaruhi muatan asam-asam amino penyusun protein. Pada larutan asam (pH 1) gugus karboksil tidak terion ( $-\text{COOH}$ ) dan gugus amino terionisasi ( $-\text{NH}_3^+$ ). Pada larutan basa (pH 11) gugus karboksil terionisasi ( $-\text{COO}^-$ ) dan gugus amino tidak terionisasi ( $-\text{NH}_2$ ) (Murray dkk, 2005). Penambahan perasan buah belimbing wuluh pada udang putih berformalin merubah suasana larutan menjadi asam. Perubahan keadaan keasaman lingkungan udang berformalin akan mempengaruhi ikatan-ikatan pada asam amino, termasuk ikatan dengan formalin. Jika ikatan formalin dan asam amino terlepas, maka protein akan terbebas dari formalin. Dengan demikian, protein dalam bahan makanan akan meningkat kembali.

Reaksi pemecahan ikatan formalin dan protein yang dikatalisis asam dapat dimodelkan sebagai berikut:

1. Model Pemecahan Senyawa Protein-Formalin Bentuk Metil-alkohol



2. Model Pemecahan Senyawa Protein-Formalin Bentuk Ikatan Silang



Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar protein total udang putih yang semula mengalami penurunan sekitar 10,62% pada udang berformalin, pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh 80% dan tanpa perebusan mengalami perubahan penurunan menjadi 0,76%. Nilai penurunan kadar protein total ini lebih baik dibandingkan dengan nilai penurunan pada perlakuan tanpa

penambahan perasan buah belimbing wuluh, baik dengan perebusan 30 menit maupun 45 menit, dengan nilai penurunan berturut-turut 65,08% dan 64,68%.

Asam dan panas dalam hidrolisis protein bahan makanan membantu mempercepat pemecahan polipeptida menjadi asam-asam amino penyusunnya (Wilbraham dan Matta, 1992; Fessenden dan Fessenden, 1986). Selain itu, asam dan panas dapat membantu proses denaturasi protein, sehingga akan lebih mempermudah proses hidrolisis (Sediaoetama, 1987). Denaturasi protein oleh reagensia seperti urea, sodium dodesil sulfat (SDS), ion  $H^+$  ringan atau  $OH^-$  akan memutuskan ikatan hidrogen, hidrofobik, dan elektrostatik, tetapi tidak memutuskan ikatan peptida atau pun disulfida (Murray dkk, 2005).

Kadar protein total merupakan salah satu parameter yang menentukan kualitas suatu protein bahan makanan (Tejasari, 2005). Kadar protein menentukan kepadatan protein pangan, tetapi tidak dapat menunjukkan komposisi jenis asam amino esensialnya. Oleh karena itu, asam amino sebagai unit terkecil penyusun protein merupakan parameter lain yang menentukan kualitas suatu protein.

Dari hasil penelitian ini, udang putih berformalin dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh dalam berbagai konsentrasi (0%, 20%, 40%, 60%, 80%) dan perebusan memiliki komposisi dan kadar asam amino yang sama. Ini artinya, bahwa asam dari perasan buah belimbing wuluh dan perebusan tidak sampai merusak susunan asam amino pada rantai polipeptida protein, sehingga tidak ada jenis asam amino yang hilang. Hasil penelitian ini, berbeda dengan hasil penelitian lain bahwa kandungan asam amino udang ronggeng setelah perebusan mengalami penurunan sebesar 20,62% (Jacoeb dkk., 2008). Profil protein udang putih berformalin sebelum dan sesudah perlakuan termasuk sumber



protein yang baik, karena memiliki komposisi asam amino yang mengandung semua asam amino esensial. Walaupun demikian, kualitas protein udang berformalin belum teruji secara fisiologis (*in vivo*).

Profil protein suatu bahan makanan dapat juga digambarkan dengan fraksinasi berat molekul. Menurut Soewoto dkk (2001) molekul protein berbeda satu sama lain, selain karena perbedaan muatan listriknya, juga berbeda karena berat molekul atau ukuran molekulnya. Hasil pemisahan protein udang putih dengan teknik elektroforesis SDS-PAGE diperoleh bahwa penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan telah merubah komposisi berat molekul protein. Dimana, jenis protein dengan berat molekul tertentu menghilang pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi tinggi (80%) dan pada perebusan, baik selama 30 maupun 45 menit.

Keadaan profil protein udang putih berdasarkan berat molekul ini sesuai dengan data kadar protein total udang putih yang mengalami penurunan pada perlakuan penambahan perasan buah belimbing wuluh konsentrasi tinggi dan perebusan. Perubahan profil protein, baik berdasarkan kadar maupun berat molekul, yang terkandung udang putih disebabkan adanya pengaruh pengolahan asam dan panas. Harris dan Karmas (Eds.) (1989) mengemukakan bahwa zat gizi rusak ketika makanan diolah, karena zat tersebut peka terhadap pH pelarut, oksigen, cahaya, dan panas atau kombinasinya.

Protein dengan berat molekul lebih dari 100.000 kebanyakan merupakan imunogen yang poten (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009; Leviston and Jawetz, 1989). Hal ini terbukti dari hasil penelitian ini bahwa protein udang putih berformalin menunjukkan karakteristik sebagai imunogen. Hasil karakterisasi protein dengan Metode *Western Blotting*, protein udang putih berformalin

dengan berat molekul 37,38 kDa menunjukkan respons positif terhadap antibodi mencit yang diimunisasi protein 37,38 kDa dengan terbentuknya pita pada kolom udang putih berformalin. Hasil *Western Blot* ini, berbeda dengan hasil *Western Blot* pada mencit kontrol yang tidak diimunisasi dengan protein 37,38 kDa. Artinya, bahwa protein 37,38 kDa telah menstimulus terbentuknya antibodi pada mencit. Protein udang putih dengan berat molekul 37,38 kDa dapat disebut sebagai antigen lengkap (imunogen). Antigen lengkap adalah antigen yang menginduksi, baik respons imun maupun bereaksi dengan produknya (Baratawidjaja dan Rengganis, 2009).

Penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan udang putih berformalin telah merubah sifat imunogenik protein. Dimana, hasil *Western Blot* semua protein udang putih setelah perlakuan tidak menunjukkan adanya pita. Ini artinya, bahwa protein udang putih setelah perlakuan tidak bereaksi positif dengan antibodi serum mencit yang diimunisasi dengan protein 37,38 kDa atau tidak bersifat imunogenik.

Penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan telah merubah kompleksitas protein udang putih. Leviston dan Jawetz (1989) mengemukakan bahwa ciri-ciri yang menentukan molekul imunogenisitas, yaitu: (1) keasingan (*foreignness*), (2) ukuran molekul (*molecular size*), (3) kompleksitas struktur molekul (*chemical-structural complexity*), (4) determinan antigenik/epitop (*antigenic determinat or epotopes*), dan (5) dosis, rute, dan waktu pemberian antigen (*doses, route, and timing of antigenic administration*).

Pada dasarnya, menurut Abbas dan Lichtman (2004), ada tiga kemungkinan hasil paparan limfosit dengan antigen tertentu, yaitu respons imun, toleransi, dan pengabaian atau *ignorance*. Limfosit mungkin teraktivasi, yang

mengarah kepada respons imun; antigen yang menimbulkan respons disebut imunogenik. Limfosit mungkin secara fungsional tidak terkatifkan atau terbunuh, yang menghasilkan toleransi; antigen yang menginduksi toleransi disebut tolerogenik. Dalam beberapa situasi, limfosit antigen-khusus mungkin tidak bereaksi dengan cara apapun, fenomena ini disebut *ignorance*; limfosit dengan mudah mengabaikan keberadaan antigen.

Secara umum, penambahan perasan buah belimbing wuluh dan perebusan dapat merubah profil protein udang putih, baik kadar protein total, asam amino, berat molekul maupun karakteristiknya.

### **C. Arti Penting Buku Pendidikan Gizi dan Keamanan Bahan Makanan**

Penyalahgunaan formalin dalam bahan makanan merupakan fenomena yang kompleks. Ada beberapa faktor yang menyebabkan penggunaan formalin dalam bahan makanan masih tetap dilakukan sampai saat ini. Riyadi, dkk. (2007) mengemukakan bahwa mal-praktek penggunaan bahan tambahan makanan (*food additive*) illegal pada penanganan dan pengolahan produk ikan segar dan ikan asin dipengaruhi oleh aspek teknis, ekonomi, sosial budaya, kelembagaan maupun kebijakan.

Pada dasarnya, semua aspek penyebab penyalahgunaan bahan tambahan illegal (formalin) berpangkal dari satu sumber kekurangan, yaitu rendahnya pengetahuan masyarakat tentang gizi dan keamanan pangan. Rendahnya pengetahuan dan kepedulian konsumen tentang keamanan pangan menjadi salah satu masalah utama keamanan pangan di Indonesia (Hariyadi dan Andarwulan, 2007). Hal serupa ditegaskan oleh Riyadi, dkk (2007) bahwa penyalahgunaan bahan kimia tambahan illegal disebabkan oleh: (1) kurangnya perhatian pejabat

berwenang, penyuluhan, dan pembinaan mengenai keamanan pangan; (2) rendahnya tingkat pendidikan, baik para pengolah maupun masyarakat konsumen, sehingga pengetahuan mengenai keamanan pangan rendah dan kurangnya berpikir jangka panjang; dan (3) kebiasaan pola makan masyarakat yang belum memperhatikan aspek keamanan dari makanan yang dikonsumsi bagi kesehatan.

Saat ini, masyarakat sudah saatnya mendapat informasi yang banyak tentang gizi dan keamanan pangan. Hal ini didukung oleh hasil-hasil penelitian tentang gizi dan keamanan pangan yang telah banyak dilakukan lembaga-lembaga penelitian dan akademik. Namun, kenyataan masyarakat masih sulit mendapatkan informasi yang lengkap. Selain, informasi sulit didapat karena publikasi tidak selalu sampai kepada masyarakat, juga bahasa informasi sulit dimengerti masyarakat umumnya (awam). Hal ini, seperti ditegaskan oleh WHO (2005) bahwa banyak ilmuwan yang memahami cara kerja teknologi pangan dan faktor-faktor apa saja yang dapat menentukan keamanan suatu produk pangan. Namun, karena kurangnya publikasi, pengetahuan ini hanya berada di kalangan ilmuwan sendiri dan tidak selalu dapat disampaikan dengan baik ke masyarakat luas.

Bentuk-bentuk publikasi perlu diperbanyak, salah satunya dalam bentuk buku. Buku merupakan salah satu bentuk publikasi yang paling banyak dipilih. Karena, buku memiliki beberapa kelebihan, sebagaimana dikemukakan Steffen Peter Ballstaedt (1994) dalam Depdiknas (2004) adalah:

- 9) Bahan tertulis biasanya menampilkan daftar isi, sehingga memudahkan pembaca untuk menunjukkan bagian mana yang ingin dibaca;
- 10) Biaya untuk pengadaannya relative sedikit;
- 11) Bahan tertulis cepat digunakan dan dapat dipindah-pindah secara mudah;

- 12) Susunannya menawarkan kemudahan secara luas dan kreativitas bagi individu;
- 13) Bahan tertulis relatif ringan dan dapat dibaca di mana saja;
- 14) Buku yang baik akan dapat memotivasi pembaca untuk melakukan aktivitas, seperti menandai, mencatat, membuat sketsa;
- 15) Bahan tertulis dapat dinikmati sebagai sebuah dokumen yang bernilai besar;
- 16) Pembaca dapat mengatur tempo secara mandiri.

Kehadiran buku ditengah-tengah masyarakat akan membantu penyampaian berbagai informasi penemuan dalam memecahkan permasalahan yang dihadapi masyarakat. Buku-buku yang dapat dengan mudah dimiliki dan dipahami masyarakat sangat diperlukan. Salah satu contoh adalah buku gizi dan keamanan bahan makanan berformalin.

Buku gizi dan keamanan bahan makanan berformalin dalam penelitian ini mengambil judul: **“Panduan Praktis Pengolahan Udang Berformalin dengan Belimbing Wuluh”**. Buku ini disusun sebagai sumber pendidikan gizi dan keamanan pangan, sehingga masyarakat dapat menambah pengetahuan, keterampilan, dan sikap dalam memecahkan permasalahan bahan makanan berformalin.

Buku panduan ini disusun secara sederhana, ringkas dan padat, serta dilengkapi dengan gambar dengan bahasa yang mudah dipahami masyarakat awam. Hal ini, sengaja dibuat sedemikian rupa, sehingga menarik, mudah dipahami, dan murah dengan tidak melepaskan dari keilmiahan. Menurut Rohani (1997) pemilihan sumber belajar harus didasarkan pada beberapa kriteria, di

antaranya: (1) ekonomis; (2) praktis dan sederhana; (3) mudah diperoleh; (4) bersifat fleksibel; dan (5) komponen-komponen sesuai dengan tujuan.

Selain itu, buku panduan ini juga disusun dengan memperhatikan kriteria kelayakan isi, penyajian, dan keterbacaan atau bahasa (Pusat Perbukuan, 2008). Kelayakan isi meliputi: relevansi, ruang lingkup (cakupan dan kedalaman), *up date*. Kelayakan penyajian meliputi: bentuk fisik dan susunan (ukuran buku, warna, sistematik penulisan). Sedangkan, kelayakan keterbacaan menurut Gilliland (1972) dalam Suheri (2008) meliputi tiga hal, yaitu: kemudahan, kemenarikan, dan keterpahaman.

Buku panduan ini berisi tentang bahaya bahan makanan berformalin, manfaat belimbing wuluh dalam pengolahan udang berformalin, dan cara pengolahannya. Penyajian buku ini yang dilengkapi dengan ilustrasi gambar diharapkan menjadi panduan yang dapat dipraktekkan dalam pengolahan bahan makanan berformalin pada skala rumah tangga.

## **BAB VI**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Hasil penelitian dengan judul "Pengaruh Penambahan Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) dan Perebusan terhadap Residu Formalin dan Profil Protein Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) Berformalin serta Pemanfaatannya sebagai Sumber Pendidikan Gizi dan Keamanan Pangan pada Masyarakat dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Ada pengaruh yang signifikan penambahan belimbing wuluh dan perebusan terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin.
2. Ada pengaruh yang signifikan penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar protein total, fraksi berat molekul protein, dan sifat imunogenitas protein udang putih berformalin.
3. Tidak ada pengaruh yang signifikan penambahan perasan buah belimbing wuluh terhadap kadar asam amino udang putih berformalin.
4. Ada pengaruh yang signifikan lama perebusan terhadap kadar residu formalin pada udang putih berformalin.
5. Ada pengaruh yang signifikan lama perebusan terhadap kadar protein total udang, fraksi berat molekul protein, dan sifat imunogenitas protein putih berformalin.
6. Ada pengaruh yang signifikan interaksi antara penambahan perasan buah belimbing wuluh dan lama perebusan terhadap kadar residu formalin, kadar protein total, fraksi berat molekul protein, dan sifat imunogenitas protein pada udang putih berformalin.

7. Ada hubungan negatif yang kuat antara kadar residu formalin dan kadar protein total pada udang putih dengan penambahan perasan buah belimbing wuluh.
8. Hasil penelitian ini telah diimplementasikan dalam bentuk buku dengan judul “Panduan Praktis Pengolahan Udang Berformalin dengan Belimbing Wuluh” sebagai sumber pendidikan gizi dan keamanan pangan pada masyarakat.

## **B. Saran**

Hasil penelitian ini telah mengungkap beberapa fakta penting berhubungan dengan masalah bahan makanan berformalin ditinjau dari aspek nutrisi, terutama perubahan kadar residu formalin dan profil protein. Namun, penelitian ini masih belum cukup menjawab semua permasalahan berhubungan dengan bahan makanan berformalin yang berkembang di masyarakat. Oleh karena itu, peneliti mengusulkan beberapa saran sebagai berikut:

1. Masyarakat dapat menggunakan belimbing wuluh sebagai alternatif dalam pengolahan bahan makanan yang dicurigai mengandung formalin. Penggunaan belimbing wuluh, sebaiknya dilakukan sebelum pengolahan bahan makanan untuk dikonsumsi dan air rendaman atau rebusan bahan makanan dengan belimbing wuluh sebaiknya dibuang.
2. Perlu penelitian serupa yang lebih luas untuk memperkaya khasanah keilmuan dalam bidang gizi dan keamanan pangan, terutama penelitian dengan menggunakan sampel bahan makanan berformalin yang ada di pasaran, sehingga lebih menyentuh permasalahan nyata di masyarakat.
3. Hasil penelitian ini belum mengungkap perubahan gizi protein secara molekuler, seperti adanya ikatan antar formalin dengan protein, baik bentuk



senyawa methyl-ol maupun ikatan silang protein. Oleh karena itu, penelitian pada tingkat molekuler perlu dilakukan lebih lanjut.

4. Buku hasil penelitian ini masih sangat sederhana, belum mencakup seluruh materi yang berhubungan dengan pendidikan gizi dan keamanan pangan. Oleh karena itu, buku ini perlu dikembangkan lebih lanjut untuk memenuhi kebutuhan pendidikan gizi dan keamanan pangan yang lebih luas.

## DAFTAR RUJUKAN

- Abbas, A.K. and Lichtman, A.H. 2004. *Basic Immunology: Functions and Disorders of the Immune System*. 2<sup>nd</sup> edition. Philadelphia: Elsevier Inc.
- Abcam, tanpa tahun. *Western Blotting: a Beginner's Guide*. (online). (<http://abcam.com/ps/pdf/protocols/WB-beginner.pdf>, diakses 1 November 2010).
- Adawyah, R. 2007. *Pengolahan dan Pengawetan Ikan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- AES. 2007. *Western Blotting. AES application focus*. (online). (<http://www.aesociety.org/areas/Grafin> Western Blotting Web Article 9-07.pdf, diakses 6 November 2010).
- Aisyah, Y. 2007. *Asam Sunti: Hitam atau Putih?* (online). (<http://www.nad.go.id>, diakses 7 Juni 2009).
- 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).
- Ashari, S. 1995. *Hortikultura Aspek Budidaya*. Jakarta: UI-Press.
- Aulanni'am. 2004. *Prinsip dan Teknik Analisis Biomolekul*. Malang: Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Press.
- Baratawidjaja, K.G. dan Rengganis, I. 2009. *Imunologi Dasar*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Bartano P.H. dan Ruffino E.M. 2006. *Dasar-dasar Food Product: Dilengkapi dengan Resep-resep Istimewa*. Yogyakarta: Andi.
- Bashori, Y.M. 2008. *Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi Linn.) pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar*. Skripsi. (online). (<http://etd.eprints.ums.ac.id/1425/1/K100040021.pdf/antiinflamasi>, diakses 29 Mei 2010).
- bisnisukm. 2009. *Jenis-jenis Udang Potensial Budidaya*. (online), (<http://bisnisukm.com>, diakses 8 Januari 2010).
- Blogdokter. 2008. *Alergi Makanan*. (online). (<http://www.blogdokter.net>, diakses 4 Januari 2010).

- BPOM. 2004. *Bahan Tambahan Ilegal Borak, Formalin dan Rhodamin B*. Food Watch Sistem Keamanan Pangan Terpadu. BPOM 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.
- Brotowidjoyo, M.D. 1993. *Penulisan Karangan Ilmiah*. Cet. Ke-3. Jakarta: Akademi Pressindo.
- Budhi S, S., Sari, D.P., dan Hurudji, E. 1999. Pemberian Ransum Belimbing Wuluh (*Averhoa bilimbi* L) untuk Menghasilkan Telur Rendah Kolesterol. *Buletin Penalaran Mahasiswa 1999*. VI(3). (online). (<http://i-lib.ugm.ac.id>, diakses 7 Juni 2009).
- Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H., dan Wootton, M. 2009. *Ilmu Pangan*. Terjemahan oleh Hari Purnomo dan Adiono. Jakarta: UI-Press.
- delangelab. Tanpa tahun. *Western Blot protocol*. (online). [http://delangelab.rockefeller.edu/protocols\\_files/Western Blot.pdf](http://delangelab.rockefeller.edu/protocols_files/Western%20Blot.pdf). Diakses 6 November 2011).
- deMan, J.M. 1997. *Kimia Makanan*. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: ITB.
- Cahyadi, W. 2008. *Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan*. Jakarta: Bumi Aksara.
- CICADS. 2002. Formaldehyde. *The International Programme on Chemical Safety (IPCS)*. (online). (<http://www.inchem.org/documents/cicads/cicad40.htm>, diakses 23 Januari 2010).
- CPSC. 1997. *An Update on Formaldehyde*. Washington, DC: U.S. Consumer Product Safety Commission.
- Chandrasoma, P. dan Taylor, C.R. 2006. *Ringkasan Patologi anatomi*. Ed. 2. Penerjemah: Roem Soedoko, Lydia I. Mander dan Vivi Sadikin. Jakarta: EGC.
- Departemen Pendidikan Nasional. 2004. *Pedoman Umum Pengembangan Bahan Ajar SMA*. Direktorat Pendidikan Menengah Umum.
- Desrosier, N.W. 2008. *Teknologi Pengawetan Pangan*. Ed. Ke-3. Terjemahan oleh Muchji Miljohardjo. Jakarta: UI-Press

- DHHS. 1999. *Toxicological Profil for Formaldehyde*. Public Health Service, Agency for Toxic Substance and Disease Registry, Atlanta, Georgia: U.S. Dept. of Health and Human Service.
- Donatus, I.A. 2001. *Toksikologi Dasar*. Yogyakarta: Lab Farmakologi dan Toksikologi. Fak Farmasi. UGM.
- Dzulkarnain, B. Sundari, D. dan Chozin, Au. 1996. Tanaman Obat Bersifat Antibakteri di Indonesia. *Cermin Dunia Kedokteran*. No. 110: 35-44
- Enie, A B. 14 Nopember 2006. Bahan Tambahan Makanan dalam Industri Minuman: Jenis, Penggunaan, dan Keamanannya. *Power Point pada Sosialisasi Food Additive (Bahan Tambahan Pangan) dalam Industri Minuman*. Ditjen Agrokimia Deprin. Semarang. (online), diakses 9 Juni 2009)
- EPA. 2008. *Registration Eligibility Decision for Formaldehyde and Paraformaldehyde*. Washington, D.C.: US Environmental Protection Agency. (online). (<http://www.regulation.gov>). Diakses 26 Januari 2010).
- Fessenden dan Fessenden. 1986. *Kimia Organik*. Terjemahan oleh Aloysius Handyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Globalenvironment-garg. 2008. Chemistry of Atmosphere: Gas-phase Atmosphere Chemistry. (online). (<http://globalenvironment-garg.blogspot.com/2008/03/chemistry-of-atmosphere.html>). Diakses 9 Januari 2011).
- 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).
- Groups.google. 2006. *Formalin di Makanan Tak Berbahaya*. (online). (<http://groups.google.co.id>, diakses 10 Oktober 2008).
- 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).
- Hadi, S. 2009. *Efek Karsinogenik Formaldehid pada Paparan Kronik*. (online). (<http://okupasi.blogspot.com>, diakses 19 Januari 2010).

- Hanafiah, K.A. 2010. *Rancangan Percobaan Teori dan Aplikasi*. Ed. Ke-3. Jakarta: Rajawali Pers.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Cet. Ke-2. Penerjemah: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB.
- Hariyadi, P. dan Andarwulan, N. 2007. *Menghentikan Peredaran Pangan Bermasalah di Pasar: Konsolidasi Keamanan Pangan di Indonesia*. Depok: Piramedia.
- Harlia, E., Astuti, Y., dan Marlina, E.T. Tanpa Tahun. Deteksi Logam Berat Kadmium (Cd) dalam Hati Ayam Buras dan Upaya Reduksi secara Fisik (penggorengan) dan Kimiawi (Penggunaan Filtrat Belimbing Wuluh). *Makalah pada Lokakarya Nasional Keamanan Pangan produk Peternakan*. Unpad Bandung.
- Harper, L.J., Deaton, B.J. dan Driskel, J.A. 1986. *Pangan, Gizi dan Pertanian*. Terjemahan oleh Suhardjo, 1986. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia (UI-Press).
- Hortwitz, W. (Ed.). 1975. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical Chemists*. 12<sup>th</sup> 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.
- Hui, Y.H. 1985. *Essentials of Nutrition and Diet Therapy*. California: Wadsworth, Inc.
- IARC. 2006. *Formaldehyde. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Human*. Vol. 88. (online). ([http://www.inchem.org/document/iarc/vol88/volume\\_88.pdf](http://www.inchem.org/document/iarc/vol88/volume_88.pdf), diakses 2 Oktober 2009).
- Idrus H.A. 1994. *Sea Food Trend Masakan Khas Hasil Laut*. Pekalongan: C.V. Bahagia.
- Innamasari, D. 2007. *Pengaruh Konsumsi Ikani Asin Kuniran (*Ipeneus sulphureus*) Berformalin terhadap Pertumbuhan dan Organ Dalam Tikus Putih Wistar (*Rattus norvegicus*)*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya..
- Irianto, H. E. Dan Soesilo, I. 21 November 2007. *Dukungan Teknologi Penyediaan Produk Perikanan*. Makalah pada Seminar Nasional Hari pangan Sedunia di Auditorium II Kampus Penelitian Pertanian Cimanggu Bogor. (online), ([http://www.litbang.deptan.go.id/special/HPS/dukungan\\_tek\\_perikanan.pdf](http://www.litbang.deptan.go.id/special/HPS/dukungan_tek_perikanan.pdf), diakses 23 Oktober 2009).

- Ishak, F. 2007. *Formalin Sebabkan Gangguan Menstruasi dan Infertilitas Wanita*. (online). (<http://donnaisra.wordpress.com>, diakses 10 Oktober 2008).
- Iskandar, Y. 2007. *Tanaman Obat yang Berkhasiat sebagai Antihipertensi*. (Online), diakses 28 Agustus 2008).
- Jawa Pos. 2009. *Gerebek Pabrik Tahu Berformalin*. (online), (<http://www.jawapos.co.id>, diakses 13 November 2009).
- Judarwanto, W. 9 September 2005. *Alergi Makanan, Diet dan Autisme*. Makalah dalam Seminar, di Hotel Novotel. (online). (<http://www.gizi.net>, diakses 18 Oktober 2008)
- Judarwanto, W. 2006. *Pengaruh Formalin Bagi Sistem Tubuh*. (online). (<http://puterakembara.org>, diakses 10 Oktober 2008).
- Kamil, M. 2009. *Pendidikan Nonformal: Pengembangan Melalui Pusat Kegiatan Belajar Mengajar (PKBM) di Indonesia, Sebuah Pembelajaran dari Kominkan Jepang*. Bandung: Alfabeta.
- Karo-karo, Trijaya dan Fit. 2008. *Cari Ikan Berformalin Petugas BBPOM Diusir*. (online), (<http://autos.okezone.com>, 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.
- Keenan, C.W., Kleinfelter, D.C. dan Wood, J.H. 1998. *Ilmu Kimia untuk Universitas Jilid I*. Edisi ke-6. Terjemahan oleh aloysius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga.
- Keputusan Kepala BPOM RI No. HK.00.05.5.1639 tentang Pedoman Cara Produksi Pangan yang Baik untuk Industri Rumah Tangga (CPPB-IRT)*. 30 April 2003. Jakarta: BPOM RI.
- Kholilah, S. N. 2006. *Studi Identifikasi Ikan Asin Berformalin di Pasar Kota Malang*. Skripsi tidak diterbitkan. Malang: Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya.
- 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).

