PEMANFAATAN LIMBAH TULANG IKAN TUNA (*Thunnus* sp.) SEBAGAI SUMBER KALSIUM DENGAN METODE HIDROLISIS PROTEIN

Wini Trilaksani[1], Ella Salamah[1], dan Muhammad Nabil[2]

Abstrak

Penelitian tentang pemanfaatan limbah tulang ikan tuna (*Thunnus s*p.) dimaksudkan untuk menghasilkan tepung tulang ikan tuna berkalsium tinggi dan mengetahui karakteristik mutu tepung tulang yang dihasilkan dengan waktu autoklafing dan frekuensi perebusan yang berbeda pada proses hidrolisis protein dalam pembuatan tepung tulang. Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah kadar kalsium, fosfor, air, abu, protein, lemak, pH, derajat putih, daya serap air, kemudahan melarut, densitas kamba dan bioavailabilitas kalsium. Tepung tulang ikan yang dihasilkan dalam penelitian ini mengandung kalsium tertinggi 39,24 % dan fosfor 13,66 % yang diperoleh dari kombinasi perlakuan *autoclaving* 2 (dua) jam dan perebusan 3 (tiga) kali. Kadar air pada tepung tulang sebesar 5,60 %, abu 81,13 %bb, protein 0,76 %bb dan lemak 3,05 %bb. Nilai beberapa parameter fisik tepung yaitu derajat putih 64,7 %, densitas kamba 8,14 g/ml, pH 7,13, daya serap air 14,5 % dan kemudahan melarut sebesar 4,45 % pada menit ke 15, 29,20 % pada menit ke 180. Nilai bioavailabilitas kalsium tepung sebesar 0,86 %. Nilai ini diperoleh dari hasil pengukuran tepung dengan kadar kalsium tertinggi.

Kata kunci: *autoclaving* , hidrolisis, kalsium, perebusan tulang, dan tuna.

PENDAHULUAN

Kalsium merupakan unsur terbanyak kelima dan kation terbanyak di dalam tubuh manusia, yaitu sekitar 1,5-2 % dari keseluruhan berat tubuh. Kalsium dibutuhkan untuk proses pembentukan dan perawatan jaringan rangka tubuh serta beberapa kegiatan penting dalam tubuh seperti membantu dalam pengaturan transport ion-ion lainnya ke dalam maupun ke luar membran, berperan dalam penerimaan dan interpretasi pada impuls saraf, pembekuan darah dan pemompaan darah, kontraksi otot, menjaga keseimbangan hormon dan katalisator pada reaksi biologis (Almatsier, 2002, Whitney dan Hamilton, 1987).

Pengetahuan mengenai fungsi dan akibat defisiensi kalsium sebaiknya diberikan kepada masyarakat luas karena defisiensi kalsium tidak dapat dideteksi secara dini, dan tidak dapat juga dideteksi dari sampel darah karena kandungan kalsium dalam darah tetap normal walaupun terjadi defisiensi kalsium pada tulang. Perubahan kandungan kalsium dalam darah (normal 9-10 mg/100 ml) baik *calcium rigor* (hiperkalsemia) maupun *calcium tetani* (hipokalsemia) yang

---

[1] Staf Pengajar pada Departemen Teknologi Hasil Perairan, FPIK, IPB
[2] Alumni Departemen Teknologi Hasil Perairan, FPIK, IPB

ditandai oleh kontraksi otot yang tidak terkontrol karena perubahan stimulasi sel saraf lebih disebabkan karena kekurangan vit D atau malfungsi dari glandula sehingga terjadi ketidakseimbangan hormonal yang meregulasi konsentrasi kalsium dalam darah. Defisiensi kalsium kronis karena kekurangan dalam asupan makanan maupun ketidaknormalan absorbsi dalam usus dapat diketahui bila kondisinya sudah parah dan sulit disembuhkan (*reassembled*). Kekurangan kalsium pada anak-anak menyebabkan *rickets* (rakhitis) dan pada orang dewasa dapat menyebabkan *osteomalacia (adult rickets)* dan *osteoporosis* (Whitney dan Hamilton, 1987). Untuk mencegah kekurangan kalsium perlu konsumsi kalsium dan vitamin D dalam jumlah yang cukup serta konsumsi protein yang seimbang.

