

DAMPAK PENAMBAHAN CHELATING AGENT (ASAM ASETAT, ASAM SITRAT DAN JERUK NIPIS) TERHADAP KADAR Fe, Zn DAN PROTEIN DAGING KUPANG BERAS (*Corbula faba*)

INDASAH

*The objective of this research is to study the use of chelating agent (acetic acid, citric acid and lime fruit) by having minimal decrease of Fe, Zn and protein of kupang beras (*Corbula faba*). The research is True Experimental and used is Completely Randomized Design with 9 treatments, namely, the addition of 5 %, 15 % and 25 % acetic acid, 5.3 %, 16 % and 26.6 % citric acid, 79 gram, 238 gram and 396 gram lime fruit and compared with controlled treatment. The data obtained from the research finding show that without treatment (control) the average content of Fe is 447.651 ppm, Zn is 14.404 ppm and protein is 6.603 %. The research findings show that by adding acetic acid there is decrease of Fe by 40 – 44.8 %, a decrease of Zn by 78 – 87.7 % and a protein decrease by 30.4 – 36.3 %. The research findings show that by adding citric acid there is decrease of Fe by 38.9 - 49 %, a decrease of Zn by 81 – 85.8 % and a protein decrease by 24.4 – 33.9 %. The research findings show that by adding lime there is decrease of Fe by 39.6 – 45.2 %, a decrease of Zn by 81.5 – 83.2 % and a protein decrease by 23.2 – 28.7 %.*

Keywords : Chelating Agent (Asam Asetat, Asam Sitrat, Jeruk Nipis), Kadar Fe, Zn Dan Protein Daging Kupang Beras (*Corbula Faba*)

PENDAHULUAN

Kupang merupakan makanan tradisional yang khas. Kupang banyak digemari penduduk Surabaya, Sidoarjo, Bangil dan Pasuruan sebagai hidangan yang dikenal dengan sebutan lontong kupang. Laut merupakan tempat bermuaranya semua sungai, baik sungai kecil maupun sungai besar, dengan demikian laut akan menjadi tempat berkumpulnya zat-zat pencemar yang dibawa oleh aliran sungai-sungai tersebut. Banyak pabrik (industri) yang membuang limbah industrinya ke sungai tanpa proses pengolahan limbah terlebih dahulu dan limbah hasil kegiatan rumah tangga yang dibuang ke sungai. Limbah-limbah ini akan terbawa ke laut oleh aliran sungai yang nantinya akan mencemari laut (Yanney, 1990). Salah satu zat pencemar yang paling berbahaya adalah logam berat, karena logam berat umumnya bersifat toksik (racun) dan kebanyakan di air dalam bentuk ion.

Kupang merupakan salah satu hewan laut yang dapat mengakumulasi logam berat yang ada di lingkungannya, karena kupang mempunyai sifat hidup yang menetap, lambat untuk menghindarkan diri dari pencemaran dan mempunyai toleransi yang tinggi terhadap bahan pencemar (Darmono, 2001). Kupang yang mengandung logam berat, berbahaya bagi kehidupan. Apabila kupang tersebut dikonsumsi manusia, maka akan mengakibatkan terakumulasinya logam berat dalam tubuh yang bisa berakibat buruk bagi kesehatan.

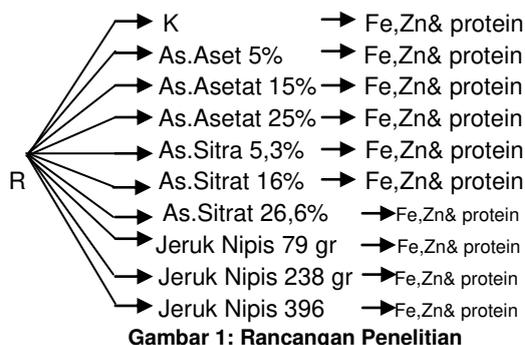
Kandungan logam berat yang dianjurkan oleh FAO/WHO dimana dalam hewan laut yang boleh dikonsumsi manusia maksimal untuk Cd sebesar 0,1 ppm dan Pb 1 ppm. Menurut ketentuan ADI (Acceptable-Daily-Intake) batas toleransi pemasukan Cd dalam tubuh 25 – 60 ug/hari dan untuk Pb 200 – 300 ug/hari (Hamilton, 1980). Menurut ketentuan SNI kandungan Pb yang diperbolehkan maksimum 2 mg/kg.

Kupang merupakan produk perikanan yang bergizi, namun di sisi lain kupang juga telah tercemar logam berat yang membahayakan manusia, untuk itu perlu dilakukan upaya menurunkan kandungan logam berat yang tidak dibutuhkan (Logam berat) pada kupang dengan tetap mempertahankan kandungan logam yang dibutuhkan (Fe dan Zn) dan protein sehingga aman dan bergizi untuk dikonsumsi oleh manusia.