- Kompas Cyber Media. Tanpa Tahun. *Menatap Tanahair dari Tanah Blair*. (online). (<http://www.depkes.go.id>, diakses 5 Septemebr 2009).
- Kordi K., M. G. H. 2007. *Pemeliharaan Udang Vanname*. Surabaya: Indah.
- Kuncahyo, I. dan Sunardi. 24 November 2007. *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) terhadap 1,1-Diphenyl-2-Picryshidrazyl (BPPH)*. Makalah Seminar Nasional (online), diakses 1 November 2009).
- 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.
- Leman, M. M. dan Ambarwati, D. 2004. Alergi Susu Sapi sebagai Salah Satu Bentuk Alergi Makanan pada Bayi dan Anak. *Medika*. 30(11): 728-731. (online). (<http://leman.or.id>, diakses 18 Januari 2010).
- Levinson, W. E. and Jawetz, E. 1989. *Medical Microbiology & Immunology: Examination and Board Review*. San Francisco: aLANGE medical book.
- Linder, M. C. (Ed.). 1992. *Biokimia Nutrisi dan Metabolisme*. Penerjemah: Aminuddin Parakasi. Jakarta: UI-Press.
- Lu, F. C. 1995. *Toksikologi Dasar: Asas, Organ Sasan, dan Penilaian Risiko*. Ed. ke-2. Penerjemah: Edi Nugroho. Jakarta: UI-Press.
- Mahadevan, M.M., Mcintosh, Q., Miller, M.M., Breckinridge, SM., Maris, M., and Moutos, M. 1998. Formaldehyde in Cryoprotectant Propanediol and Effect on Mouse Zygote. *Human Reproduction*. 13: 979-982. (online). (<http://www.inchem.org>, diakses 15 Oktober 2008).
- Mahasri, G. 2010. *Analyzed Immunogenic Membrane Protein of Zoothamnium penaei on Tiger Shrimp (Penaeus monodon FAB) from Northern and Shouththern of East Java as Materials to Developed of Immunostimulant to Prevents Zoothamniosis on Shrimp*. Makalah disajikan dalam Seminar Nasional Biodiversitas III di Surabaya. Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Unair. Surabaya, 31 Juli.
- Mahdi, Ch. 2008. *Suplementasi Yogurt pada Tikus (Rattus norvegicus) yang Terpapar Formaldehid dalam Makanan terhadap Aktivitas Antioksidan, Kerusakan Oksidatif, Profil dan Karakter Protein Jaringan*. Disertasi tidak diterbitkan.. Malang: Progran Pascasarjana UB.
- Maramis, A.A. 2010. *Toksifikasi Ikan Berformalin yang Dipaparkan secara Berulang pada Mencit (Mus musculus) dan Detoksifikasinya Menggunakan Klorofilin sebagai bahan Penyusun Buku Pendidikan Kesehatan*.

- Disertasi. Tidak dipublikasikan. Malang: PSSJ Pendidikan Biologi Pascasarjana UM.
- Mardiansyah, L. 2008. *Gizi Buruk di Indonesia*. Makalah. SMPN 167 Jakarta. (online), (<http://rizkicaputro.files.wordpress.com>, diakses 2 Oktober 2009).
- 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).
- Marzuki, M.S. 2010. *Pendidikan Nonformal*. Bandung: Remaja Rosdakarya.
- Muchtadi, D. 2010. *Teknik Evaluasi Nilai Gizi Protein*. Bandung: Alfabeta.
- Mulia, S. M. 2007. *Gizi, Masyarakat Berkualitas dan Pencapaian Tujuan MDGs*. (online). (<http://www.icrp-online.org>, diakses 5 September 2009).
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., dan Rodwell, V.W. 2005. *Biokimia Harper*. Ed. Ke-22. Terjemahan oleh Andry Hartono. Jakarta: EGC.
- Murtidjo, B. A. 1992. *Budidaya Udang Galah Sistem Monokultur*. Yogyakarta: Kanisius.
- Muslich, M. 2010. *Text Book Writing: Dasar-dasar Pemahaman, Penulisan, dan Pemakaian Buku Teks*. Jogjakarta: Ar-Ruzz Media.
- 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).
- Najib, A. 2010. *Glikosida*. (online), ([http://moko31.file.wordpress.com/2010/02/glikosida\\_najeeb.pdf](http://moko31.file.wordpress.com/2010/02/glikosida_najeeb.pdf), diakses 19 April 2010).
- Naria, E. 2004. *Resiko Pemajanan Formaldehid sebagai Bahan Pengawet Tekstil di Lingkungan Kerja*. Dizitiged by USU Digital Library. Bagian Kesehatan Lingkungan FKM USU.
- Nasikin, M dan Susanto, B.H. 2010. *Katalisis Heterogen*. Jakarta: UI-Press.
- Nolodewo, A., Yuslam, dan Muyassaroh. 2007. Paparan Formaldehid sebagai Faktor Resiko Kanker Nasofaring: Kajian pada Penderita Karsinoma



- Nasofaring di RS. Dr. Kariadi Semarang. *Cermin Dunia Kedokteran* No. 155: 96-99.
- Nopianti, S. 2008. *Eketivitas Air Perasan Buah Belimbing wuluh (Averrhoa bilimbi L.) terhadap Kematian Larva Nyamuk anopheles aconitus Instar III Tahun 2008*. Skripsi. Surakarta: Program Studi Kesehatan Masyarakat Fakultas Ilmu Kesehatan UMS. (online), (<http://edt.eprints.ums.ac.id/2809/1/J300050016.pdf>, diakses 29 Mei 2010).
- Nosoh, Y. and Sekiguchi, T. 1991. *Protein Stability and Stabilization Through Protein Engineering*. London: Ellis Horwood Limited.
- Oldham, J.D., Hart, I.C., and Bines, J.A. 1982. Formaldehyde-treated Protein for Dairy Cows-Effects on Blood Hormone Concentrations. *Br. J.Nutr.* 48: 543-547.
- Omaye, S.T. 2004. *Food and Nutritional Toxicology*. Florida: CRC Pres LLC.
- 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.
- Pascoe, D. 1988. *Kajian dalam Biologi: Toksikologi. Kementrerian Pendidikan Malaysia*. Kuala Lumpur: Dewan Bahasa dan Pustaka.
- Patel, Kumud G., Bhatt, H. Venkatakrishna, and Choudhury, A.Roy. 2003. Alteration in Thyroid after Formaldehyde (HCHO)Treatment in Rat. *Industrial Health*. 41: 295-297.
- Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 722/MENKES/PER/IX/1988 tentang Bahan Tambahan Makanan*. Departemen Kesehatan RI.
- Pratiwi, B. dan Moeljopawiro, S. 1995. Pengaruh Pemberian Sari Buah belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) Per Oral Terhadap Profil Lipoprotein, Kadar Gulkosa Darah, dan Asam Urat Serum Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Biologi. Vol.1 No. 9*. (online). (<http://>. Diakses 18 Juni 2010).
- Priyatno, D. 2009. *5 Jam Belajar Olah Data dengan SPSS 17*. Yogyakarta: Andi.
- Pusat Bahasa. 2008. *Kamus Besar Indonesia*. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional.
- Pusat Perbukuan. 2008. *Pedoman Penilaian Buku Nonteks Pelajaran*. Jakarta: Departemen Pendidikan Nasional.

- 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.
- Rhiizthii. 2009. Makanan Berformalin Muncul Lagi. (online). (<http://rhiizthii-block-block.blogspot.com>, diakses 9 Juni 2009).
- Richardson, T. and Finley, J.W. 1985. *Chemical Changes in Food during Processing*. Westport, Connecticut: AVI Publishing Company, Inc.
- Riawan, S. 1990. *Kima Organik*. Edisi ke-1. Jakarta: Binarupa Aksara
- Ritchie, I. M. and Lehnen, R. G. 1987. Formaldehyde-related Complain of Residents Living in Mobile and Conventional Homes. *American Journal of Public Health*. (3) 77: 323-328.
- Riyadi, P.H., Bambang, A.N., dan Agustini, T.W. 2007. Analisis Kebijakan Pangan Produk Hasil Perikanan di Pantura Jawa Tengah dan DIY. *Jurnal Pasir Laut*. 2(2): 30-39. (Online). (<http://eprints.undip.ac.id/4373/1/3-putut-new.pdf>. Diakses 6 November 2010).
- Robbins, St. L. dan Kumar, V. 1992. *Buku Ajar Patologi I*. Ed. Ke-4. Alih Bahasa: Jonatan Oswari (ed.). Jakarta: EGC.
- Rohani, A. 1997. *Media Instruksional Edukatif*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Sadiman, A.S., Rahardjo, R., Harono, A., dan Rahardjito. 2005. *Media Pendidikan: Pengertian, Pengembangan, dan Pemanfaatannya*. Jakarta: RajaGrafindo Persada.
- 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.
- Sediaoetama, Ach. Dj. 2010. *Ilmu Gizi untuk Profesi dan Mahasiswa*. Jilid I. Cet. Ke-9. Jakarta: Dian Rakyat.
- \_\_\_\_\_. 2009. *Ilmu Gizi untuk Profesi dan Mahasiswa*. Jilid II. Cet. Ke-6. Jakarta: Dian Rakyat.
- Shaham, J., Bomstein, Y., Meltzer, A., Kaufman, Z., Palma, E., and Ribak, J. 1996. DNA-protein Crosslinks, a Biomaker of Exposure to Formaldegyde – *in vitro* and *in vivo* Studies. *Carcinogenesis*. Vol.17(1):121-125.
- Sjamsuhidajat, S.S., Dzulkarnain B., Wahjoedi, B., Subanu, N. P., Widowati, L., dan Budiharto, M. 1989. *Penelitian Tanaman Obat di Beberapa*

*Perguruan Tinggi di Indonesia I*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.

- Soedarya, A.P. 2009. *Agribisnis Belimbing*. Bandung: Pustaka Grafika.
- Soewoto H, Sadikin M, Kurniati MMV, Wanandi SI, Physiol, Retno, Abadi, Prijanti AR, Harahap IP, Jusman SWA, 2001. *Biokimia Eksperimen Laboratorium*. Jakarta: Widya Medika
- Sophia, E. 2009. *Alergi Makanan, Tahanlah Keinginan*. (online). ([http://medicastore.com/artikel/273/alergi\\_makanan\\_tahanlah\\_keinginan.htm](http://medicastore.com/artikel/273/alergi_makanan_tahanlah_keinginan.htm)). Diakses 18 Januari 2010).
- Stryer, L. 1988. *Biochemistry*. 3<sup>rd</sup> ed. New York: W.H. Freeman and Company.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 2007. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Edisi ke-4. Yogyakarta: Liberty.
- Sufi S.Y. 2009. *Masakan Ikan dan Seafood Nusantara*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Suherli. 2008. *Keterbacaan Buku Teks Pelajaran*. (online), (<http://read-herli.blogspot.com/2008/11/keterbacaan-buku-teks-pelajaran.html>), diakses 27 Mei 2010).
- Suntoro, S. H. 1983. *Metode Pewarnaan*. Jakarta: Bhratara Karya Aksara.
- Sukei, Humas/rin. 2006. *Cara Baru Kurangi Kadar Formalin*. Kimia ITS, (Online), (<http://www.its.ac.id>, diakses 2 Oktober 2009).
- Supardi, I. dan Sukamto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan*. Bandung: Alumni.
- Surabaya Post. 2009. *Pabrik Tahu Disegel*. (online), (<http://www.surabayapost.co.id>, diakses 13 November 2009).
- Surya. Kamis 3 Juni 2010. *Awas Ada Ikan Pari Berformalin*. (online). <http://gresnews.com/ch/Metropolitan/cl/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.
- Taslim, N. A. 2005. *Kontroversi seputar Gizi Buruk: Apakah Ketidakberhasilan Departemen Kesehatan?* Makalah. Pusat Pangan, Gizi, dan Kesehatan. Unhas Makasar. (online), (<http://www.gizi.net>, diakses 2 Oktober 2009).

- Tejasari. 2005. *Nilai Gizi Pangan*. Yogyakarta: Graha Ilmu
- Trihapsoro, I. 2003. Dermatitis Kontak Alergi pada Pasien Rawat Jalan di RSUP Haji Adam Malik Medan. *Digitized by USU digital library*. (online), (<http://Repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/6372/1/kulit-iwan.pdf>, diakses 13 November 2008).
- UM. 2007. *Pedoman Penulisan Karya Ilmiah: Skripsi, Tesis, Disertasi, Artikel, Makalah, Laporan Penelitian*. ed. ke-4. Malang: Biro Administrasi, Perencanaan, dan Sistem Informasi bekerja sama dengan Penerbit Universitas Negeri Malang.
- Undang Undang RI No. 7 Tahun 1996 tentang Pangan*. Jakarta: Lembaran Negara RI.
- van Steenis, C.G.G. J. 1992. *Flora*. Penerjemah. Moeso suryowinoto, dkk. Jakarta: Pradnya Paramita
- Virdhani, M.H. 2009. BPOM: 40% *Jajanan Kantin SD Berbahaya bagi Kesehatan*. (Online). (<http://news.okezone.com>). Diakses 13 November 2009).
- Wageningen University and the European Federation of Food Scienc and Technology 2007. *Food-info Allergy Dictionary English-Bahasa Indonesia*. Terjemahan oleh Ervina Ralf Hartemink. Netherlands. (online). (<http://www.food-info.net>, Diakses 18 Januari 2010).
- Warintek. Tanpa Tahun. *Averhoa bilimbi L.* (online). (<http://www.warintek.ristek.go.id>, diakses 7 Juni 2009).
- WHO. 2005. *Penyakit Bawaan Makanan: Fokus Pendidikan Kesehatan*. Terjemahan oleh Andry Hartono. Jakarta: EGC.
- \_\_\_\_\_. 1989. *Environmental Health Criteria For Formaldehyde*. Published Under The joint Sponsor of The United Nation Environment Program, The International Labour Organization, and The World Health Organization. Geneva: WHO.
- \_\_\_\_\_, 2001. *Chapter 5.8 Formaldehyde*. WHO Regional Office for Europe. Copenhagen Denmark.
- Widmer, P. 2006. *Pangan, Papan, dan Kebun Beguna: Petunjuk untuk Hidup Sehat dan Meningkatkan Mutu Kehidupan dan Lingkungan Hidup*. Yogyakarta: Kanisius
- Widodo, Ch.S. dan Jasmadi. 2008. *Panduan Bahan Ajar Berbasis Kompetensi*. Jakarta: Elex Media Komputindo.

- Widodo dan Rudimah, S.Y. (tanpa tahun). *Respon Konsumen terhadap Pemberitaan Ditemukannya Formalin pada Produk Pangan Olahan*. Jurusan Sosial Ekonomi Pertanian/Agrobisnis. Faperta UMY, Yogyakarta. (online), (<http://ejournal.unud.ac.id>, diakses 9 Oktober 2009).
- Widyaningsih, T.D. dan Murtini, E.S. 2006. *Alternatif Pengganti Formalin pada Produk Makanan*. Surabaya: Trubus Agrisarana.
- 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.
- \_\_\_\_\_. 2011a. 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.
- \_\_\_\_\_. 2011b. Diversifikasi Bahan Makanan Bergizi dengan Memanfaatkan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L*) sebagai Bahan Pembuatan Permen Jeli dan Selai. *Proceedings Seminar Nasional Kimia Unesa 19 Pebruari 2011*. ISBN: 978-979-028-378-7. Surabaya: D1-D8.
- Wikipedia. 2009a. *Asam Sitrat*. (online). (<http://id.wikipedia.org>, diakses 28 Agustus 2009).
- \_\_\_\_\_. 2009b. *Asam Oksalat*. (online). (<http://id.wikipedia.org>, diakses 28 Agustus 2009).
- \_\_\_\_\_. 2011. *Formaldehde*. (online). (<http://en.wikipedia.org/wiki/Formaldehde>, Diakses 9 Januari 2011).
- Wilbraham, A.C. dan Matta, M.S. 1992. *Pengantar Kimia Organik dan Hayati*. Penerjemah: Suminar Achmadi. Bandung: ITB.
- Williams, E.R. and Caliendo, M.A. 1984. *Nutrition: Principles, Issues, and Applications*. New York: McGraw Hill, Inc.
- Wilson K and Goulding K.H (Eds.), 1986. *Biologist's Guide to principle and Techniques of Practical Biochemistry*. London: Edward Arnold Publisher , Ltd.
- Wilson, S.M., Gleisten, M.P., and Donohue, T.J. 2008. Identification of Protein Involved in Formaldehyde Metabolism by *Rhodobacter sphaeroides*. *Microbiology*. 154(Pt1): 296-305.
- Yuska, F. 2008. *Potensi Ekstra Etanol Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) sebagai Alternatif Sediaan Diuretik alami*. Skripsi. Bogor: Fakultas

Kedokteran Hewan IPB. (online), ([http://iirc.ipb.ac.id/jpsui/bitsteam/123456789/335/1/B08fyu\\_abstract.pdf](http://iirc.ipb.ac.id/jpsui/bitsteam/123456789/335/1/B08fyu_abstract.pdf), diakses 29 Mei 2010).

Zahra, T., Parviz, T., Simin, F., and Mehdi, T. 2007. Effect of Formaldehyde Injection in Mice on Testis Function. *International Journal of Pharmacology*, 3(5): 421-424.

Zeman, F.J. 1983. *Clinical Nutrition and Dietetics*. New York: McMillan Publishing Company.

Zuhra, C. F. 2006. *Flavor (Citarasa)*. (online). (<http://library.usu.ac.id>, diakses 20 April 2010).

## Lampiran 1

### PEMBUATAN LARUTAN FORMALIN INDUKSI (5%) dan UDANG PUTIH BERFORMALIN

#### I. Alat dan Bahan

1. Labu Volumetrik 1 l
2. Gelas ukur
3. Corong
4. Jerigen 5 l
5. Bak/tong plastik bertutup ukuran besar volume 10 liter
6. Udang Putih segar (dari pengepul tambak)
7. Formalin 37 % (Merck)
8. Aquadest

#### II. Cara Pembuatan Larutan Formalin 5%

1. Siapkan formalin 37% yang harus diambil untuk membuat formalin 5% sebanyak 5 liter dengan cara sebagai berikut:

Rumus pengenceran (HAM, 2008):

$$v_1 \cdot p_1 = v_2 \cdot p_2$$

Dimana:  $v$  = volume larutan dan  $p$  = persentase larutan (% v/v)

Jumlah formalin 37% untuk membuat larutan formalin 5% sebanyak 1000 ml adalah:

$$v_1 \cdot P_1 = v_2 \cdot P_2$$

$$v_1 \cdot 37\% = 1000 \text{ ml} \cdot 5\%$$

$$v_1 = 5.000 \text{ ml} \cdot \% : 37\% = 135, 135 \text{ ml} \approx 135 \text{ ml}$$

2. Dari hasil perhitungan di atas, ukur formalin 37% sebanyak 135 ml, kemudian tuangkan ke dalam labu volumetrik 1 l dan tambahkan aquades sampai mencapai batas volume pada labu. Catatan: pembuatan larutan formalin 5% dapat diulangi dengan cara apabila diperlukan.
3. Simpan larutan formalin 5% sebagai persediaan dalam jerigen bertutup.

#### III. Pembuatan Udang Berformalin

1. Bersihkan udang putih segar utuh dari kotoran, kemudian ditiriskan.
2. Timbang udang sebanyak 4 kg, kemudian memasukan ke dalam bak plastik.
3. Tuangkan larutan formalin 5% sampai merendam seluruh udang, kemudian tutup rapat dan biarkan terendam sampai 60 menit.
4. Setelah selesai direndam, udang ditiriskan dan siap digunakan untuk keperluan penelitian.

## Lampiran 2

### PEMBUATAN STOK DAN KONSENTRASI PERASAN BUAH BELIMBING WULUH

#### I. Alat dan Bahan

1. Blender atau Juicer
2. Botol Sirup dan Tutup
3. Penyaring
4. Wadah Penampung (Mangkuk Gelas/Stainless)
5. Gelas Ukur
6. Gelas Kimia
7. Buah Belimbing Wuluh
8. Aquades

#### II. Pembuatan Stok Perasan/Sari Buah Belimbing Wuluh

1. Pilih buah belimbing wuluh segar hasil pengumpulan dari pohon yang memiliki ukuran dan warna seragam ( $\pm$  p 6,8;  $\varnothing$  3 cm; kuning-kehijauan).
2. Timbang seluruh buah belimbing wuluh yang telah dipilih di atas, untuk menentukan berat asal sebelum diperas.
3. Hancurkan seluruh buah belimbing wuluh dengan alat blender/juicer tanpa menambahkan air, kemudian peras bubur buah untuk memisahkan sari dari ampas dengan alat saringan halus atau dengan kain peras. Catatan: jika menggunakan juicer, sari buah sudah dapat langsung ditampung dan dikumpulkan dalam botol.
4. Ukur volume semua sari buah belimbing wuluh yang diperoleh, kemudian simpan dalam botol bertutup dan simpan di dalam lemari es sebagai stok.

Tabel II.1 Hasil Pembuatan Sari Buag Belimbing Wuluh

No	Tanggal Pembuatan	Jumlah Buah (kg)	Jumlah Sari Buah (L)
1	7/7/2010	1,7	1,41
2	9/7/2010	4	2,71
3	12/7/2010	2	1,8
4	12/7/2010	6	4,5
5	17/8/2010	6	3,8
Jumlah		19,7	14,21
Rata-rata/kg			0,72 L/kg



III. Pembuatan Konsentrasi Perasan/Sari Buah Belimbing Wuluh Sesuai Perlakuan.

Tabel III.2 Cara Pembuatan Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh

NO	KONSENTRASI DAN LABEL	CARA MEMBUAT PER 1000 ml
I	0% (BW <sub>0</sub> )	Ukur aquades sebanyak 1000 ml, kemudian simpan dalam botol penampung bertutup dan beri label BW <sub>0</sub> .
II	20 (BW <sub>1</sub> )	Ukur 200 ml stok sari buah belimbing wuluh dengan gelas ukur, kemudian tuangkan ke dalam labu ukur 1 l dan tambahkan aquades sampai batas volume. Simpan dalam botol penampung bertutup dan beri label BW <sub>1</sub>
III	40 (BW <sub>2</sub> )	Ukur 400 ml stok sari buah belimbing wuluh dengan gelas ukur, kemudian tuangkan ke dalam labu ukur 1 l dan tambahkan aquades sampai batas volume. Simpan dalam botol penampung bertutup dan beri label BW <sub>2</sub> .
IV	60 (BW <sub>3</sub> )	Ukur 600 ml stok sari buah belimbing wuluh dengan gelas ukur, kemudian tuangkan ke dalam labu ukur 1 l dan tambahkan aquades sampai batas volume. Simpan dalam botol penampung bertutup dan beri label BW <sub>3</sub> .
V	80 (BW <sub>4</sub> )	Ukur 800 ml stok sari buah belimbing wuluh dengan gelas ukur, kemudian tuangkan ke dalam labu ukur 1 l dan tambahkan aquades sampai batas volume. Simpan dalam botol penampung bertutup dan beri label BW <sub>4</sub>

### Lampiran 3

#### NILAI pH SARI BUAH BELIMBING WULUH

##### I. Alat dan Bahan

1. pH Meter
2. Gelas ukur
3. Gelas kimia
4. Kertas Tissue/kain lap bersih
5. Sari buah dengan konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, dan 80%
6. Aquades

##### II. Pengukuran

1. Ukur larutan sari buah belimbing wuluh dari masing-masing konsentrasi yang sudah tersedia dari stok sebanyak 100 ml, kemudian tuangkan ke dalam gelas kimia.
2. Lakukan pengukuran pH masing-masing larutan sari buah belimbing wuluh di atas sebanyak dua kali pengukuran dengan menggunakan pH-meter.
3. Selama pengukuran larutan sari buah sambil digoyang dengan stirrer. Setiap kali mengukur konsentrasi yang berbeda, alat katoda harus dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan kertas tissue/kain lap bersih.
4. Cata hasil pengukuran pH pada table hasil pengukuran.