World Health Organization merekomendasikan jumlah asupan kalsium per hari yang dianjurkan untuk orang dewasa sekitar 400-500 mg tetapi bila konsumsi proteinnya tinggi dianjurkan mengkonsumsi 700-800 mg. Untuk anak-anak dan remaja lebih tinggi asupannya dan untuk wanita hamil/menyusui dianjurkan mengkonsumsi 1200 mg (Whitney dan Hamilton, 1987). Konsumsi kalsium sebaiknya tidak melebihi 2500 mg sehari untuk menghindari kondisi hiperkalsiura (kadar kalsium di urin melebihi 300 mg/hari).

Sumber kalsium pada makanan didapatkan sebagian besar dari susu, sayuran dan ikan. Tetapi tidak semua kalsium dari bahan pangan tersebut dapat langsung dimanfaatkan oleh tubuh karena ada beberapa faktor yang dapat menurunkan atau meningkatkan absorbsi kalsium di dalam usus. Faktor dalam makanan yang dapat menurunkan absorbsi kalsium dalam usus diantaranya oksalat, fitat dan serat makanan, sedangkan yang menaikkan adalah fosfor, protein terutama yang kaya asam amino lisin dan arginin, laktosa dan vitamin D (Linder, 1992; Kaup *et al.,* 1991; Almatsier, 2002).

Selama ini yang direkomendasikan sebagai sumber kalsium terbaik adalah susu. Tetapi harga susu bagi sebagian masyarakat masih terhitung mahal, oleh karena itu perlu dicari alternatif sumber kalsium yang lebih murah, mudah didapat dan tentu saja mudah diabsorbsi

Kalsium yang berasal dari hewan seperti limbah tulang ikan sampai saat ini belum banyak dimanfaatkan untuk kebutuhan manusia. Tulang ikan merupakan salah satu bentuk limbah dari industri pengolahan ikan yang memiliki kandungan kalsium terbanyak diantara bagian tubuh ikan, karena unsur utama dari tulang ikan adalah kalsium, fosfor dan karbonat. Ikan tuna merupakan komoditas perikanan Indonesia yang banyak menghasilkan devisa (terbesar kedua setelah udang).

Peningkatan nilai produksi ikan tuna dari tahun ke tahun menunjukkan nilai yang cukup tajam. Peningkatan volume produksi ini akan meningkatkan volume limbah hasil industri pengolahan tuna tersebut. Pemanfaatan limbah tulang ikan tuna sebagai sumber kalsium merupakan salah satu alternatif dalam rangka menyediakan sumber pangan kaya kalsium sekaligus mengurangi dampak buruk pencemaran lingkungan akibat dari pembuangan limbah industri pengolahan tuna.

Tujuan penelitian ini adalah untuk memanfaatkan limbah tulang ikan tuna sebagai tepung tulang berkalsium tinggi dan mengetahui karakteristik mutu tepung tulang yang dihasilkan dengan waktu autoklafing dan frekuensi perebusan yang berbeda pada proses hidrolisis protein dalam pembuatan tepung tulang.