Salah satu upaya tersebut adalah dengan menggunakan pengikat logam (*chelating agent*) antara lain asam asetat, asam sitrat dan asam trikarboksilat yang ada dalam jeruk nipis.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental sesungguhnya (True Experimental), dalam rancangan ini harus memenuhi tiga prinsip yaitu randomisasi, replikasi dan adanya kelompok/perlakuan kontrol atau banding. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap. Rancangan ini diasumsikan bahwa populasi "homogen" artinya semua karakteristik antar unit populasi sama, sehingga pengukuran awal tidak dilakukan, oleh karena dianggap sama untuk semua kelompok, karena berasal dari satu populasi yang sama. Rancangan ini dapat digambarkan sebagai berikut :



Gambar 1: Rancangan Penelitian

Sampel kupang beras diperoleh dari Desa Balongdowo, Sidoarjo sebagai pusat pengumpul kupang beras yang diambil dari perairan estuaria Sidoarjo. Kupang beras dicuci, kemudian direbus dengan suhu 100°C selama 2 jam, untuk memisahkan cangkang dan dagingnya. Daging kupang beras kemudian untuk ditimbang masing masing 100 gram sebanyak perlakuan yaitu 9 + 1 kontrol dengan ulangan 4 kali sehingga diperlukan daging kupang 4 kg. Kemudian masing masing diletakkan dalam baskom/tempat plastik dan dilakukan perendaman asam asetat 5 % (5 ml asam asetat dalam 100 ml aquades), 15 % (15 ml asam asetat dalam 100 ml aquades) dan 25 % (25 ml asam asetat dalam 100 ml aquades), asam sitrat 5,3% (5,3 gram asam sitrat dalam 100 ml aquades), 16 % (16 gram asam sitrat dalam 100 ml aquades, 26,6 % (26,6 gram dalam 100 ml aquades), dan jeruk nipis dengan konsentrasi 79 gram jeruk nipis diambil airnya dan ditambahkan aquades sampai 100 ml, 238 gram jeruk nipis diambil airnya tanpa ditambahkan aquades dan 396 gram jeruk nipis diambil airnya tanpa ditambahkan aquades, semua bahan direndam dalam larutan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis dengan berbagai konsentrasi selama 1 jam. Setelah 1 jam, kupang beras dicuci dengan aquades kemudian dilakukan pengukuran kadar Fe, Zn dan protein pada daging kupang.

HASIL

Rata-rata dan Penurunan Kadar Fe, Zn dan Protein Daging Kupang Beras Akibat Penambahan Asam Asetat Dengan Konsentrasi Yang Berbeda.

Tabel 1: Rata-rata dan Penurunan Kadar Fe, Zn dan Protein Daging Kupang Beras Akibat Penambahan Asam Asetat Dengan Konsentrasi Yang Berbeda

As. Asetat	Kadar Fe (mg/kg) ($\bar{x} \pm SD$)	Kadar Zn (mg/kg) ($\bar{x} \pm SD$)	Kadar Protein (%) ($\bar{x} \pm SD$)
K	447,65±40,80	14,40±0,91	6,60 ± 0,11
AAR (5%)	268,38 ± 6,97	3,17 ± 0,23	4,605 ± 0,11
AAS (15%)	252,74 ± 5,22	2,3 ± 0,46	4,285 ± 0,04
AAT(25%)	247,04 ± 8,35	1,78 ± 0,32	4,21 ± 0,06

Melihat tabel di atas dapat dijelaskan bahwa dengan pemberian asam asetat maka rata-rata kadar Fe, Zn dan protein tertinggi terjadi pada penambahan asam asetat 5 %.

Hasil analisis penurunan kadar Pb, Cd, Fe, Zn dan protein akibat perlakuan asam asetat dibandingkan dengan kontrol.

Tabel 2: Hasil analisis penurunan kadar Pb, Cd, Fe, Zn dan protein akibat perlakuan asam asetat dibandingkan dengan kontrol

As. Asetat	Penurunan Fe (%)	Penurunan Zn (%)	Penurunan Protein (%)
AAR (5%)	40,0	78,0	30,4
AAS (15%)	43,5	84,0	35,1
AAT(25%)	44,8	87,7	36,3

Melihat tabel di atas dapat dijelaskan bahwa pengaruh pemberian asam asetat terhadap penurunan kadar Fe, Zn dan protein terendah terjadi pada pemberian asam asetat 5 %.

Rata-rata dan Penurunan Kadar Pb, Cd, Fe, Zn dan Protein Daging Kupang Beras Akibat Penambahan Asam Sitrat.

Tabel 3: Rata-rata dan Penurunan Kadar Pb, Cd, Fe, Zn dan Protein Daging Kupang Beras Akibat Penambahan Asam Sitrat

As. Sitrat	Kadar Fe (mg/kg) ($\bar{x} \pm SD$)	Kadar Zn (mg/kg) ($\bar{x} \pm SD$)	Kadar Protein (%) ($\bar{x} \pm SD$)
K	447,65 ± 40,80	14,40±0,91	6,60 ± 0,11
ASR (5,3%)	273,76 ± 0,291	2,720±0,076	4,995±0,058
ASS (16%)	234,44 ± 8±9,90	2,354±0,070	4,500±0,107
AST(26,6%)	227,84 ± 8±12,097	2,052±0,148	4,368±0,089

Melihat tabel diatas dapat dijelaskan bahwa dengan pemberian asam sitrat maka kadar Fe, Zn dan protein tertinggi terjadi pada pemberian asam sitrat 5,3 %.

Penurunan kadar Fe, Zn dan protein akibat perlakuan asam sitrat dibandingkan dengan kontrol.

Tabel 4: Penurunan kadar Fe, Zn dan protein akibat perlakuan asam sitrat dibandingkan dengan kontrol

As. Sitrat	Penurunan Fe (%)	Penurunan Zn (%)	Penurunan Protein (%)
ASR (5,3%)	38,9	81,0	24,4
ASS (16%)	47,6	83,7	31,9
AST(26,6%)	49,0	85,8	33,9

Melihat tabel diatas dapat dijelaskan pengaruh pemberian asam sitrat terhadap penurunan Fe, Zn dan protein terendah terjadi pada pemberian asam sitrat 5,3 %.

Rata-rata dan Penurunan Kadar Fe, Zn dan Protein Daging Kupang Beras Akibat Penambahan jeruk nipis.

