

ASAP CAIR CANGKANG SAWIT (*Elais quinensis*) SEBAGAI ANTIOKSIDAN FENOLIK DALAM MENGHAMBAT KERUSAKAN OKSIDATIF PROTEIN DAGING IKAN TONGKOL PUTIH (*Thunus sp*)

DANIEL A.N.APITULEY , DWIGHT SOUKOTTA

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Pattimura,

ABSTRAK

Protein daging ikan yang disimpan akan mengalami perubahan yang akhirnya mengarah pada kerusakan baik secara oksidatif maupun non oksidatif. Kerusakan oksidatif tersebut dapat terjadi karena serangan radikal pengoksidasi diantaranya radikal hidroksil yang berasal dari luar maupun dalam bahan pangan tersebut. Kerusakan tersebut dapat dicegah antara lain dengan mengeleminasi oksigen atau dengan menambahkan antioksidan. Salah satu antioksidan yang diharapkan dapat mencegah kerusakan oksidatif protein tersebut adalah asap cair. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji daya hambat asap cair sebagai model antioksidan fenolik pada kerusakan oksidatif protein daging ikan yang ditandai dengan terbentuknya protein karbonil serta profil asam amino protein daging ikan Tongkol Putih selama penyimpanan dalam sistim pembangkit radikal hidroksil $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa komponen fenolik dalam asap cair cangkang sawit mampu menghambat terjadinya kerusakan oksidatif pada protein daging ikan Tongkol Putih. Ini terlihat dari rendahnya laju pembentukan protein karbonil pada perlakuan penambahan asap cair 200 ppm bila dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan asap cair. Penambahan asap cair 200 ppm juga menyebabkan rendahnya persentase pengurangan asam-asam amino esensial seperti histidin dari 10,00% menjadi 8,62%; tirosin dari 13,67% menjadi 11,64%; metionin dari 11,26% menjadi 9,79% dan fenilalanin dari 20,69% menjadi 20,27%.

Kata kunci : *Antioksidan, Asap Cair, Ikan Tongkol Putih, Kerusakan oksidatif protein.*

PENDAHULUAN

Oksidasi dalam bahan pangan merupakan salah satu masalah utama selama bahan pangan tersebut disimpan. Terjadinya oksidasi selama penyimpanan bahan pangan dapat menyebabkan terjadinya kerusakan-kerusakan yang dapat menurunkan mutu bahan pangan tersebut. Mayoritas penelitian yang telah dilakukan mengenai proses oksidasi serta implikasinya pada kualitas bahan pangan lebih difokuskan pada oksidasi lipid, oleh karena itu mekanisme reaksi antara lipid dengan molekul oksigen (autooksidasi) telah banyak dipelajari secara detail. Sangatlah berbeda dengan protein yang merupakan biomolekul utama dalam bahan pangan. Proses oksidasi terhadap protein sangat sedikit sekali dikarakterisasikan dan dipelajari, walaupun faktanya oksidasi terhadap protein telah diketahui prosesnya dan terjadi secara simultan dengan terjadinya oksidasi lipid dalam bahan pangan (Andersen dan Odstal, 2001).

Kerusakan oksidatif pada protein adalah terjadinya modifikasi ikatan kovalen pada protein yang diinduksi baik secara langsung oleh senyawa-senyawa oksigen reaktif (ROS) maupun secara tidak langsung oleh produk-produk sekunder dari keadaan stress oksidatif. Menurut Davies (2003), protein dapat mengalami kerusakan oksidatif oleh adanya radikal-radikal pengoksidasi antara lain : radikal hidroksil, radikal peroksil, radikal alkoksil dan beberapa radikal lainnya. Radikal-radikal tersebut dapat dihasilkan dalam sistim biologis maupun secara eksperimen. Radikal hidroksil (OH^*) berasal dari reaksi Fenton dalam siklus reduksi-oksidasi dari ion-ion logam dimana proses reduksi dipengaruhi oleh keberadaan radikal anion superoksida (O_2^{*-}) dan oksidasi oleh produk dismutasi dari hidrogen peroksida (H_2O_2). Ion-ion logam seperti Fe dan Cu merupakan logam-logam transisi yang berperan penting dalam sistim biologi, karena bentuk reduksi dari logam-logam ini dapat dengan cepat memecah hidroperoksida organik sehingga membentuk radikal-radikal yang dapat menginisiasi terjadinya suatu reaksi berantai (Dean dkk, 1987). Secara eksperimental radikal hidroksil (OH^*) dapat dihasilkan dari radiolisis sinar gamma

pada molekul air, maupun oleh sistim katalis logam pengoksidasi (Leeuwenburgh dkk, 1988; Miura dkk, 1992; Marx dan Chevion, 1986; Wolf dan Dean, 1986).