METODOLOGI

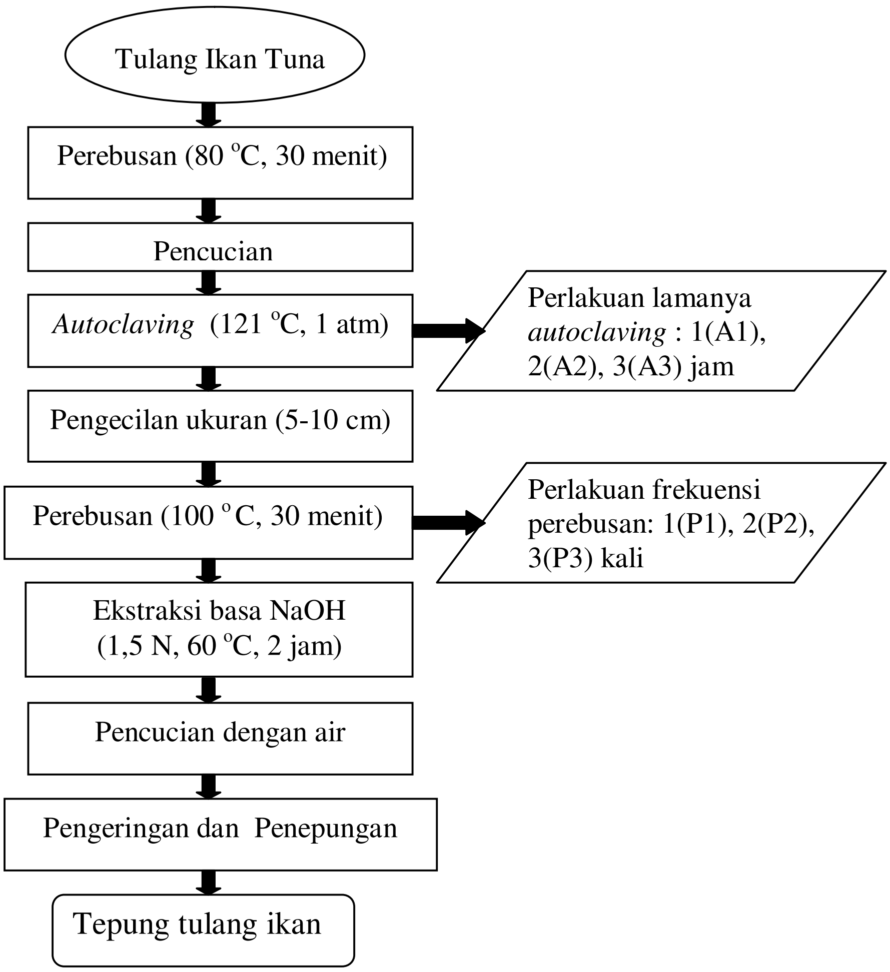
Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah tulang ikan tuna dari PT. Indomaguro Tunas Unggul Jakarta. Bahan lain yang digunakan adalah NaOH 1,5 N, bahan-bahan kimia yang digunakan untuk analisis proksimat, analisis kalsium dan fosfor (HNO_3, $HClO_4$, HCl, $CaCO_3$, KH_2PO_3, pereaksi vanadat-molibdat), bioavailabilitas in vitro dengan dialisis diantaranya HCl, air bebas ion, suspensi pepsin, pankreatin (Sigma p-1750), ekstrak *bile* (Sigma B-8631) $NaHCO_3$ 0,1 M, kantung dialisis Spectrapor I 6000-8000 MWCO (*molecular weight cut off*)

Alat yang digunakan adalah tabung erlenmeyer 250 ml, penangas air bergoyang, botol gelas, AAS spektrofotometer, whitenessmeter, sentrifuse, autoklaf, alat soxhlet, alat destilasi uap, alat pengukur pH, labu Kjeldahl, *hot plate*, tungku pengabuan dan peralatan gelas untuk analisis.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap, yaitu tahap pembuatan tepung tulang ikan tuna dan tahap analisis fisikokimia tepung tulang yang meliputi kadar air (AOAC, 1995), abu (AOAC, 1995), lemak (metode soxhlet, AOAC, 1995), protein (mikro Kjeldahl, AOAC, 1995), kalsium dan fosfor (Apriyantono *et al.,* 1989), pH (AOAC, 1995), daya serap air (Fardiaz *et al.* 1992), densitas kamba (Wirakartakusumah *et al.* 1992) kemudahan melarut (Pedroza-Isleas *et al. diacu dalam* Beatrice 2001, derajat putih (Kett Whiteness Electric Laboratory 1981 *diacu dalam* Mulia, 2004), rendemen dan bioavailabilitas (Roig *et al.,* 1999). Metode pemisahan kalsium dalam penelitian ini (Gambar 1), merupakan modifikasi dari beberapa metode yang sebelumnya pernah dilakukan.