Tabel 5: Rata-rata dan Penurunan Kadar Fe, Zn dan Protein Daging Kupang Beras Akibat Penambahan jeruk nipis

Jeruk Nipis	Kadar Fe (mg/kg) ($\bar{x} \pm SD$)	Kadar Zn (mg/kg) ($\bar{x} \pm SD$)	Kadar Protein (%) ($\bar{x} \pm SD$)
K	447,65±40,80	14,40±0,91	6,60±0,11
JNR(79g)	270,423±12,382	2,672±0,276	5,073±0,181
JNS(238g)	270,423±12,382	2,504±0,471	4,845±0,077
JNT(396g)	245,513±22,212	2,420±0,04	4,710±0,065

Melihat tabel di atas dapat dijelaskan bahwa dengan penambahan jeruk nipis rata-rata kadar Fe, Zn dan protein tertinggi terjadi pada pemberian jeruk nipis 79 gram.

Penurunan kadar Fe, Zn dan protein dibandingkan dengan kontrol akibat perlakuan jeruk nipis dibandingkan dengan kontrol.

Tabel 6: Penurunan kadar Fe, Zn dan protein dibandingkan dengan kontrol akibat perlakuan jeruk nipis dibandingkan dengan kontrol

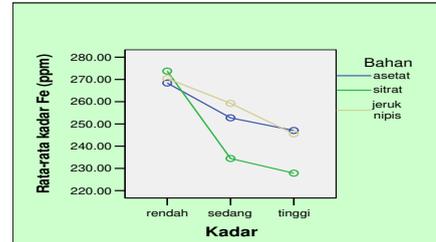
Jeruk Nipis	Penurunan Fe (%)	Penurunan Zn (%)	Penurunan Protein (%)
JNR(79g)	39,6	81,5	23,2
JNS(238g)	42,1	82,0	26,6
JNT(396g)	45,2	83,2	28,7

Melihat tabel di atas dapat dijelaskan pengaruh pemberian jeruk nipis terhadap penurunan rata-rata kadar Fe, Zn dan protein terendah terjadi pada perlakuan jeruk nipis 79 g.

Rata-rata kadar Fe daging kupang beras akibat penambahan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis.

Rata rata kadar Fe akibat perlakuan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis dengan berbagai

konsentrasi dalam daging kupang beras disajikan pada gambar 2.

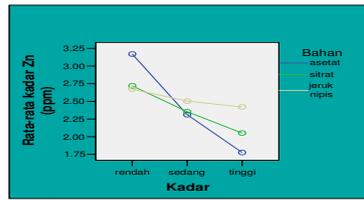


Gambar 2: Rata-rata kadar Fe akibat penambahan asam asetat, asam sitrat & jeruk nipis

Melihat gambar diatas dapat dijelaskan bahwa penambahan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis pada konsentrasi yang semakin rendah akan memberikan pengaruh pada penurunan Fe yang semakin besar. Asam sitrat dengan konsentrasi rendah memberikan pengaruh yang paling rendah dalam menurunkan kadar Fe, disusul jeruk nipis dan asam asetat. Jeruk nipis dengan konsentrasi sedang mempunyai kemampuan yang paling rendah dalam menurunkan kadar Fe, disusul asam asetat dan asam sitrat. Asam asetat dengan konsentrasi tinggi mampu menurunkan kadar Fe paling rendah, di susul jeruk nipis dan asam sitrat. Dengan demikian penambahan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis berpengaruh terhadap kadar Fe daging kupang beras, diketahui kadar Fe tertinggi dengan penambahan asam sitrat kadar rendah yaitu 5,3 %.

Rata-rata kadar Zn daging kupang beras akibat penambahan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis.

Rata rata kadar Zn akibat perlakuan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis dengan berbagai konsentrasi dalam daging kupang beras disajikan pada gambar 3.

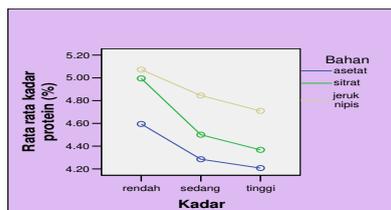


Gambar 3: Rata-rata kadar Zn akibat penambahan asam asetat, asam sitrat & jeruk nipis

Melihat gambar diatas dapat dijelaskan bahwa penambahan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis pada konsentrasi yang semakin rendah akan memberikan pengaruh pada penurunan Zn yang semakin besar. Asam asetat dengan konsentrasi rendah memberikan pengaruh yang paling rendah dalam menurunkan kadar Zn, disusul asam sitrat dan jeruk nipis. Jeruk nipis dengan konsentrasi sedang mempunyai kemampuan yang paling rendah dalam menurunkan kadar Zn, disusul asam sitrat dan asam asetat. Jeruk nipis dengan konsentrasi tinggi mampu menurunkan kadar Zn paling rendah, di susul asam sitrat dan asam asetat. Dengan demikian penambahan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis berpengaruh terhadap kadar Zn daging kupang beras, diketahui kadar Zn tertinggi adalah dengan penambahan asam asetat 5 %.

Rata-rata kadar protein daging kupang beras akibat penambahan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis.

Rata rata kadar Zn akibat perlakuan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis dengan berbagai konsentrasi dalam daging kupang beras disajikan pada gambar 4.



Gambar 4 Rata-rata kadar protein akibat penambahan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis.

Melihat gambar diatas dapat dijelaskan bahwa penambahan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis pada konsentrasi yang semakin rendah akan memberikan pengaruh pada penurunan protein yang semakin besar. Penambahan jeruk nipis dengan berbagai konsentrasi memberikan pengaruh pada penurunan protein yang paling rendah disusul penambahan asam sitrat dan asam asetat. Dengan demikian penambahan asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis terhadap kadar protein, diketahui kadar protein tertinggi adalah dengan penambahan jeruk nipis 79gram.