##### III. Hasil Pengukuran Nilai pH Sari Buah Belimbing Wuluh

Tabel III.1 Kadar pH Sari Buah Belimbing Wuluh

No. Ulangan	Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (% v/v)					
	0% (BW0)	20% (BW1)	40% (BW2)	60% (BW3)	80% (BW4)	100%
1	7,08	2,4	2,2	2,1	2,0	1,9
2	7,08	2,4	2,3	2,3	2,2	2,1
3	7,10	2,4	2,3	2,2	2,1	2,0
Jumlah	21,26	7,2	4,6	6,6	6,3	6,0
Rerata	7,09	2,4	2,3	2,2	2,1	2,0

Lampiran 4

KARAKETRISTIK SAMPEL PENELITIAN

I. Sampel Udang Putih

Table IV.1 Rerata Ukuran dan Berat Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*)

No. Ulangan	Ukuran Panjang (cm)	Berat (gram)
1	14,5	12,60
2	14,5	11,75
3	14,5	12,30
4	13,0	9,33
5	12,5	8,74
6	14,5	12,26
7	13,5	10,32
8	12,5	8,99
9	14,0	10,94
10	13,5	9,44
Jumlah	136,5	106,67
Rerata	13,65	10,67
Simpangan (SD)	0,85	1,5

Tabel IV.2 Karakteristik Fisik Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*)

Parameter	Karakteristik	
	Segar	Berformalin
Ukuran/Berat	P. 13,65 cm/14,28 g	P. 13,65 cm/14,28 g
Bagian Tubuh	Utuh tidak ada yang hilang (kepala, badan, ekor, kaki, mata, sungut, antene), lentur	Utuh tidak ada yang hilang (kepala, badan, ekor, kaki, mata, sungut, antene), kaku
Kulit Tubuh	Licin, segar, putih-gelap alami (tidak berubah menjadi merah muda)	Kesat, putih bersih
Keadaan Mata	Bulat, hitam-kebiruan, bening, bercahaya	Bulat, hitam kebiruan, bening tidak bercahaya
Bagian Daging	Empuk-lentur, bau amis alami	Kenyal kaku, bau menyengat
Noda di tubuh	Tidak ada bercak hitam di bagian kepala, sambungan ruas-ruas, kaki renang, sungut, dan ekor	Tidak ada bercak hitam di bagian kepala, sambungan ruas-ruas, kaki renang, sungut, dan ekor

## II. Sampel Belimbing Wuluh

Tabel IV.3 Rerata Ukuran Panjang (p) dan diameter (Ø) Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)

No. Ulangan	Panjang (cm)	Diameter (cm)
1	7	3
2	7	3
3	6,5	3
4	7	3
5	7	3
6	7	3
7	7	3
8	7	3
9	7	3
10	7	3
Jumlah	68	30
Rerata	6,8	3

Tabel IV.4 Nilai pH Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)

No. Ulangan	Konsentrasi Sari Buah Belimbing Wuluh (% v/v)					
	0% (BW0)	20% (BW1)	40% (BW2)	60% (BW3)	80% (BW4)	100%
1	7,08	2,4	2,2	2,1	2,0	1,9
2	7,08	2,4	2,3	2,3	2,2	2,1
3	7,10	2,4	2,3	2,2	2,1	2,0
Jumlah	21,26	7,2	4,6	6,6	6,3	6,0
Rerata	7,09	2,4	2,3	2,2	2,1	2,0

Tabel IV.5 Karakteristik Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)

Parametar	Karakteristik	
	Referensi*	Hasil Penelitian**
Umur	-	Tua
Bentuk	Bulat lonjong, berlekuk bersegi 5 tumpul	Bulat lonjong, berlekuk bersegi 5 tumpul,
Ukuran (panjang , p/diameter, Ø )	p. 4-10 cm	p. 6,8 cm; Ø 3 cm
Kulit Buah (tekstur, warna)	mengkilat, sangat tipis, lembut dan lengket, daging hijau	Mengkilat, sangat tipis, lembut dan Lengket, hijau kekuningan
Rasa	Sangat masam (pH 4.47)	Sangat masam (pH 2,0)

Table IV.6 Komposisi Kimia Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L)

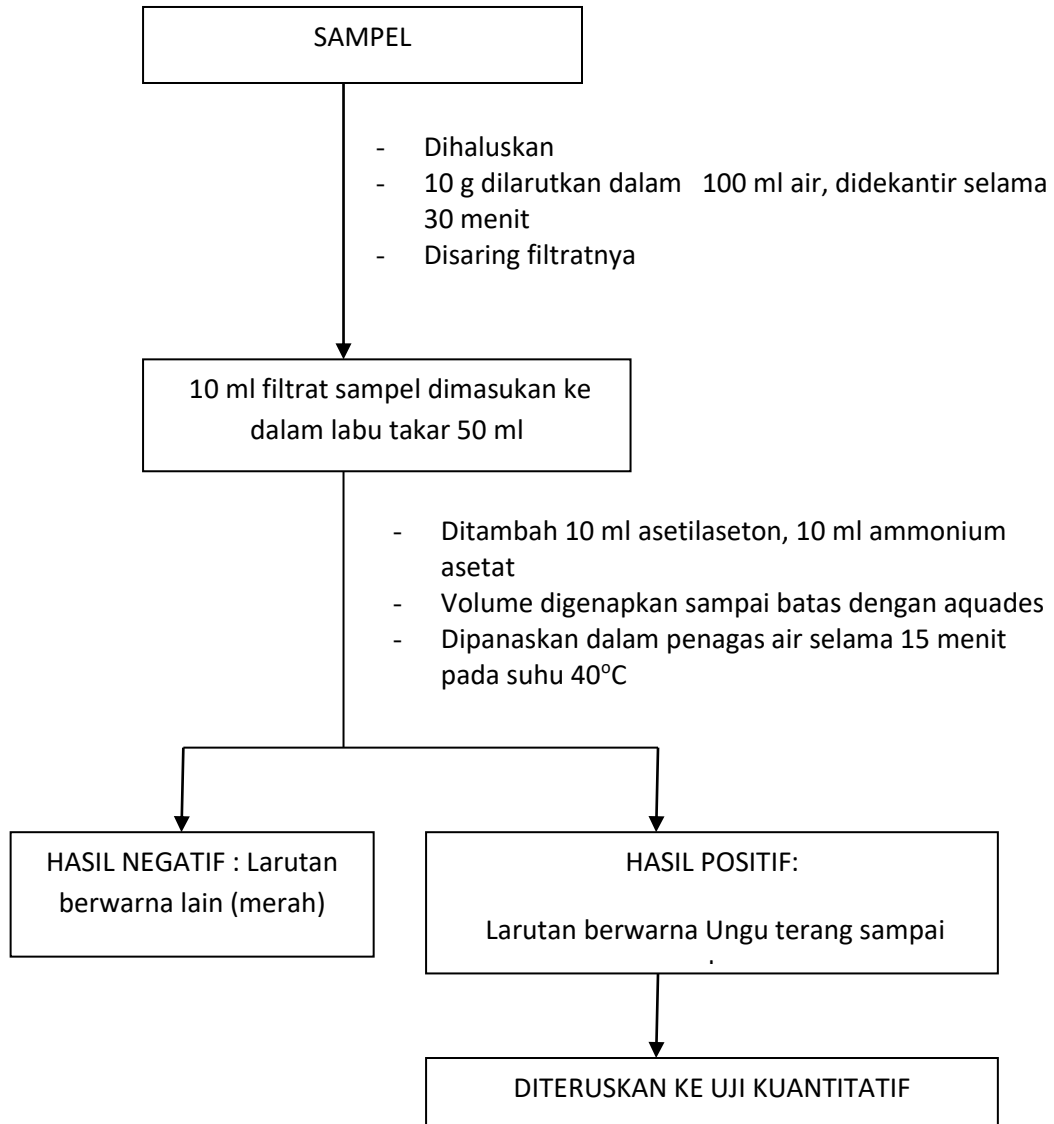
Komposisi Kimia	Kandungan*)
Air (g%)	100
Kalori (KKal)	39
Karbohidrat (g%)	9,63
Protein (g%)	0.07
Lemak (g%)	0
Vitamin A (SI%)	88.87
Vitamin C (mg%)	25.08
Asam Sitrat (mg%)	351.75
Oksalat (ppm)	28.83

\*) uji pendahuluan

Lampiran 5

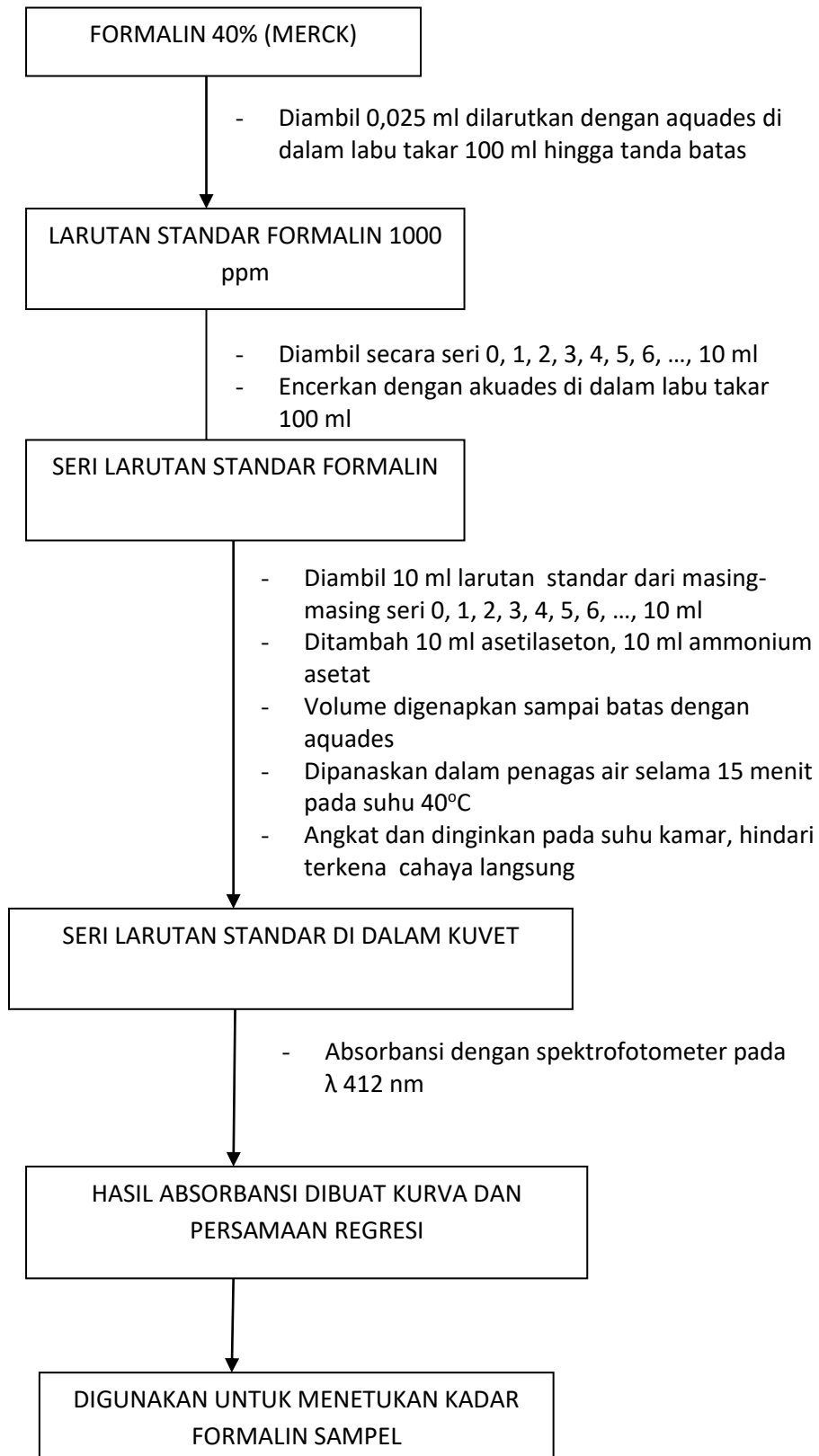
PENGUKURAN KADAR RESIDU FORMALIN UDANG PUTIH

I. Prosedur Uji Kualitatif Formalin

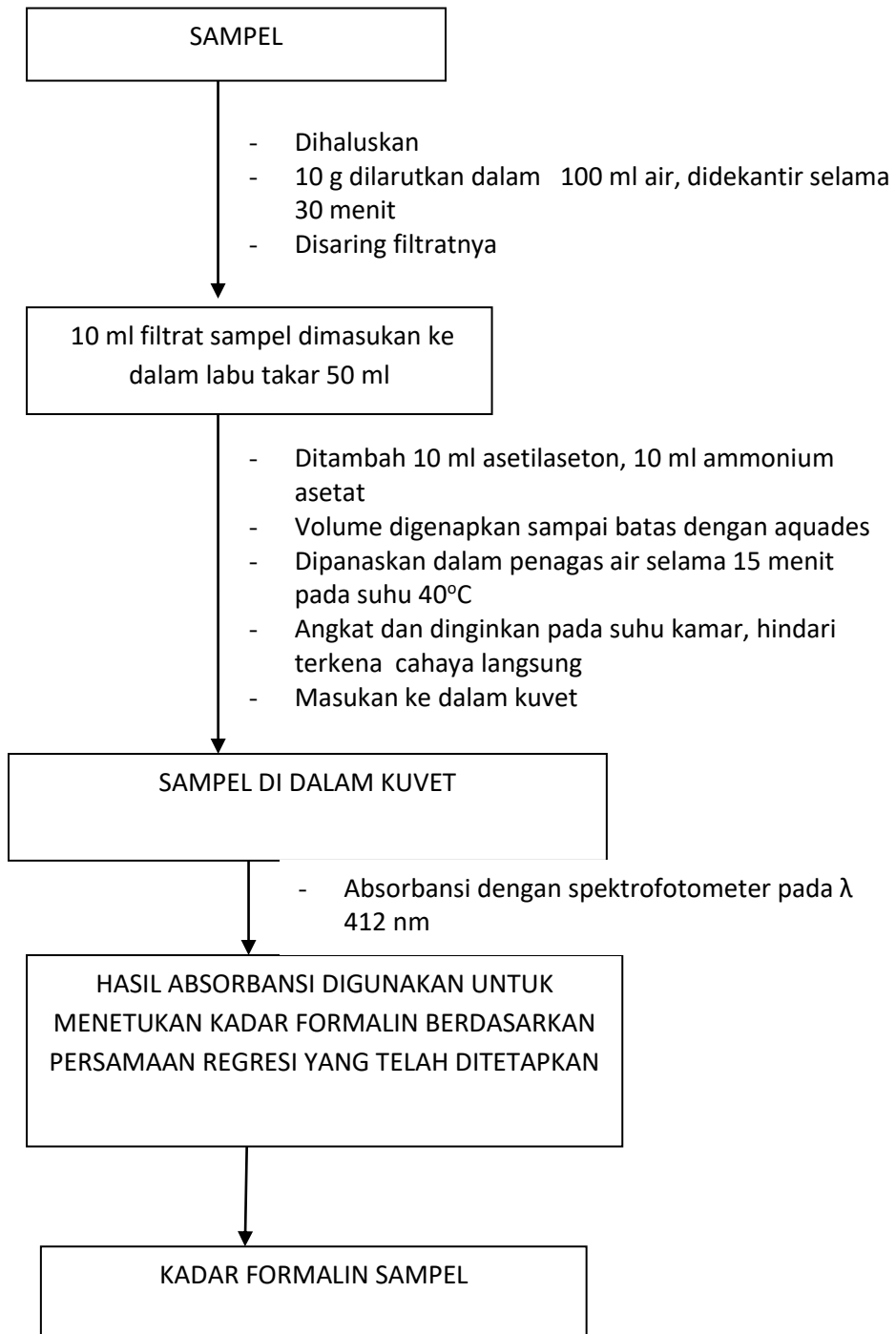


## II. Prosedur Uji Kuantitatif Formalin

### 1. Pembuatan Larutan dan Kurva Standar

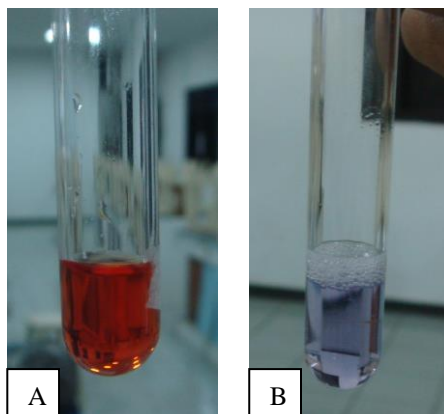


## 2. Prosedur Penentuan Kadar Formalin Sampel





### III. Hasil Uji Kualitatif



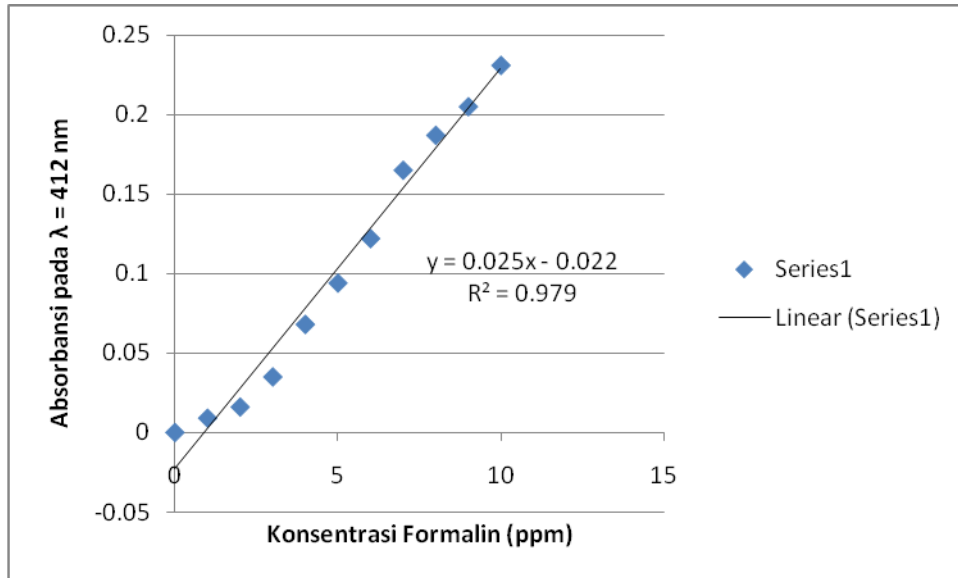
Gambar V.1 Hasil Uji Kualitatif Formalin. A. Warna Merah Hasil Reaksi Negatif; B. Warna Ungu Hasil Reaksi Positif

### IV. Hasil Uji Kuantitatif

#### 1. Pembuatan Kurva Standar Kadar Formalin

Tabel V.1 Hasil Pengukuran Absorbansi Larutan Standar pada Panjang Gelombang ( $\lambda$ ) 412 nm

Konsentrasi Larutan Stantard (ppm)	Absorbansi ( $\lambda = 412$ nm)
0	0
1	0.009
2	0.016
3	0.035
4	0.068
5	0.094
6	0.122
7	0.165
8	0.187
9	0.205
10	0.231



Gambar V.2 Kurva Standar Kadar Formalin

## 2. Kadar Residu Formalin

Tabel V.2 Data Hasil Pengukuran Kadar Residu Formalin Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*)

Sampel	Ulangan	Massa Sampel	Absorbansi	Formalin (ug/g)	Formalin (%)
US 1	1	10.005	0.000	Negatif	Negatif
	2	10.013	0.000	Negatif	Negatif
US 2	1	10.009	0.000	Negatif	Negatif
	2	10.017	0.000	Negatif	Negatif
US 3	1	10.002	0.000	Negatif	Negatif
	2	10.008	0.000	Negatif	Negatif
US 4	1	10.003	0.000	Negatif	Negatif
	2	10.005	0.000	Negatif	Negatif
UF 1	1	10.008	0.266	11474.717	1.1475
	2	10.012	0.263	11350.991	1.1351
UF 2	1	10.006	0.286	12271.762	1.2272
	2	10.007	0.279	11992.401	1.1992
UF 3	1	10.012	0.259	11192.136	1.1192
	2	10.019	0.253	10946.200	1.0946
UF 4	1	10.002	0.244	10607.024	1.0607
	2	10.016	0.238	10354.010	1.0354
ROBWO 1	1	10.007	0.173	7780.637	0.7781
	2	10.006	0.168	7582.727	0.7583
ROBWO 2	1	10.012	0.188	8372.458	0.8372
	2	10.009	0.179	8017.436	0.8017

ROBW0 3	1	10.003	0.153	6988.758	0.6989
	2	10.021	0.166	7492.020	0.7492
ROBW0 4	1	10.018	0.197	8724.653	0.8725
	2	10.003	0.203	8976.234	0.8976
ROBW1 1	1	10.017	0.144	6621.745	0.6622
	2	10.009	0.132	6150.330	0.6150
ROBW1 2	1	10.003	0.116	5518.027	0.5518
	2	10.017	0.109	5232.457	0.5232
ROBW1 3	1	10.005	0.155	7066.844	0.7067
	2	10.009	0.162	7342.100	0.7342
ROBW1 4	1	10.012	0.129	6029.345	0.6029
	2	10.003	0.123	5796.273	0.5796
ROBW2 1	1	10.004	0.069	3649.435	0.3649
	2	10.012	0.058	3209.667	0.3210
ROBW2 2	1	10.018	0.043	2612.395	0.2612
	2	10.002	0.038	2417.807	0.2418
ROBW2 3	1	10.016	0.027	1977.750	0.1978
	2	10.003	0.031	2139.318	0.2139
ROBW2 4	1	10.007	0.044	2655.000	0.2655
	2	10.012	0.039	2455.106	0.2455
ROBW3 1	1	10.004	0.033	1109.298	0.1109
	2	10.009	0.019	830.664	0.0831
ROBW3 2	1	10.013	0.023	909.752	0.0910
	2	10.002	0.026	970.382	0.0970
ROBW3 3	1	10.017	0.031	1068.164	0.1068
	2	10.002	0.028	1010.136	0.1010
ROBW3 4	1	10.018	0.019	829.918	0.0830
	2	10.003	0.022	890.786	0.0891
ROBW4 1	1	10.012	0.013	711.274	0.0711
	2	10.006	0.016	771.307	0.0771
ROBW4 2	1	10.004	0.011	672.097	0.0672
	2	10.018	0.01	651.313	0.0651
ROBW4 3	1	10.009	0.009	632.036	0.0632
	2	10.013	0.012	691.348	0.0691
ROBW4 4	1	10.007	0.017	791.096	0.0791
	2	10.002	0.013	711.985	0.0712
R1BW0 1	1	10.015	0.182	4065.869	0.4066
	2	10.003	0.177	3971.373	0.3971
R1BW0 2	1	10.007	0.172	3870.452	0.3870
	2	10.006	0.163	3692.019	0.3692
R1BW0 3	1	10.014	0.155	3530.247	0.3530
	2	10.005	0.159	3612.905	0.3613
R1BW0 4	1	10.003	0.189	4209.870	0.4210
	2	10.008	0.193	4287.226	0.4287

R1BW1 1	1	10.011	0.157	3571.022	0.3571
	2	10.009	0.146	3353.245	0.3353
R1BW1 2	1	10.013	0.125	2934.952	0.2935
	2	10.006	0.121	2857.530	0.2858
R1BW1 3	1	10.007	0.119	2817.511	0.2818
	2	10.006	0.123	2897.268	0.2897
R1BW1 4	1	10.002	0.115	2739.412	0.2739
	2	10.019	0.118	2794.293	0.2794
R1BW2 1	1	10.003	0.083	2103.146	0.2103
	2	10.004	0.079	2023.445	0.2023
R1BW2 2	1	10.002	0.056	1566.685	0.1567
	2	10.018	0.063	1703.097	0.1703
R1BW2 3	1	10.003	0.042	1288.282	0.1288
	2	10.003	0.048	1407.530	0.1408
R1BW2 4	1	10.017	0.036	1167.399	0.1167
	2	10.009	0.031	1069.018	0.1069
R1BW3 1	1	10.013	0.019	830.332	0.0830
	2	10.002	0.018	811.369	0.0811
R1BW3 2	1	10.014	0.016	770.690	0.0771
	2	10.016	0.013	710.990	0.0711
R1BW3 3	1	10.009	0.021	870.390	0.0870
	2	10.007	0.024	930.164	0.0930
R1BW3 4	1	10.013	0.02	850.187	0.0850
	2	10.019	0.019	829.835	0.0830
R1BW4 1	1	10.005	0.016	385.692	0.0386
	2	10.012	0.012	345.708	0.0346
R1BW4 2	1	10.006	0.011	335.981	0.0336
	2	10.012	0.013	355.637	0.0356
R1BW4 3	1	10.019	0.009	315.702	0.0316
	2	10.002	0.008	306.301	0.0306
R1BW4 4	1	10.017	0.015	375.306	0.0375
	2	10.003	0.012	346.019	0.0346

Keterangan:

US = udang segar

UF = udang berformalin

BW0 = udang dengan aquades tanpa perasan buah belimbing wuluh

BW1 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 20%

BW2 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 40%

BW3 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 60%

BW4 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 80%

Tabel V.3 Tabulasi Data Kadar Residu Formalin Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*)

PERLAKUAN BW (%)	KADAR RESIDU FORMALIN (%)				$\Sigma X$	$\mu$	SD
	I	II	III	IV			
R0							
US	-	-	-	-	-	-	-
UF	1.141	1.213	1.107	1.048	4.509	1.127	0.069
BW0	0.768	0.758	0.778	0.749	3.054	0.763	0.012
BW1	0.523	0.538	0.552	0.563	2.176	0.544	0.017
BW2	0.214	0.198	0.206	0.205	0.823	0.206	0.007
BW3	0.097	0.094	0.104	0.086	0.381	0.095	0.007
BW4	0.074	0.066	0.066	0.075	0.281	0.070	0.005
$\Sigma X$	1.676	1.654	1.706	1.678	6.714		
$\mu$	0.335	0.331	0.341	0.336			
SD	0.301	0.304	0.310	0.304			
R1							
BW0	0.361	0.378	0.357	0.353	1.449	0.362	0.011
BW1	0.294	0.290	0.286	0.277	1.147	0.287	0.007
BW2	0.141	0.163	0.135	0.129	0.568	0.142	0.015
BW3	0.082	0.074	0.090	0.084	0.330	0.083	0.007
BW4	0.037	0.035	0.031	0.036	0.139	0.035	0.003
$\Sigma X$	0.915	0.940	0.899	0.879	3.632		
$\mu$	0.183	0.188	0.180	0.176			
SD	0.139	0.145	0.137	0.134			
R2							
BW0	0.029	0.031	0.027	0.033	0.121	0.030	0.003
BW1	0.025	0.022	0.019	0.023	0.090	0.023	0.003
BW2	0.018	0.016	0.019	0.017	0.070	0.018	0.001
BW3	0.013	0.011	0.014	0.012	0.050	0.012	0.001
BW4	0.010	0.008	0.011	0.008	0.037	0.009	0.001
$\Sigma X$	0.094	0.089	0.090	0.094	0.367		
$\mu$	0.019	0.018	0.018	0.019			
SD	0.008	0.009	0.006	0.010			

Keterangan:

