Buletin THP. Vol-I. No. 1-1995

PENGARUH KADAR GARAM IKAN ASIN TERHADAP TIKUS PERCOBAAN

Oleh:

Ir. Mita Wahyuni[1] dan M. Astawan[2]

RINGKASAN

Ikan tuna (Katsuwonus pelamis) digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan produk ikan asin. Pembuatan produk ini dilakukan dengan merendam daging ikan tuna di dalam larutan garam 25 % selama 24 jam, kemudian dikeringkan di dalam oven bersuhu 45 C selama 40 jam. Produk ikan asin yang dihasilkannya disimpan dalam suhu kamar (28 C) selama 3 bulan. Digunakan tikus jantan jenis Wistar sebagai hewan percobaan, untuk mengevaluasi pengaruh kadar garam produk ikan asin terhadap kualitas nutrisi protein, organ-organ dalam tubuh, tekanan darah, serta kehilangan mineral dari dalam tubuh. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi garam dan lama penyimpanan 3 bulan tidak berpengaruh secara nyata terhadap kualitas protein, seperti yang terlihat dari hasil-hasil pengamatan Protein Efficiency Ratio, Net Protein Ratio, Feed Conversion Efficiency, Protein Digestibility, Biological Value, dan Net Protein Utilization. Tingginya kadar garam pada produk ikan asin secara nyata mempengaruhi tekanan darah, menyebabkan terjadinya pembengkakan pada hampir seluruh organ dalam tubuh, serta meningkatkan jumlah kehilangan mineral tubuh melalui ekskresi urine pada tikus-tikus percobaan.

PENDAHULUAN

Penggunaan garam yang dikombinasikan dengan langkah pengeringan dalam pengolahan hasil perikanan, merupakan suatu cara pengolahan sederhana yang telah lama dikenal untuk memperpanjang daya tahan simpan produk serta memberikan cita- rasa tertentu yang diinginkan. Di negara-negara maju pun, masyarakat masih mengkonsumsi produk ikan asin, dikarenakan kespesifikan cita-rasa serta aroma yang dimiliki produk ini.

Hingga saat ini, teknik pengolahan ikan secara tradisional masih memegang peranan penting di berbagai negara. Tak dapat dipungkiri, adanya perbedaan dalam beberapa

---

1 *Staf Pengajar Jurusan Pengolahan Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan, Institut Pertanian Bogor*
2

tahap pengolahan tradisional tersebut; misalnya metode penggaraman, konsentrasi garam yang digunakan, serta teknik pengeringan yang dilakukan. Lama penggaraman juga bervariasi dari 20-30 menit di Filiphina hingga 48 jam di Indonesia (Wooton dan Ismail, 1986). Konsumen di berbagai negara yang berbeda, juga menghendaki produk-produk ikan asin dengan kadar air yang berbeda-beda pula; misalnya masyarakat Nigeria menyukai produk ikan asin dengan kadar air 33 %, masyarakat Amerika Serikat mengkonsumsi produk ikan asin dengan kadar air 50 % (Pigott and Tucker, 1991). Umumnya penduduk Asia lebih menyukai produk ikan asin dengan kadar air yang lebih rendah lagi.

Pemerintah Indonesia telah menggariskan suatu kebijakan bahwa produk ikan asin merupakan salah satu dari sembilan bahan pangan kebutuhan pokok masyarakat (Souness, 1988), dimana tingkat konsumsi produk tersebut dalam masyarakat pedesaan lebih tinggi daripada masyarakat perkotaan (Syukur dkk., 1992). Salah satu faktor utama yang menghambat penyebaran konsumsi ikan asin di dalam masyarakat Indonesia, adalah tingginya kadar garam produk tersebut.