Protein merupakan biomolekul utama yang sangat berpengaruh pada karakteristik fisik maupun kimiawi bahan pangan termasuk daging ikan oleh karena itu terjadinya oksidasi pada protein akan memberikan efek yang signifikan terhadap integritas dari bahan pangan (daging ikan) tersebut. Menurut Davies (2003), konsekuensi akibat terjadinya oksidasi pada protein antara lain terbentuknya senyawa lain yang reaktif (peroksida-peroksida, DOPA, dll) dan radikal-radikal yang memungkinkan terjadinya reaksi berantai, terjadinya fragmentasi pada kerangka protein, dimerisasi, agregasi dan perubahan konformasi dari struktur protein serta protein akan kehilangan sifat-sifat fungsionalnya. Oleh karena itu protein yang mengalami kerusakan oksidatif akan menjadi kurang bermanfaat lagi jika ditinjau dari segi nutrisionalnya bahkan mungkin akan berdampak bagi kesehatan bila terus menerus dikonsumsi. Demikian juga dengan protein daging ikan yang merupakan salah satu sumber protein hewani yg potensial, dikarenakan kandungan asam amino terutama asam amino esensialnya yang lengkap. Namun daging ikan juga digolongkan sebagai bahan pangan yang mudah mengalami kerusakan termasuk kerusakan yang diakibatkan oleh proses oksidasi. Protein ikan merupakan makromolekul utama yang sangat berpengaruh terhadap karakteristik fisik maupun kimiawi daging ikan, oleh karena itu kerusakan oksidatif yang terjadi pada protein akan memberikan efek yang signifikan terhadap integritas daging ikan tersebut dalam hal ini struktur maupun sifat fungsional protein serta kandungan asam-asam amino penyusun protein tersebut.

Salah satu cara yang efektif untuk mengendalikan maupun mencegah terjadinya kerusakan oksidatif pada protein adalah dengan menambahkan antioksidan dalam sistim bahan pangan tersebut. Pengasapan ikan baik dengan cara konvensional maupun modern (dengan asap cair) merupakan salah satu cara pengawetan ikan yang sering dan telah lama dilakukan guna mengatasi masalah tersebut.

Tujuan dari penelitian ini adalah melakukan kajian terhadap pengaruh penambahan asap cair dari limbah kelapa sawit berupa cangkang sawit sebagai model antioksidan fenolik ini dalam mencegah terjadinya kerusakan oksidatif pada protein daging ikan yang ditandai dengan terbentuknya protein karbonil, serta profil asam amino pada protein daging ikan Tongkol Putih yang dioksidasi oleh radikal hidroksil dari sistim katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$

BAHAN DAN METODE

Ikan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan Tongkol Putih (*Thunus sp*) segar yang dibeli di Pasar Kranggan, Yogyakarta. Bahan dasar untuk pembuatan asap cair adalah cangkang sawit yang diperoleh dari PTPN IV Adolina, Tebing Tinggi Sumatera Utara. Asap cair tersebut dibuat dengan melakukan pirolisis terhadap cangkang sawit pada pirolisator dengan suhu 400°C seperti yang dilakukan oleh Tranggono dkk (1996). Alat pirolisator yang digunakan terdapat di laboratorium Rekayasa Pangan Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Universitas Gajah Mada. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah pirolisator atau alat pembuat asap cair, alat untuk redistilasi yang dilengkapi dengan penangas oli dan pengatur suhu, soxlet, pH meter, timbangan analitik, penangas air, sentrifus, spektrofotometer, *rotary vacuum evaporator*, Elektroforesis, HPLC Shimadzu SPD-MI0A, *Freeze dryer* dan peralatan gelas untuk kebutuhan preparasi maupun untuk analisis.

Penelitian ini dilakukan dua tahap, tahap pertama yang dilakukan adalah pembuatan asap cair dari cangkang sawit yang kemudian dilanjutkan dengan redistilasi (fraksinasi) asap cair dengan menggunakan penangas oli, redistilasi ini menggunakan berbagai variasi suhu yaitu $0-100^\circ\text{C}$, $101-125^\circ\text{C}$, $126-150^\circ\text{C}$, $151-200^\circ\text{C}$. Setelah redistilat diperoleh maka dari semua redistilat diuji kemampuan penangkapan radikal bebas (dengan metode Burda dan Oleszek, 2001; Lu dan Foo, 2000) dan daya reduksi (dengan metode dari Oyaizu (1986) dalam Yen dan Chen (1995), redistilat yang memiliki kemampuan yang tertinggi akan diaplikasikan kedaging ikan Tongkol Putih. Tahap kedua dari penelitian ini adalah pengujian kemampuan redistilat asap cair terhadap oksidasi protein daging ikan tongkol putih. Percobaan oksidasi yang dilakukan adalah dengan menggunakan sistim katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ (Leeuwenburgh dkk, 1988; Huggins dkk, 1993; Koscha dkk, 1997).