US = udang segar

UF = udang berformalin

R0 = tanpa perebusan

R1 = perebusan selama 30 menit

R2 = perebusan selama 45 menit

BW0 = udang dengan aquades tanpa perasan buah belimbing wuluh

BW1 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 20%

BW2 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 40%

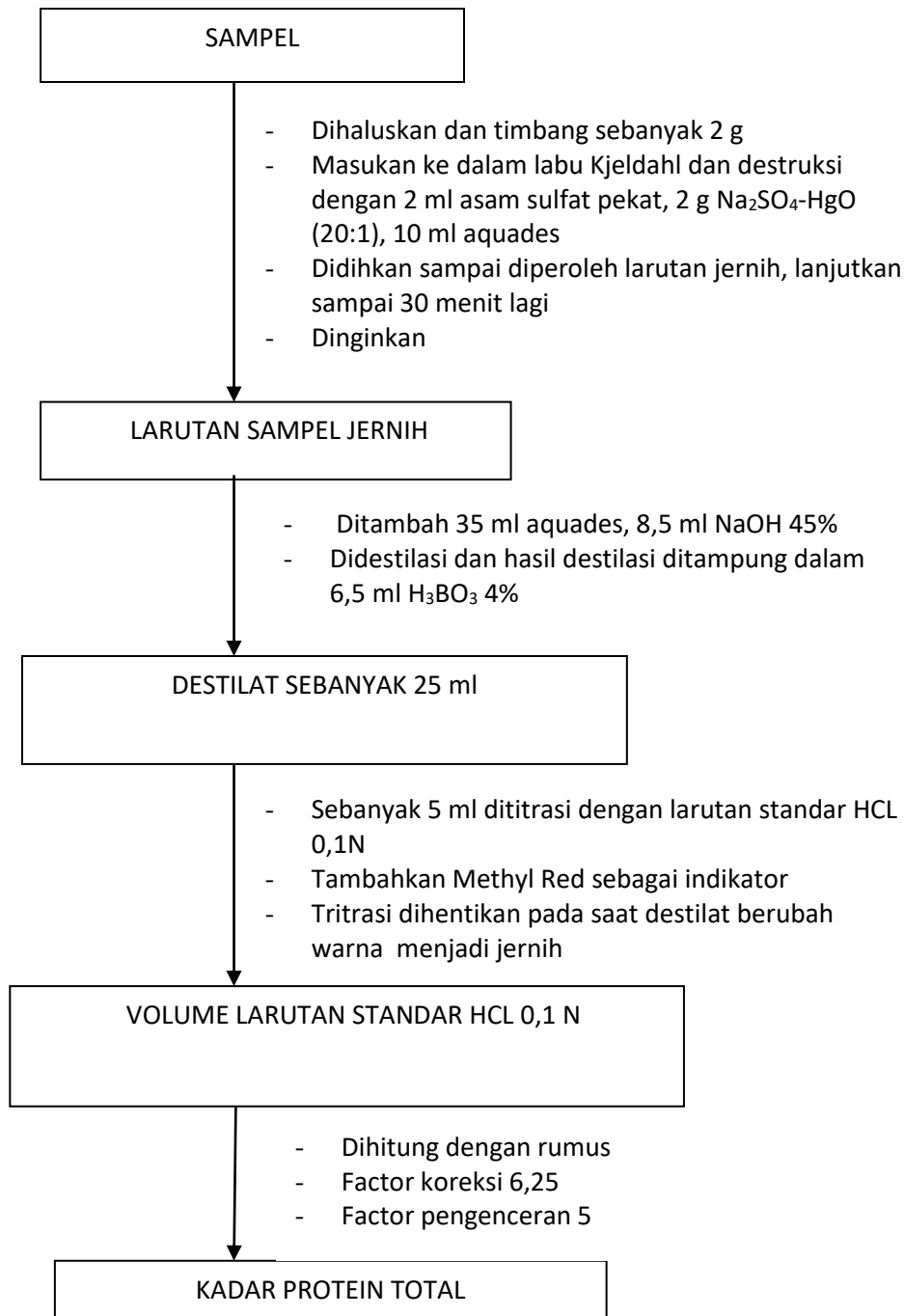
BW3 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 60%

BW4 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 80%

## Lampiran 6

### PENGUKURAN KADAR PROTEIN TOTAL UDANG PUTH

#### I. Porsedur Uji Kadar Protein Total



## II. Rumus Perhitungan Kadar Protein Total:

$$\text{Total Nitrogen (\%)} = \frac{\text{ml titran X N HCl X fp X 14,008}}{\text{Bobot sampel X 1000}} \times 100\%$$

Dimana, N HCl = 0,1 N

Fp = Faktor pengenceran sebesar 5 dari 25 ml.

$$\text{Kadar Protein Total (g\%)} = \text{Total Nitrogen} \times 6,25$$

## III. Data Hasil Pengukuran Kadar Protein Total

Tabel VI.1 Kadar Protein Total Udang Putih

Sampel	Ulangan	Massa Sampel	titrasi	Prot (g%)
US 1	1	2.003	10.6	23.166
	2	2.006	10.7	23.350
US 2	1	2.004	10.8	23.591
	2	2.012	10.7	23.280
US 3	1	2.008	10.6	23.108
	2	2.001	10.5	22.970
US 4	1	2.015	10.6	23.028
	2	2.005	10.6	23.143
UF 1	1	2.013	9.6	20.876
	2	2.008	9.7	21.146
UF 2	1	2.002	9.8	21.428
	2	2.001	9.8	21.439
UF 3	1	2.012	9.1	19.799
	2	2.003	9.2	20.106
UF 4	1	2.017	9.4	20.401
	2	2.006	9.5	20.731
ROBWO 1	1	2.011	9.6	20.897
	2	2.009	9.5	20.700
ROBWO 2	1	2.007	9.4	20.502
	2	2.003	9.5	20.762
ROBWO 3	1	2.006	9.7	21.167
	2	2.008	9.6	20.928
ROBWO 4	1	2.012	9.2	20.016
	2	2.003	9.3	20.325
ROBW1 1	1	2.014	9.8	21.301
	2	2.002	9.9	21.647

ROBW1 2	1	2.011	9.7	21.115
	2	2.01	9.9	21.561
ROBW1 3	1	2.006	10.1	22.040
	2	2.015	10	21.725
ROBW1 4	1	2.004	10	21.844
	2	2.012	10.2	22.192
ROBW2 1	1	2.007	10.3	22.465
	2	2.006	10.2	22.258
ROBW2 2	1	2.003	10.4	22.729
	2	2.014	10.2	22.170
ROBW2 3	1	2.002	10.2	22.303
	2	2.008	10.2	22.236
ROBW2 4	1	2.001	10.5	22.970
	2	2.003	10.4	22.729
ROBW3 1	1	2.001	10.7	23.408
	2	2.012	10.6	23.062
ROBW3 2	1	2.005	10.5	22.925
	2	2.002	10.5	22.959
ROBW3 3	1	2.016	10.4	22.582
	2	2.003	10.4	22.729
ROBW3 4	1	2.004	10.5	22.936
	2	2.001	10.5	22.970
ROBW4 1	1	2.015	10.6	23.028
	2	2.008	10.5	22.890
ROBW4 2	1	2.003	10.5	22.947
	2	2.012	10.5	22.845
ROBW4 3	1	2.004	10.7	23.373
	2	2.001	10.6	23.189
ROBW4 4	1	2.017	10.6	23.005
	2	2.003	10.5	22.947
R1BW0 1	1	2.006	3.6	7.856
	2	2.002	3.7	8.090
R1BW0 2	1	2.014	3.7	8.042
	2	2.002	3.8	8.309
R1BW0 3	1	2.018	3.8	8.243
	2	2.002	3.7	8.090
R1BW0 4	1	2.001	3.7	8.094
	2	2.001	3.7	8.094
R1BW1 1	1	2.015	3.9	8.473
	2	2.002	3.8	8.309
R1BW1 2	1	2.014	3.9	8.477
	2	2.003	4	8.742
R1BW1 3	1	2.008	3.9	8.502
	2	2.006	3.9	8.511



R1BW1 4	1	2.002	4.1	8.965
	2	2.017	4	8.681
R1BW2 1	1	2.006	4.3	9.383
	2	2.012	4.4	9.573
R1BW2 2	1	2.008	4.6	10.028
	2	2.012	4.5	9.791
R1BW2 3	1	2.003	4.6	10.053
	2	2.014	4.6	9.998
R1BW2 4	1	2.007	4.6	10.033
	2	2.005	4.6	10.043
R1BW3 1	1	2.003	5.2	11.364
	2	2.016	5.1	11.074
R1BW3 2	1	2.008	5	10.900
	2	2.002	5.2	11.370
R1BW3 3	1	2.017	5.3	11.503
	2	2.002	5.1	11.151
R1BW3 4	1	2.015	5	10.862
	2	2.003	5.1	11.146
R1BW4 1	1	2.005	5.4	11.790
	2	2.001	5.5	12.032
R1BW4 2	1	2.014	5.4	11.737
	2	2.005	5.4	11.790
R1BW4 3	1	2.006	5.3	11.566
	2	2.002	5.4	11.807
R1BW4 4	1	2.007	5.5	11.996
	2	2.009	5.5	11.984
R2BW0 1	1	2.018	3.8	8.243
	2	2.006	3.7	8.074
R2BW0 2	1	2.004	3.7	8.082
	2	2.017	3.8	8.247
R2BW0 3	1	2.002	3.8	8.309
	2	2.018	3.8	8.243
R2BW0 4	1	2.006	3.7	8.074
	2	2.004	3.8	8.301
R2BW1 1	1	2.02	4	8.668
	2	2.011	4.1	8.925
R2BW1 2	1	2.017	4.1	8.898
	2	2.013	4.2	9.133
R2BW1 3	1	2.005	4.2	9.170
	2	2.004	4.2	9.174
R2BW1 4	1	2.016	4.2	9.120
	2	2.013	4.3	9.351
R2BW2 1	1	2.017	4.6	9.983
	2	2.015	4.7	10.211

R2BW2 2	1	2.014	4.6	9.998
	2	2.019	4.5	9.757
R2BW2 3	1	2.005	4.5	9.825
	2	2.016	4.6	9.988
R2BW2 4	1	2.002	4.5	9.840
	2	2.014	4.5	9.781
R2BW3 1	1	2.008	4.9	10.682
	2	2.003	4.8	10.490
R2BW3 2	1	2.005	4.7	10.261
	2	2.014	4.7	10.216
R2BW3 3	1	2.006	4.8	10.475
	2	2.003	4.9	10.709
R2BW3 4	1	2.008	4.8	10.464
	2	2.002	4.7	10.277
R2BW4 1	1	2.012	4.9	10.661
	2	2.004	5	10.922
R2BW4 2	1	2.012	5.1	11.096
	2	2.006	5.2	11.347
R2BW4 3	1	2.007	4.9	10.687
	2	2.012	5	10.878
R2BW4 4	1	2.003	5.1	11.146
	2	2.014	5.1	11.085

Tabel VI.2 Tabulasi Data Kadar Protein Total Udang Putih

PERLAKUAN BW (%)	KADAR PROTEIN (%)				$\Sigma X$	$\mu$	SD
	I	II	III	IV			
R0							
US	23.258	23.436	23.039	23.085	92.818	23.205	0.181
UF	21.011	21.434	19.953	20.566	82.964	20.741	0.634
BW0	20.799	20.632	20.928	20.871	83.230	20.808	0.128
BW1	20.974	21.338	21.225	21.044	84.581	21.145	0.166
BW2	22.362	22.450	22.270	22.850	89.932	22.483	0.255
BW3	23.235	22.942	22.656	22.953	91.786	22.947	0.236
BW4	22.959	22.896	23.281	22.976	92.112	23.028	0.172
$\Sigma X$	110.329	110.258	110.360	110.694	441.641		
$\mu$	22.066	22.052	22.072	22.139			
SD	1.124	1.023	0.983	1.081			
R1							
BW0	7.973	8.176	8.167	8.094	32.410	8.103	0.094
BW1	8.391	8.610	8.507	8.823	34.331	8.583	0.183
BW2	9.478	9.910	10.026	10.038	39.452	9.863	0.263
BW3	11.219	11.135	11.327	11.004	44.685	11.171	0.136

BW4	11.911	11.764	11.687	11.990	47.352	11.838	0.137
$\Sigma X$	48.972	49.595	49.714	49.949	198.230		
$\mu$	9.794	9.919	9.943	9.990			
SD	1.725	1.552	1.595	1.580			
R2							
BW0	8.159	8.165	8.276	8.188	32.788	8.197	0.054
BW1	8.797	9.016	9.172	9.236	36.221	9.055	0.195
BW2	10.097	9.878	9.907	9.811	39.693	9.923	0.123
BW3	10.586	10.239	10.592	10.371	41.788	10.447	0.173
BW4	10.792	11.222	10.783	11.116	43.913	10.978	0.225
$\Sigma X$	48.431	48.520	48.730	48.722	194.403		
$\mu$	9.686	9.704	9.746	9.744			
SD	1.154	1.169	1.038	1.113			

Keterangan:

US = udang segar

UF = udang berformalin

R0 = tanpa perebusan

R1 = perebusan selama 30 menit

R2 = perebusan selama 45 menit

BW0 = udang dengan aquades tanpa perasan buah belimbing wuluh

BW1 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 20%

BW2 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 40%

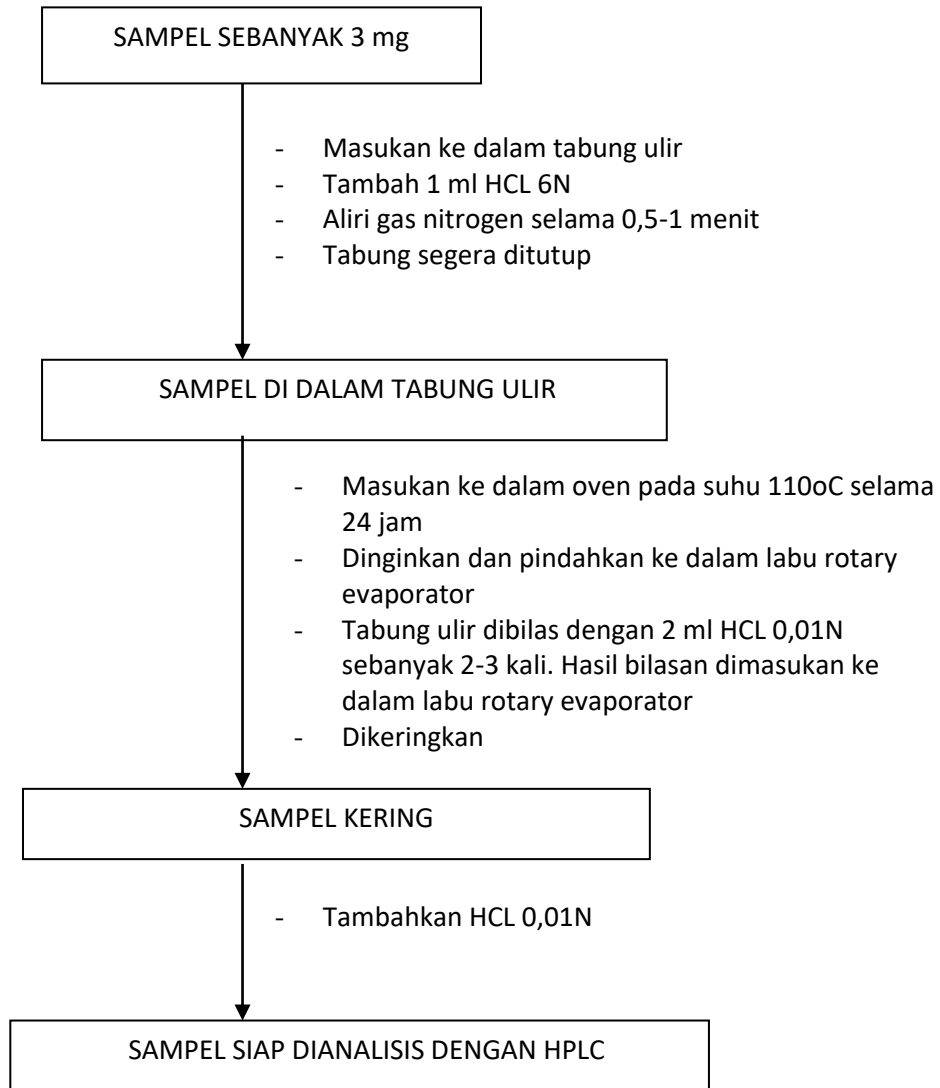
BW3 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 60%

BW4 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 80%

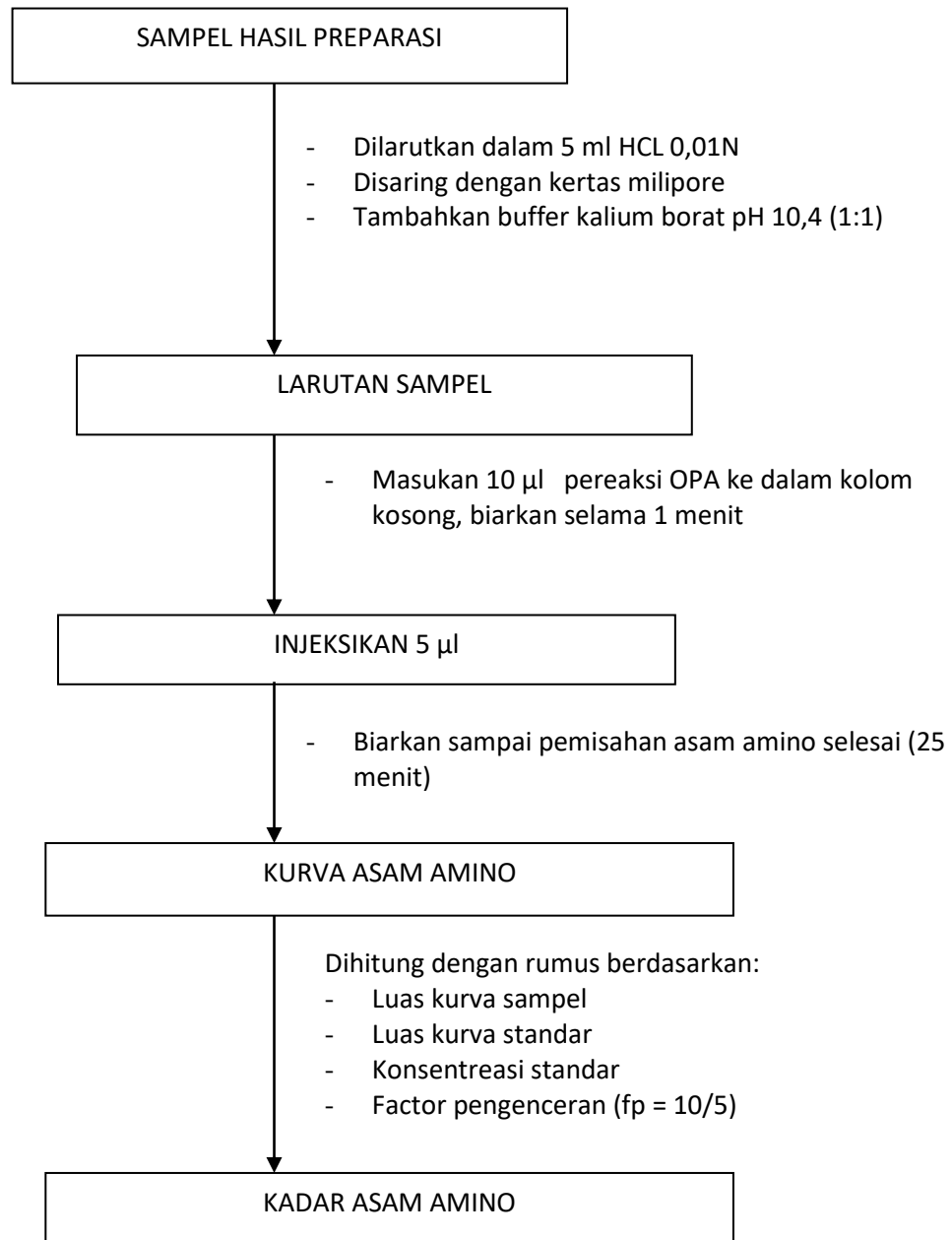
Lampiran 7

PENGUKURAN KADAR ASAM AMINO UDANG PUTIH

I. Prosedur Preparasi Sampel

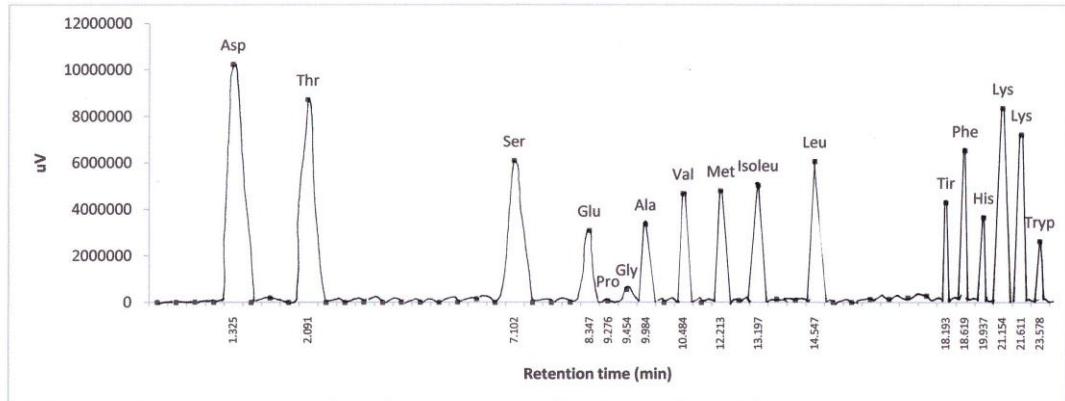


## II. Prosedur Analisis Kadar Asam Amino



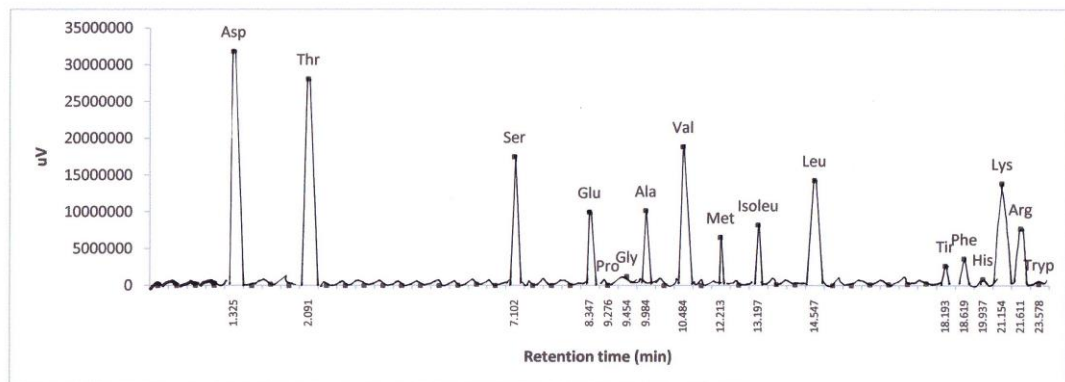
### III. Data Hasil Pengukuran Asam Amino