Walaupun masyarakat Indonesia seringkali berupaya untuk mengurangi kadar garam pada produk ikan asin dengan merendam produk tersebut dalam air mengalir sebelum pemasakan selanjutnya, namun tingginya kadar garam dalam produk ikan asin masih tetap merupakan suatu topik yang menarik ditinjau dari sisi penglihatan nutrisi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengevaluasi pengaruh tingginya kadar garam produk ikan asin terhadap kualitas protein, organ-organ dalam tubuh, nilai biokimiawi serum serta tekanan darah tikus-tikus percobaan setelah diberi ransum yang mengandung kadar protein 20 % selama 26 hari. Dalam penelitian ini, ikan Tuna (Katsuwonus pelamis) digunakan sebagai model.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Ikan Tuna segar (*Katsuwonus pelamis*) dengan berat badan sekitar 4 kg dan panjang badan sekitar 60 cm, diperoleh dari Tsukiji Fish Market, Tokyo, japan. Selama perjalanan ke laboratorium, suhu ikan dijaga tetap rendah dengan menggunakan es.

Setibanya di laboratorium, ikan disiangi, dicuci dengan air mengalir, dan dibuat fillet. Lalu fillet tersebut dipotong menjadi bagian-bagian yang lebih kecil lagi, masing-masing sekitar 60-70 gram beratnya, dan dibagi menjadi 2 kelompok. Kelompok pertama dikeringbekukan, dan digunakan sebagai kelompok kontrol. Kelompok kedua, segera direndam dalam larutan garam NaCl 25 % selama 24 jam pada suhu kamar (28° C).

Setelah langkah penggaraman, ikan dikeringkan dalam oven bersuhu 45° C selama 40 jam. Produk ikan asin yang telah siap, disimpan dalam suhu kamar (28° C) selama 3 bulan.

Metode

Analisis Kimiawi

Protein dianalisis dengan menggunakan prosedur Kjeldahl, kadar air diukur melalui langkah pengeringan oven bersuhu 105 C hingga mencapai berat konstan, kadar abu dihitung melalui pemanasan pada suhu 600C, Aw diukur dengan alat rotronic hygroskop, kadar garam diukur dengan metode titrasi AgNO 0.1 M (AOAC, 1990). Total lemak diukur dengan menggunakan metode Folch et al., 1957. Analisis mineral dilakukan dengan menggunakan alat Atomic Emission Spectrometer.

Analisis komponen-komponen biokimiawi serum (dipersiapkan dari contoh darah tikus percobaan) dilakukan berdasarkan beberapa metode : Total Cholesterol (Allain et al., 1974), HDL-Cholesterol (Allen et al., 1979), Blood Urea Nitrogen (Horn et al., 1966), Creatinine (Cook, 1971), Serum Glutamate-Oxalate Transaminase (SGOT) dan Serum Glutamate Pyruvate (SGPT) diukur secara colorimetri (Richterich, 1969). Serum Glucose diukur dengan menggunakan glucose oxidase kit (Glucose-B test Wako, Wako Pure Chemical Ltd., Tokyo). Serum protein diukur dengan menggunakan metode Biuret. Albumin diukur secara colorimetri (Sugiyama et al., 1991).

Bioassay Tikus

Tepung kasein, ikan segar kering-beku, serta produk ikan asin (PIA) yang disimpan 3 bulan, digunakan sebagai sumber protein di dalam diet tikus percobaan. Persiapan diet tersebut disesuaikan dengan rekomendasi dari AOAC (1990), namun konsentrasi protein di dalam penelitian ini ditetapkan sebesar 20 %.

Tikus putih jantan jenis Wistar yang berusia 3 minggu, dengan berat badan sekitar 66.1-68.2 g, digunakan dalam penelitian ini. Tikus-tikus percobaan tersebut dibagi ke dalam 4 grup yang masing-masing terdiri atas 8 ekor tikus. Pengelompokan grup-grup tikus tersebut dilakukan berdasarkan perlakuan sumber protein yang diberikan dalam diet selama penelitian berlangsung. Diet dan air minum diberikan pada tikus-tikus tersebut secara ad libitum. Banyaknya diet yang dimakan (Feed Intake) dan berat badan tikus percobaan diukur setiap hari, selama 26 hari.

Dari setiap tikus percobaan, dilakukan pengumpulan urine dan feses dalam beberapa hari terakhir, untuk dianalisis lebih lanjut. PER dan NPR, TD, BV, dan NPU dari protein diukur pula (Bender and Doell, 1957)(Pellet and Young, 1980).