Tepung daging ikan Tongkol Putih sebagai model protein (Ig/ml) dihomogenisasikan dalam sistim katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ dengan konsentrasi 8mM dan kemudian diberi asap cair dengan konsentrasi 0 (kontrol) dan 200 ppm, setelah itu di inkubasikan pada suhu 4 °C selama 0, 1, 2 dan 3 hari. Analisis dilakukan terhadap terbentuknya protein karbonil (Yan dkk, 1997), serta profil asam amino (Supelco,1985; Antoine dkk,1999). Percobaan ini dilakukan dengan tiga kali ulangan dengan rancangan acak kelompok yang disusun secara faktorial. Untuk perlakuan berpengaruh nyata dan sangat nyata dilakukan uji beda rata-rata Duncan (Gomez dan Gomez, 1984).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi kimia Asap Cair dan redestilatnya

Asap cair yang digunakan dalam penelitian ini terbuat dari cangkang sawit. Cangkang sawit (*Elais guinensis*) yang merupakan hasil limbah pengolahan sawit dan kurang mendapat penanganan yang baik diharapkan dapat menjadi sumber asap cair yang potensial. Asap cair hasil dari pirolisa juga menghasilkan senyawa yang berbahaya bagi kesehatan karena dapat mengakibatkan karsinogenik. Senyawa tersebut adalah kelompok polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH), untuk menghilangkan senyawa ini dari asap cair maka dilakukan redistilasi. Komposisi kimia asap cair dan redestilat yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat di lihat pada Tabel I.

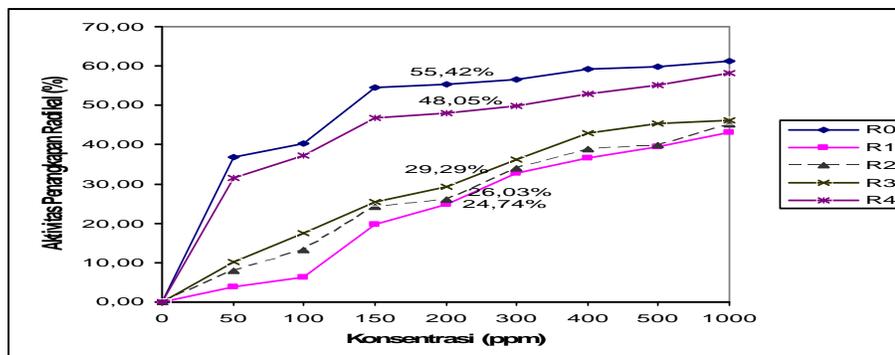
Tabel I. Komposisi kimia asap cair cangkang sawit dan redestilatnya.

Komponen	Kandungan		
	Fenol (%)	Karbonil (%)	Asam Asetat (%)
Asap cair (R0)	3,22	12,28	8,99
R1	0,45	10,32	3,83
R2	0,67	9,02	9,83
R3	0,98	3,49	24,43
R4	1,02	2,36	43,51

Ket : R = Redestilat

Uji aktivitas penangkapan radikal bebas dan daya reduksi dari asap cair.

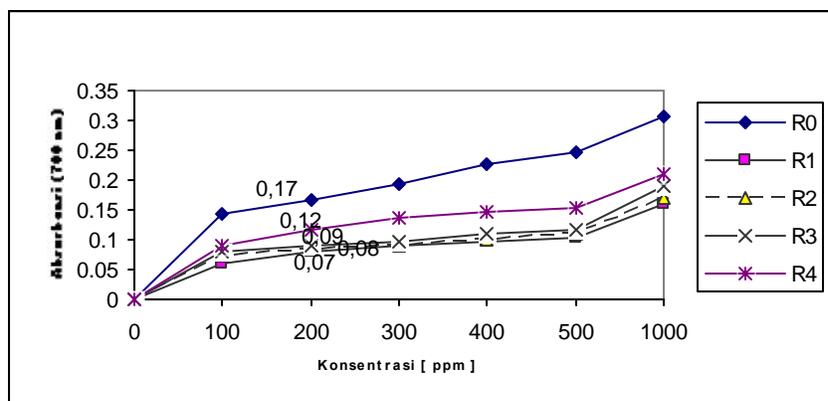
Uji aktivitas penangkapan radikal bebas atau lebih dikenal sebagai uji DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) sering digunakan untuk mengukur aktivitas antioksidan sebagai penangkap radikal bebas, karena metode ini sederhana dan cepat pengujiannya (Nenadis dan Tsimidou, 2002). Prinsip dasar dari metode pengujian ini adalah untuk melihat kemampuan asap cair yang mengandung antioksidan untuk mendegradasi warna ungu dari larutan DPPH. Dimana proses degradasi warna ungu DPPH merupakan hasil reduksi dari molekul DPPH yang merupakan radikal bebas stabil yang ketika ditambahkan asap cair yang mengandung antioksidan akan bertindak sebagai aseptor atom hidrogen. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas asap cair sebagai penangkap radikal bebas meningkat seiring dengan naiknya konsentrasi asap cair seperti yang ditunjukkan pada Gambar I.



Gambar I. Aktivitas penangkapan radikal bebas dari asap cair cangkang sawit dan redestilatnya.

Dari Gambar 1, terlihat bahwa aktivitas penangkapan radikal bebas dari asap cair cangkang sawit kasar (R0/tanpa redestilasi) lebih tinggi bila dibandingkan dengan redestilatnya. Sebagai contoh, pada konsentrasi 200 ppm aktivitas penangkapan radikal bebas asap cair kasar (R0) adalah 55,42%. Sedangkan pada redestilatnya yakni R1 adalah sebesar 24,74%; R2 sebesar 26,03% ; R3 sebesar 29,29% dan R4 adalah sebesar 48,05%. Sementara itu aktivitas daya reduksi (*reducing power*) dari asap cair cangkang sawit dan redestilatnya pada berbagai konsentrasi dapat di lihat pada Gambar 2.