Standar asam amino



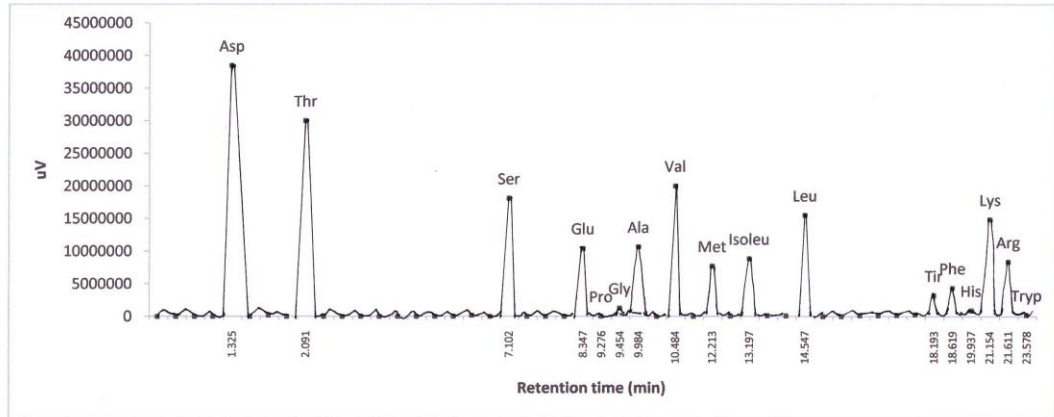
Gambar VII.1 Kurva Standar Asam Amino

Sampel 1



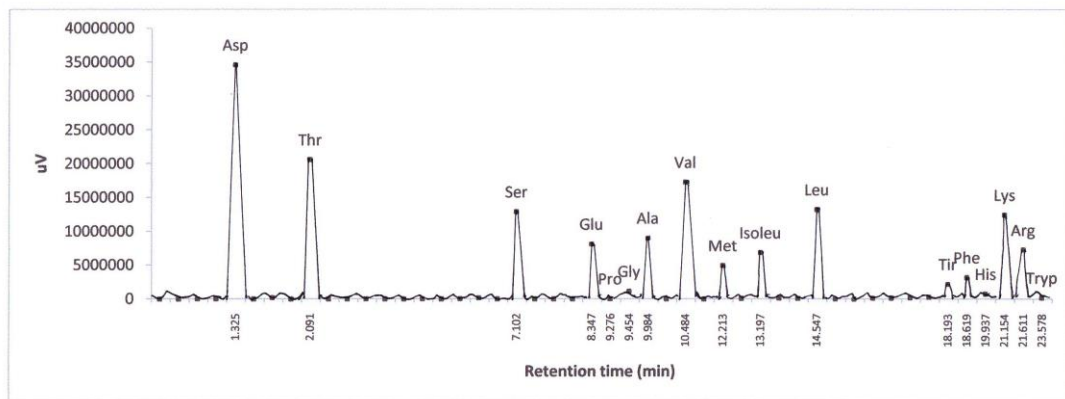
Gambar VII.2 Kurva Sampel 1 Asam Amino

Sampel 2



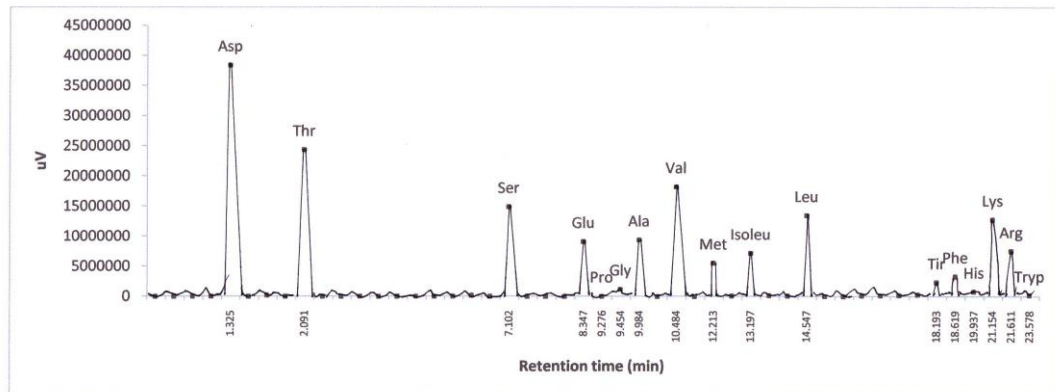
Gambar VII.3 Kurva Sampel 2 Asam Amino

Sampel 3



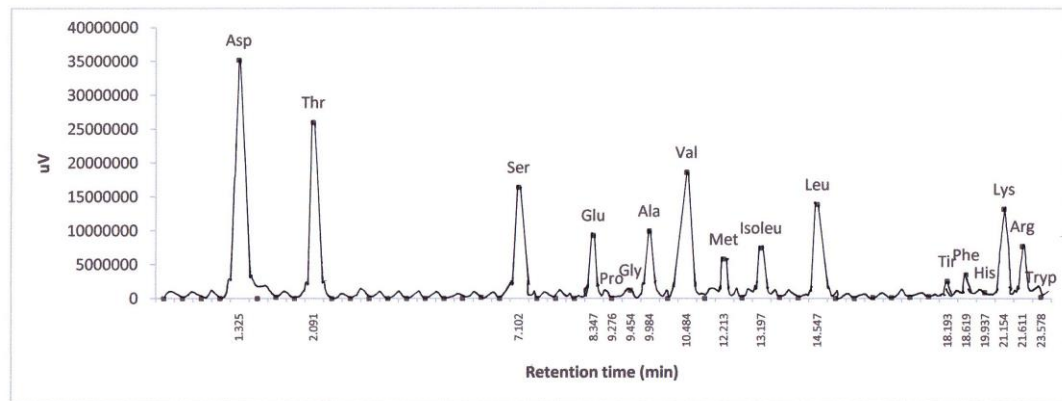
Gambar VII.4 Kurva Sampel 3 Asam Amino

Sampel 4



Gambar VII.5 Kurva Sampel 4 Asam Amino

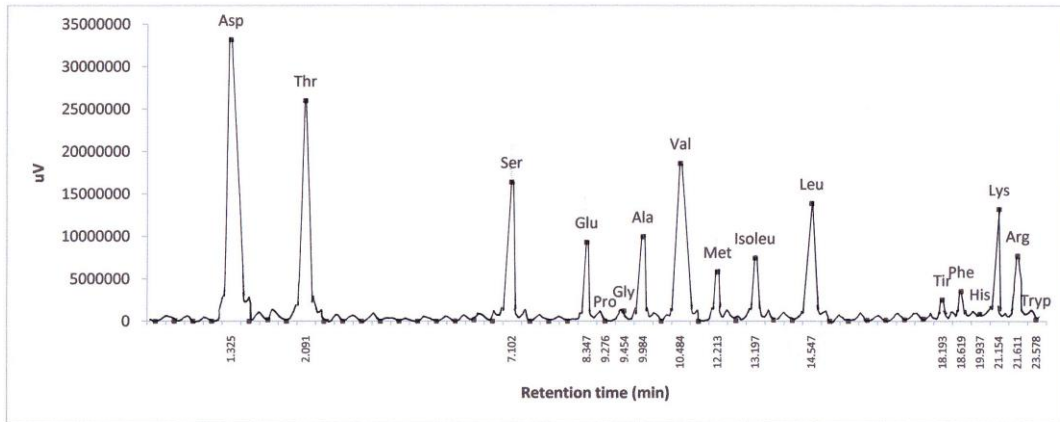
Sampel 5



Gambar VII.6 Kurva Sampel 5 Asam Amino

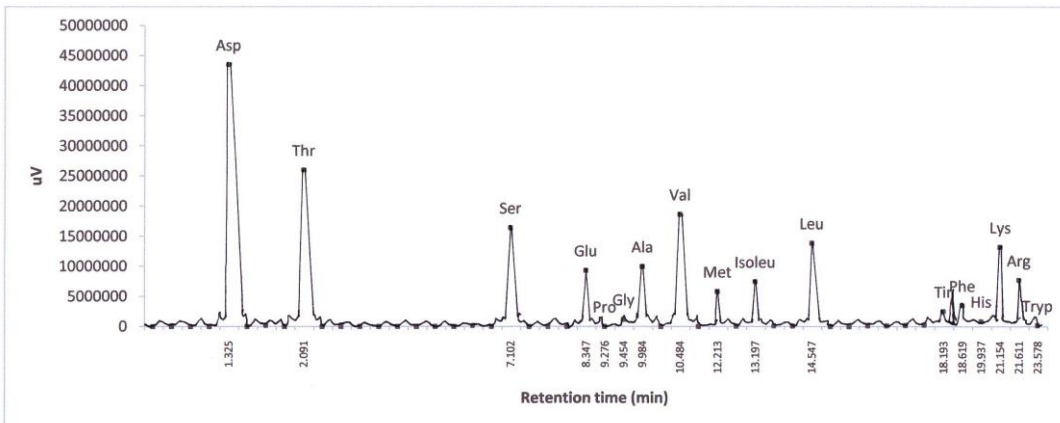


Sampel 6



Gambar VII.7 Kurva Sampel 6 Asam Amino

Sampel 7



Gambar VII.8 Kurva Sampel 7 Asam Amino

#### IV. Rumus Perhitungan Kadar Asam Amino

$$\text{Kadar Asam Amino (g/100 g)} = \frac{\text{Luas Puncak sampel VII Konsentrasi Standar VII fp}}{\text{Luas Puncak Standar}}$$

Diman, fp = factor pengenceran 10/5

Tabel VII.1 Data Kadar masing-masing Jenis Asam Amino Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*)

Asparagin (g/100 g)

Sample	Ulangan	Luas Kurva Sampel	Luas Kurva Standard	Konsentrasi standard	Kadar Asparagin (g/100)
UF A	1	13.33	50.23	20	10.615
	2	13.42	50.23	20	10.687
US A	1	14.76	50.23	20	11.754
	2	14.39	50.23	20	11.459
BW0 II A	1	11.38	50.23	20	9.062
	2	11.46	50.23	20	9.126
BW1 IV A	1	11.75	50.23	20	9.357
	2	11.86	50.23	20	9.445
BW2 IA	1	12.44	50.23	20	9.906
	2	12.31	50.23	20	9.803
BW3 IV A	1	12.89	50.23	20	10.265
	2	12.72	50.23	20	10.129
BW4 II A	1	13.11	50.23	20	10.440
	2	13.28	50.23	20	10.575

Treonin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpl	Luas kurva stnd	Kons std	Treonin (g/100)
UF A	1	3.22	25.92	20	4.969
	2	3.36	25.92	20	5.185
US A	1	3.44	25.92	20	5.309
	2	3.49	25.92	20	5.386
BW0 II A	1	2.36	25.92	20	3.642
	2	2.49	25.92	20	3.843
BW1 IV A	1	2.79	25.92	20	4.306
	2	2.89	25.92	20	4.460

BW2 IA	1	2.98	25.92	20	4.599
	2	3.02	25.92	20	4.660
BW3 IV A	1	3.09	25.92	20	4.769
	2	3.13	25.92	20	4.830
BW4 II A	1	3.26	25.92	20	5.031
	2	3.31	25.92	20	5.108

Serin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smp1	Luas kurva stnd	Kons std	Serin (g/100)
UF A	1	2.87	21.57	20	5.322
	2	2.81	21.57	21.57	5.620
US A	1	2.97	21.57	21.57	5.940
	2	3.03	21.57	21.57	6.060
BW0 II A	1	2.11	21.57	21.57	4.220
	2	2.09	21.57	21.57	4.180
BW1 IV A	1	2.44	21.57	21.57	4.880
	2	2.39	21.57	21.57	4.780
BW2 IA	1	2.69	21.57	21.57	5.380
	2	2.73	21.57	21.57	5.460
BW3 IV A	1	2.88	21.57	21.57	5.760
	2	2.79	21.57	21.57	5.580
BW4 II A	1	2.93	21.57	21.57	5.860
	2	2.91	21.57	21.57	5.820

Asam Glutamat (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smp1	Luas kurva stnd	Kons std	Asam Glutamat (g/100)
UF A	1	3.22	12.49	20	10.312
	2	3.28	12.49	20	10.504
US A	1	3.37	12.49	20	10.793
	2	3.44	12.49	20	11.017
BW0 II A	1	2.62	12.49	20	8.391
	2	2.79	12.49	20	8.935
BW1 IV A	1	2.94	12.49	20	9.416
	2	2.89	12.49	20	9.255
BW2 IA	1	3.01	12.49	20	9.640
	2	3.08	12.49	20	9.864
BW3 IV A	1	3.18	12.49	20	10.184
	2	3.13	12.49	20	10.024
BW4 II A	1	3.24	12.49	20	10.376
	2	3.22	12.49	20	10.312

Prolin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpl	Luas kurva stnd	Kons std	Prolin (g/100)
UF A	1	0.38	7.89	20	1.926
	2	0.32	7.89	20	1.622
US A	1	0.46	7.89	20	2.332
	2	0.41	7.89	20	2.079
BW0 II A	1	0.18	7.89	20	0.913
	2	0.19	7.89	20	0.963
BW1 IV A	1	0.23	7.89	20	1.166
	2	0.21	7.89	20	1.065
BW2 IA	1	0.28	7.89	20	1.420
	2	0.29	7.89	20	1.470
BW3 IV A	1	0.31	7.89	20	1.572
	2	0.35	7.89	20	1.774
BW4 II A	1	0.36	7.89	20	1.825
	2	0.34	7.89	20	1.724

Glisin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpl	Luas kurva stnd	Kons std	Glisin (g/100)
UF A	1	2.20	18.76	20	4.691
	2	2.19	18.76	20	4.670
US A	1	2.28	18.76	20	4.861
	2	2.25	18.76	20	4.797
BW0 II A	1	2.03	18.76	20	4.328
	2	1.98	18.76	20	4.222
BW1 IV A	1	2.12	18.76	20	4.520
	2	2.09	18.76	20	4.456
BW2 IA	1	2.16	18.76	20	4.606
	2	2.15	18.76	20	4.584
BW3 IV A	1	2.19	18.76	20	4.670
	2	2.2	18.76	20	4.691
BW4 II A	1	2.23	18.76	20	4.755
	2	2.21	18.76	20	4.712

Alanin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpl	Luas kurva stnd	Kons std	Alanin (g/100)
UF A	1	3.03	23.72	20	5.110
	2	3.06	23.72	20	5.160
US A	1	3.18	23.72	20	5.363
	2	3.17	23.72	20	5.346
BW0 II A	1	2.68	23.72	20	4.519

	2	2.63	23.72	20	4.435
BW1 IV A	1	2.79	23.72	20	4.705
	2	2.83	23.72	20	4.772
BW2 IA	1	2.97	23.72	20	5.008
	2	2.93	23.72	20	4.941
BW3 IV A	1	3.03	23.72	20	5.110
	2	3.01	23.72	20	5.076
BW4 II A	1	3.06	23.72	20	5.160
	2	3.09	23.72	20	5.211

Valin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpI	Luas kurva stnd	Kons std	Valin (g/100)
UF A	1	4.03	42.46	20	3.797
	2	4.01	42.46	20	3.778
US A	1	4.28	42.46	20	4.032
	2	4.22	42.46	20	3.976
BW0 II A	1	3.69	42.46	20	3.476
	2	3.72	42.46	20	3.504
BW1 IV A	1	3.89	42.46	20	3.665
	2	3.92	42.46	20	3.693
BW2 IA	1	3.98	42.46	20	3.749
	2	4.02	42.46	20	3.787
BW3 IV A	1	4.11	42.46	20	3.872
	2	4.07	42.46	20	3.834
BW4 II A	1	4.13	42.46	20	3.891
	2	4.15	42.46	20	3.910

Metionin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpI	Luas kurva stnd	Kons std	Metionin (g/100)
UF A	1	1.36	29.46	20	1.847
	2	1.39	29.46	20	1.887
US A	1	1.61	29.46	20	2.186
	2	1.58	29.46	20	2.145
BW0 II A	1	1.03	29.46	20	1.399
	2	1.08	29.46	20	1.466
BW1 IV A	1	1.15	29.46	20	1.561
	2	1.17	29.46	20	1.589
BW2 IA	1	1.21	29.46	20	1.643
	2	1.23	29.46	20	1.670
BW3 IV A	1	1.32	29.46	20	1.792
	2	1.29	29.46	20	1.752
BW4 II A	1	1.42	29.46	20	1.928
	2	1.38	29.46	20	1.874

## Isoleusin (g/100g)

Sample	ul	luas kurva smpl	Luas kurva stnd	Kons std	Isoleusin (g/100)
UF A	1	1.63	16.76	20	3.890
	2	1.55	16.76	20	3.699
US A	1	1.76	16.76	20	4.200
	2	1.79	16.76	20	4.272
BW0 II A	1	1.36	16.76	20	3.246
	2	1.39	16.76	20	3.317
BW1 IV A	1	1.42	16.76	20	3.389
	2	1.43	16.76	20	3.413
BW2 IA	1	1.48	16.76	20	3.532
	2	1.51	16.76	20	3.604
BW3 IV A	1	1.56	16.76	20	3.723
	2	1.58	16.76	20	3.771
BW4 II A	1	1.68	16.76	20	4.010
	2	1.72	16.76	20	4.105

## Leusin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpl	Luas kurva stnd	Kons std	Leusin (g/100)
UF A	1	2.36	12.55	20	7.522
	2	2.39	12.55	20	7.618
US A	1	2.56	12.55	20	8.159
	2	2.53	12.55	20	8.064
BW0 II A	1	2.18	12.55	20	6.948
	2	2.13	12.55	20	6.789
BW1 IV A	1	2.22	12.55	20	7.076
	2	2.2	12.55	20	7.012
BW2 IA	1	2.29	12.55	20	7.299
	2	2.28	12.55	20	7.267
BW3 IV A	1	2.37	12.55	20	7.554
	2	2.36	12.55	20	7.522
BW4 II A	1	2.41	12.55	20	7.681
	2	2.43	12.55	20	7.745

## Tirosin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpl	Luas kurva stnd	Kons std	Tirosin (g/100)
UF A	1	0.62	6.59	20	3.763
	2	0.63	6.59	20	3.824
US A	1	0.75	6.59	20	4.552
	2	0.73	6.59	20	4.431
BW0 II A	1	0.51	6.59	20	3.096

	2	0.49	6.59	20	2.974
BW1 IV A	1	0.54	6.59	20	3.278
	2	0.56	6.59	20	3.399
BW2 IA	1	0.59	6.59	20	3.581
	2	0.6	6.59	20	3.642
BW3 IV A	1	0.63	6.59	20	3.824
	2	0.65	6.59	20	3.945
BW4 II A	1	0.66	6.59	20	4.006
	2	0.67	6.59	20	4.067

Fenilalanin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpl	Luas kurva stnd	Kons std	Fenilalanin (g/100)
UF A	1	0.56	8.98	20	2.494
	2	0.53	8.98	20	2.361
US A	1	0.67	8.98	20	2.984
	2	0.68	8.98	20	3.029
BW0 II A	1	0.49	8.98	20	2.183
	2	0.47	8.98	20	2.094
BW1 IV A	1	0.51	8.98	20	2.272
	2	0.52	8.98	20	2.316
BW2 IA	1	0.54	8.98	20	2.405
	2	0.53	8.98	20	2.361
BW3 IV A	1	0.55	8.98	20	2.450
	2	0.56	8.98	20	2.494
BW4 II A	1	0.58	8.98	20	2.584
	2	0.57	8.98	20	2.539

Histidin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpl	Luas kurva stnd	Kons std	Histidin (g/100)
UF A	1	0.24	5.11	20	1.879
	2	0.23	5.11	20	1.800
US A	1	0.25	5.11	20	1.957
	2	0.26	5.11	20	2.035
BW0 II A	1	0.21	5.11	20	1.644
	2	0.22	5.11	20	1.722
BW1 IV A	1	0.22	5.11	20	1.722
	2	0.23	5.11	20	1.800
BW2 IA	1	0.24	5.11	20	1.879
	2	0.23	5.11	20	1.800
BW3 IV A	1	0.24	5.11	20	1.879
	2	0.25	5.11	20	1.957
BW4 II A	1	0.25	5.11	20	1.957

	2	0.26	5.11	20	2.035
--	---	------	------	----	-------

Lisin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpl	Luas kurva stnd	Kons std	Lisin (g/100)
UF A	1	1.66	10.57	20	6.282
	2	1.68	10.57	20	6.358
US A	1	1.78	10.57	20	6.736
	2	1.79	10.57	20	6.774
BW0 II A	1	1.49	10.57	20	5.639
	2	1.5	10.57	20	5.676
BW1 IV A	1	1.53	10.57	20	5.790
	2	1.54	10.57	20	5.828
BW2 IA	1	1.58	10.57	20	5.979
	2	1.59	10.57	20	6.017
BW3 IV A	1	1.63	10.57	20	6.168
	2	1.62	10.57	20	6.131
BW4 II A	1	1.64	10.57	20	6.206
	2	1.66	10.57	20	6.282

Arginin (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpl	Luas kurva stnd	Kons std	Arginin (g/100)
UF A	1	1.07	6.93	20	6.176
	2	1.08	6.93	20	6.234
US A	1	1.16	6.93	20	6.696
	2	1.15	6.93	20	6.638
BW0 II A	1	1.01	6.93	20	5.830
	2	1.02	6.93	20	5.887
BW1 IV A	1	1.04	6.93	20	6.003
	2	1.05	6.93	20	6.061
BW2 IA	1	1.07	6.93	20	6.176
	2	1.09	6.93	20	6.291
BW3 IV A	1	1.1	6.93	20	6.349
	2	1.11	6.93	20	6.407
BW4 II A	1	1.13	6.93	20	6.522
	2	1.11	6.93	20	6.407

Triptofan (g/100 g)

Sample	ul	luas kurva smpl	Luas kurva stnd	Kons std	Triptofan (g/100)
UF A	1	0.083	3.62	20	0.917
	2	0.081	3.62	20	0.895
US A	1	0.092	3.62	20	1.017
	2	0.093	3.62	20	1.028



BW0 II A	1	0.076	3.62	20	0.840
	2	0.076	3.62	20	0.840
BW1 IV A	1	0.079	3.62	20	0.873
	2	0.08	3.62	20	0.884
BW2 IA	1	0.083	3.62	20	0.917
	2	0.082	3.62	20	0.906
BW3 IV A	1	0.084	3.62	20	0.928
	2	0.085	3.62	20	0.939
BW4 II A	1	0.087	3.62	20	0.961
	2	0.088	3.62	20	0.972

Tabel VII.2 Tabulasi Kadar Asam Amino Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*)

Jenis Asam amino	US	UF	BW0	BW1	BW2	BW3	BW4
Alanin	5.354	5.135	4.477	4.739	4.975	5.093	5.185
Arginin**	6.667	6.205	5.859	6.032	6.234	6.378	6.565
Asam							
Glutamat	10.905	10.408	8.663	9.335	9.752	10.104	10.344
Asparagin	11.607	10.651	9.094	9.401	9.855	10.197	10.508
Fenilalanin*	3.007	2.428	2.138	2.294	2.383	2.472	2.561
Glisin	4.829	4.680	4.275	4.488	4.595	4.680	4.733
Histidin**	1.996	1.840	1.683	1.761	1.840	1.918	1.996
Isoleusin *	4.236	3.795	3.282	3.401	3.568	3.747	4.057
Leusin*	8.112	7.570	6.869	7.044	7.283	7.538	7.713
Lisin*	6.755	6.320	5.658	5.809	5.988	6.149	6.244
Methionin*	2.166	1.867	1.432	1.575	1.656	1.772	1.901
Prolin	2.205	1.744	0.988	1.115	1.445	1.673	1.774
Serin	6.000	5.471	4.200	4.830	5.420	5.670	5.840
Tirosin	4.492	3.794	3.035	3.338	3.612	3.885	4.036
Threonin*	5.347	5.077	3.742	4.383	4.630	4.799	5.069
Triptofan*	1.022	0.906	0.840	0.878	0.912	0.934	0.967
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 : \*) Jenis asam amino esensial; \*\*) Jenis asam amino semi-esensial

US = udang segar

UF = udang berformalin

BW0 = udang dengan aquades tanpa perasan buah belimbing wuluh

BW1 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 20%

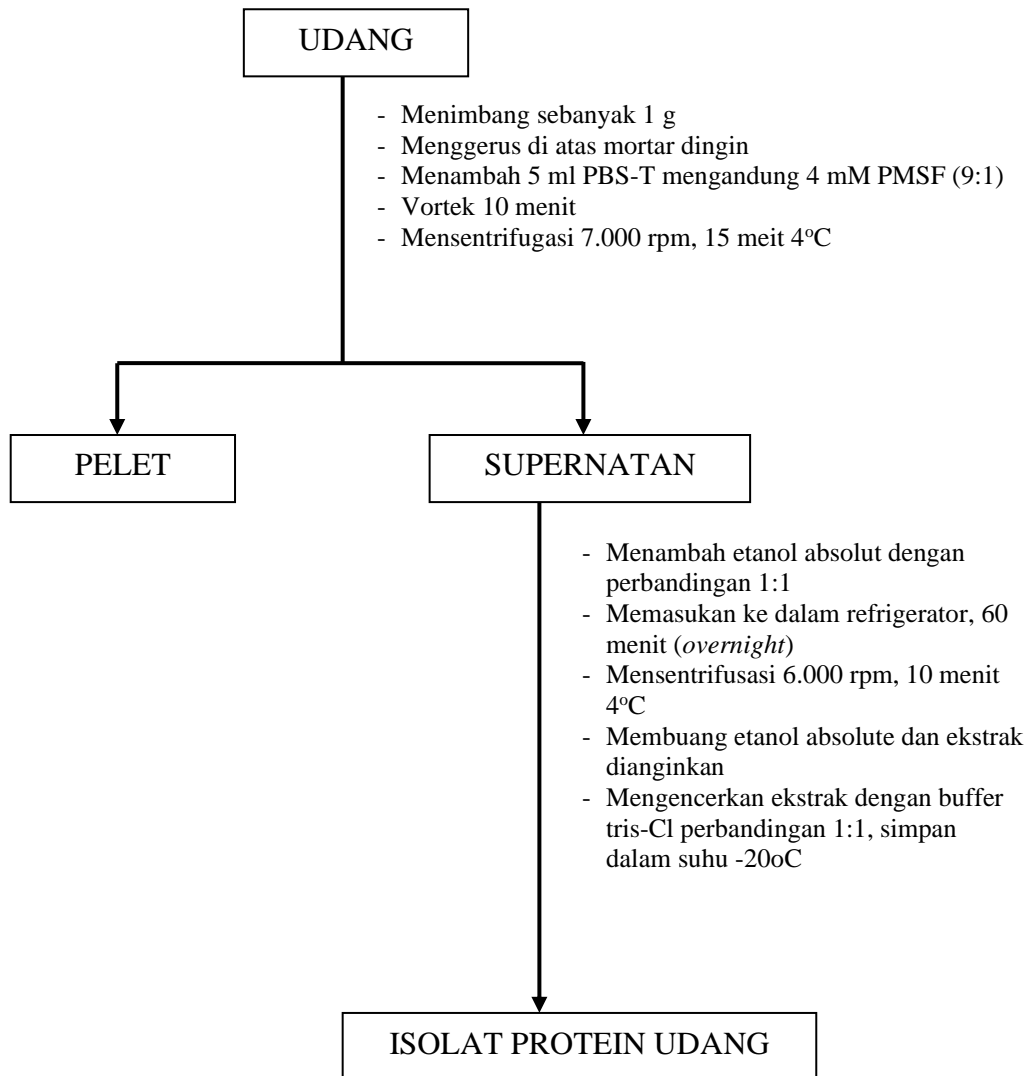
BW2 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 40%

BW3 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 60%

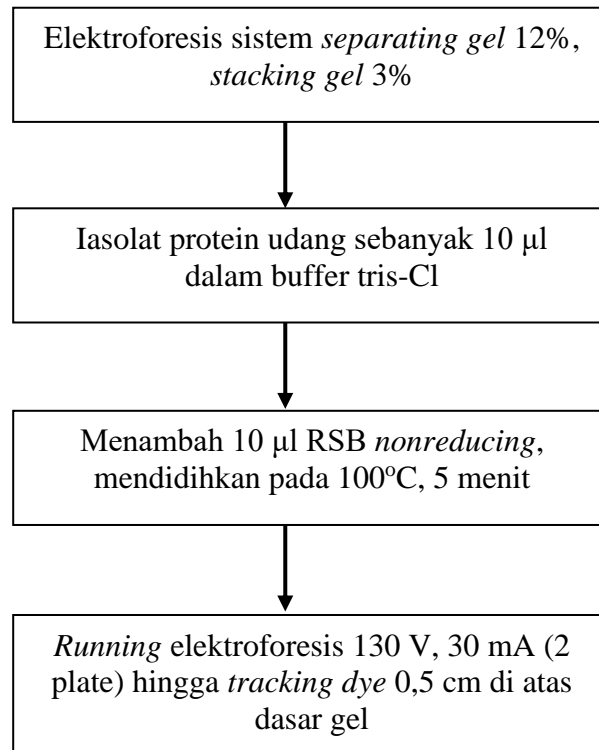
BW4 = udang dengan perasan buah belimbing wuluh 80%