Gambar 1. Alur proses pembuatan tepung tulang ikan tuna (modifikasi Elfauziah (2003) dan Mulia (2004))

Rancangan Percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) pola faktorial dengan 2 (dua) faktor yaitu autoklafing (dengan tiga taraf 1(A1), 2(A2), 3(A3) jam) dan frekuensi perebusan (dengan tiga taraf 1(P1), 2(P2), 3(P3) kali), dilanjutkan dengan Uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) (Steel and Torrie, 1993)

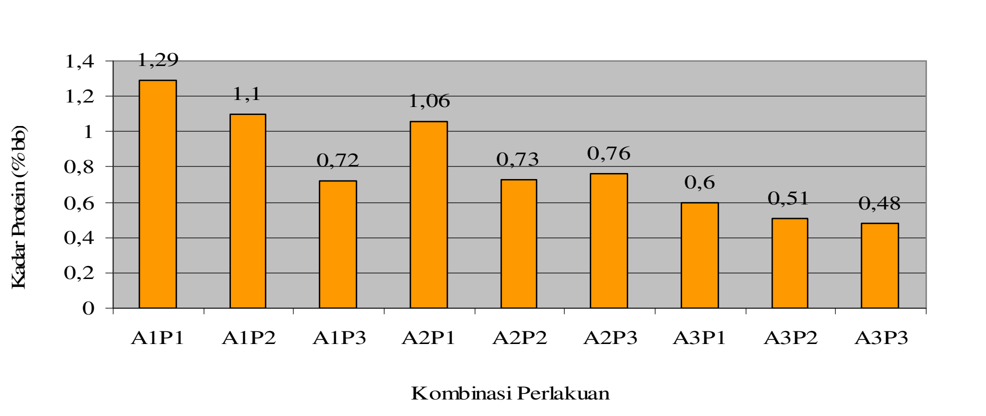
HASIL DAN PEMBAHASAN

Tepung tulang ikan yang dihasilkan berbentuk bubuk halus berwarna putih kekuningan hingga kuning tergantung pada waktu *autoclaving* dan frekuensi perebusan yang dilakukan. Nilai rata-rata rendemen tepung tulang ikan yang diperoleh dari berbagai kombinasi perlakuan berkisar antara 13,28–28,85 (%bb). Perlakuan lamanya waktu *autoclaving* memberikan pengaruh yang nyata terhadap hasil rendemen dan kadar air, yaitu menurunkan rendemen tepung tulang maupun kadar airnya. Nilai rata-rata kadar air tepung tulang ikan yang diperoleh berkisar antara 5,60-8,30 %. Nilai ini masih berada pada kisaran standar yang ditetapkan SNI (SNI 01-3158-1992) untuk kadar air tepung tulang (maksimal 8 %), tetapi lebih tinggi dari kadar air tepung tulang produksi International Seafood of Alaska (ISA) yaitu 3,4 %bb dan Mulia (2004) sebesar 3,6 %bb.