Hasil pengujian daya reduksi menunjukkan bahwa asap cair kasar (R0) memiliki daya reduksi yang paling tinggi bila dibandingkan dengan redestilat-redestilatnya. Dalam uji daya reduksi, senyawa antioksidan merupakan reduktan sehingga akan mereduksi kompleks ion Fe^{+3} (Besi, III, sianida) guna membentuk ion Fe^{+2} . Oleh karena itu, ion Fe^{+2} dapat dimonitor dengan mengukur pembentukan warna biru Perl's Prussian pada panjang gelombang 700 nm. Kenaikan absorbansi menunjukkan peningkatan daya reduksi (Yen dan Chen, 2001) senyawa antioksidan terhadap radikal bebas. Besarnya daya reduksi suatu senyawa antioksidan menunjukkan kemampuannya sebagai donor proton guna menstabilkan radikal bebas dan mengakhiri reaksi rantai radikal. Oleh karena itu, uji daya reduksi yang makin tinggi absorbansinya menunjukkan aktivitas antioksidannya makin besar (Zou dkk. 2004; Murcia dkk, 2001).



Gambar 2. Daya reduksi (*reducing power*) dari asap cair cangkang sawit dan redestilatnya.

Hasil pengujian daya reduksi menunjukkan bahwa asap cair kasar (R0) memiliki daya reduksi yang paling tinggi bila dibandingkan dengan redestilat-redestilatnya. Dalam uji daya reduksi, senyawa antioksidan merupakan reduktan sehingga akan mereduksi kompleks ion Fe^{+3} (Besi, III, sianida) guna membentuk ion Fe^{+2} . Oleh karena itu, ion Fe^{+2} dapat dimonitor dengan mengukur pembentukan warna biru Perl's Prussian pada panjang gelombang 700 nm. Kenaikan absorbansi menunjukkan peningkatan daya reduksi (Yen dan Chen, 2001) senyawa antioksidan terhadap radikal bebas. Besarnya daya reduksi suatu senyawa antioksidan menunjukkan kemampuannya sebagai donor proton guna menstabilkan radikal bebas dan mengakhiri reaksi rantai radikal. Oleh karena itu, uji daya reduksi yang makin tinggi absorbansinya menunjukkan aktivitas antioksidannya makin besar (Zou dkk. 2004; Murcia dkk, 2001).

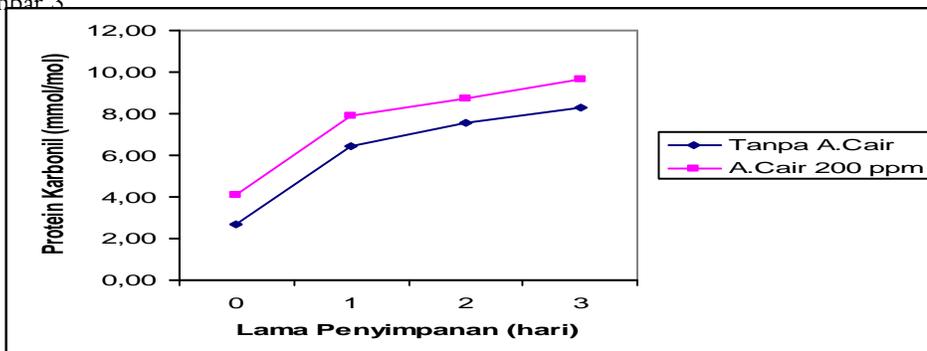
Besarnya daya reduksi asap cair cangkang sawit kasar (R0) pada konsentrasi 200 ppm adalah sebesar 0,17. Sedangkan pada redestilatnya yaitu R1; R2; R3 dan R4 pada konsentrasi 200 ppm masing masing sebesar 0,07; 0,08; 0,09 dan 0,12. Dari hasil tersebut terlihat bahwa redestilat pada suhu 150 - 200 °C (R4) memiliki kemampuan daya reduksi yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan redestilat lainnya yakni redestilat R1, R2 dan R3 yang memiliki suhu redestilasi lebih rendah. Oleh karena itu redestilat R4 ini yang akan digunakan sebagai antioksidan pada percobaan selanjutnya. Menurut Pszczola (1985), komponen yang terdapat dalam asap cair yang berfungsi sebagai antioksidan adalah senyawa-senyawa fenol. Dimana fenol dengan titik didih yang lebih tinggi mempunyai sifat antioksidan yang lebih baik jika dibandingkan dengan senyawa fenol yang bertitik rendah. Agung Wazyka (2000), yang melakukan penelitian tentang aktivitas antioksidan asap cair kayu karet dan redestilatnya terhadap asam linoleat