FRAKSINASI BERAT MOLEKUL PROTEIN UDANG PUTIH  
SECARA ELEKTROFORESIS

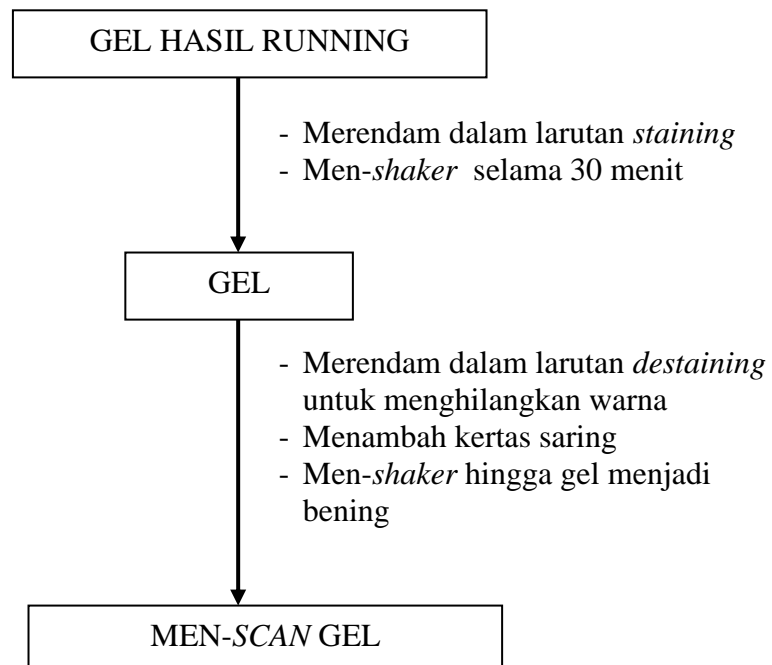
I. Isolasi Protein Udang



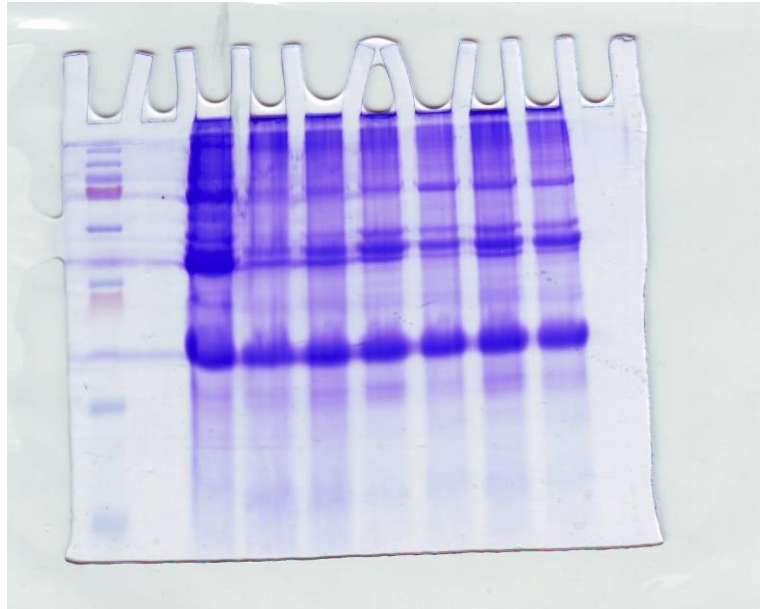
## II. Elektroforesis SDS-PAGE Isolat Protein Udang



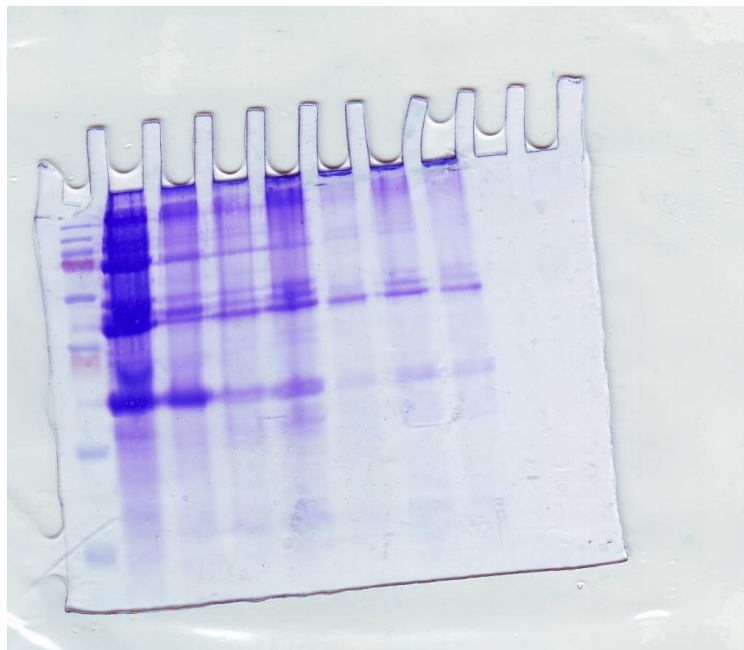
### Pewarnaan dengan *Comassie Brilliant Blue*



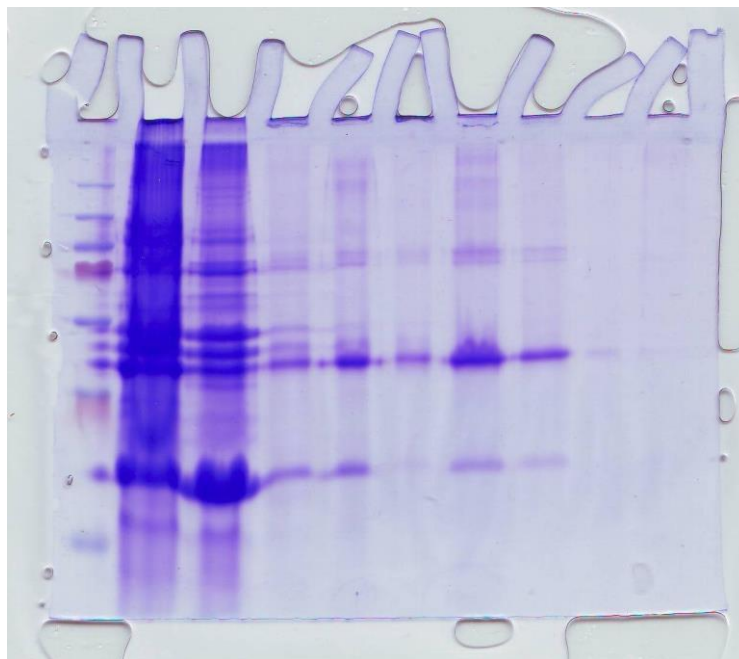
## III. Hasil Scan SDS-PAGE



Gambar VIII.1 Hasil Elektroforesis SDS-PAGE Sampel Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan Tanpa Perebusan

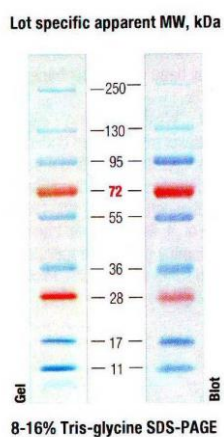


Gambar VIII.2 Hasil Elektroforesis SDS-PAGE Sampel Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan Perebusan 30 Menit



Gambar VIII.3 Hasil Elektroforesis SDS-PAGE Sampel Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan Perebusan 45 Menit

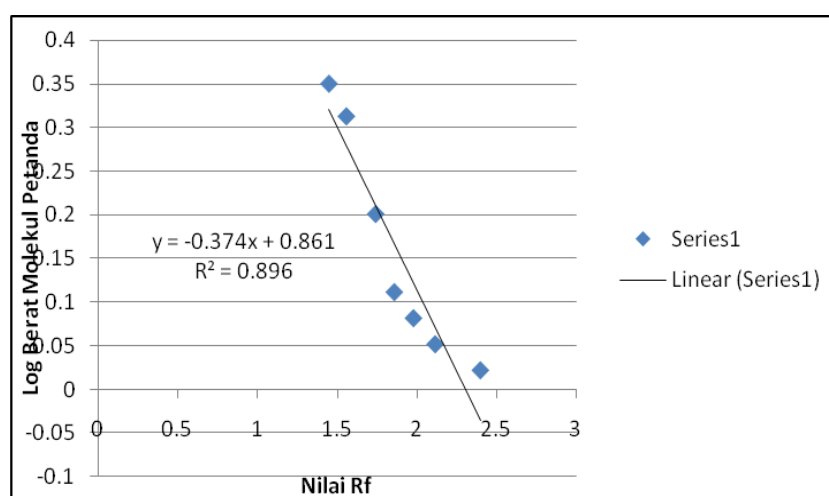
IV. Pembuatan Standar Berat Molekul Protein Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*)



Gambar VIII.4 Berat Molekul (kDa) Protein Petanda (Marker) dari Fermentas.

Tabel VIII.1 Standar Berat Molekul (kDa) Protein Petanda untuk Sampel dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) (BW) dan Tanpa Perebusan (R0)

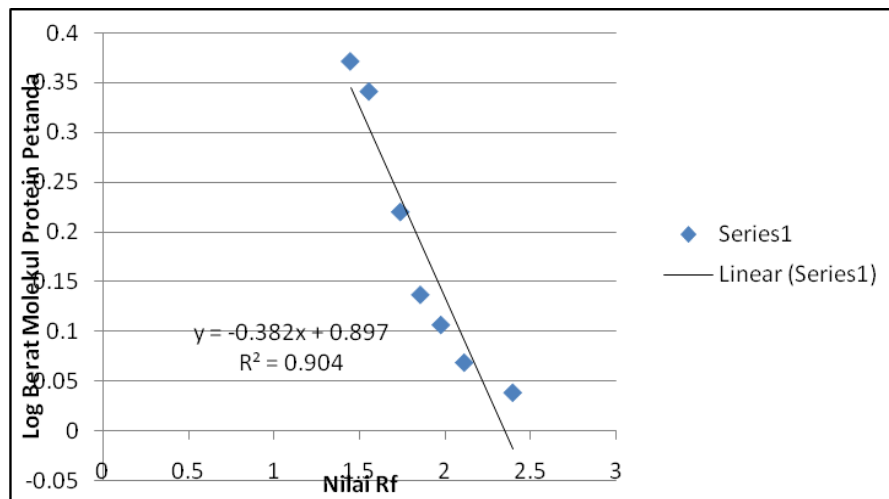
BM(kDa)	Jarak Tracking	Log BM	Rf
250	1.5	2.39794	0.022388
130	3.5	2.113943	0.052239
95	5.5	1.977724	0.08209
72	7.5	1.857332	0.11194
55	13.5	1.740363	0.201493
36	21	1.556303	0.313433
28	23.5	1.447158	0.350746



Gambar VIII.5 Kurva Standar Berat Molekul Sampel dengan dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) (BW) dan Tanpa Perebusan (R0)

Tabel VIII.2 Standar Berat Molekul (kDa) Protein Petanda untuk Sampel dengan dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) (BW) dan Perebusan 30 Menit (R1)

BM(kDa)	Jarak Tracking	Log BM	Rf
250	2.5	2.39794	0.037879
130	4.5	2.113943	0.068182
95	7	1.977724	0.106061
72	9	1.857332	0.136364
55	14.5	1.740363	0.219697
36	22.5	1.556303	0.340909
28	24.5	1.447158	0.371212



Gambar VIII.6 Kurva Standar Berat Molekul Sampel dengan dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) (BW) dan Perebusan 30 Menit (R1)

Tabel VIII.3 Berat Molekul Protein Sampel Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan Tanpa Perebusan

BM(kDa)	Jarak Tracking	Log BM	Rf
172.8769	1.7	2.237737	0.025373
121.1537	5.6	2.083337	0.083582
93.00923	8.5	1.968526	0.126866
67.60232	12	1.829962	0.179104
49.1357	15.5	1.691397	0.231343
40.94656	17.5	1.612217	0.261194
37.37899	18.5	1.572628	0.276119
20.66777	25	1.315294	0.373134
18.86704	26	1.275704	0.38806

Tabel VIII.4 Berat Molekul Protein Sampel Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan Perebusan 30 Menit

<b>BM(kDa)</b>	<b>Jarak Tracking</b>	<b>Log BM</b>	<b>Rf</b>
169.5027	3	2.229177	0.045455
93.61875	9.5	1.971363	0.143939
71.83536	12.4	1.856338	0.187879
67.69504	13.05	1.830557	0.197727
49.3989	16.5	1.693717	0.25
40.96442	18.55	1.612407	0.281061
37.56006	19.5	1.574726	0.295455
20.65044	26.05	1.314929	0.394697
18.88248	27.03	1.276059	0.409545
6.93344	38	0.840949	0.575758

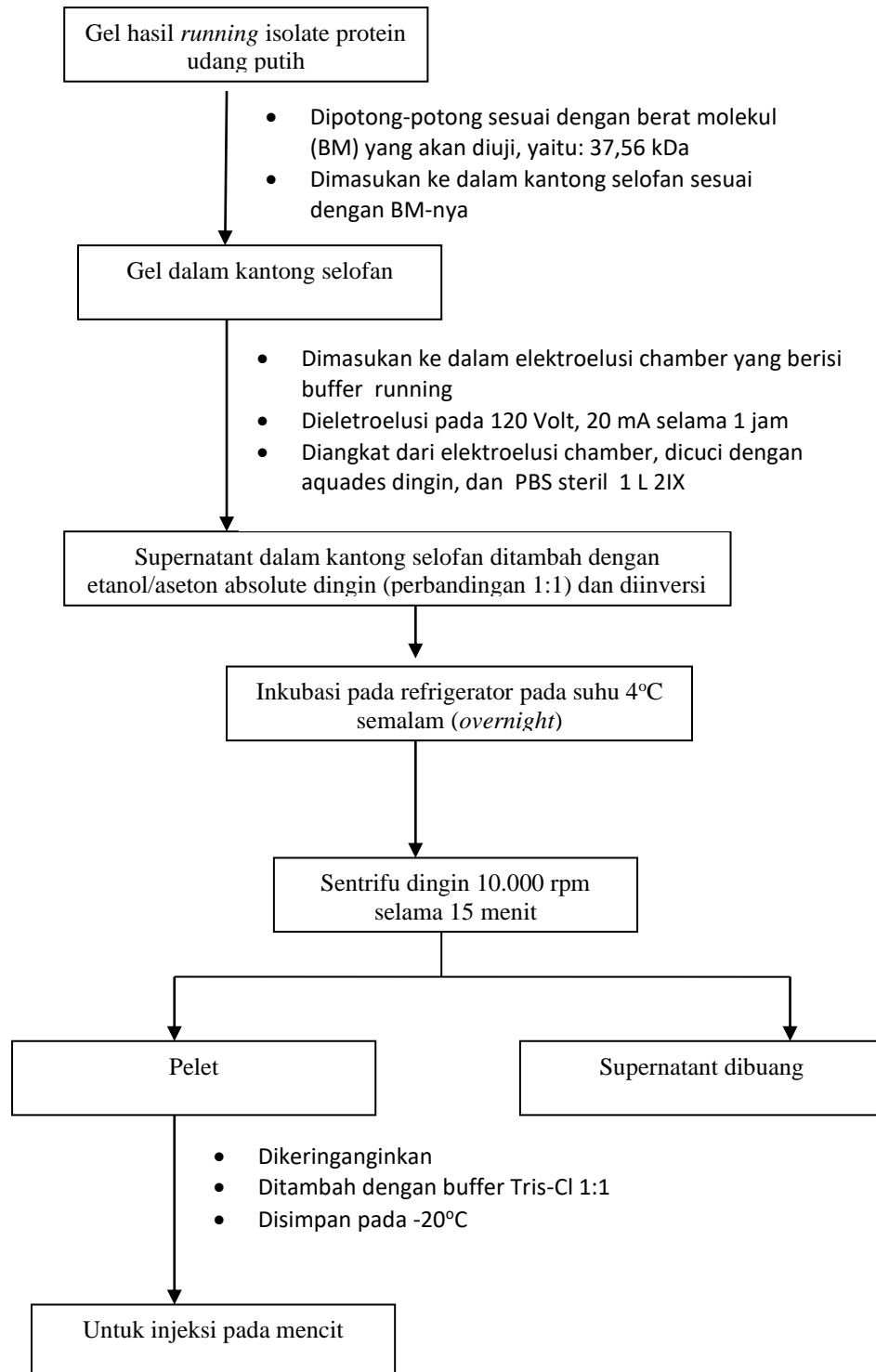
Tabel VIII.5 Berat Molekul Protein Sampel Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) dengan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L) dan Perebusan 45 Menit

<b>BM(kDa)</b>	<b>Jarak Tracking</b>	<b>Log BM</b>	<b>Rf</b>
118.7578	16.5	2.074662	0.235714
93.07689	20.1	1.968842	0.287143
71.72543	23.95	1.855673	0.342143
67.71546	24.8	1.830688	0.354286
49.26447	29.5	1.692534	0.421429
40.75954	32.3	1.610229	0.461429
37.57992	33.5	1.574956	0.478571
20.43646	42.5	1.310406	0.607143
18.71513	43.8	1.272193	0.625714

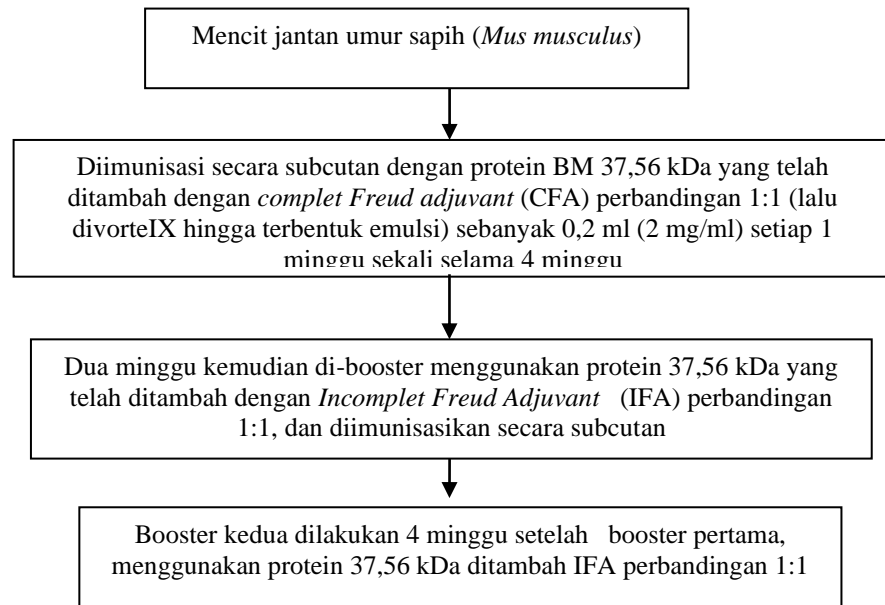


## KARAKTERISASI PROTEIN UDANG PUTIH

### I. Elektroelusi



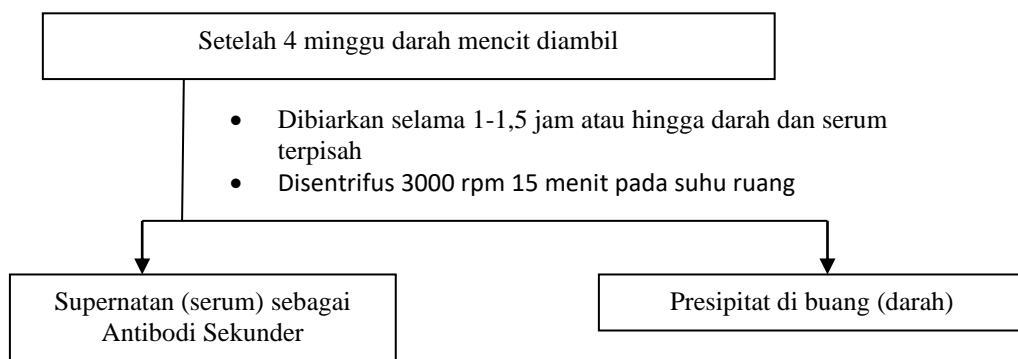
## II. Immunisasi



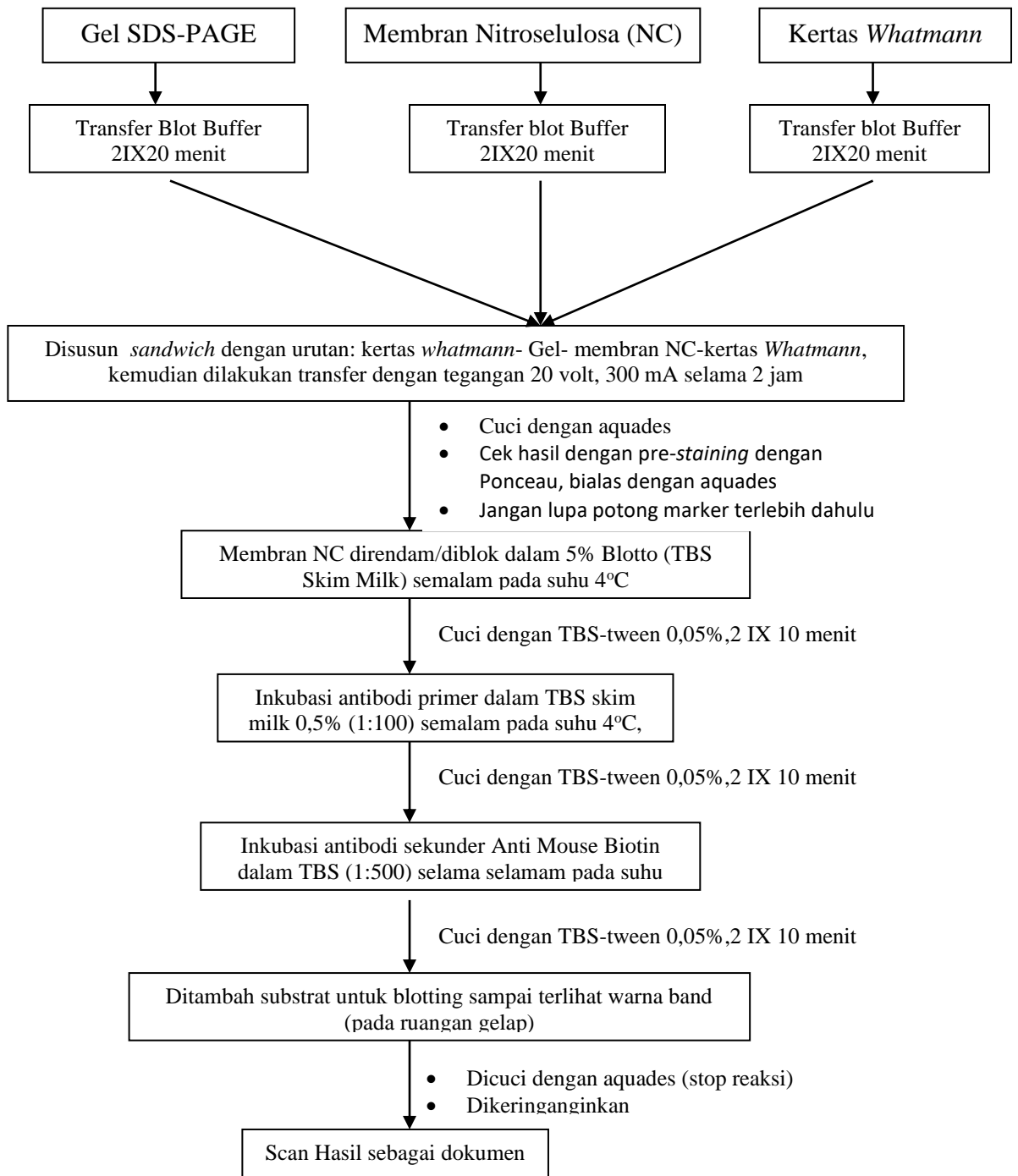
Tabel IX.1 Jadwal Imunisasi Mencit Jantan (*Mus musculus*/BALB-c)

Minggu ke-/ Tanggal	Kelompok Mencit Perlakuan		
	Kontrol	Protein 20 kDa	Protein 37kDa
I-II/ 2-15/12/2010	Pakan Standar		
III/ 16/12/2010	200 µl Ajuvan : PBS (1:1)	100 µl protein + 100 µl CFA	100 µl protein + 100 µl CFA
IV/ 23/12/2010	200 µl Ajuvan : PBS (1:1)	100 µl protein + 100 µl IFA	100 µl protein + 100 µl IFA
V/ 30/12/2010	200 µl Ajuvan : PBS (1:1)	100 µl protein + 100 µl IFA	100 µl protein + 100 µl IFA
VI/ 06/01/2011	200 µl Ajuvan : PBS (1:1)	100 µl protein + 100 µl IFA	100 µl protein + 100 µl IFA

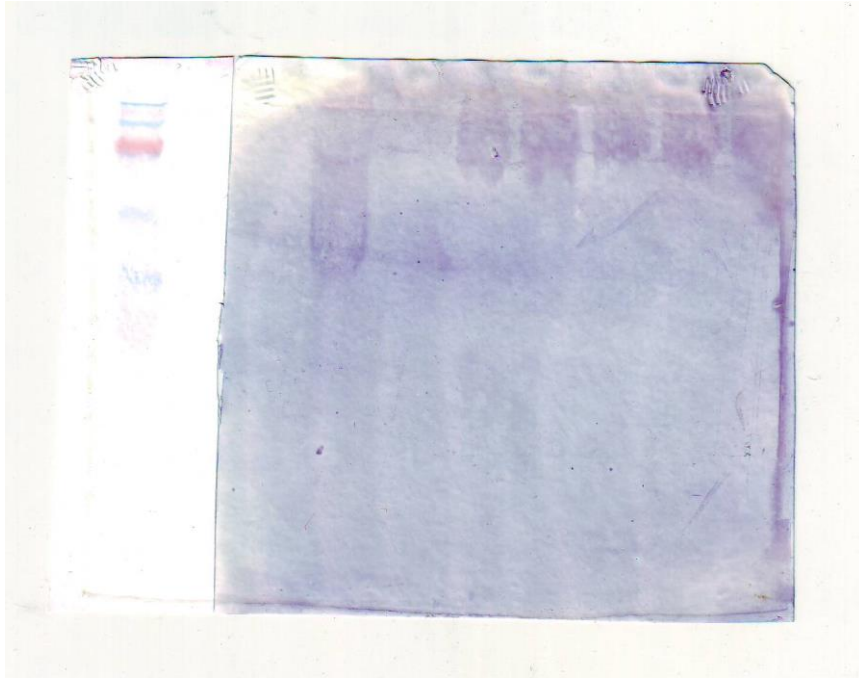
## III. Isolasi dan Purifikasi Serum Mencit (pembuatan antibodi poliklonal anti-mouse)