Kupang mempunyai kemampuan mengakumulasi logam berat sampai batas yang tidak menyebabkan efek racun pada dirinya sendiri dikarenakan organisme tersebut memiliki protein pengikat logam (*metallothionein*) yaitu protein yang terlibat dalam regulasi logam esensial dan sebagai agen detoksifikasi logam non esensial (Roesijadi, 1992). Adanya peran *metallothionein* ini menyebabkan banyak organisme yang mampu mengakumulasi logam berat jika mereka hidup di perairan yang tercemar logam berat. Namun bila kadar logam berat terlalu tinggi dapat mengganggu homeostatis fungsi *metallothionein* dan akhirnya dapat meracuni organisme tersebut (Roesijadi, 1992). Dengan adanya logam dalam tubuh organisme hal ini akan berpengaruh terhadap protein antara lain menghambat aktivitas enzim, konfigurasi protein tidak fungsi, mengikat residu negatif gas fosfolipid dan residu protein (Darmono, 1995).

Upaya menghilangkan atau menurunkan kadar logam berat dalam daging kupang beras yaitu dengan menggunakan *chelating agent*. Hasil penelitian penggunaan *chelating agent* yaitu asam asetat, asam sitrat dan jeruk nipis dengan berbagai konsentrasi menunjukkan bahwa

penambahan jeruk nipis 79 gram dan asam sitrat 5,3 % mampu menurunkan kadar Logam berat dengan meminimalkan penurunan Fe, Zn dan Protein.

Perbedaan Kadar, Fe, Zn dan Protein Akibat Penambahan Asam Asetat

Winarno (2004) menyatakan bahwa asam asetat adalah merupakan asam organik yang aman untuk makanan, asam asetat banyak digunakan sebagai pengkhelat bahan makanan. Asam asetat dapat digunakan sebagai pengkhelat karena asam asetat mempunyai 1 elektron bebas pada gugus karboksilatnya, sehingga asam asetat mampu mengikat logam. Asam asetat merupakan asam lemah, elektrolit lemah, derajat disosiasinya rendah yaitu 0,013.

Zat besi memiliki fungsi vital dalam tubuh yaitu berperan dalam proses pembentukan sel darah merah, sebagai pembawa oksigen (hemoglobin) ke jaringan, sebagai medium untuk transport elektron dalam sel dan sebagai bagian yang terintegrasi pada reaksi enzimatik yang penting dalam berbagai jaringan (Hallberg *et al.*, 1994).

Keberadaan Fe dipengaruhi adanya logam berat Pb dalam tubuh makhluk hidup, yang mana Fe berperan dalam pembentukan Hb dan sebaliknya Pb bersifat toksik terhadap sistem hematopoetik (pembentukan eritrosit), bahkan defisiensi Fe dapat mempengaruhi kenaikan absorpsi dan metabolisme Pb. Selain itu Pb juga mengganggu metabolisme Fe dari unsur-unsur yang mengikat Fe. Fe dan Pb saling antagonis dalam sistem pembentukan darah. Ekskresi Pb sangat sedikit sehingga kebanyakan Pb tertimbun dalam jaringan. Pb juga mengganggu metabolisme Fe dalam hati. Defisiensi Fe dapat menaikkan daya toksik Pb dalam proses

hemosintesis, sedangkan pemberian Fe menunjukkan adanya daya proteksi terhadap keracunan Pb (Darmono, 1994).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara perlakuan asam asetat 5 % dengan asam asetat 25 %. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara penambahan asam asetat 5 % dengan asam asetat 15 % dan asam asetat 15 % dengan asam asetat 25 %. Fe mempunyai berat atom 56 dan valensi II dan III. Dalam tubuh kupang Fe berikatan dengan protein respirasi dan yang terpenting adalah ikatannya dengan *Chlorocrain Hemoglobin* (Darmono, 1995 ; Scmidt dan Nielsen, 1994). Fe berfungsi dalam pembentukan sel darah merah, pembawa oksigen (hemoglobin), medium untuk transpor elektron dalam sel, berperan dalam reaksi enzimatik. Dengan adanya ikatan *metalloporphyrins* maka Fe sukar untuk dipecah dan sulit larut demikian juga dengan asam asetat, penurunan Fe lebih rendah yaitu berkisar antara 40 % – 44,8 % dibandingkan dengan Logam berat.

Seng merupakan komponen dari metalloenzym untuk mempertahankan kelangsungan berbagai proses metabolisme dan stabilitas membran sel. Fungsi seng dalam metalloenzym sebagai katalitik, pengatur, struktural dan non katalitik.

Zn mempunyai berat atom 65 dan mempunyai valensi II. Zn dalam tubuh kupang terikat sebagai enzym dan berfungsi sebagai koenzym dan kedudukan Zn mudah digantikan kation lain antara lain asam (H^+) (Darmono, 1995). Asam adalah senyawa yang jika dilarutkan dalam air akan melepaskan ion hidrogen (H^+). Dengan adanya asam asetat maka Zn dalam kupang mudah lepas dan bereaksi dengan ion hidrogen yang terdapat pada asam asetat. Zn dalam tubuh kupang

sebagai koenzim lebih mudah larut di larutan asam.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara penambahan asam asetat 5 % dengan asam asetat 25 %. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara penambahan asam asetat 5 % dengan asam asetat 15 % dan asam asetat 15 % dengan asam asetat 25 %. Hal ini menunjukkan bahwa rentang konsentrasi yang tinggi yaitu asam asetat 5 % dan 25 % menunjukkan reaksi yang berbeda. Penurunan kadar Zn pada daging kupang beras akibat penambahan asam asetat berkisar antara 78 % – 87,7 %.