Kadar abu yang dihasilkan pada penelitian ini berkisar 77,54-84,22 (% bb). Nilai ini lebih tinggi dibandingkan kadar abu yang diperoleh pada tepung tulang komersial produksi ISA (Rans, 2002), Elfauziah (2003) dan Mulia (2004). Kadar abu tepung tulang ikan produksi ISA 2002 hanya sebesar 33,0 %, sedangkan pada penelitian tepung tulang ikan oleh Elfauziah (2003) dan Mulia (2004) sebesar 79,14 %bb dan 63,5 %bb. Lama waktu *autoclaving* dan frekuensi perebusan berpengaruh nyata terhadap kadar abu, protein dan lemak tepung tulang. Tulang sebelumnya mengandung sel-sel hidup dan matriks intraseluler dalam bentuk garam mineral. Kandungan abu yang tinggi dalam tepung tulang disebabkan karena komponen utama penyusun tulang adalah mineral dan pada proses pembuatannya telah terjadi hidrolisis protein yang hampir total sehingga dihasilkan juga kadar protein yang sangat rendah dibandingkan dengan hasil penelitian Elfauziah (2003), Mulia (2004) dan Rans (2002).

Nilai rata-rata kadar protein tepung tulang ikan yang diperoleh dari berbagai kombinasi perlakuan dalam penelitian ini berkisar antara 0,48-1,29 (%bb)

(Gambar 2). Kadar protein tepung tulang ikan yang diperoleh sangat rendah, jauh dibawah kadar protein tepung tulang ikan produksi ISA, Elfauziah (2003) dan Mulia (2004), yaitu berturut-turut sebesar 34,20; 16,9 dan 11,08 (%bb).



Gambar 2. Histogram hubungan lama waktu *autoclaving* dan frekuensi perebusan terhadap kadar protein

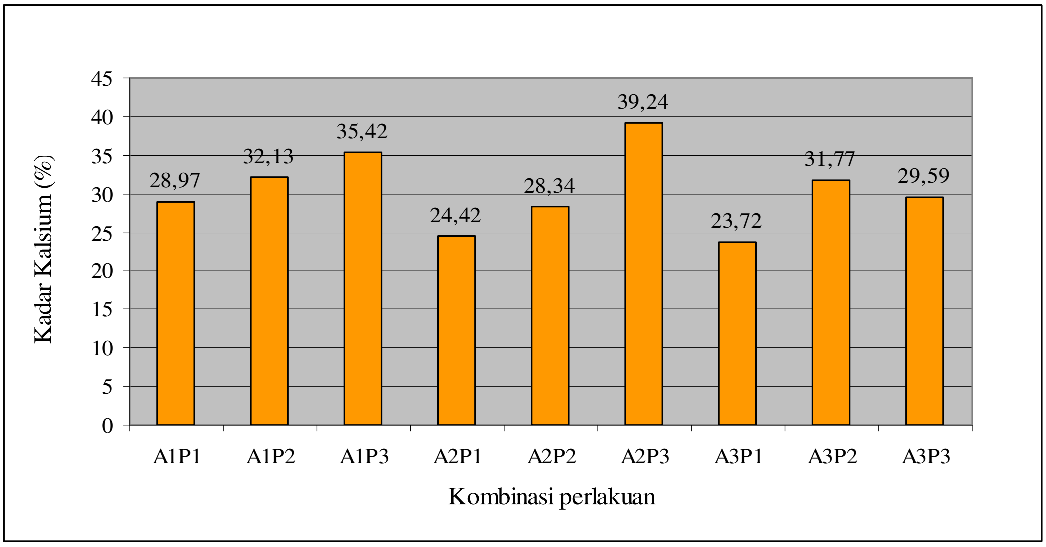
Keterangan:
A1P1: *Autoclaving* 1 jam perebusan 1 kali
A1P2: *Autoclaving* 1 jam perebusan 2 kali
A1P3: *Autoclaving* 1 jam perebusan 3 kali
A2P1: *Autoclaving* 2 jam perebusan 1 kali
A2P2: *Autoclaving* 2 jam perebusan 2 kali
A2P3: *Autoclaving* 2 jam perebusan 3 kali
A3P1: *Autoclaving* 3 jam perebusan 1 kali
A3P2: *Autoclaving* 3 jam perebusan 2 kali
A3P3: *Autoclaving* 3 jam perebusan 3 kali