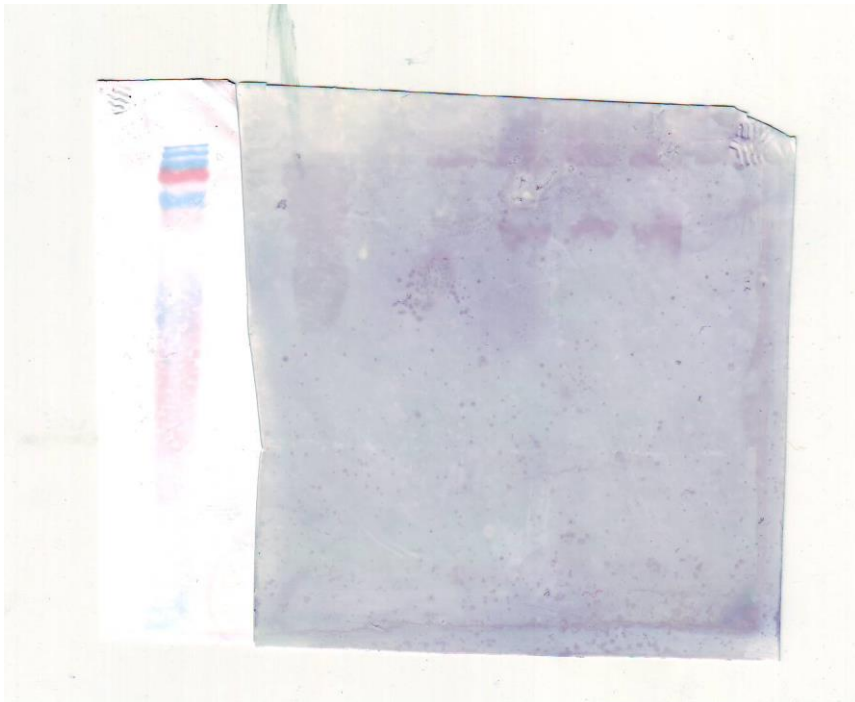
#### IV. Western Blotting



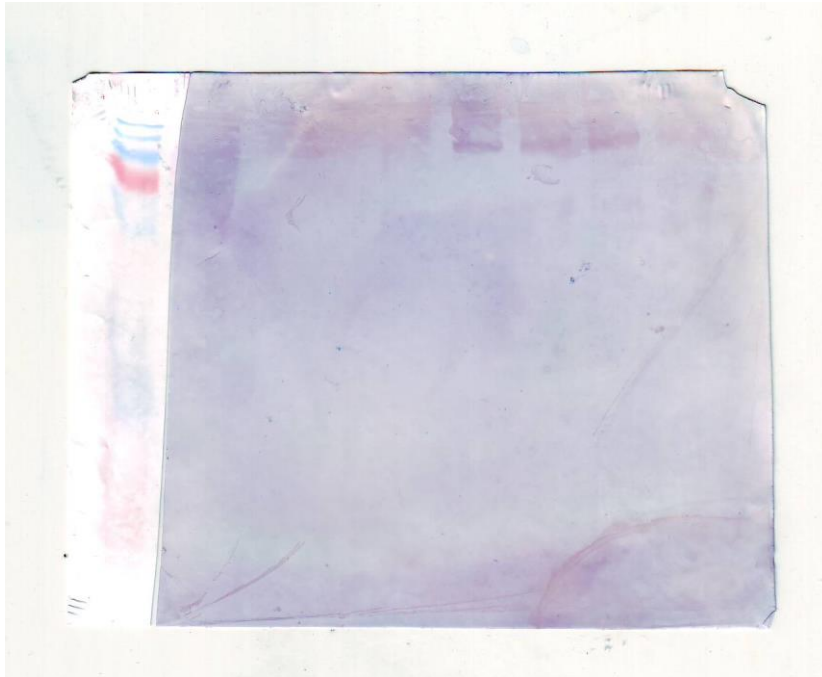
V. Hasil Scan Western Blot



Gambar IX.1 Hasil Western Blot Protein 37 kDa (ulangan ke-1) pada Gel SDS-PAGE dengan Perebusan 30 menit (R1)



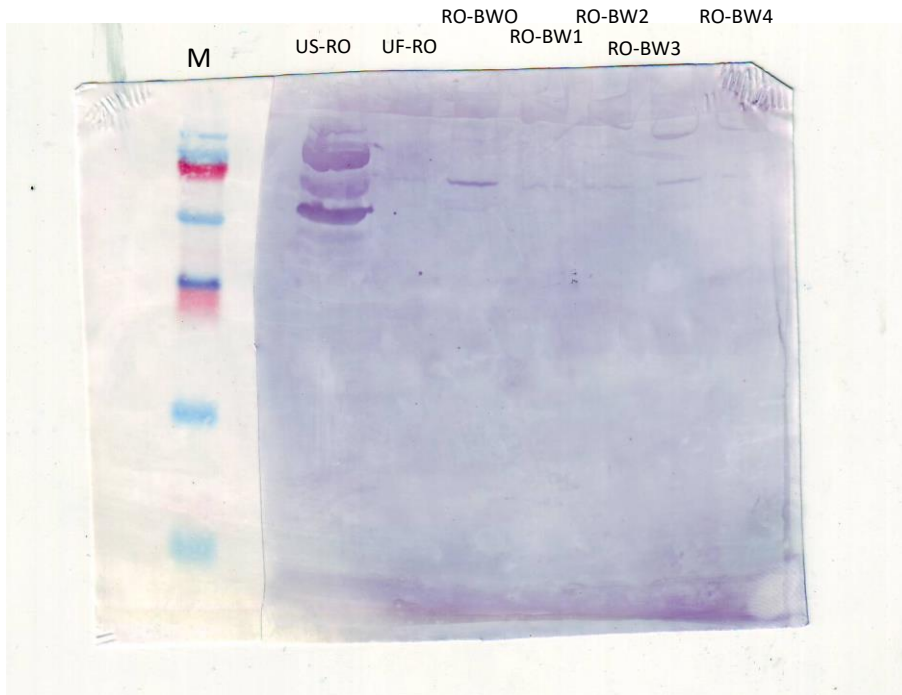
Gambar IX.2 Hasil Western Blot Protein 37 kDa (ulangan ke-2) pada Gel SDS-PAGE dengan Perebusan 30 menit (R1)



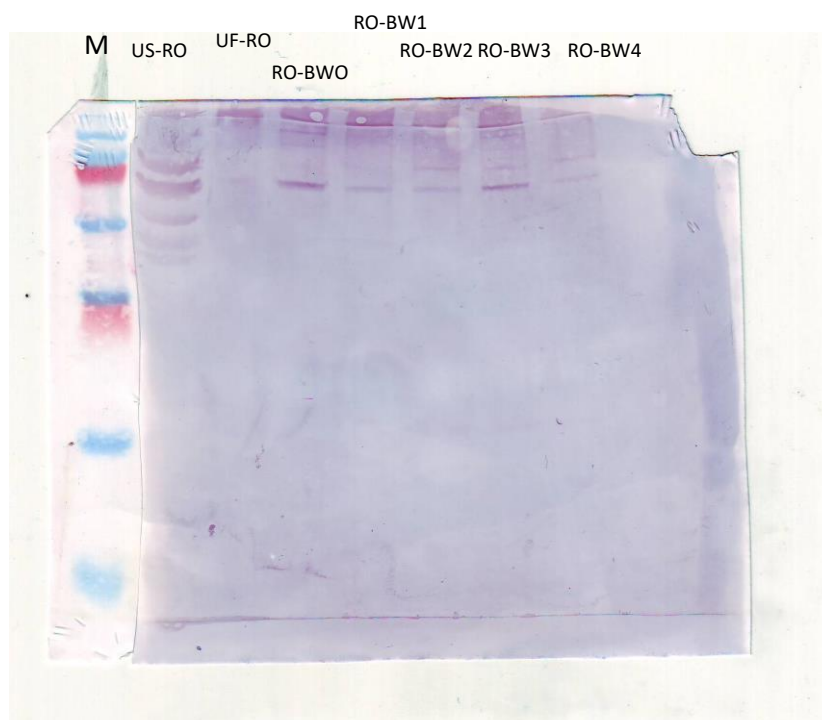
Gambar IX.3 Hasil Western Blot Protein 20 kDa (ulangan ke-1) pada Gel SDS-PAGE dengan Perebusan 30 menit (R1)



Gambar IX.4 Hasil Western Blot Kontrol pada Gel SDS-PAGE dengan Perebusan 30 menit (R1)



Gambar IX.5 Hasil Western Blot Protein 37 kDa pada Gel SDS-PAGE tanpa Perbusan (R0)



Gambar IX.6 Hasil Western Blot Kontrol pada Gel SDS-PAGE tanpa Perbusan (R0)

Lampiran 10

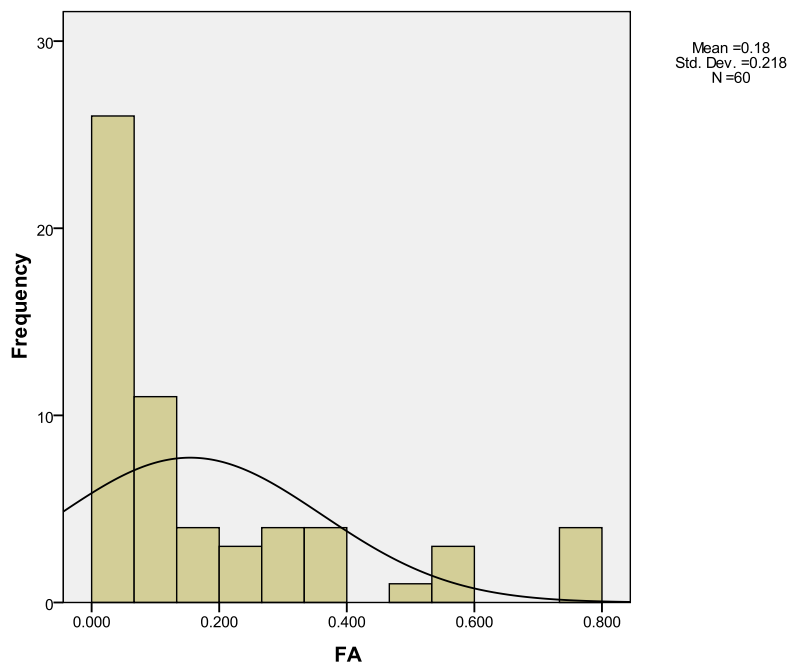
UJI STATISTIK DATA PENELITIAN

I. UJI HIPOTESIS KADAR RESIDU FORMALIN

1. Uji Normalitas Data Kadar Residu Formalin

Tabel X.1 Statisistik Deskriptif Data Asli Kadar Residu Formalin Udang Putih

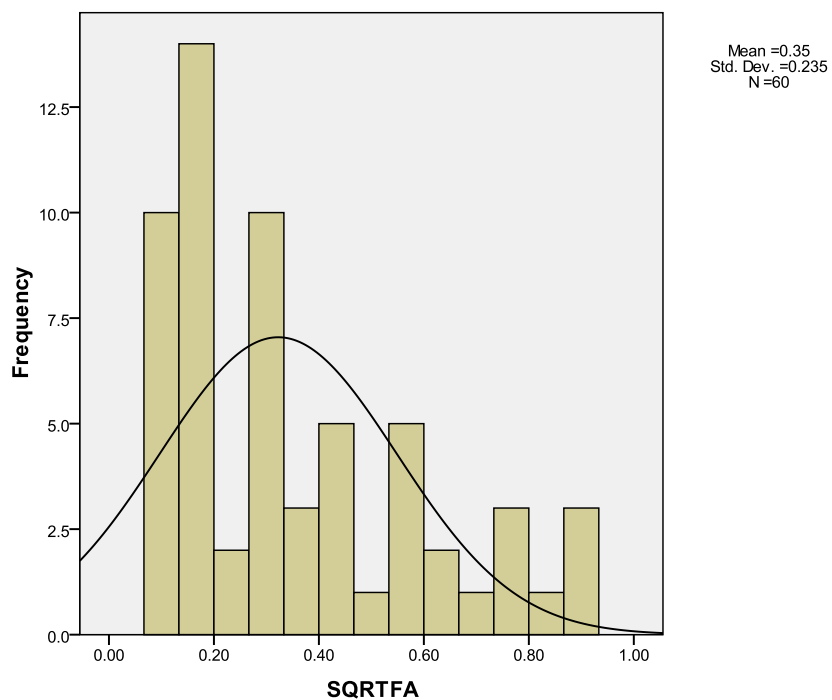
Descriptive Statistics									
	N	Minimum	MaXmum	Mean	Std. Deviation	Skewness		Kurtosis	
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Std. Error
FA	60	.008	.778	.17855	.218000	1.558	.309	1.510	.608
Valid N (listwise)	60								



Gambar X.1 Kurva Normalitas Data Asli Kadar *Residu* Formalin Udang Putih

Tabel X.2 Statistik Deskriptif Data Transformasi Akar Kuadrat Kadar Residu Formalin Udang Putih

Descriptive Statistics									
	N	Minimum	MaXmum	Mean	Std. Deviation	Skewness		Kurtosis	
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Std. Error
SQRTFA	60	.09	.88	.3525	.23502	.865	.309	-.336	.608
Valid N (listwise)	60								



Gambar X.2 Kurva Normalitas Data Transformasi Akar Kuadrat Kadar Residu Formalin Udang Putih



## 2. Uji Homogenitas Kadar Residu Formalin

Tabel X.3 Faktor Antar Subyek Data Transformasi Akar Kuadrat Kadar Residu Formalin Udang Putih

Between-Subjects Factors			
		Value Label	N
R	1	R0 (0 MENIT)	20
	2	R1 (30 MENIT)	20
	3	R2 (45 MENIT)	20
BW	1	BW0 (0%)	12
	2	BW1 (20%)	12
	3	BW2 (40%)	12
	4	BW3 (60%)	12
	5	BW4 (80%)	12
UI	1	I	15
	2	II	15
	3	III	15
	4	IV	15

Tabel X.4 Statistik Deskriptif Data Transformasi Akar Kuadrat Kadar Residu Formalin Udang Putih

Descriptive Statistics					
Dependent Variable: SQRTFA					
R	BW	UI	Mean	Std. Deviation	N
R0 (0 MENIT)	BW0 (0%)	I	.8764	.	1
		II	.8706	.	1
		III	.8820	.	1
		IV	.8654	.	1
		Total	.8736	.00717	4
	BW1 (20%)	I	.7232	.	1
		II	.7335	.	1
		III	.7430	.	1
		IV	.7503	.	1
		Total	.7375	.01177	4

	BW2 (40%)	I	.4626	.	1
		II	.4450	.	1
		III	.4539	.	1
		IV	.4528	.	1
		Total	.4536	.00722	4
	BW3 (60%)	I	.3114	.	1
		II	.3066	.	1
		III	.3225	.	1
		IV	.2933	.	1
		Total	.3084	.01212	4
	BW4 (80%)	I	.2720	.	1
		II	.2569	.	1
		III	.2569	.	1
		IV	.2739	.	1
		Total	.2649	.00929	4
Total		I	.5291	.26274	5
		II	.5225	.26874	5
		III	.5317	.27051	5
		IV	.5271	.26863	5
		Total	.5276	.24566	20
R1 (30 MENIT)	BW0 (0%)	I	.6008	.	1
		II	.6148	.	1
		III	.5975	.	1
		IV	.5941	.	1
		Total	.6018	.00909	4
	BW1 (20%)	I	.5422	.	1
		II	.5385	.	1
		III	.5348	.	1
		IV	.5263	.	1
		Total	.5355	.00681	4
	BW2 (40%)	I	.3755	.	1
		II	.4037	.	1
		III	.3674	.	1

		IV	.3592	.	1
		Total	.3765	.01937	4
	BW3 (60%)	I	.2864	.	1
		II	.2720	.	1
		III	.3000	.	1
		IV	.2898	.	1
		Total	.2871	.01157	4
	BW4 (80%)	I	.1924	.	1
		II	.1871	.	1
		III	.1761	.	1
		IV	.1897	.	1
		Total	.1863	.00716	4
	Total	I	.3995	.17117	5
		II	.4032	.17819	5
		III	.3952	.17195	5
		IV	.3918	.16683	5
		Total	.3974	.15797	20
R2 (45 MENIT)	BW0 (0%)	I	.1703	.	1
		II	.1761	.	1
		III	.1643	.	1
		IV	.1817	.	1
		Total	.1731	.00746	4
	BW1 (20%)	I	.1581	.	1
		II	.1483	.	1
		III	.1378	.	1
		IV	.1517	.	1
		Total	.1490	.00847	4
	BW2 (40%)	I	.1342	.	1
		II	.1265	.	1
		III	.1378	.	1
		IV	.1304	.	1
		Total	.1322	.00488	4
	BW3 (60%)	I	.1140	.	1
		II	.1049	.	1

		III	.1183	.	1
		IV	.1095	.	1
		Total	.1117	.00578	4
	BW4 (80%)	I	.1000	.	1
		II	.0894	.	1
		III	.1049	.	1
		IV	.0894	.	1
		Total	.0959	.00776	4
	Total	I	.1353	.02935	5
		II	.1290	.03443	5
		III	.1326	.02254	5
		IV	.1325	.03595	5
		Total	.1324	.02855	20
Total	BW0 (0%)	I	.5492	.35586	3
		II	.5538	.35127	3
		III	.5480	.36142	3
		IV	.5471	.34431	3
		Total	.5495	.30128	12
	BW1 (20%)	I	.4745	.28856	3
		II	.4734	.29796	3
		III	.4719	.30743	3
		IV	.4761	.30248	3
		Total	.4740	.25515	12
	BW2 (40%)	I	.3241	.17015	3
		II	.3251	.17320	3
		III	.3197	.16333	3
		IV	.3141	.16585	3
		Total	.3207	.14349	12
	BW3 (60%)	I	.2373	.10748	3
		II	.2278	.10787	3
		III	.2469	.11195	3
		IV	.2309	.10509	3
		Total	.2357	.09253	12
	BW4 (80%)	I	.1881	.08609	3

	II	.1778	.08412	3
	III	.1793	.07606	3
	IV	.1843	.09233	3
	Total	.1824	.07249	12
Total	I	.3546	.23898	15
	II	.3516	.24315	15
	III	.3532	.24265	15
	IV	.3505	.24012	15
	Total	.3525	.23502	60

Tabel X.5 Uji Homogenitas Data Transformasi Akar Kuadrat Kadar Residu Formalin Udang Putih

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

Dependent Variable: SQRTFA

F	df1	df2	Sig.
.935	14	45	.531

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + PEREBUSAN + KONSENTRASI + PEREBUSAN \* KONSENTRASI

### 3. Analisis Variansi Kadar Residu Formalin

Tabel X.6 Rangkuman ANOVA Data Transformasi Akar Kuadrat Kadar Residu Formalin Udang Putih

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:SQRTFA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PEREBUSAN Hypothesis	1.623	2	.811	8349.041	.000
Error	.004	42	9.717E-5 <sup>a</sup>		
KONSENTRASI Hypothesis	1.166	4	.291	2999.224	.000
Error	.004	42	9.717E-5 <sup>a</sup>		
PEREBUSAN * KONSENTRASI Hypothesis	.466	8	.058	599.721	.000
Error	.004	42	9.717E-5 <sup>a</sup>		
ULANGAN Hypothesis	.000	3	4.884E-5	.503	.683
Error	.004	42	9.717E-5 <sup>a</sup>		

a. MS(Error)

### 4. Uji Beda Duncan's (DMRT) Rerata antar Perlakuan Kadar Residu Formalin

Tabel X.7 Uji Beda Ducan's (DMRT) Data Transformasi Akar Kuadrat Kadar Residu Formalin Udang Putih Berdasarkan Lama Perebusan

#### SQRTFA

Duncan<sup>a,b</sup>

R	N	Subset		
		1	2	3
R2 (45 MENIT)	20	.1324		
R1 (30 MENIT)	20		.3974	
R0 (0 MENIT)	20			.5276
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 9.72E-005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

b. Alpha = .05.

Tabel X.8 Uji Beda Duncan's (DMRT) Data Transformasi Akar Kuadrat Kadar Residu Formalin Udang Putih berdasarkan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh

**SQRTFA**

Duncan<sup>a,b</sup>

BW	N	Subset				
		1	2	3	4	5
BW4 (80%)	12	.1824				
BW3 (60%)	12		.2357			
BW2 (40%)	12			.3207		
BW1 (20%)	12				.4740	
BW0 (0%)	12					.5495
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 9.72E-005.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .05.

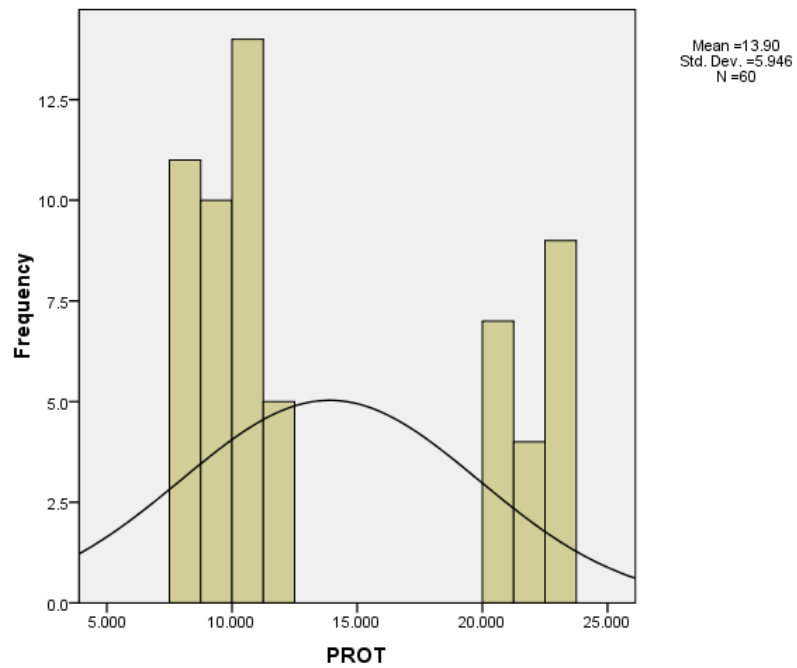
## II. UJI HIPOTESIS KADAR PROTEIN TOTAL

### 1. Uji Normalitas Data Kadar Protein Total

Tabel X.9 Statisistik Deskriptif Data Kadar Protein Total Udang Putih

**Descriptive Statistics**

	N	Minimum	MaXmum	Mean	Std. Deviation	Skewness		Kurtosis	
						Statistic	Std. Error	Statistic	Std. Error
PROT	60	7.973	23.281	13.90457	5.946338	.657	.309	-1.448	.608
Valid N (listwise)	60								



Gambar X. 3 Kurva Normalitas Data Kadar Protein Total Udang Putih

## 2. Uji Homogenitas Data Kadar Protein Total

Tabel X.11 Faktor Antar Subyek Data Kadar Protein Total Udang Putih

Between-Subjects Factors			
		Value Label	N
R	1	R0 (0 MENIT)	20
	2	R1 (30 MENIT)	20
	3	R2 (45 MENIT)	20
BW	1	BW0 (0%)	12
	2	BW1 (20%)	12
	3	BW2 (40%)	12
	4	BW3 (60%)	12
	5	BW4 (80%)	12
UL	1		15
	2		15
	3		15



**Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
R	1	R0 (0 MENIT)	20
	2	R1 (30 MENIT)	20
	3	R2 (45 MENIT)	20
BW	1	BW0 (0%)	12
	2	BW1 (20%)	12
	3	BW2 (40%)	12
	4	BW3 (60%)	12
	5	BW4 (80%)	12
UL	1		15
	2		15
	3		15
	4		15

Tabel X.12 Statistik Deskriptif Data Kadar Protein Total Udang Putih

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: PROT

R	BW	UL	Mean	Std. Deviation	N
R0 (0 MENIT)		1	20.79900	.	1
		2	20.63200	.	1
		3	20.92800	.	1
		4	20.87100	.	1
		Total	20.80750	.128355	4
BW1 (20%)		1	20.97400	.	1
		2	21.33800	.	1
		3	21.22500	.	1
		4	21.04400	.	1
		Total	21.14525	.166424	4
BW2 (40%)		1	22.36200	.	1
		2	22.45000	.	1
		3	22.27000	.	1
		4	22.85000	.	1

	Total		22.48300	.255466	4
BW3 (60%)	1		23.23500	.	1
	2		22.94200	.	1
	3		22.65600	.	1
	4		22.95300	.	1
	Total		22.94650	.236421	4
BW4 (80%)	1		22.95900	.	1
	2		22.89600	.	1
	3		23.28100	.	1
	4		22.97600	.	1
	Total		23.02800	.172141	4
Total	1		22.06580	1.123541	5
	2		22.05160	1.023357	5
	3		22.07200	.983373	5
	4		22.13880	1.081149	5
	Total		22.08205	.968031	20
R1 (30 MENIT)	BW0 (0%)	1	7.97300	.	1
		2	8.17600	.	1
		3	8.16700	.	1
		4	8.09400	.	1
	Total		8.10250	.093817	4
	BW1 (20%)	1	8.39100	.	1
		2	8.61000	.	1
		3	8.50700	.	1
		4	8.82300	.	1
	Total		8.58275	.183456	4
	BW2 (40%)	1	9.47800	.	1
		2	9.91000	.	1
		3	10.02600	.	1
		4	10.03800	.	1
	Total		9.86300	.263077	4
	BW3 (60%)	1	11.21900	.	1
		2	11.13500	.	1

		3	11.32700	.	1
		4	11.00400	.	1
		Total	11.17125	.136412	4
	BW4 (80%)	1	11.91100	.	1
		2	11.76400	.	1
		3	11.68700	.	1
		4	11.99000	.	1
		Total	11.83800	.137489	4
	Total	1	9.79440	1.724574	5
		2	9.91900	1.551958	5
		3	9.94280	1.595318	5
		4	9.98980	1.580127	5
		Total	9.91150	1.483287	20
R2 (45 MENIT)	BW0 (0%)	1	8.15900	.	1
		2	8.16500	.	1
		3	8.27600	.	1
		4	8.18800	.	1
		Total	8.19700	.054129	4
	BW1 (20%)	1	8.79700	.	1
		2	9.01600	.	1
		3	9.17200	.	1
		4	9.23600	.	1
		Total	9.05525	.195393	4
	BW2 (40%)	1	10.09700	.	1
		2	9.87800	.	1
		3	9.90700	.	1
		4	9.81100	.	1
		Total	9.92325	.122612	4
	BW3 (60%)	1	10.58600	.	1
		2	10.23900	.	1
		3	10.59200	.	1
		4	10.37100	.	1
		Total	10.44700	.172613	4
	BW4 (80%)	1	10.79200	.	1

		2	11.22200	.	1
		3	10.78300	.	1
		4	11.11600	.	1
		Total	10.97825	.224500	4
Total		1	9.68620	1.153712	5
		2	9.70400	1.168620	5
		3	9.74600	1.037712	5
		4	9.74440	1.113463	5
		Total	9.72015	1.027691	20
Total	BW0 (0%)	1	12.31033	7.351989	3
		2	12.32433	7.194652	3
		3	12.45700	7.336304	3
		4	12.38433	7.349819	3
		Total	12.36900	6.232993	12
	BW1 (20%)	1	12.72067	7.150478	3
		2	12.98800	7.234161	3
		3	12.96800	7.158498	3
		4	13.03433	6.939648	3
		Total	12.92775	6.074604	12
	BW2 (40%)	1	13.97900	7.266485	3
		2	14.07933	7.249228	3
		3	14.06767	7.103678	3
		4	14.23300	7.463404	3
		Total	14.08975	6.202167	12
	BW3 (60%)	1	15.01333	7.127203	3
		2	14.77200	7.089597	3
		3	14.85833	6.762970	3
		4	14.77600	7.088559	3
		Total	14.85492	5.986381	12
	BW4 (80%)	1	15.22067	6.724908	3
		2	15.29400	6.589100	3
		3	15.25033	6.969434	3
		4	15.36067	6.609534	3
		Total	15.28142	5.735317	12

Total	1	13.84880	6.145223	15
	2	13.89153	6.087468	15
	3	13.92027	6.075907	15
	4	13.95767	6.104767	15
Total		13.90457	5.946338	60

Tabel X.11 Uji Homogenitas Data Kadar Protein Total Udang Putih

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

Dependent Variable: PROT

F	df1	df2	Sig.
.967	14	45	.500

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: PEREBUSAN + KONSENTRASI + PEREBUSAN \* KONSENTRASI

3. Analisis Variansi Data Kadar Protein Total

Tabel X.13 Rangkuman ANOVA Dua Jalan Data Kadar Protein Total Udang Putih

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: PROT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
PEREBUSAN Hypothesis	2006.503	2	1003.252	31299.279	.000
Error	1.346	42	.032 <sup>a</sup>		
KONSENTRASI Hypothesis	73.744	4	18.436	575.161	.000
Error	1.346	42	.032 <sup>a</sup>		
ULANGAN Hypothesis	.095	3	.032	.990	.407
Error	1.346	42	.032 <sup>a</sup>		
PEREBUSAN * KONSENTRASI Hypothesis	4.489	8	.561	17.506	.000
Error	1.346	42	.032 <sup>a</sup>		

a. MS(Error)

4. Uji Beda Duncan (DMRT) Data Kadar Protein Total Udang Putih berdasarkan Lama Perebusan

Tabel X.14 Uji Beda Duncan (DMRT) Data Kadar Protein Total Udang Putih berdasarkan Lama Perebusan

**PROT**

Duncan<sup>a,b</sup>

R	N	Subset		
		1	2	3
R2 (45 MENIT)	20	9.72015		
R1 (30 MENIT)	20		9.91150	
R0 (0 MENIT)	20			22.08205
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .032.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 20.000.

b. Alpha = .05.