menyatakan bahwa asap cair dari kayu karet dapat berperan dalam penghambatan terjadinya oksidasi asam linoleat dan ternyata aktivitas antioksidan lebih besar bila dibandingkan redistilatnya. Hal tersebut identik dengan hasil pengujian aktivitas penangkapan radikal bebas asap cair cangkang sawit (R0) dan redistilat R4 dalam penelitian ini yang berkisar antara 48 – 60% pada konsentrasi 200 ppm dengan daya reduksi yang berada pada kisaran antara 0,12 – 0,17 pada konsentrasi 200 ppm, dimana dalam penelitian ini juga menunjukkan bahwa kemampuan yang terbesar ditunjukkan oleh asap cair cangkang sawit kasarnya bila dibandingkan dengan redistilatnya. Memang jika dibandingkan dengan aktivitas penangkapan radikal bebas dari tokoferol, rutin, BHT maupun kuersetin yang berada pada kisaran 60 - 80% pada konsentrasi 200 ppm (Posman Sibuea, 2005), maka aktivitas penangkapan radikal bebas serta daya reduksi dari asap cair cangkang sawit dan redistilatnya seperti yang ditunjukkan dalam hasil penelitian ini terlihat lebih rendah. Namun dari hasil tersebut menunjukkan bahwa asap cair cangkang sawit juga memiliki potensi sebagai antioksidan alami yang memiliki multi fungsi. Karena selain sebagai antioksidan asap cairpun memiliki kemampuan sebagai pengawet dan pembawa cita rasa bagi produk-produk pengasapan. Menurut Maga (1987), asap cair memiliki sifat antioksidan dan dapat digolongkan kedalam antioksidan alami.

Asap cair sebagai antioksidan fenolik dalam sistim pembangkit radikal hidroksil katalis logam $\text{CuSO}_4 / \text{H}_2\text{O}_2$.

a. Protein karbonil.

Hasil analisis pembentukan protein karbonil pada protein daging ikan Tongkol Putih yang diberi perlakuan oksidasi dengan sistim pembangkit radikal hidroksil katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ dapat di lihat pada Gambar 3.



$$y = 3,98 \ln x + 4,44 ; R^2 = 0,96$$

$$y = 4,07 \ln x + 3,02 ; R^2 = 0,97$$

Gambar 3. Pengaruh penambahan asap cair terhadap pembentukan protein karbonil daging ikan Tongkol Putih selama penyimpanan (4°C) dalam sistim pembangkit radikal hidroksil $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$.

Hasil analisis menunjukkan bahwa perlakuan penambahan asap cair akan sangat berpengaruh terhadap terbentuknya protein karbonil daging ikan Tongkol Putih selama penyimpanan baik dalam sistim pembangkit radikal hidroksil katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$. Dari Gambar 3, terlihat pada percobaan oksidasi dengan sistim pembangkit radikal hidroksil katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ (A) pada perlakuan tanpa penambahan asap cair terjadi peningkatan protein karbonil dari 2,70 mmol/mol pada hari ke-0 menjadi 8,30 mmol/mol pada hari ke-3. Peningkatan protein karbonil juga terjadi pada perlakuan dengan penambahan asap cair 200 ppm yaitu 4,11 mmol/mol pada hari ke-0 menjadi 9,67 mmol/mol pada pada hari ke-3. Dari hasil tersebut terlihat bahwa baik pada perlakuan tanpa penambahan asap cair maupun dengan penambahan asap cair 200 ppm menunjukkan terjadinya peningkatan protein karbonil selama penyimpanan. Namun bila dilihat dari “slope” garis regresi yang dihasilkan pada perlakuan tanpa penambahan asap cair (4,07) lebih tinggi bila dibandingkan dengan “slope” garis regresi yang dihasilkan pada perlakuan dengan penambahan asap cair 200 ppm (3,98) seperti ditunjukkan persamaan garis regresi pada Gambar 3, yang mengindikasikan bahwa laju pembentukan protein karbonil daging ikan Tongkol

Putih pada perlakuan tanpa penambahan asap cair lebih tinggi bila dibandingkan dengan laju pembentukan protein karbonil pada perlakuan dengan penambahan asap cair 200 ppm selama penyimpanan. Ini menunjukkan bahwa selama penyimpanan pada sistem pembangkit radikal hidroksil katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ protein karbonil daging ikan tongkol putih akan mengalami peningkatan akan tetapi peningkatan pada perlakuan tanpa penambahan asap cair justru lebih besar bila dibandingkan dengan perlakuan penambahan asap cair 200 ppm. Dari hasil tersebut terlihat bahwa perlakuan penambahan asap cair mampu menekan terbentuknya protein karbonil selama penyimpanan. Ini berarti bahwa komponen fenolik dalam asap cair memiliki kemampuan untuk menekan terjadinya kerusakan oksidatif pada protein ikan oleh serangan dari radikal-radikal oksigen (baik dari radikal hidroksil maupun dari radikal peroksil) yang dihasilkan dari sistem katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$. Sifat antioksidatif dari asap cair ini disebabkan karena kandungan senyawa-senyawa fenolik seperti guaiakol (2-metoksi fenol) dan syringol (2,6-dimetoksifenol) (Maga, 1987). Hal ini juga didukung oleh hasil penelitian yang dilakukan oleh Niniek Wesniati (1999); Agung Wazyka (2000) dan Sambodo Pamenang (2001) yang menunjukkan bahwa senyawa-senyawa fenolik dalam asap cair diantaranya guaiakol (2-metoksi fenol) dan pirokatekol (1,2-dihidroksibenzena) yang terbukti dapat mengurangi atau menghambat terjadinya kerusakan oksidatif pada asam linoleat. Senyawa-senyawa fenolik inilah yang berperan sebagai donor atom hidrogen sehingga dapat menghentikan reaksi oksidatif dari radikal-radikal oksigen yang dihasilkan dari kedua sistem oksidasi tersebut sehingga mampu menekan terjadinya kerusakan oksidatif pada protein daging ikan yang ditandai dengan terbentuknya protein karbonil. Menurut Decker (2002), antioksidan dari kelompok fenolik dapat berperan sebagai antioksidan primer karena bereaksi dengan radikal peroksil lewat pelepasan satu atom hidrogen sehingga menghasilkan produk-produk yang lebih stabil. Antioksidan primer ini dapat menghilangkan radikal bebas selama tahap inisiasi dan propagasi.