Adanya gugus amino dan karboksil bebas pada ujung-ujung rantai molekul protein menyebabkan protein mempunyai banyak muatan (polielektrolit) dan bersifat amfoter (dapat bereaksi dengan asam dan basa). Daya reaksi berbagai jenis protein terhadap asam dan basa tidak sama, tergantung dari jumlah dan letak gugus amino dan karboksil dalam molekul. Dalam larutan asam (pH rendah) gugus amino bereaksi dengan H^+ , sehingga protein bermuatan positif. Sebaliknya dalam larutan basa (pH tinggi) molekul protein akan bereaksi sebagai asam atau bermuatan negatif (Winarno, 2004).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan antara penambahan asam asetat 5 % dengan asam asetat 15 % dan 25 %. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara penambahan asam asetat 15 % dan asam asetat 25 %. Dalam tubuh kupang mengandung protein. Dengan adanya asam asetat maka protein tidak sesuai isoelektrisnya sehingga protein larut, sehingga terjadi penurunan protein dalam tubuh kupang. Penurunan protein berkisar antara 30,4 % - 36,3 %.

Perbedaan Kadar Fe, Zn dan Protein Akibat Penambahan Asam Sitrat

Zat pengikat logam dapat mengikat logam dalam bentuk ikatan kompleks. Ion-ion logam dapat terlepas dari ikatan kompleksnya karena hidrolisis dan degradasi ion logam bebas mudah bereaksi dan pengikat logam akan mengikat ion logam (Winarno, 2004).

Molekul atau ion dengan pasangan electron bebas dapat mengkoordinasi atau membentuk kompleks dengan ion logam. Senyawa-senyawa yang mempunyai dua atau lebih gugusan fungsional seperti $-OH$, $-SH$, $-COOH$, $-PO_3H_2$, $-C=O$, $-NR_2$, $-S$ dan $-O-$ dapat mengkhelat logam dalam lingkungan yang sesuai. Pengikat logam yang paling sering digunakan dalam bahan makanan adalah asam sitrat dan turunannya (Winarno, 2004). Untuk memperoleh ikatan metal yang stabil diperlukan ligan yang mampu membentuk cincin 5 – 6 sudut dengan sebuah logam. Ion logam terkoordinasi dengan pasangan elektron dari atom atom nitrogen ligan dan juga dengan keempat gugus karboksil yang terdapat pada molekul ligan. Gugus asam karboksilat yang tak terionisasi bukanlah donor elektron yang baik, sebaliknya ion karboksil merupakan donor yang baik. (Winarno, 2004). Ion hidroksil bersaing dengan ion logam dan mengurangi kemampuan zat pengkhelat. Ion-ion logam dalam larutan terdapat sebagai kompleks hidrat ($logam H_2O^{m+}$) dan laju pemecahan kompleks ini mempengaruhi laju pembentukan kompleks dengan zat pengkhelat.

Asam sitrat adalah asam trikarboksilat dimana tiap molekulnya mengandung gugus karboksil dan satu gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon, asam sitrat sangat efektif sebagai pengikat logam (*metal chelating agent*) (Grosch, 1987 ; Min 1992). Hasil penelitian menunjukkan

bahwa terdapat perbedaan yang signifikan kadar Pb, Cd, Fe, Zn terhadap kontrol akibat penambahan asam sitrat (5,3 %, 16% dan 26,6 %). Hal ini menunjukkan bahwa penambahan asam sitrat berpengaruh terhadap kadar Pb, Cd, Fe, Zn. Menurut Anwar (1998) asam sitrat merupakan food aditif yang bersifat mengikat logam sehingga dapat membebaskan bahan makanan dari cemaran logam. Asam sitrat dengan logam berat berpeluang untuk terjadi senyawa kompleks. Karena asam sitrat dapat membentuk senyawa kompleks yang mantap, yang mana asam sitrat mempunyai 4 pasang elektron bebas pada molekulnya yaitu pada gugus karboksilat yang dapat diberikan pada ion logam sehingga menyebabkan terbentuknya ion kompleks yang dengan mudah larut dalam air (Rivai, 1995).

Berdasarkan sifat kimianya logam Fe dengan muatan +2 dan +3. Bersifat sedikit elektropositif dan dengan asam bukan pengoksidasi akan membutuhkan ion M^{++} dan M^{+++} .

Dalam tubuh kupang Fe terikat dalam protein atau peptida membentuk senyawa metallothionein, dengan adanya asam sitrat yang mempunyai 4 pasang elektron bebas pada molekulnya yaitu pada gugus karboksilat yang dapat diberikan pada ion logam sehingga menyebabkan terbentuknya ion kompleks yang dengan mudah larut dalam air, Asam sitrat secara simultan mengkoordinasi keempat tempat pada sebuah atom logam (Fe) dengan empat bilangan koordinasi yang merupakan kompleks yang mantap, maka Fe akan terlepas dan berikatan dengan ion OH^- dan COO^- yang ada pada asam sitrat membentuk senyawa Fe sitrat (Gaman dan Sherringtonn, 1994).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar Fe dalam daging

kupang beras antara berbagai perlakuan kadar asam sitrat (5,3 %, 16% dan 26,6 %). Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi tidak mempengaruhi penurunan kadar Fe dalam tubuh kupang. Dalam tubuh kupang Fe berikatan dengan protein respirasi (Roesiyadi, 1992). Dengan adanya asam sitrat akan terbentuk senyawa kompleks Fe sitrat (Connell *et al*, 1995; Sakidja, 1989). Asam sitrat merupakan senyawa organik yang mampu mengikat besi dengan membentuk kompleks (Crawford, 1995). Konstanta ikatan pembentukan kompleks ferri sitrat adalah 3×10^{12} sedangkan ferro sitrat adalah 10^3 . Penurunan Fe akibat perlakuan asam sitrat berkisar antara 38,9 – 49 %. Fe berfungsi dalam pembentukan sel darah merah, pembawa oksigen (hemoglobin), medium untuk transpor elektron dalam sel, berperan dalam reaksi enzimatik. Dengan adanya ikatan ini maka Fe sukar untuk dipecah dan sulit larut

Berdasarkan sifat kimianya logam Zn dengan muatan +2. Bersifat sedikit elektropositif dan dengan asam bukan pengoksidasi akan membutuhkan ion M^{++} .

