

## PENDAHULUAN

### Latar Belakang

Setiap tahunnya Indonesia mengalami peningkatan produksi cumi-cumi yang diekspor ke luar negeri. Ekspor cumi-cumi pada tahun 2001 mencapai lebih dari 13.000 ton dengan nilai US\$ 22000. Pada tahun 2005 skala ekspor meningkat pesat, yaitu mencapai lebih dari 25.000 ton dengan nilai US\$ 42000 (DKP, 2009). Sementara berdasarkan data Surat Keterangan Asal (SKA) hingga November 2010, nilai ekspor hasil laut mencapai US\$ 278,793 juta dan volume 27.152 ton. Terjadi kenaikan sekitar 291,73 ton dibandingkan periode yang sama ditahun lalu berkisar US\$ 71,169 juta dan volume 28.986 ton (CV. Media Sava Abadi, permintaan Hasil Laut Melonjak 291,7%. Sabtu, 18 Desember 2010). Peningkatan nilai produksi cumi-cumi pun berbanding lurus dengan jumlah limbah yang dihasilkan dari produksi cumi-cumi tersebut. Dalam pengolahannya, kulit cumi-cumi pada umumnya dipisahkan dari dagingnya yang berwarna putih untuk memenuhi mutu yang dikehendaki oleh konsumen. Hal tersebut disebabkan kulit cumi-cumi dapat berkontribusi pada peningkatan viskositas setelah dipanaskan (Kolodxiejska *et al.*, 1999). Dalam setiap ekor cumi, diperkirakan 3% merupakan bagian kulitnya yang selalu dibuang ketika akan diolah. Jika dilakukan kalkulasi secara kasar, maka akan didapatkan 3% dari 25.000.000 kg limbah kulit cumi-cumi pertahunnya, yaitu mencapai 750.000 kg kulit cumi pertahunnya. Hal ini akan sangat berdampak buruk terhadap lingkungan dan makhluk hidup apabila jika tidak segera ditangani. Menurut (Nagai *et al.*, 2001), limbah kulit yang terbuang dapat menimbulkan polusi lingkungan dan juga bau yang mengganggu.

Penanganan limbah kulit cumi hingga saat ini belum ada yang melaporkannya. Kulit cumi memiliki potensi yang besar untuk dikelola, karena kulit cumi merupakan sumber yang kaya akan kolagen. Kolagen yang berasal dari hewan laut diketahui dapat menghasilkan rendemen yang lebih besar dibanding yang diperoleh dari hewan darat yaitu sebanyak 53% (Kolodxiejska *et al.*, 1999). Sifat ini dapat menjadi aset bagi pemanfaatan kolagen dari kulit cumi-cumi. Pemanfaatan kolagen memiliki kegunaan yang luas, diantaranya yaitu sebagai obat luka dalam industri farmasi (Kolodxiejska *et al.*, 1999). Selain obat luka, kolagen dapat diubah menjadi gelatin yang dapat diproses lebih lanjut sehingga dihasilkan antioksidan (Yu *et al.*, 2006).

Menurut Williams *et al.*, (1999); Witschi (1986); dan Kikuzaki *et al.* (2002), antioksidan merupakan zat yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi. Proses oksidasi dapat menyebabkan kerusakan pada sel yang mengakibatkan sel cepat mengalami degeneratif. Hal tersebut dapat mengakibatkan penuaan dini dan kerusakan sel yang menyebabkan berbagai penyakit pada manusia. Sementara itu, peningkatan polusi di dunia yang menjadi trend isu dunia semakin menjadi. Kerusakan atmosfer telah memperburuk kondisi lingkungan sekitar. Menurut Eugene *et al.* (2007), polusi udara di dunia saat ini menyumbang banyak dampak negatif terhadap kesehatan manusia terutama penduduk yang tinggal di daerah perkotaan. Dampak negatif ini berupa terbentuknya radikal bebas dalam tubuh manusia jika terhirup yang lama kelamaan dapat menyebabkan mutagen (David *et al.*, 2000). Radikal bebas merupakan molekul atau atom-atom yang tidak stabil karena memiliki satu atau