Dampak penambahan asap cair terhadap profil asam amino protein daging ikan Tongkol Putih yang dioksidasi dengan sistem pembangkit radikal hidroksil katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$.

Profil asam amino protein daging ikan tongkol putih yang diberi perlakuan tanpa penambahan asap cair dan penambahan asap cair 200 ppm dan kemudian dioksidasi dengan sistem pembangkit radikal hidroksil katalis logam dapat di lihat pada Tabel 2.

Pada Tabel 2, dapat di lihat dampak perlakuan tanpa penambahan asap cair maupun dengan penambahan asap cair 200 ppm terhadap persentase pengurangan asam amino protein daging ikan Tongkol Putih selama penyimpanan dalam sistem pembangkit radikal hidroksil katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ terutama asam-asam amino yang sangat reaktif terhadap radikal - radikal oksigen seperti histidin, arginin, tirosin, metionin, fenilalanin, valin dan leusin (Davies, 2003; Headlam dan Davies, 2004).

Tabel 2. Profil asam amino protein daging ikan Tongkol Putih dalam sistem pembangkit radikal hidroksil katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$.

No	Asam Amino	Kadar Asam Amino (g/ 100 g)					
		$\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ 8 mM (0 jam)	$\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ 8 mM (48 Jam)	% Pengurangan	$\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ 8 mM + Asap Cair 200 ppm (0 jam)	$\text{CuSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ 8 mM + Asap Cair 200 ppm (48 jam)	% Pengurangan
1	Asam Aspartat	3,32	3,00	9,83	3,42	2,73	20,17
2	Asam Glutamat	5,47	4,96	9,32	5,32	4,60	13,53
3	Serin	0,63	0,64	-	0,71	0,65	8,45
4	Histidin *	0,60	0,54	10,00	0,58	0,53	8,62
5	Arginin *	3,24	3,07	5,24	2,23	3,07	-
6	Glisin	0,23	0,22	4,34	0,57	0,25	56,14
7	Treonin	0,23	0,23	-	0,19	0,21	-
8	Alanin	0,38	0,46	-	0,46	0,40	13,04
9	Tirosin *	1,39	1,20	13,67	1,46	1,29	11,64
10	Metionin *	1,42	1,26	11,26	1,43	1,29	9,79
11	Valin	1,02	0,89	12,74	1,02	0,92	9,80
12	Fenilalanin *	0,58	0,46	20,69	0,54	0,43	20,27
13	Isoleusin	1,77	1,52	14,12	1,88	1,61	13,44
14	Leusin	1,28	1,15	10,15	1,22	1,22	-
15	Lisin	2,25	2,01	10,67	2,29	2,13	6,98
T o t a l		23,81	21,61		23,30	21,33	

* Asam amino yang sangat reaktif terhadap radikal hidroksil (Davies, 2003)

Dari Tabel 2, juga terlihat bahwa dampak penambahan asap cair 200 ppm menyebabkan berkurangnya persentase pengurangan histidin dari 10,00% menjadi 8,62%; tirosin dari 13,67% menjadi 11,64%; metionin berkurang dari 11,26% menjadi 9,79% dan fenilalanin persentase pengurangannya berkurang dari 20,69% menjadi 20,27%. Berkurangnya persentase pengurangan asam - asam amino tersebut menunjukkan bahwa komponen fenolik dalam asap cair dapat menghambat terjadinya kerusakan oksidatif pada protein daging ikan akibat serangan radikal-radikal oksigen yang dihasilkan dari dua sistem oksidasi tersebut. Menurut Arts dkk (2001), dalam bahan pangan aktivitas antioksidan dari senyawa - senyawa fenolik dipengaruhi juga oleh interaksinya dengan protein. Hal ini didukung juga oleh Almanjano dan Gordon (2004) yang menyatakan bahwa kompleks BSA-fenolik memiliki kemampuan untuk menghambat terjadinya oksidasi protein yang lebih baik bila dibandingkan dengan kemampuan antioksidan BSA maupun senyawa fenolik secara individu. Mekanisme anti radikal yang ditunjukkan oleh kompleks agregat fenol-protein seperti yang telah dijelaskan sebelumnya (Viljanen, 2005), diawali dengan reaksi dari komponen fenolik tersebut dengan rantai samping asam-asam amino pada protein. Gugus fungsional nukleofilik dari asam-asam amino seperti lisin, histidin, triptofan, tirosin, sistein dan metionin ini dapat bereaksi dengan komponen fenolik yang terdapat dalam asap cair. Interaksi antara komponen fenolik dalam asap cair dengan protein ini dapat mengakibatkan terjadinya polimerisasi sehingga terbentuk kompleks fenol-protein. Terbentuknya agregat fenol-protein ini akan berdampak pada terjadinya perubahan konformasi pada struktur protein maupun sifat fungsionalnya. Adanya interaksi tersebut juga merupakan salah satu penyebab berkurangnya asam-asam amino penyusun protein daging ikan disamping karena serangan dari radikal-radikal oksigen yang dihasilkan dari sistem katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ selama penyimpanan.

Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa asap cair dapat berperan sebagai antioksidan yang dapat menekan terbentuknya radikal hidroksil yang dihasilkan dari sistem katalis logam $\text{CuSO}_4 - \text{H}_2\text{O}_2$ sehingga mampu menekan terjadinya kerusakan oksidatif protein daging ikan Tongkol Putih selama penyimpanan. Oleh karena itu pemanfaatan dan penggunaan asap cair sebagai antioksidan juga dapat diterapkan tidak hanya untuk mencegah kerusakan oksidatif pada lipid seperti yang selama ini telah dilakukan tetapi juga dapat digunakan untuk mencegah kerusakan oksidatif pada protein terutama kerusakan yang disebabkan oleh radikal-radikal pengoksidasi seperti radikal hidroksil maupun radikal peroksil. Radikal-radikal pengoksidasi ini biasanya dihasilkan pada tahapan awal terjadinya oksidasi dan lingkungan yang aqueous merupakan tempat yang optimal untuk dihasilkannya radikal-radikal pengoksidasi tersebut (Soyer dan Hultin, 2000). Protein bahan pangan termasuk protein daging ikan biasanya berada pada lingkungan tersebut (komponen terbesar penyusun otot daging ikan adalah air dan protein) oleh karena itu penggunaan asap cair dianggap tepat karena sifatnya yang larut air serta memiliki kemampuan penetrasi yang cukup baik ke dalam daging ikan sehingga komponen-komponen aktif terutama komponen fenoliknya dapat berinteraksi dengan protein serta melindungi protein dari serangan radikal-radikal pengoksidasi tersebut.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Komponen fenolik dalam asap cair cangkang sawit (*Elais quinensis*) mampu menghambat terjadinya kerusakan oksidatif pada protein daging ikan Tongkol Putih. Ini terlihat dari rendahnya laju pembentukan protein karbonil pada perlakuan penambahan asap cair 200 ppm bila dibandingkan dengan perlakuan tanpa penambahan asap cair. Penambahan asap cair 200 ppm juga menyebabkan rendahnya persentase pengurangan asam-asam amino esensial seperti histidin dari 10,00% menjadi 8,62%; tirosin dari 13,67% menjadi 11,64%; metionin dari 11,26% menjadi 9,79% dan fenilalanin dari 20,69% menjadi 20,27%.

Saran

Penelitian yang dilakukan ini merupakan langkah awal dalam mengkaji dampak terjadinya oksidasi pada protein terutama pada protein daging ikan. Oleh karena itu penelitian ini masih perlu dilanjutkan dengan melakukan kajian yang lebih spesifik pada terbentuknya hidroperoksida protein maupun pada profil PAGE protein sehingga dapat lebih menunjukkan tentang terjadinya agregasi atau fragmentasi pada molekul protein akibat oksidasi. Kajian juga perlu dilakukan tentang dampak oksidasi terhadap perubahan sifat fungsional protein (kemampuan membentuk gel, emulsi dan buih), warna maupun tekstur bahan pangan serta dampak oksidasi protein terhadap kesehatan terutama bila protein yang telah teroksidasi tersebut dikonsumsi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agung. Wazyka , Purnama Darmadji dan Sri Rahardjo. 2000. Aktivitas antioksidan asap cair kayu karet dan redestilatnya terhadap asam linoleat. Seminar Nasional Industri Pangan 2000.
- Almanjano M.P and Gordon M.H. 2004. Synergistic effect of BSA on antioxidant activities in model food emulsions. *J Am Oil Chem Soc* 81: 275-280.
- Andersen.H.J., Odstal.H. 2001. Protein oxidation in foods : Mecahnism aand implications. Dept.of Animal. Products Quality.. Danish Institute of Agriculture Science.Denmark.
- Arts M.J.T.J, Haenen G.R.M.M., Voss H.P and Bast A. 2001. Masking of antioxidant capacity by the interaction of flavonoids with protein. *Food Chem Toxicol* 39: 787-791.
- Burda.S and Oleszek.W. 2001. Antioxidant and antiradical activities of flavonoids.*J.Agric.Food.Chem* (49):2774-2779.
- Davies.M.J., 2003. Protein oxidation : Concepts, mechanism & new insight. http://www/medicine.uiowa.edu/frfb/SFRS/protein_ox.ppt.
- Dean.R.T, Shanlin.F.U, Stocker.R, and Davies.M.J, 1997. Biochemistry and pathology of radical-mediated protein oxidation. *Biochem.J.*324:I – 18.
- Headlam.H.A and Davies.M.J. 2004. Markers of protein oxidation: different oxidants give rise to variable yields of bound and released carbonyl product. *Free Rad.Biol.Med* 36: 1175-1184.
- Huggins.T.G, W-knecht.M.C, Delories.N.A, Bayner.J.W,Thorpe.S, 1993. Formation of O- tyrosine and dytyrosine in protein during radiolitic and metal catalyzed oxidation. *J.Biol.Chem.* Vol 268 : 12341 - 12347.
- Koscha.T, Yamaguchi.M, Ohitaki.H, Fukuda T and Aoyagi.T, 1997. Hidrogen peroksida-mediated degradation:different oxidation modes of Copper-and Iron dependent hydroxy radicals on the degradation of albumin. *Biochim.Biophys.Acta.*1337(2):319-26.<http://www.Entrez.PubMedz.htm>
- Leeuwenburgh.C., Hansen.P, Shaish.A,J.Holloszhy.J and Heinecke.J,W. 1988. Markers of protein oxidation by hydroxy radical and reactive nitrogen species in tissues of aging rats. *Am.J.Physiol.* 274:R453-R461.
- Lu.Y and Foo.Y. 2000. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenol from Apple pomace .*Food Chemistry* (68): 81– 85.
- Maga, J.A., 1987. Smoke in food processing. CRC.Press.Inc.Boca Raton, Florida.