Pada akhir penelitian, seluruh tikus percobaan tersebut dimatikan. Organ-organ dalam tubuh tikus-tikus percobaan tersebut dikeluarkan, ditimbang, dan disimpan beku sampai saat analisis kimia dilakukan.

Tekanan Darah

Pada akhir saat penelitian, tekanan darah dari masing- masing tikus percobaan diukur dengan menggunakan alat Electrosphygmomanometer (Riken kaihatsu Co., Japan).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Garam Terhadap Kualitas Nutrisi Protein

Pada Tabel 1 terlihat bahwa produk ikan asin (PIA) mengandung kadar protein yang lebih rendah daripada ikan segar. Penggaraman daging ikan dalam larutan NaCl 25 % selama 24 jam serta suhu pengeringan 45 C selama 40 jam turut berperanan dalam menurunkan kandungan protein PIA.

Tabel 1. Komposisi kasein, ikan segar, dan produk ikan asin

Contoh	Kadar (%)			
	Air	Abu	Lemak	Protein
Ikan Segar *	2,3	4,1	10,3	83,3
PIA *	2,1	28,9	5,9	63,1
Kasein	11,4	1,9	1,1	85,5

* : Contoh dikering-bekukan
PIA : Produk Ikan Asin yang direndam dalam 25 % larutan NaCl, dan disimpan selama 3 bulan pada suhu 28°C.

Protein sarkoplasma (mioalbumin, globin, dan enzim) larut di dalam air, protein strutural (aktin, miosin, tropomiosin, dan aktomiosin) larut dalam larutan garam netral dengan konsentrasi kekuatan ion yang tinggi (0.5 M) (Spinelli dan Dassow, 1982). Garam juga mengurangi total lemak dan meeningkatkan kadar abu. Produk akhir mempunyai kadar air, kadar NaCl, dan Aw sekitar 33 %, 23 %, dan 0.8.

Pengaruh jenis diet terhadap total diet yang dimakan dan konsumsi air minum, ekskresi urine dan feses tikus selama 26 hari, dapat dilihat pada Tabel 2. Grup PIA mempunyai Feed Intake yang secara nyata lebih rendah daripada grup Kasein atau grup Ikan Segar. Tingginya kadar garam dalam diet, menyebabkan tikus percobaan menjadi mudah haus dan minum air (4 kali labih besar volume air minumnya daripada grup kontrol), sehingga ekskresi urine grup PIA menjadi 8 kali lebih besar daripada grup kontrol (grup Kasein dan grup Ikan Segar).

Tabel 2. Pengaruh berbagai diet terhadap total konsumsi makanan, konsumsiair, ekskresi feses dan urine tikus

	Kasein	Ikan Segar	PIA
Konsumsi makanan (g/hari)	20,25	20,26	15,33
Konsumsi air (ml/hari)	25,75	27,87	95,78
Urine (ml/hari)	7,64	13,07	65,62
Feses (g/hari)	0,57	0,53	0,39

Nilai data merupakan rata-rata dari 8 ulangan.

Hubungan antara lamanya waktu penelitian dan pertumbuhan tikus terlihat pada Gambar 1. Tikus percobaan yang mengkonsumsi ikan segar dan kasein mempunyai kurva pertumbuhan yang mirip, namun grup PIA mempunyai kurva pertumbuhan yang lebih rendah daripada grup kontrol. Fenomena ini berkorelasi dengan Feed Intake, dimana kadar garam 1.52 % pada ikan segar tidak mempengaruhi kesukaan tikus-tikus grup Ikan Segar untuk mengkonsumsi dietnya. Sehingga total Feed Intake dan peningkatan berat badan tikus dalam dua grup kontrol tersebut tidak berbeda nyata. Di lain pihak, tingginya kadar garam pada PIA (8-10 %) menimbulkan rasa asin, sehingga menyebabkan penolakan terhadap diet pada tikus.

Evaluasi terhadap kualitas protein PIA berdasarkan pertumbuhan hewan percobaan, terlihat pada Tabel 3. Dibandingkan dengan grup kontrol, maka tikus pada grup PIA menunjukkan nilai FCE, PER, dan NPR yang secara signifikan lebih rendah.