Tabel X.15 Uji Beda Duncan (DMRT) Data Kadar Protein Total Udang Putih berdasarkan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh

**PROT**

Duncan<sup>a,b</sup>

BW	N	Subset				
		1	2	3	4	5
BW0 (0%)	12	12.36900				
BW1 (20%)	12		12.92775			
BW2 (40%)	12			14.08975		
BW3 (60%)	12				14.85492	
BW4 (80%)	12					15.28142
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .032.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .05.

### III. UJI HIPOTESIS KADAR ASAM AMINO

#### 1. Uji Normalitas Data Kadar Asam Amino

Tabel X. 16 Statistik Deskriptif Data Asam Amino Udang Putih

Descriptive Statistics									
	N	Minimum	MaXmum	Mean	Std. Deviation	Skewness		Kurtosis	
	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Statistic	Std. Error	Statistic	Std. Error
AA	85	.840	10.508	4.54115	2.609021	.624	.261	-.285	.517
Valid N (listwise)	85								

#### 2. Uji Homogenitas Data Kadar Asam Amino

Tabel X. 17 Statistik Deskriptif Data Asam Amino Udang Putih

Descriptives								
AA	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	MaXmum
					Lower Bound	Upper Bound		
BW0 (0%)	17	4.10147	2.481908	.601951	2.82539	5.37755	.840	9.094
BW1 (20%)	17	4.35894	2.580025	.625748	3.03241	5.68547	.878	9.401
BW2 (40%)	17	4.58329	2.672205	.648105	3.20937	5.95722	.912	9.855
BW3 (60%)	17	4.75659	2.742637	.665187	3.34645	6.16672	.934	10.197
BW4 (80%)	17	4.90547	2.797261	.678436	3.46725	6.34369	.967	10.508
Total	85	4.54115	2.609021	.282988	3.97840	5.10391	.840	10.508

Tabel X. 18 Uji Homogenitas Data Asam Amino Udang Putih

**Test of Homogeneity of Variances**

AA

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.055	4	80	.994

3. Analisis Variansi Kadar Asam Amino

Tabel X.19 Rangkuman ANOVA Satu Jalan Data Kadar Asam Amino Udang Putih

**ANOVA**

AA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.926	4	1.732	.245	.912
Within Groups	564.861	80	7.061		
Total	571.787	84			



#### IV. UJI HIPOTEISIS HUBUNGAN KADAR RESIDU FORMALIN DENGAN KADAR PROTEIN TOTAL

##### 1. Uji Korelasi *Product Moment Pearson*

Tabel X. 20 Statistik Deskriptif

	Mean	Std. Deviation	N
FORMALIN	.17840	.150038	5
PROTEIN	13.90460	1.239347	5

	N	Minimu	MaXmu	Mean	Std. Deviation	Skewness		Kurtosis	
		m	m			Statistic	Std. Error	Statistic	Std. Error
FORMALIN	5	.038	.385	.17840	.150038	.680	.913	-1.778	2.000
PROTEIN	5	12.369	15.281	13.90460	1.239347	-.236	.913	-2.237	2.000
Valid N (listwise)	5								

Tabel X. 21 Nilai Korelasi

		FORMALIN	PROTEIN
FORMALIN	Pearson Correlation	1	-.987**
	Sig. (2-tailed)		.002
	N	5	5
PROTEIN	Pearson Correlation	-.987**	1
	Sig. (2-tailed)	.002	
	N	5	5

\*\* . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

## 2. Uji Regresi

Tabel X. 22 Variabel yang Diuji

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	FORMALIN <sup>a</sup>		. Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: PROTEIN2

Tabel X. 23 Rangkuman Model

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.986 <sup>a</sup>	.973	.964	.235162

a. Predictors: (Constant), FORMALIN

b. Dependent Variable: PROTEIN2

Tabel X. 24 Rangkuman ANOVA

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	5.978	1	5.978	108.099	.002 <sup>a</sup>
	Residual	.166	3	.055		
	Total	6.144	4			

a. Predictors: (Constant), FORMALIN

b. Dependent Variable: PROTEIN2

Tabel X. 25 Koefisien Regresi

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	15.359	.175		87.760	.000
	FORMALIN	-8.146	.783	-.986	-10.397	.002

a. Dependent Variable: PROTEIN2

Tabel X. 26 Diagnostik *Casewise*

Case Number	Std. Residual	PROTEIN2	Predicted Value	Residual
1	.627	12.369	12.22153	.147472
2	-.489	12.928	13.04294	-.114944
3	-1.179	14.090	14.36728	-.277278
4	.054	14.855	14.84242	.012581
5	.987	15.281	15.04883	.232169

a. Dependent Variable: PROTEIN2

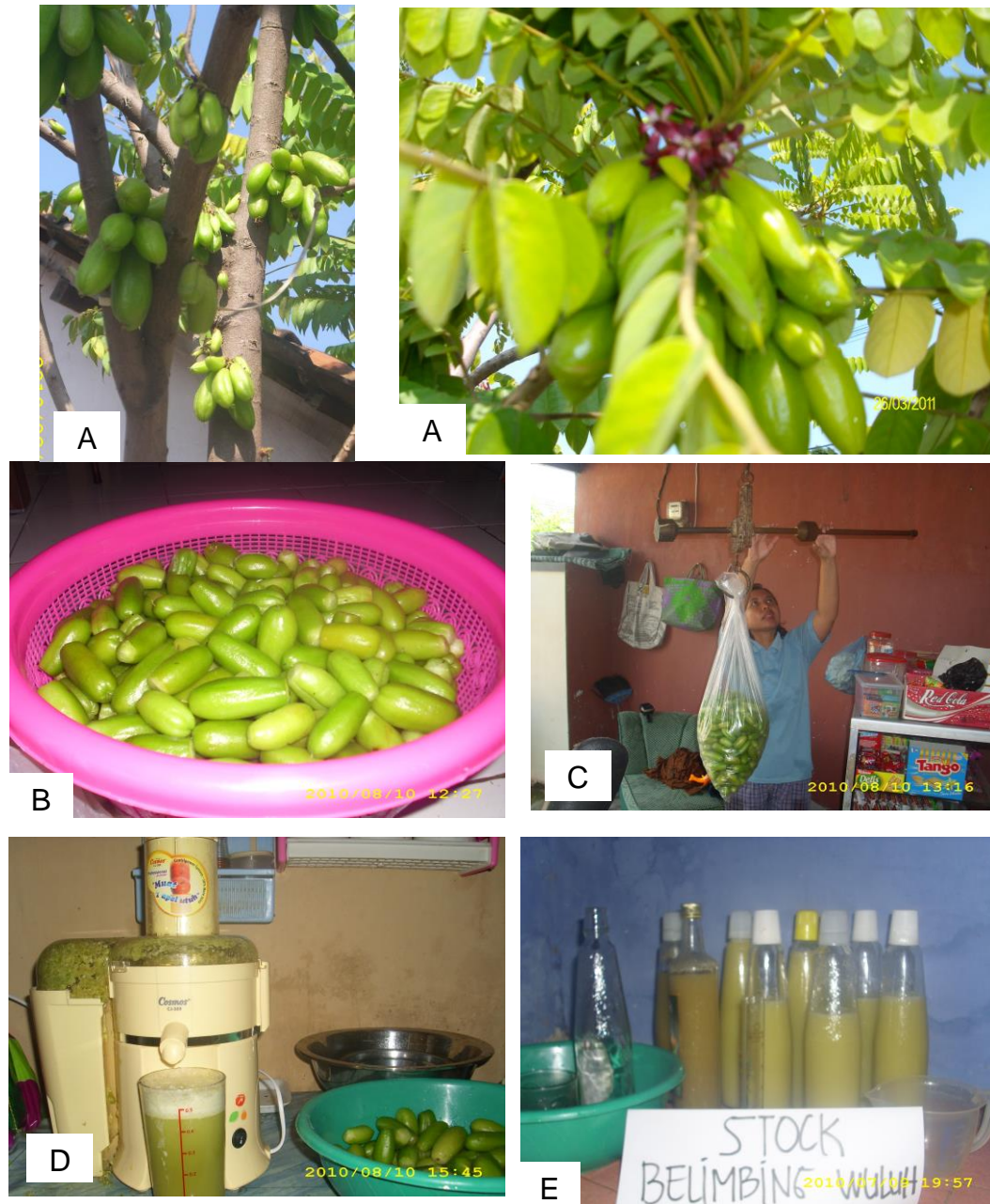
Tabel X. 27 Statistik Residual

	Minimum	MaXmum	Mean	Std. Deviation	N
Predicted Value	12.22153	15.04883	13.90460	1.222500	5
Residual	-.277278	.232169	.000000	.203656	5
Std. Predicted Value	-1.377	.936	.000	1.000	5
Std. Residual	-1.179	.987	.000	.866	5

a. Dependent Variable: PROTEIN2

DOKUMENTASI PENELITIAN

I. Dokumentasi Sampel



Gambar XI.1 Dokumen Persiapan Pembuatan Stok Perasan/Sari Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). A. Pohon Belimbing Wuluh; B. Koleksi dan Sortir Buah; C. Penimbangan Buah; D. Pembuatan Perasan/Sari Buah; E. Stok Perasan/Sari Buah.



Gambar XI.2 Dokumen Pengambilan dan Pemberian Perlakuan Formalin Sampel Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*). A. Lokasi Tambak Udang di Desa Kedung Peluk, Kec. Candi-Sidoarjo; B. Tempat Pengambilan Sampel Udang Segar; C. Larutan Formalin 37%; D. Udang Segar sebelum Diberi Perlakuan Larutan Formalin 5%; E. Pemberian Perlakuan/Perendaman Udang Segar dengan Larutan Formalin 5% selama 60 menit; F. Udang setelah Perendaman/Udang Berformalin.



A



B



C



D

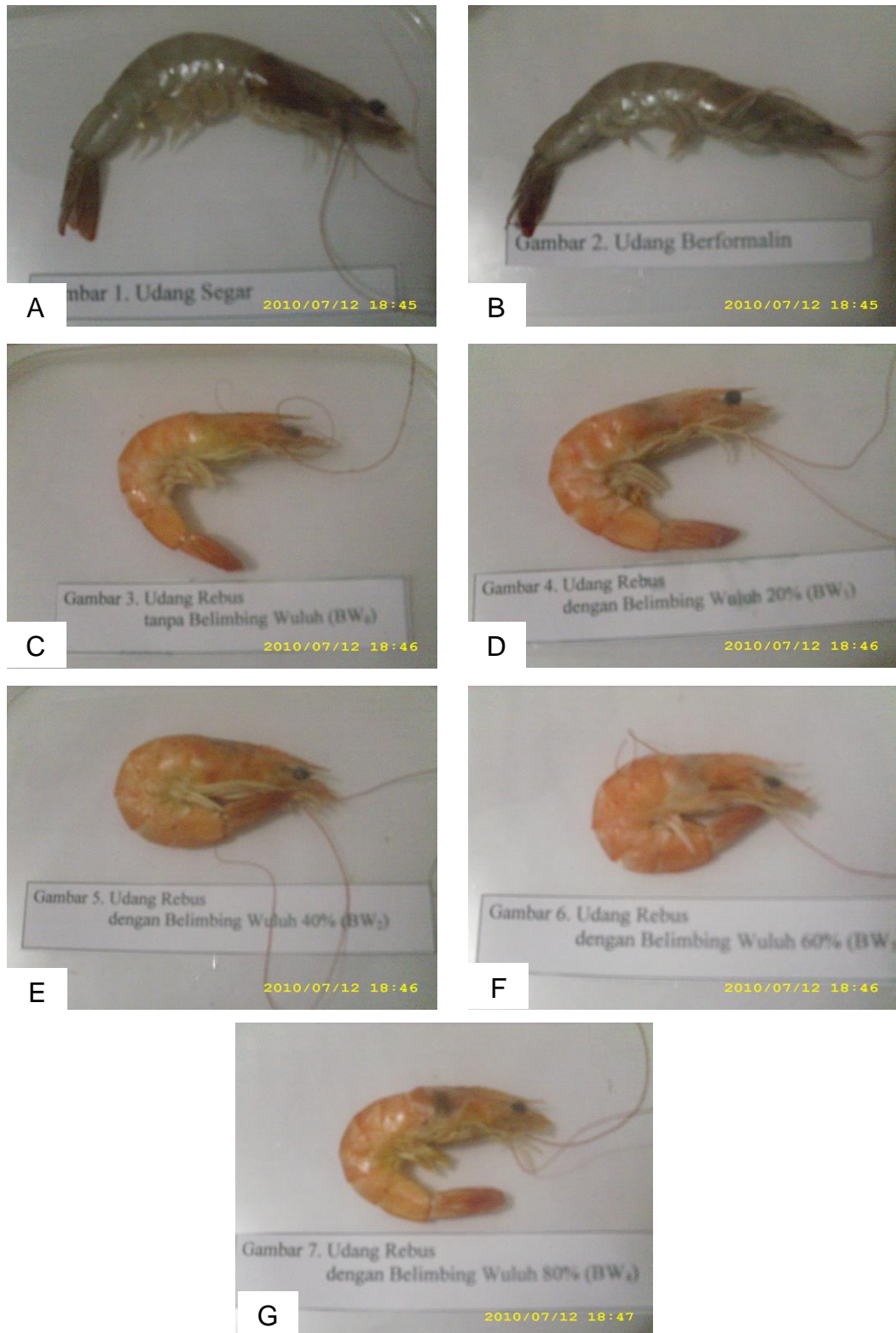


E



F

Gambar XI.3 Dokumen Pemberian Perlakuan Penambahan Perasan Buah Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) dan Perebusan pada Sampel Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*). A, B, dan C. Pembuatan Larutan Perasan Buah Belimbing Wuluh (BW) dengan Konsentrasi 0%, 20%, 40%, 60%, 80%; D. Pemberian Perlakuan BW tanpa Perebusan selama 30 Menit; E. Pemberian Perlakuan BW dan Perebusan selama 30 Menit; F. Pemberian Perlakuan BW dan Perebusan selama 45 Menit



Gambar XI.4 Sampel Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*) setelah Perlakuan. A. Sampel Udang Segar (US); B. Sampel Udang Berformalin (UF); C. Sampel Udang Berformalin dengan Tanpa Penambahan BW dan Perebusan 30 Menit (R1BW0); D. Sampel Udang Berformalin dengan Penambahan BW 20% dan Perebusan 30 Menit (R1BW1); E. Sampel Udang Berformalin dengan Penambahan BW 40% dan Perebusan 30 Menit (R1BW2); F. Sampel Udang Berformalin dengan Penambahan BW 60% dan Perebusan 30 Menit (R1BW3); G. Sampel Udang Berformalin dengan Penambahan BW 80% dan Perebusan 30 Menit (R1BW4).

## II. Dokumentasi Alat-Alat Laboratorium



Gambar XI.5 Alat-alat Laboratorium Penelitian. A. Timbangan analitik; B. Elektroforesis; C. pH Meter dan Stirer; D. Sentrifus; E. Shaker; F. Pipet Volumetri; G. Trans Blot; H. Refrigerator; I. Stirer; J. Sruit/Syringe; K. Spektrofotometer UV; L. Vacum Freez; M. Destruktor; N. Scanner; O. Penerawang hasil *scan* Gel; P.Q.R.S. Perangkat HPLC; T, U, V. Perangkat Uji Protein Total.

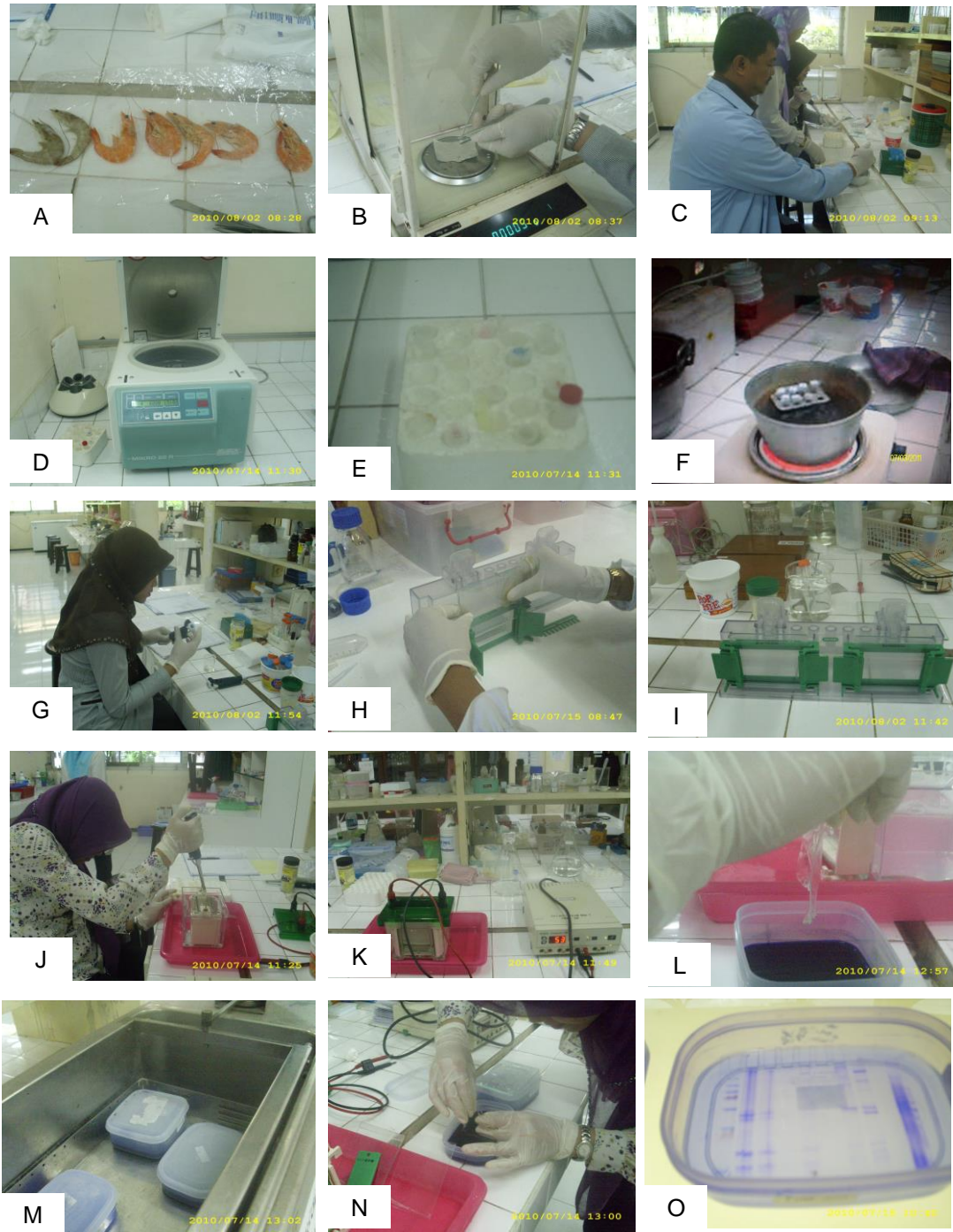


### III. Dokumentasi Uji Protein



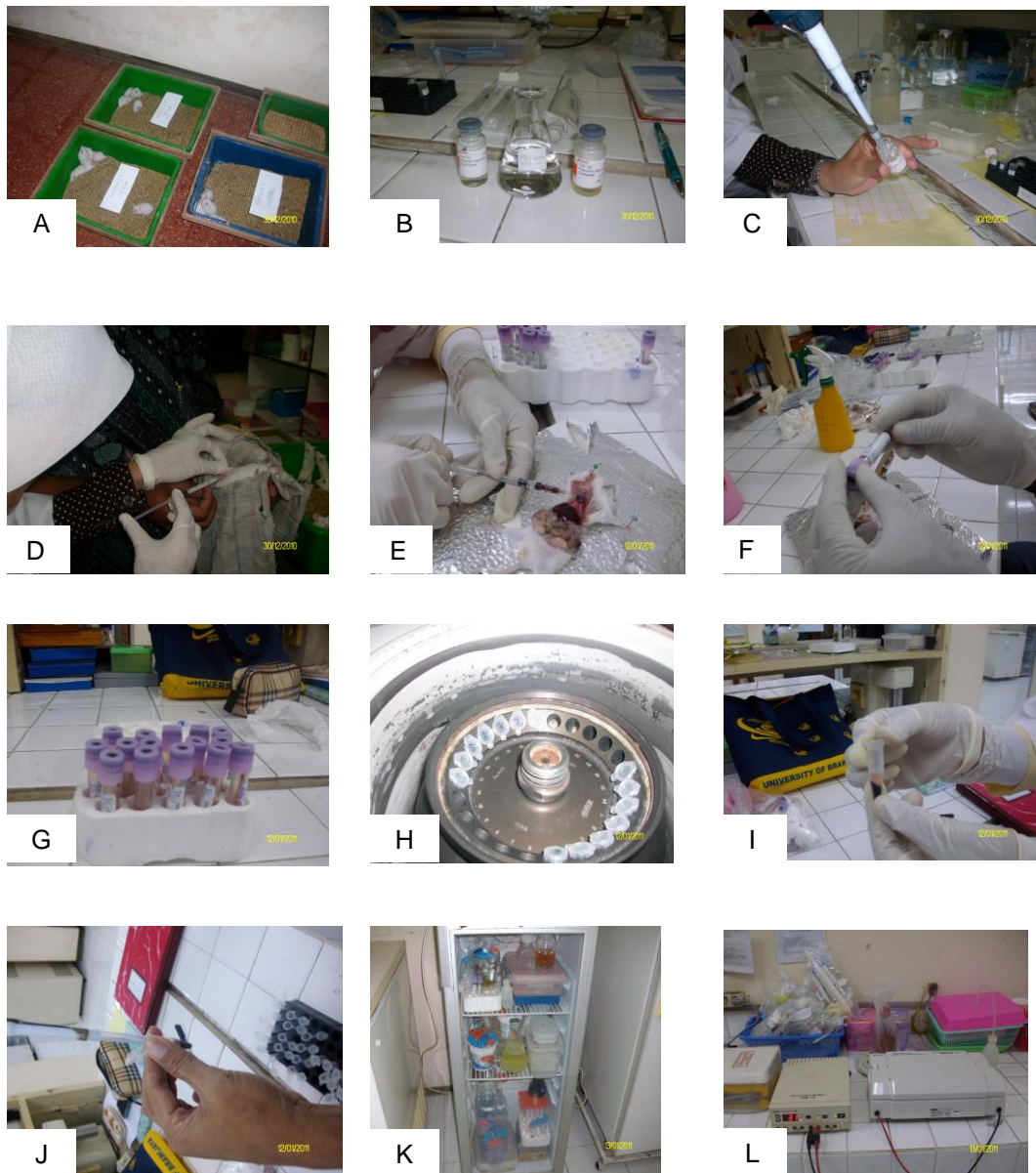
Gambar XI.6 Proses Pengukuran Kadar protein Total. A. Tahap Destruksi; B. Tahap Destilasi; C. Tahap Titrasi; D. Hasil Titrasi

#### IV. Dokumentasi Fraksinasi Protein Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*)



Gambar XI.7 Proses Fraksinasi Protein Udang Putih (*Letapenaeus vannamei*). A-F. Isolasi Protein; G-O.. Elektroforesis Berat Molekul Protein.

V. Dokumentasi Karakterisasi Protein Udang Putih *Letapenaeus vannamei*)



Gambar XI.8 Proses Imunisasi pada Mencit (*Mus musculus*) dan *Western Blotting*.  
A. Mencit percobaan; B. Ajupant dan PBS Steril; C. Membuat Larutan Injeksi; D. Injeksi Protein/Antigen *Intraperitoneal*; E. Pengambilan Darah Arteri Mencit; F. Melarutkan Darah dengan EDTA; G. Darah EDTA; H. Sentrifugasi Darah; I. Hasil Sentrifugasi; J. Mengambil Serum/Supernatan; K. Inkubasi pada suhu 4°C; L. *Western Blotting*

Lampiran 12

## **PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Wiwi Wikanta  
NIM : 108662619394  
Jurusan/Program Studi : Pendidikan Biologi  
Fakultas/Program : Pascasarjana/Doktor (S3)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri; bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pemikiran saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan disertasi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 21 April 2011  
Yang membuat pernyataan,



Wiwi Wikanta