Kadar protein terendah diperoleh pada tepung dengan kombinasi perlakuan A3P3, sedangkan kadar protein tertinggi diperoleh pada tepung kalsium A1P1. Rendahnya kadar protein pada tepung tulang ini dapat menguntungkan dan merugikan bila dilihat dari aspek gizi maupun penyerapan kalsium dalam usus, karena kalsium dapat diserap dengan baik bila dalam bentuk garam kalsium klorida, kalsium glukonat, kalsium karbonat, dan kalsium fosfat. Kalsium fosfat merupakan sumber mineral yang memiliki nilai biologis yang sangat baik (Kaup *et al.,* 1991). Disamping itu protein juga sangat berperan dalam penyerapan kalsium ke dalam mukosa usus karena transportasi kalsium melalui sel usus dapat terjadi melalui difusi yang menggunakan jasa protein pengikat kalsium yang mengantarkan sitoplasma eritrosit ke membrane basal. Komponen protein yang mendorong penyerapan kalsium berupa asam amino lisin dan arginin (Harland dan Oberleas, 2001).

Protein tulang ikan sebagian besar terdiri atas protein kolagen dengan asam amino penyusun utamanya adalah prolin, glisin dan alanin. Dalam kondisi alami protein fibriler atau skleroprotein ini sulit untuk dicerna oleh enzim pepsin dan pankreatin (Winarno, 1997) atau tripsin dan kemotripsin menjadi asam-asam amino (Alais dan Linden, 1991). Oleh karena itu perlu proses hidrolisis dan pelarutan protein tersebut dengan cara pemanasan. Proses tersebut juga sangat berguna untuk memisahkan dan memanfaatkan kalsium fosfatnya. Kolagen bersifat tidak larut air tetapi bila dipanaskan akan berubah menjadi gelatin yang larut air. Akan tetapi hidrolisis kimia (dalam penelitian ini digunakan NaOH dan pemanasan) juga akan menyebabkan kerusakan protein yang lain yang mungkin kaya akan asam amino lisin dan arginin.

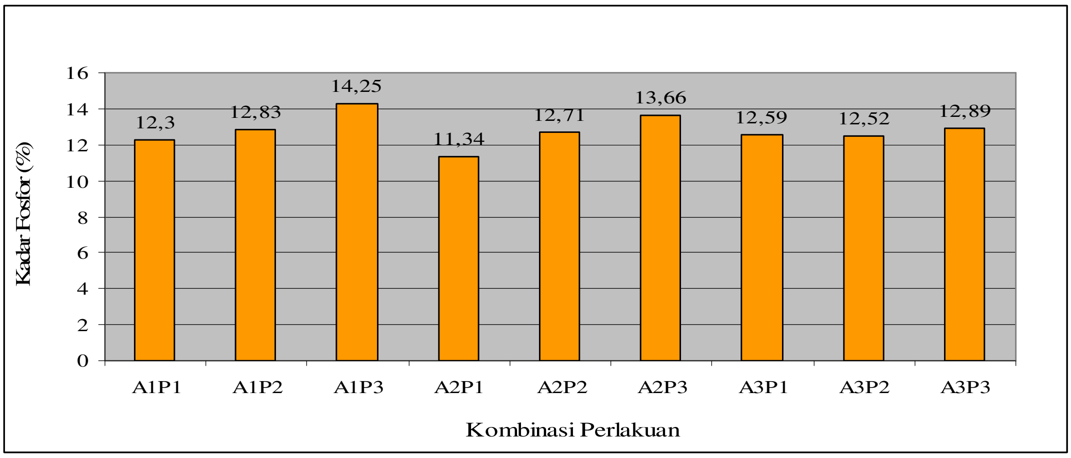
Nilai rata-rata kadar lemak yang diperoleh pada beberapa tingkat waktu autoklafing dan frekuensi perebusan berkisar 1,70–4,13 (%bb). Nilai ini berada pada kisaran standar kadar lemak yang ditetapkan SNI (1992) maupun kadar lemak yang diperoleh tepung tulang produksi ISA, Elfauziah (2003) dan Mulia (2004). Standar Nasional Indonesia (1992) untuk kadar lemak tepung tulang ikan ditetapkan sebesar 3 dan 6 (%bb) masing-masing untuk mutu I dan II, sedangkan kadar lemak tepung tulang ikan produksi ISA sebesar 5,6 %bb, Elfauziah sebesar 9,78 %b/b dan Mulia sebesar 1,4 %bb.