lebih elektron yang tidak berpasangan. Radikal bebas ini berbahaya karena sangat reaktif untuk mencari pasangan elektronnya. Radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh akan menghasilkan radikal bebas yang baru melalui reaksi berantai yang terus berkembang dan pada akhirnya jumlahnya akan terus meningkat. Selanjutnya radikal bebas tersebut menyerang sel-sel di dalam tubuh sehingga menimbulkan kerusakan jaringan (Sibuea, 2004). Tubuh secara terus menerus membentuk radikal oksigen dan spesies reaktif lainnya, terutama dihasilkan oleh netrofil, makrofag dan sistem xantin oksidase (Khlifi *et al.*, 2005). Radikal bebas ini dibentuk melalui mekanisme metabolisme normal (Desmarchelier *et al.*, 2005). Bentuk radikal bebas diantaranya adalah oksigen reaktif (ROS), termasuk radikal superoksidaanion ( $O_2^-$ ), radikal hidroksil ( $OH$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), singlet oksigen ( $^1O_2$ ) dan nitrat oksida ( $NO$ ) yang dapat berkontribusi pada proses penuaan manusia dan degradasi DNA selular ketika berada pada jumlah berlebihan atau pada saat sistem pertahanan antioksidan mengalami penurunan (Sogut *et al.*, 2003).

Dari spesies oksigen reaktif, radikal anion superoksida terbentuk pertama kali dan tergolong radikal yang lemah. Namun radikal lemah tersebut mudah terurai membentuk reaktif oksidatif spesies yang lebih kuat, seperti singlet oksigen dan radikal hidroksil (Dahl dan Richardson, 1978). Radikal hidroksil inilah yang paling aktif. Radikal hidroksil dapat menginduksi beberapa kerusakan oksidatif biomolekul, seperti beberapa protein, DNA, PUFA, asam nukleat dan hampir semua molekul dalam tubuh. Beberapa studi yang telah dilakukan menyatakan bahwa oksidasi molekul biologis, membran dan jaringan disebabkan oleh radikal bebas. Banyak bukti mengatakan kerusakan akibat radikal bebas ini berperan dalam pathogenesis berbagai penyakit pada manusia. Dampak dari kerusakan tersebut menyebabkan penuaan, kanker dan beberapa penyakit lainnya (Aruoma, 1998).

Menurut Karyadi (1997), Senyawa radikal bebas timbul akibat berbagai proses kimia kompleks dalam tubuh, berupa hasil sampingan dari proses oksidasi atau pembakaran sel yang berlangsung pada waktu bernapas, metabolisme sel, olahraga yang berlebihan, peradangan atau ketika tubuh terpapar polusi lingkungan seperti asap kendaraan bermotor, asap rokok, bahan pencemar, dan radiasi matahari atau radiasi kosmis. Sumber radikal bebas tidak hanya didapatkan dari kondisi udara yang buruk serta paparan sinar UV saja. Namun, menurut Sibuea (2004), makanan tertentu seperti makanan cepat saji (*fastfood*), makanan dalam bentuk kemasan, serta makanan kalengan juga sangat berpotensi meninggalkan racun dalam tubuh karena kandungan lemak, pengawet serta sumber radikal bebasnya.

Kondisi lingkungan yang semakin rusak dan gaya hidup yang semakin meningkatkan konsumsi *fastfood* menuntut konsumen untuk mengonsumsi antioksidan sebagai penangkal efek buruk dari radikal bebas. Selama ini, antioksidan yang banyak digunakan adalah antioksidan sintetik yang diproduksi melalui berbagai proses bahan non alami seperti BHA (*butylated hydroxyanisole*), BHT (*butylated hydroxytoluene*), TBHQ (*tert-butylhydroquinone*) dan PG (*propyl gallate*). Namun antioksidan sintetik diduga memberikan efek yang membahayakan terhadap kesehatan tubuh seperti misalnya BHA dan BHT yang diduga dapat menyebabkan kerusakan hati dan karsinogenik (Williams *et al.*, 1999; Witschi, 1986; Kikuzaki *et al.*, 2002). Beberapa hasil studi laboratorium

yang dilakukan pada hewan menunjukkan butylated hydroxyanisole (BHA) dan butylated hydroxytoluene (BHT) dapat menyebabkan kanker dan tumor. Selain itu menurut Taigan (2009), telah ditemukan bukti yang mendukung bahwa kedua pengawet ini menyebabkan gangguan metabolisme pada manusia. Bahkan di Amerika, kedua pengawet ini dilarang digunakan pada produk makanan bayi, begitu pun halnya yang terjadi di Rumania, Swedia, dan Australia. Penggunaan BHA atau BHT sebagai antioksidan dalam sebuah penelitian yang membuktikan bahwa BHA atau BHT sebenarnya kurang baik karena menyebabkan kelainan kromosom sel bagi orang yang alergi terhadap aspirin (BP POM, 2003).