Dalam tubuh kupang Zn terikat dalam protein atau peptida membentuk senyawa metallothionein, dengan adanya asam sitrat yang mempunyai 4 pasang elektron bebas pada molekulnya yaitu pada gugus karboksilat yang dapat diberikan pada ion logam sehingga menyebabkan terbentuknya ion kompleks yang dengan mudah larut dalam air, Asam sitrat secara simultan mengkoordinasi keempat tempat pada sebuah atom logam (Zn) dengan empat bilangan koordinasi yang merupakan kompleks yang mantap, maka Zn akan terlepas dan berikatan dengan ion OH^- dan COO^- yang ada pada asam sitrat membentuk senyawa Zn sitrat (Gaman dan Sherringtonn, 1994).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan kadar Zn dalam daging kupang beras antara penambahan asam sitrat 5,3 % dengan asam sitrat 16% dan 26,6 %. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara penambahan asam sitrat 16 % dengan asam sitrat 26,6 %. Zn pada tubuh kupang berikatan dengan enzim, dan dengan adanya asam sitrat maka akan terbentuk senyawa kompleks Zn sitrat (Sakidja, 1989). Penurunan Zn akibat perlakuan asam sitrat berkisar antara 81 – 85,8 %.

Adanya gugus amino dan karboksil bebas pada ujung-ujung rantai molekul protein menyebabkan protein mempunyai banyak muatan (polielektrolit) dan bersifat amfoter (dapat bereaksi dengan asam dan basa). Daya reaksi berbagai jenis protein terhadap asam dan basa tidak sama, tergantung dari jumlah dan letak gugus amino dan karboksil dalam molekul. Dalam larutan asam (pH rendah) gugus amino bereaksi dengan H^+ , sehingga protein bermuatan positif (Winarno, 2004). Asam sitrat mempunyai 4 pasang elektron bebas pada molekulnya yaitu pada gugus karboksilat yang dapat diberikan pada gugus amino yang terdapat dalam protein.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ada perbedaan yang signifikan kadar protein dalam daging kupang beras antara penambahan asam sitrat 5,3 % dengan asam sitrat 16% dan 26,6 %. Tidak ada perbedaan yang signifikan antara penambahan asam sitrat 16 % dengan asam sitrat 26,6 %. Keberadaan protein dalam tubuh kupang, dengan adanya asam sitrat maka terjadi perbedaan isoelektris sehingga protein menggumpal dan akhirnya larut, sehingga dalam tubuh kupang terjadi penurunan kadar protein. Penurunan Protein akibat perlakuan asam sitrat berkisar antara 24,4 – 33,9 %.

Perbedaan Kadar Fe, Zn Akibat Penambahan Jeruk Nipis

Penelitian ini merupakan tambahan manfaat dari jeruk nipis, dimana dengan kandungan asam sitrat dan asam askorbatnya dapat dimanfaatkan sebagai *chelating agent*. Zat pengikat logam (*Chelating agent*) dapat mengikat logam dalam bentuk ikatan kompleks. Ion-ion logam dapat terlepas dari ikatan kompleksnya karena hidrolisis dan degradasi ion logam bebas mudah bereaksi dan pengikat logam akan mengikat ion logam (Winarno, 2004). Selain asam sitrat jeruk nipis juga mengandung asam ascorbat. Selain asam sitrat dan asam ascorbat buah jeruk nipis juga mengandung asam amino (triptofan, lisin), minyak atsiri (sitral, limonen, fellandren, lemon kamfer, geranilasetat, linalin asetat), dammar, glikosida, asam sitrun, lemak, kalsium, fosfor, besi, belerang, vitamin B1, vitamin C dan citronelal (Muhlisn, 1999), sehingga adanya asam polikarboksilat dan zat kimia lainnya yang ada pada jeruk nipis akan terjadi ikatan kompleks dengan ion logam.

Berdasarkan sifat kimianya logam Fe dengan muatan +2 dan +3. Bersifat sedikit elektropositif dan dengan asam bukan pengoksidasi akan membutuhkan ion M^{++} , dan M^{+++} . Dalam tubuh kupang Fe terikat dalam protein atau peptida membentuk senyawa metallothionein. Jeruk nipis mengandung Asam sitrat yang mempunyai 4 pasang elektron bebas pada molekulnya yaitu pada gugus karboksilat yang dapat diberikan pada ion logam sehingga menyebabkan terbentuknya ion kompleks yang dengan mudah larut dalam air (Rivai, 1995). Asam sitrat secara simultan mengkoordinasi keempat tempat pada sebuah atom logam (Fe) dengan empat bilangan koordinasi yang merupakan kompleks yang mantap (Saeni, 1989). Asam ascorbat

mengandung satu gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon, yang mana asam ascorbat mempunyai satu pasang elektron bebas pada molekulnya yang dapat diberikan pada atom logam sehingga menyebabkan terbentuknya ikatan Fe - asam ascorbat. Asam askorbat (vitamin C) merupakan senyawa yang dapat melarutkan zat besi dengan mengkonversi zat besi bentuk ferri (Fe^{3+}) menjadi bentuk ferro (Fe^{2+}) dan dapat membentuk kompleks askorbat - besi yang larut (Hallberg, *et al.*, 1994; Crawford, 1995; Bender *et al.*, 1997). Konstanta ikatan pembentukan ferro askorbat adalah 20.