Kadar kalsium yang dihasilkan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 3. Kadar kalsium yang dihasilkan antara 23,72-39,24 (%bb). Nilai ini masih berada dalam kisaran nilai kadar kalsium yang ditetapkan SNI untuk tepung tulang, yaitu sebesar 30 % (mutu I) dan 20 % (mutu II). Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama waktu autoklafing dan frekuensi perebusan serta interaksi antara keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap kadar kalsium dan fosfor, hal ini menunjukkan bahwa unsur mineral relatif stabil dengan adanya proses perebusan. Nilai rata-rata kadar fosfor yang diperoleh berkisar antara 11,34 – 14,25 (%bb) (Gambar 4).



Gambar 3. Histogram hubungan lama waktu *autoclaving* dan frekuensi perebusan terhadap kadar kalsium

Keterangan: Simbol-simbol A1P1, A1P2, A1P3, A2P1, A2P2, A2P3, A3P1, A3P2, A3P3 pada sumbu x merujuk keterangan pada Gambar 2



Gambar 4. Histogram hubungan lama waktu *autoclaving* dan frekuensi perebusan terhadap kadar fosfor

Keterangan: Simbol-simbol A1P1, A1P2, A1P3, A2P1, A2P2, A2P3, A3P1, A3P2, A3P3 pada sumbu x merujuk keterangan pada Gambar 2

Rata-rata nilai pH yang diperoleh pada penelitian ini berkisar 7,03-7,22. Nilai pH yang diperoleh dalam penelitian ini diupayakan untuk mencapai pH netral. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan waktu *autoclaving* dan frekuensi perebusan tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai pH. Hal ini disebabkan selama proses perebusan dan pemanasan dengan *autoclaving* digunakan air sebagai media penghidrolisis, dan sebelum proses pengeringan juga dilakukan pencucian dengan air yang secara umum sudah diketahui memiliki pH netral dan mempunyai fungsi sebagai pelarut yang baik terhadap basa maupun asam.

Daya serap air adalah nilai rata-rata penyerapan air. Nilai daya serap air cenderung meningkat sejalan dengan semakin rendahnya kadar air bahan. Nilai daya serap air tepung tulang yang diperoleh pada penelitian ini berkisar 14-14,7 %. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama waktu *autoclaving* dan frekuensi perebusan yang dilakukan tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap perubahan daya serap air tepung tulang ikan.

Tepung tulang ikan sebagian besar tersusun atas mineral (kalsium dan fosfor) yang memiliki nilai porositas yang kecil, hal ini ditunjukkan dengan besarnya nilai densitas kamba yang diperoleh. Nilai porositas dan densitas kamba mempengaruhi rendahnya daya serap air tepung tulang ikan yang dihasilkan. Densitas kamba merupakan salah satu parameter fisik yang menunjukkan porositas dari biji-bijian dan tepung. Nilai densitas kamba yaitu jumlah rongga yang terdapat diantara partikel-partikel bahan (Syarief dan Irawati, 1988). Nilai rata-rata densitas kamba tepung tulang ikan berkisar 0,75 g/ml sampai 0,94 g/ml. Densitas kamba tepung tulang ikan sebesar 0,94 g/ml menunjukkan bahwa pada volume 1 ml, berat tepung adalah 0,94 g.