Berbahayanya efek samping yang ditimbulkan akibat mengonsumsi antioksidan sintetik tersebut, maka perlu diupayakan adanya antioksidan alami yang aman. Antioksidan alami dapat diperoleh dari berbagai jenis sumber hayati seperti nabati dan hewani. Hingga saat ini banyak penelitian tentang kapasitas antioksidan yang berasal dari buah-buahan (Leong dan Shui, 2002) dari hasil samping pengolahan buah-buahan seperti kulit buah (Moure *et al.*, 2001) dan juga berasal dari rempah-rempah yang sering digunakan sebagai antioksidan oleh masyarakat. Selain murah, sumber nabati ini juga telah banyak dimanfaatkan dalam kehidupan sehari-hari masyarakat seperti untuk bahan masakan dan lainnya. Antioksidan dari tumbuhan dapat menghalangi kerusakan oksidatif melalui reduksi dengan radikal bebas, membentuk kelat dengan senyawa logam katalitik, dan menangkap oksigen (Khlifi *et al.*, 2005). Namun antioksidan dalam jumlah konsentrasi yang besar, dapat mengubah karakteristik sensori produk pangan dan hal tersebut tidak dikehendaki (Nychas dan Skandamis, 2000). Sementara antioksidan dari hewani didapatkan dari peptida-peptida bioaktif hasil hidrolisis kimia.

Berdasarkan pemikiran dan analisis fakta di atas, maka diperlukan antioksidan alami yang aman. Melalui Program Kreativitas Mahasiswa Gagasan Tertulis (PKM-GT) ini, akan dibuat suatu karya ilmiah yang berjudul “Potensi Antioksidan Alami Dari Limbah Kulit Cumi (*Loligo sp.*) Melalui Proses Hidrolisis Secara Enzimatis sebagai Solusi Meningkatnya Pengaruh Radikal Bebas dan Tingginya Impor Antioksidan Sintetik”. Diharapkan antioksidan alami ini memiliki aktivitas antioksidasi lebih tinggi dibandingkan antioksidan sintetik dan aman dikonsumsi. Selain hal tersebut di atas juga terdapat tiga permasalahan yang terpecahkan yaitu; (1) Radikal bebas yang menyebabkan gangguan kesehatan yang bersumber dari polusi dapat dicegah dengan mengonsumsi antioksidan alami, (2) Limbah kulit cumi yang tidak termanfaatkan menjadi lebih bernilai ketika diproses menjadi antioksidan melalui hidrolisis secara enzimatis. (3) Proses produksi yang sederhana dan efisien karena memanfaatkan enzim papain dengan dua tahapan utama, yaitu isolasi kolagen murni dari kulit cumi-cumi kemudian modifikasi kolagen menjadi antioksidan.

### Tujuan dan Manfaat yang Ingin Dicapai

Tujuan dari penulisan karya tulis ini adalah mengangkat potensi antioksidan yang berasal dari sumber hewani yaitu dengan memanfaatkan limbah kulit cumi-cumi yang diperoleh dari hasil hidrolisis secara enzimatis dengan menggunakan aktivitas enzim papain sebagai penghidrolisisnya.

Manfaat dari karya tulis ini diharapkan dapat mendorong keanekaragaman sumber yang dapat dijadikan sebagai antioksidan yang berasal dari sumber hewani serta memberikan solusi bagi permasalahan limbah produksi ekspor cumi-cumi dengan memanfaatkan limbah menjadi nilai tambah dari kulit cumi-cumi dan dapat mencegah polusi tanah, udara dan air akibat pembuangan limbah tersebut.

## GAGASAN

### Tahapan Isolasi Kolagen Kulit Cumi-Cumi

Kulit cumi-cumi sebagian besar terdiri atas kolagen. Perolehan kolagen dan kehilangannya diukur dengan mengetahui jumlah hidroksiprolin dalam larutan. Isolat kolagen diketahui dari komposisi nitrogen, berat kering, viskositas, dan elektroforesisnya. Diketahui dari perendaman dengan menggunakan larutan garam NaOH pH 11.5 pada suhu ruang selama 24 jam dan pencucian dengan air dan penambahan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1% dalam 0.01 M NaOH pH 9.3, kolagen dapat diekstrak hingga 90%. Perubahan fisikokimia dapat terjadi selama perendaman. Oleh karena itu, kondisi perlakuan harus dapat mencegah kehilangan kolagen. Setelah itu kolagen diisolasi (diagram alir proses isolasi kolagen kulit cumi-cumi terlampir digambar 1 pada halaman lampiran). Molekul kolagen disebut terhelix disebabkan strukturnya terdiri atas 3 rantai  $\alpha$  yang berikatan (Te Nijenhuis, 1997).