Tabel 3. Kualitas protein ikan segar dan produk ikan asin

	Kasein	Ikan Segar	PIA
Pertambahan berat badan (g)	+ 226,39	+ 226,40	+ 148,12
Protein intake (g)	105,31	105,35	79,71
FCE	0,51	0,53	0,42
PER	2,50	2,58	2,05
NPR	2,91	3,03	2,62
TD (%)	99,69	99,69	98,94
BV (%)	94,98	92,45	92,86
NPU (%)	94,69	92,16	91,88

Nilai data merupakan rata-rata dari 8 ulangan
FCE = Feed Conversion Efficiency,
PER = Protein Efficiency Ratio,

NPR = Net Protein Ratio
TD = True digestibility
BV = Biological value
NPU = Net Protein Utilization.

Pada Tabel 3 juga terlihat bahwa tidak terdapat perbedaan yang nyata antara grup Ikan Segar dan grup PIA pada pengamatan BV dan NPU. Walaupun grup PIA mempunyai nilai kecernaan lebih rendah daripada grup Kasein, namun BV dan NPU masih di atas 90 %. Sehingga dari hasil evaluasi secara in vivo ini dapat dikatakan bahwa kadar garam yang tinggi pada PIA tidak mempengaruhi kualitas protein PIA itu sendiri. Walaupun larutan garam yang kuat dapat mendenaturasi protein, namun proses denaturasi itu sendiri tidak membahayakan nilai nutrisi PIA. Dari hasil penelitian ini, diketahui bahwa perlakuan pelarutan dalam larutan garam kuat hanya menyebabkan kehilangan air dan protein larut garam PIA, namun hanya sedikit mempengaruhi nilai nutrisinya secara keseluruhan.

Penelitian dengan menggunakan tikus percobaan ini juga membuktikan bahwa penyimpanan selama 3 bulan tidak mempengaruhi kualitas nutrisi protein PIA. Rendahnya kadar air PIA (33 %) dan tingginya kadar garam (23 % bb), menyebabkan kecilnya kemungkinan bakteri untuk tumbuh serta aktivitas enzim yang maksimal, sehingga diharapkan PIA akan mampu bertahan selama 6 bulan dalam kemasan yang baik.

Pengaruh PIA Terhadap Organ-organ Dalam dan Nilai Biokimia Serum Tikus

Pengaruh PIA terhadap organ-organ dalam tubuh tikus terlihat pada Tabel 4. Di antara grup Kasein dan grup Ikan Segar tidak terdapat perbedaan yang signifikan dalam pengukuran berat organ- organ dalam tubuh tikus. Akan tetapi, hipertrofi pada hampir semua organ-organ dalam tubuh tikus, ditemukan pada grup PIA. Seperti terlihat pada Tabel 4, hipertrofi jantung terjadi pada grup PIA, yang secara signifikan beratnya lebih besar daripada grup-grup lainnya.

Terlihat pula, bahwa berat ginjal pada tikus grup PIA secara sangat nyata (p 0.01) lebih besar daripada grup Kasein maupun grup Ikan Segar. Telah dibuktikan di atas, bahwa kualitas protein PIA hampir tidak berubah setelah 3 bulan penyimpanan; tampak bahwa terjadinya hipertrofi organ-organ dalam tubuh tikus tidak disebabkan oleh kadar protein PIA itu sendiri, namun oleh tingginya kadar garam PIA. Peneliti-peneliti lainnya juga menemukan hipertrofi pada ginjal tikus percobaannya, setelah diberi diet yang diperkaya dengan natrium atau klorida (Greger and Tseng (1993), Kaup et al., (1991), Greger et al. (1991), dan Kaup and Greger (1990)).