Asam amino yang terdiri dari lysin dan triptofan masing-masing mengandung satu gugus karboksil yang terikat pada atom karbon, yang mana lysin dan triptofan masing-masing mempunyai satu pasang elektron bebas pada molekulnya yang dapat diberikan pada atom logam sehingga menyebabkan terbentuknya ikatan Fe-lysin dan Fe-triptofan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar Fe daging kupang beras antara berbagai penambahan jeruk nipis 79 gram, 238 gram dan 396 gram. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi tidak mempengaruhi kadar Fe dalam kupang beras. Penurunan Fe akibat perlakuan jeruk nipis berkisar antara 39,6 - 45,2 %. Fe berfungsi dalam pembentukan sel darah merah, pembawa oksigen (hemoglobin), medium untuk transpor elektron dalam sel, berperan dalam reaksi enzimatik. Dengan adanya ikatan ini maka Fe sukar untuk dipecah dan sulit larut sehingga penurunannya relatif kecil.

Seng merupakan komponen dari metalloenzym untuk mempertahankan kelangsungan berbagai proses metabolisme dan stabilitas membran sel. Fungsi seng dalam metalloenzym

sebagai katalitik, pengatur, struktural dan non katalitik. Berdasarkan sifat kimianya logam Zn dengan muatan +2. Bersifat sedikit elektropositif dan dengan asam bukan pengoksidasi akan membutuhkan ion M^{++} . Dalam tubuh kupang Zn terikat dalam protein atau peptida membentuk senyawa metallothionein, selain itu Zn dalam tubuh kupang terikat sebagai enzim dan berfungsi sebagai koenzym dengan demikian Zn mudah lepas (Darmono, 1995).

Jeruk nipis mengandung Asam sitrat, asam askorbat, asam amino (triptofan dan lysin). Asam sitrat mempunyai 4 pasang elektron bebas pada molekulnya yaitu pada gugus karboksilat yang dapat diberikan pada ion logam sehingga menyebabkan terbentuknya ion kompleks yang dengan mudah larut dalam air (Rivai, 1995). Asam sitrat secara simultan mengkoordinasi keempat tempat pada sebuah atom logam (Zn) dengan empat bilangan koordinasi yang merupakan kompleks yang mantap (Saeni, 1989). Asam askorbat mengandung satu gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon, yang mana asam askorbat mempunyai satu pasang elektron bebas pada molekulnya yang dapat diberikan pada atom logam sehingga menyebabkan terbentuknya ikatan Zn-asam askorbat.

Asam amino yang terdiri dari lysin dan triptofan masing-masing mengandung satu gugus karboksil yang terikat pada atom karbon, yang mana lysin dan triptofan masing-masing mempunyai satu pasang elektron bebas pada molekulnya yang dapat diberikan pada atom logam sehingga menyebabkan terbentuknya ikatan Zn-lysin dan Zn-triptofan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar Zn dalam daging kupang beras antara berbagai penambahan jeruk nipis 79 gram, 238

gram dan 396 gram. Hal ini menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi tidak mempengaruhi penambahan kadar Zn dalam kupang beras. Penurunan Zn akibat perlakuan jeruk nipis berkisar antara 81,5–83,2%.

Adanya gugus amino dan karboksil bebas pada ujung-ujung rantai molekul protein menyebabkan protein mempunyai banyak muatan (polielektrolit) dan bersifat amfoter (dapat bereaksi dengan asam dan basa). Daya reaksi berbagai jenis protein terhadap asam dan basa tidak sama, tergantung dari jumlah dan letak gugus amino dan karboksil dalam molekul. Dalam larutan asam (pH rendah) gugus amino bereaksi dengan H^+ , sehingga protein bermuatan positif (Winarno, 2004). Protein adalah unsur struktural tetapi lebih penting lagi sebagai katalis (enzim) dan regulator proses dalam sel. Garam garam logam berat dan asam-asam mineral kuat baik digunakan untuk mengendapkan protein (Winarno, 2004).

Jeruk nipis mengandung asam sitrat, asam askorbat, asam amino (triptofan dan lysin). Asam sitrat mempunyai 4 pasang elektron bebas pada molekulnya yaitu pada gugus karboksilat yang dapat diberikan pada gugus amino. Asam ascorbat mengandung satu gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon, yang mana asam ascorbat mempunyai satu pasang elektron bebas pada molekulnya yang dapat diberikan pada gugus amino. Asam amino yang terdiri dari lysin dan triptofan masing-masing mengandung satu gugus karboksil yang terikat pada atom karbon, yang mana lysin dan triptofan masing-masing mempunyai satu pasang elektron bebas pada molekulnya yang dapat diberikan pada gugus amino pada protein.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang signifikan kadar protein daging kupang

beras antara berbagai penambahan jeruk nipis 79 gram, 238 gram dan 396 gram. Dengan demikian perbedaan konsentrasi tidak mempengaruhi kadar protein dalam kupang beras. Dengan adanya jeruk nipis yang mengandung asam sitrat, asam askorbat, asam amino (triptofan dan lysin) dan senyawa lain maka protein dalam tubuh kupang terjadi perbedaan isotonisnya sehingga protein larut. Penurunan Protein akibat perlakuan jeruk nipis berkisar antara 23,2–28,7%.