Tabel 1. Karakteristik isolat kolagen dari kulit cumi-cumi-cumi-cumi:

Karakteristik	Isolat I	Isolat II
Nitrogen (% bk)	16.7	15.3
Hidroksiprolin (% bk)	7.1	7.0
Bk /N ( $f_N$ )	6.0	6.5
Bk/ Hidroksiprolin ( $f_{hidro}$ )	14.1	14.3
Viskositas 0.5% kolagen dalam HCl encer pH 3.5 (cp)	1935	487

Sumber: Kolodziejcka *et al* (1999).

### Hidrolisis Enzimatis Kolagen Menjadi Antioksidan

Pembuatan antioksidan dilakukan berdasarkan metode pembuatan hidrolisat protein ikan yang telah dilakukan oleh Gesualdo dan Li-Chan (1999) (diagram alir proses pembuatan antioksidan terlampir digambar 2 pada halaman lampiran). Substrat berupa gelatin hasil isolasi sebelumnya dicampur dalam air dengan perbandingan 1: 4, kemudian dihomogenisasi menggunakan blender selama 2 menit. Campuran yang terbentuk diaduk dan nilai pH campuran diatur hingga mencapai pH netral pada suhu 55°C untuk menghasilkan aktivitas enzim yang optimal. Papain ditambahkan dengan konsentrasi tertentu terhadap total bobot gelatin hasil isolasi. Pengadukan dilakukan terus menerus selama 80 menit. Aktivitas enzim papain selanjutnya dihentikan dengan menaikkan suhu pengadukan hingga mencapai 85°C selama 1 jam. Hidrolisis gelatin tersebut

disentrifuse pada 16000 x g selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan dekantasi. Fraksi terlarut (supernatant) yang diperoleh merupakan antioksidan.

### Dampak Pengembangan Ide

Dengan adanya antioksidan dari limbah kulit cumi-cumi ini dapat menjadi solusi permasalahan antioksidan sintetik yang kini merebak dan berdampak negatif di kalangan masyarakat jika konsumsi terus menerus. Selain itu produksi antioksidan dari limbah kulit cumi mengangkat potensi antioksidan yang berasal dari sumber hewani karena selama ini antioksidan hanya diproduksi dari sumber nabati.

Pemanfaatan enzim papain untuk mendapatkan antioksidan dalam waktu lebih singkat dibandingkan hidrolisis secara kimia. Enzim papain merupakan enzim protease yang terkandung dalam getah pepaya, baik dalam buah, batang dan daunnya. Aktivitas enzim papain ditandai dengan proses pemecahan substrat menjadi produk oleh gugus histidin dan sistein pada sisi aktif enzim. Aktivasi enzim papain cukup spesifik karena papain hanya dapat mengkatalisis proses hidrolisis dengan baik pada kondisi pH serta suhu dalam kisaran tertentu (Putri Nur Sabariyyah, 2005).

Proses hidrolisis dengan menggunakan enzim papain dapat menjadi solusi karena dapat mempercepat produksi antioksidan dalam waktu yang relatif lebih singkat dibandingkan dengan metode umum hidrolisis kolagen. Enzim papain yang digunakan adalah yang biasanya diperdagangkan dengan aktivitas 30000 U/mg yang sudah di stabilkan dengan sodium disulfide.

Dampak langsung dari penggunaan enzim papain adalah biaya produksi jadi lebih rendah dan prosesnya jelas lebih singkat. Dengan memanfaatkan aktivitas enzim proteolitik ini berpeluang dapat mempercepat produksi antioksidan dari hidrolisis kolagen kulit cumi-cumi dalam waktu yang relatif lebih singkat. Dengan demikian pada masa mendatang diharapkan Indonesia dapat memproduksi antioksidan alami secara mandiri tanpa bergantung pada impor dari luar negeri yang pada umumnya sintetik.

### KESIMPULAN

Potensi antioksidan yang berasal dari sumber hewani yaitu dengan memanfaatkan limbah kulit cumi-cumi yang diperoleh dari hasil proses hidrolisis sangat besar. Kulit cumi yang tidak termanfaatkan merupakan sumber yang kaya dengan kolagen akan menjadi sangat bermanfaat karena selama ini terhiraukan. Melalui proses hidrolisis secara enzimatik dengan menggunakan aktivitas enzim papain sebagai penghidrolisisnya menjadikan antioksidan dapat dihasilkan dalam jumlah yang sama dengan waktu yang lebih singkat. Hal ini dikarenakan ketika memanfaatkan aktivitas enzim proteolitik ini berpeluang dapat mempercepat produksi antioksidan dari hidrolisis kolagen kulit cumi-cumi dalam waktu yang relatif lebih singkat. Pada akhirnya radikal bebas yang menyebabkan gangguan kesehatan yang bersumber dari polusi dapat dicegah dengan mengkonsumsi antioksidan alami dan limbah kulit cumi yang tidak termanfaatkan menjadi lebih

bernilai ketika diproses menjadi antioksidan melalui hidrolisis secara enzimatis. Harapannya pada masa mendatang diharapkan Indonesia dapat memproduksi antioksidan alami secara mandiri tanpa bergantung pada impor dari luar negeri yang pada umumnya merupakan antioksidan sintetik.



#### Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan artikel atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aruoma, O. I. 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 75: 199–212.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2003 ,Mengetahui Bahan Pengawet Dalam Produk Pangan, [www.pom.go.id](http://www.pom.go.id). Diakses tanggal 27 Februari 2011.
- Dahl, M. K., dan T. Richardson. 1978. Photogeneration of superoxide anion in serum of bovine milk and in model systems containing riboflavin and amino acid. *Journal of Dairy Science*, 61: 400–407.
- David M., DeMarini, M. L. Shelton, M. J. Kohan, E. E. Hudgens, T. E. Kleindienst, L. M. Ball, D. Walsh, J. G. de Boer, L. Lewis-Bevan, J. R. Rabinowitz, L. D. Claxton dan J. Lewtas. 2000. Mutagenicity in lung of Big Blue® mice and induction of tandem-base substitutions in *Salmonella* by the air pollutant peroxyacetyl nitrate (PAN): predicted formation of intrastrand cross-links. *Mutation Research* 457: 41–55.
- Eugene, K., Cairncross, J. John, M. Zunckel. 2007. A novel air pollution index based on the relative risk of daily mortality associated with short-term exposure to common air pollutants. *Atmospheric Environment* 41: 8442–8454.
- Gulcin, I., I.G. Sat, S. Beydemir, M. Elmastas dan O.I. Kufrevioglu. 2004. Comparison of antioxidant activity of clove (*Eugenia caryophyllata* Thunb) buds and lavender (*Lavandula stoechas* L.). *Food Chemistry*, 87: 393–400.
- Kolodziejaska, I., Z.E. Sikorski dan C. Niecikowska. 1999. Parameter affecting the isolation of collagen from squid skins. *Journal of Food Chemistry* 66: 153–157.
- Leong, L.P., G. Shui. 2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets *Food Chemistry* 76: 69–75.
- Moure, A., J.M. Cruz, D. Franco, J.M. Dominguez, J. Sineiro, H. Dominguez, M.J. Nunez, J.C. Parajo. 2001. Natural antioxidant from residual sources. *Journal of Food Chemistry* 72: 145–171.
- Nychas, G.J.E., dan P.N. Skandamis. 2000. Antimicrobials from herbs and Spices. Di dalam: *Natural Antimicrobials from The Minimal Processing of Foods* (Roller, S. Ed.) Woodhead publishing, New York.
- Sabariyyah, Putri Nur. 2005. Pemanfaatan Enzim Papain dalam Produksi Hidrolisat Protein Susu Sapi [skripsi]. FMIPA-IPB, Bogor.
- Sogut, S., S.S. Zoroglu, H. Ozyurt, H.R. Yilmaz, F. Ozugurlu dan E. Sivasli. 2003. Changes in nitric oxide levels and antioxidant enzyme activities may have a role in the pathophysiological mechanisms involved in autism. *Clinica Chimica Acta*, 331: 111–117.
- Tarigan, Ikarowina. Perangi 3 Bahan Pengawet Berbahaya. <http://www.mediaindonesia.com>. Diakses tanggal 28 Februari 2011.
- Te Nijenhuis, K. 1997. Thermoreversible networks: viscoelastic properties and structure of gels. *Advances Polymer Science*, 130: 1–26.
- Williams, G. M., M.J. Iatropoulos dan J. Whysner. 1999. Safety assessment of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene as antioxidant food additives. *Journal of Food and Chemical Toxicology*, 37: 1027–1038.

- Witschi, H. P. 1986. Enhanced tumour development by butylated hydroxytoluene (BHT) in the liver, lung and gastro-intestinal tract. *Food and Chemical Toxicology*, 24: 1127–1130.
- Yamaguchi, K., J. Lavety dan R.M. Love. 1976. The connective tissues of fish. VII. Comparative studies on hake, cod and catfish collagen. *Journal of Food Technology*, 11: 389-399.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
  - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan artikel atau tinjauan suatu masalah.
  - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.