Komposisi kimia hati tikus percobaan setelah pemberian diet selama 26 hari, dapat dilihat pada Tabel 5. Tidak terdapat perbedaan pada kadar-kadar air, abu, lemak, dan protein pada grup PIA maupun grup-grup kontrol. Walaupun kandungan NaCl dalam diet grup PIA secara nyata lebih tinggi daripada grup-grup lainnya, namun kadar abu dalam organ hati seluruh tikus percobaan tidak berbeda nyata. Hal ini menunjukkan bahwa tidak terjadi akumulasi NaCl di dalam organ hati, karena unsur natrium diekskresikan melalui urine (Lampiran 2).

Tabel 4. Pengaruh diet ikan segar dan produk ikan asin terhadap berat organ dalam tubuh tikus percobaan

Organ dalam (g/100 g BB)	Kasein	Ikan Segar	PIA
Jantung	0,36	0,38	0,46**
Paru-paru	0,47	0,47	0,54
Lambung	0,52	0,52	0,71**
Usus halus	1,97	2,14	3,69**
Usus besar	0,30	0,24	0,51**
Hati	3,20	3,49	4,39**
Ginjal	0,82	0,87	1,39**
Pankreas	0,28	0,26	0,38**
Limpa	0,30	0,30	0,30
Testis	0,93	1,01	1,32**
Caecum	0,75	1,14*	1,46*

* : Berbeda nyata (p 0.05) terhadap grup kontrol
**: Berbeda sangat nyata (p 0.01) terhadap grup kontrol

Tabel 5. Komposisi hati tikus-tikus grup Kasein, grup Ikan Segar, dan grup PIA

Perlakkuan	Hati(g)	Kadar Air	Kadar Abu	Kad Lemak	K. Protein
Kontrol (Kasein)	9,2	6,54	0,12	0,63	1,97
Ikan Segar	9,9	7,14	0,13	0,63	2,06
PIA	8,9	6,36	0,12	0,52	1,76

Nilai data mrupakan rata-rata dari 8 ulangan

Pengaruh PIA terhadap nilai biokimia serum tikus, dapat dilihat pada Tabel 6. Nilai-nilai biokimia seperti kolesterol, glukosa, lipid, dan protein, tidak berubah. Namun pada tikus grup PIA, terjadi peningkatan nilai kreatin dan rasio albumin terhadap globulin (A/G) secara signifikan. Di sisi lain, kadar trigliserida, total lipid, B-lipoprotein dan Non Esterified Fatty Acid (NEFA) menurun secara nyata pada grup PIA.

Tabel 6. Pengaruh diet terhadap nilai biokimiawi serum pada tikus

Komponen Serum	Kasein	Ikan Segar	PIA
Total Kolesterol (mg/dl)	61,71	47,62	57,50
HDL kolesterol mg/dl)	44,00	40,37	48,87
Trigliserida (mg/dl)	59,87	71,37	37,62*
Total lipid (mg/dl)	247,57	246,87	240,75
B-lipoprotein (mg/dl)	66,37	80,62*	53,25*
Glukosa (mg/dl)	135,37	143,87	147,62
BUN (mg/dl)	13,37	13,62	21,62**
Kreatinine (mg/dl)	0,30	0,26	0,31
kreatin (mg/dl)	2,25	3,56	4,49
Total protein (g/dl)	5,78	6,05*	5,89
A/G	0,71	0,72	0,79*
NEFA (meq/l)	0,88	0,94	0,53**
GOT (IU/l)	104,17	102,86	161,80*
GPT (IU/l)	23,43	25,00	55,40*

Nilai data merupakan rata-rata dari 8 ulangan
* : Berbeda nyata (p 0.05) terhadap grup kontrol
** : Berbeda sangat nyata (p 0.01) terhadap grup kontrol

Nilai serum GOT dan GPT secara signifikan juga meningkat pada grup PIA, dibandingkan dengan grup-grup kontrol. Peningkatan SGOT dan SGPT serta pembengkakan hati mengindikasikan adanya kerusakan fisiologis pada tikus-tikus yang mengkonsumsi PIA. Juga terjadi peningkatan dalam kadar nitrogen urea darah (sebagai tolok ukur fungsi ginjal) pada grup PIA.