Hasil analisis penentuan perlakuan terbaik menunjukkan bahwa penambahan jeruk nipis dalam upaya menurunkan kadar logam berat Pb, Cd dengan penurunan minimal Fe, Zn dan protein, maka perlakuan yang paling baik untuk digunakan adalah jeruk nipis 79 gram dengan score 18. Hal ini menunjukkan bahwa jeruk nipis merupakan suatu bahan pengikat logam yang dapat digunakan untuk menurunkan kadar Logam berat dengan penurunan minimal Fe, Zn dan protein dalam daging kupang beras, sehingga pemaparan logam berat berbahaya terutama Logam berat dapat dihindari.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Ada perbedaan kadar Fe, Zn dan protein akibat penambahan asam asetat dengan konsentrasi yang berbeda pada daging kupang beras. Asam asetat dengan konsentrasi 5 %
2. Ada perbedaan kadar Fe, Zn dan protein akibat penambahan asam sitrat dengan konsentrasi yang berbeda pada daging kupang beras. Asam sitrat dengan konsentrasi 5,3 % yang paling baik digunakan
3. Ada perbedaan kadar Fe, Zn dan protein akibat penambahan jeruk

nipis dengan jumlah yang berbeda pada daging kupang beras. Jeruk nipis dengan jumlah 79 gram yang paling baik digunakan .

Saran

1. Disarankan untuk penjual lontong kupang khususnya dan masyarakat pada umumnya sebelum memasak kupang beras sebaiknya direndam menggunakan jeruk nipis 79 g setiap 100 g kupang beras, atau asam sitrat 5,3 gram setiap 100 g kupang beras selama 1 jam jika dirasakan tidak mengganggu selera konsumen.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang penggunaan *chelating agent* dalam upaya menurunkan logam berat berbahaya yang lain (Cr, Cu, Co dan sebagainya), maupun pengaruhnya terhadap zat gizi yang lain (asam amino, asam lemak, vitamin dan sebagainya).
3. Dalam penelitian ini belum diuji organoleptik, untuk itu perlu dilakukan uji organoleptik sehingga diharapkan diperoleh cita rasa yang diinginkan sesuai selera konsumen.

DAFTAR PUSTAKA

- BPPT (Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi), 2002, **Jeruk Nipis**, Tanaman Obat Indonesia, Jakarta.
- Crawford D., 1995 **Review Proposed Role For a Combination of Citric Acid and Ascorbic Acid in Production of Dietary Iron Overload**, A Fundamental Cause of Disease, Biochem and Molec Med 54 1 – 11.
- Darmono, 1995. **Logam Dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup**, Universitas Indonesia press, Jakarta, Hal 24-27.
- Darmono, 2001, **Lingkungan Hidup dan Pencemaran Hubungannya Dengan**

Toksikologi Senyawa Logam
Jakarta Penerbit Universitas Indonesia (UI Press)

- Imaduddin, Keman S., 2000, Kemampuan Larutan Asam Asetat 25 % Terhadap Penurunan Kandungan Logam Berat Pb Dalam Daging Ikan Bandeng (Chanos-chanos Forsk), **Forum Ilmu Kesehatan Masyarakat Th XIX No. 18 hal 33-39, Surabaya.**
- Min BD., 1992, Encyclopedia of Food Science and technology. **Vol 11 E-H. Canada : John Wiley and Sons Inc P 828-829**
- Muhlisan, 1999, **Temu Temuan Dan Empon-Empon Budidaya dan Manfaatnya**. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Purwanti A., 1989. **Kajian Tentang Pemanfaatan Limbah Kepala Udang Dan Kupang Sebagai Komposisi Ransom Murah Terhadap Performans Itik Petelor Yang Dipelihara Secara Intensif**, FKH Unair, Surabaya.
- Rivai, 1995, **Pemeriksaan Kimia**, UI Press, Jakarta.
- Roesijadi, 1992. Metallothioneins in Metals Teguulation and Toxicity In Acuatic Animal, Aquat. **Toxicol 22. 81-114.**
- Sakidja, 1989, **Kimia Pangan**, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Pendidikan Tinggi, Jakarta
- Sari F I., Keman S., 2005, Efektifitas Larutan Asam Cuka Untuk Menurunkan Kandungan Logam Berat Cadmium Dalam Daging Kerang Bulu, **Jurnal Kesehatan Lingkungan vol 1 no. 2 hal 120-128, Surabaya.**
- Schtesinger I, Arevalo M, Arredando S, Diaz M, Lonnerdal B, Stekel A, 1992. **Effect of a Zinc – Fortified Formula on Immuno Competence and Growth Of Molnurished infants**. Amj Clin Nutr. 56.

- SK Direktur Jendral Pengawas Obat dan Makanan Nomor 03725/B/SK/VII/89
- Steel R G. and Torrie J H., 1981. ***Principles And Procedures of Statistic A Biometrical Approach***. 2. Ed. Mc Grow Hill Book Co. Singapore. p : 90 -101
- Suciu, 1992, ***Research on Copper***
- Villae C., Walker B., alih bahasa Sugiri, 1999, ***Zoologi Umum***, Erlangga, Jakarta.
- Wasserman G., Factor L., 2003, ***The Relianship Between Blodd Lead, Bone Lead and Child Intellegence***
- Winarno F G., 2004. ***Kimia Pangan dan Gizi. Cetakan Keempat. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. hal 50 -63***
- World Health Organization-Expert Committee, 1980, ***Recomemmeded Health Based Limits in Occupational Exposure to Heavy Metals, WHO techn. Report Series No.647, Geneva, p.102-113***
- Zainuddin M., 1999, ***Metodologi Penelitian, Universitas Airlangga, Surabaya***