Nilai derajat putih tepung tulang ikan tuna yang dihasilkan dari berbagai perlakuan *autoclaving* dan perebusan bervariasi antara 59,3–74,8. Derajat putih paling tinggi diperoleh tepung tulang ikan A3P3 dengan perlakuan lamanya waktu *autoclaving* 3 jam dan perebusan 3 kali, sedangkan derajat putih paling rendah diperoleh pada tepung A1P1 dengan perlakuan waktu *autoclaving* 1 jam dan perebusan 1 kali. Kecenderungan data derajat putih yang dihasilkan, meningkat sejalan dengan bertambahnya waktu *autoclaving* dan frekuensi perebusan yang dilakukan. Tepung tulang ikan tuna yang dihasilkan memiliki derajat putih relatif kecil jika merujuk pada angka derajat putih tepung terigu yang berada pada kisaran 80-90.

Kemudahan melarut tepung tulang ikan dibutuhkan untuk mengetahui seberapa cepat tepung larut dalam air tanpa diaduk. Kelarutan dipengaruhi oleh lamanya waktu melarutkan, yaitu semakin lama waktu melarutkan, maka berat bahan yang tertinggal dalam kertas saring lebih sedikit sehingga bahan yang terlarut semakin banyak. Nilai kemudahan melarut tepung tulang yang dihasilkan relatif kecil yaitu antara 0-6,67 % untuk waktu pelarutan 15 menit tanpa pengadukan, sedangkan pada waktu pelarutan 180 menit nilai kelarutan yang diperoleh antara 8,56– 36,67 %.

Pengukuran bioavailabilitas kalsium digunakan untuk menjelaskan proses fisikokimia dan fisiologis yang mempengaruhi penyerapan fraksional kalsium dalam tubuh sehingga mineral tersebut dapat digunakan oleh tubuh untuk menjalankan fungsi metabolisme. Dalam penelitian ini pengukuran bioavailabilitas hanya dilakukan pada tepung yang memiliki kadar kalsium paling tinggi (39,24 %), yaitu tepung tulang A2P3 dengan perlakuan 2 jam lama waktu *autoclaving* dan 3 kali perebusan. Berdasarkan hasil analisis yang dilakukan, persentase penyerapan tepung kalsium tulang ikan yang diperoleh sebesar 0,86 % atau 337,46 mg/100 g tepung tulang ikan.

Keragaman penyerapan kalsium erat kaitannya dengan level kalsium yang dikonsumsi (Allen dan Wood, 1994). Pada tulang ikan, yang level kalsiumnya sangat tinggi yaitu sebesar 39,24 % (39,24 g/100 g bahan) memiliki persentase penyerapan sangat rendah hanya sebesar 0,86 %. Nilai penyerapan ini akan meningkat sejalan dengan penurunan level kalsium yang dalam hal ini dianggap sama dengan asupan kalsium. Jika merujuk pada kebutuhan harian kalsium yang harus dipenuhi orang dewasa sekitar 800 mg/hari, nilai penyerapan kalsium yang diperoleh masih sangat kecil. Berdasarkan data dari Guthrie (1975), bioavailabilitas kalsium tepung tulang ikan 0,86 % masuk kategori sangat buruk, karena masih berada di bawah penyerapan tidak optimum sekalipun (10 %). Level penyerapan optimum menurut Guthrie (1975) adalah sebesar 40 %, sedangkan kategori cukup baik jika level penyerapan kalsium dalam tubuh mencapai 20-30 %.

Berdasarkan penjelasan di atas, dapat dikatakan bahwa penggunaan tepung tulang ikan tuna sebagai sumber kalsium dalam tubuh tidak optimal dengan pemanfaatan tepung tulang secara langsung. Penggunaan tepung tulang ikan diduga akan menghasilkan penyerapan kalsium lebih besar, jika tepung