- Marx.G and Chevion.M, 1986. Site-specific modification of albumin by free radicals.Reaction with Copper(II) and ascorbate. *Biochem. J.* 236: 397 – 400.
- Miura,T., Muraoka.S and Ogiso.T. 1992. Oxidative damage to BSA induces by hydroxy radical generating systems of Xanthine oxidase + EDTA+Fe(III) and Ascorbate+EDTA+Fe(III). *Chem.Biol.Interact.*85(2-3):243-54.
- Murcia, M.A., Jimenez.A.M. , and M. Martinez-Tome. 2001. Evaluation of The Antioxidants Properties of Mediterranean and Tropical Fruits Compared with Common Food Additives. *J. Food Protec.* (64): 2037 – 2046.
- Nenadis, N. and M. Tsimidou. 2002. Observations on the Estimation of Scavenging Activity of Phenolic Compounds Using Rapid 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH•) Test. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* (79): 1191 – 1195.
- Ninieki. Wesniati, Purnama.Darmadji danTranggono. Aktivitas penghambatan oksidasi lemak fraksi-fraksi asap cair tempurung kelapa (*Cocos nucifera*, L.) Prosiding Seminar Nasional Pangan Yogyakarta, 14 September, 1999.
- Pokorny.I, Davidek.J, Chocholata.V, Panek.J, Bulantova.H, Janitz.W, Valencova.H, and Viereckclova.M. 1990. Interaction of oxidized lipids with protein. *Die.Nahrung* 34:159-169.
- Posman Sibuea, 2005. Mekanisme quenching oksigen singlet oleh kuersetin dan peran emulsifier terhadap stabilitas oksidatif emulsi minyak dalam air. Disertasi, Universitas Gadjah Mada.Yogyakarta.
- Pszczola, D.E., 1995. Tour highlights production and uses of smoke base flavors. *Food Tecn.* (49): 70 – 74..
- Sambodo Pamenang, 2001. Identifikasi, kuantifikasi dan konfirmasi senyawa aktif asap cair kayu karet yang mempunyai aktivitas antioksidan terhadap asam linoleat. Himpunan Makalah Seminar Nasional Tekn. Pangan, Semarang 9 – 10 Oktober 2001.
- Soyer .A and Hultin.H., 2000. Kinetics of oxidation of the lipids and protein of cod sarcoplasmic reticulum. *J.of Agric.Food.Chem.*(48):2127-2134.
- Tranggono, Suhardi, Setiaji.B, Darmadji.P, Supriyanto dan Sudarmanto, 1996. Identifikasi asap cair dari berbagai jenis kayu dan tempurung kelapa. *J. Ilmu dan Tekn. Pangan* 1(2): 15 – 24.
- Viljanen.K. 2005. Protein oxidation and protein - lipid interactions in different food models in the presence of berry phenolics. Academic Dissertation. Dept.Of Applied Chemistry and Microbiology.Food Chemistry.University of Helsinki.
- Wolf.S.P and Dean.R.T, 1987. Fragmentation of proteins by free radicals and it's effect on their susceptibility to enzymic hydrolysis. *Biochem.J* 234 (2):399-403.
- Yan.L.J, Lodge.J.K, Traber.M.G, Matsugo.S and Packer.L, 1997. Comparison between copper-mediated and hypochlorite-mediated modifications of human low density lipoproteins evaluated by carbonyl formation. *J.Lipid Research.* Vol 38,p: 992 – 1001.
- Yen.G.W and Chen.H.Y.1995. Antioxidant activity of various tea extracts in relation to their antimutagenicity. *J.Agric.Food Chem.* Vol 43 (1):27 – 31.
- Zou, Y., Y. Lu, and D. Wei. 2004. Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum Perforatum* L. in Vitro. *J. Ag. Food. Chem.* (52): 5032 – 5039.