Tekanan Darah

Tekanan darah pada tikus-tikus grup Kasein, grup Ikan Segar, dan grup PIA terlihat pada Tabel 7. Terlihat bahwa tikus dalam grup PIA mempunyai tekanan darah 45 mmHg lebih tinggi daripada grup-grup kontrol. Hasil pengamatan ini tidaklah mengejutkan, karena secara luas telah diketahui bahwa tingginya konsumsi NaCl menyebabkan hipertensi. Greger and Tseng (1993) membuktikan bahwa berlebihnya konsumsi klorida mengarah pada terjadinya hipertensi tikus percobaan, melalui pengaruhnya terhadap fungsi ginjal.

Tabel 7. Pengaruh diet terhadap tekanan darah tikus

Perlakuan (mmHg)	Rata-rata tekanan darah
Kasein	136,83 + 7,80
Ikan Segar	137,93 + 5,42
PIA	181,07 + 0,81**

** : Berbeda sangat nyata (p) terhadap grup kontrol

Komposisi Mineral pada Ginjal dan Urine Tikus Percobaan

Komposisi mineral pada ginjal tikus percobaan dapat dilihat pada Tabel 8. Tampak bahwa komposisi mineral pada ginjal tikus grup PIA lebih rendah daripada grup-grup kontrol, karena hilangnya beberapa mineral bersamaan dengan ekskresi urine.

Tabel 8. Kadar mineral pada ginjal tikus percobaan

Mineral (mg/100 g bk)	Grup perlakuan		
	Kasein	Ikan segar	PIA
Kalsium	533,70	415,80	434,44
Magnesium	147,89	105,41	113,54
Kalium	1263,58	1027,27	998,10
Natrium	728,37	573,59	552,02
Fosfor	1542,25	1338,09	13,98,57
Belerang	1100,60	594,11	1064,37
Mangan	4,06	0,85	0,53
Besi	134,34	31,19	27,03
Seng	15,02	10,06	9,80
Tembaga	3,97	3,24	3,44
Aluminium	7,74	3,21	4,02

Ekskresi mineral dalam urine tikus, terlihat pada Lampiran 2. Terlihat bahwa ekskresi kalsium, magnesium, dan natrium secara signifikan lebih tinggi pada tikus grup PIA daripada grup kontrol. Namun ekskresi kalium dan fosfor pada tikus grup PIA secara signifikan lebih rendah daripada grup Kasein.

KESIMPULAN

Penelitian ini membuktikan bahwa tidak terjadi perubahan yang berarti pada kualitas nutrisi protein produk ikan asin walaupun produk ini mempunyai kadar garam yang cukup tinggi.

Pengamatan pada organ-organ dalam tubuh tikus percobaan menunjukkan adanya hipertrofi pada hampir seluruh organ dalam tubuh tikus-tikus yang diberi produk ikan asin sebagai sumber protein dalam detnya selama 26 hari.

Dalam penelitian ini juga terlihat adanya gejala hipertensi pada tikus-tikus yang mengkonsumsi produk ikan asin sebagai sumber protein dalam dietnya.

Lampiran 1. Komposisi diet (% berat) untuk tikus percobaan

	Kasein	Ikan segar	PIA	NP*
Contoh	23,4	24,0	33,1	0,0
Minyak Biji Kapas	7,7	5,5	6,2	8,0
Mineral	4,5	4,0	0,4	5,0
Vitamin	1,0	1,0	1,0	1,0
Selulose	1,0	1,0	1,0	1,0
Air	2,6	4,4	4,1	5,0
Pati jagung	59,8	60,1	54,2	80,0
NaCl	0,5	1,5	8,6	-

* Non protein diet

Lampiran 2. Ekskresi mineral dalam urine tikus

Mineral Mg/hari)	Grup perlakuan		
	Kasein	Ikan segar	PIA
Kalsium	7,56	11,82	64,12**
Magnesium	0,63	0,67	5,06*
Kalium	35,43	49,86	12,49*
Natrium	11,00	10,12	286,25**
Fosfor	19,04	16,02	4,76
Belerang	9,56	9,57	9,09

* : Berbeda nyata (p 0.05) terhadap grup kontrol
** : Berbeda sangat nyata (p 0.01) terhadap grup kontrol