

**Laporan Akhir Penelitian
Penelitian Unggulan Fakultas**



**STRATEGI PENINGKATAN KEAMANAN KONSUMSI DENDENG
SAPI MELALUI PERBAIKAN FORMULASI DAN TEKNIK
PREPARASI YANG MAMPU MEREDUKSI RESIDU
NITRIT DAN SENYAWA MALONALDEHIDA**

Oleh:

**TUTI SURYATI, S.PT., M.SI.
ZAKIAH WULANDARI, S.TP., M.SI.**

**DIBIYAI DM IPB
NOMOR: 478/IT3.11/PG/2012**

**DIREKTORAT JENDERAL PENDIDIKAN TINGGI
KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
FAKULTAS PETERNAKAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
DESEMBER 2012**

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Penelitian : Strategi Peningkatan Keamanan Konsumsi
Dendeng Sapi Melalui Perbaikan Formulasi
dan Teknik Preparasi yang Mampu Mereduksi
Residu Nitrit dan Senyawa Malonaldehida

Nama Ketua Peneliti : Tuti Suryati, S.Pt., M.Si.
Tempat/tanggal lahir : Bandung/ 16 Mei 1972
Jenis Kelamin : Perempuan
Pangkat dan Golongan : Pangkat Penata/ Golongan III-C
Alamat Rumah : Taman Darmaga Indah, Blok H No.14, Bogor
HP 081316184838

Bagian : Teknologi Hasil Ternak
Departemen/Fakultas : Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan/
Peternakan

Lama dan Waktu Penelitian : 6 bulan (28 Mei – 3 Desember 2012)
Besaran Dana yang Diusulkan : Rp. 50.000.000,00

Bogor, 30 Nopember 2012

Menyetujui :
Fakultas
Peternakan
Dekan,



(Dr. Ir. Luki Abdullah, M.Sc.Agr.)
NIP-19670107 199103 1 003

Ketua Peneliti,

(Tuti Suryati, S.Pt., M.Si.)
NIP 19720516 199702 2 001

Lembaga Penelitian dan
Pengabdian kepada Masyarakat
Kepala,



Prof. Dr. Ir. Bambang Pramudya, M.Eng.
NIP 19500301 197603 1 001

A. LAPORAN HASIL PENELITIAN

RINGKASAN DAN SUMMARY

Ringkasan

Pembentukan nitrosamin dan malonaldehida (MDA), yang merupakan senyawa toksik dan mutagenik, sangat memungkinkan terjadi pada dendeng. Namun demikian pembentukannya dipengaruhi oleh proses *curing* yang menggunakan garam nitrat/nitrit dan bumbu-bumbu yang mengandung komponen antioksidan. Hasil penelitian sebelumnya telah menghasilkan kombinasi formulasi bumbu terbaik dengan metode *curing* basah yang mampu menghasilkan karakteristik mutu dendeng yang paling baik, terutama aspek warna merah, dan memiliki kandungan senyawa MDA yang paling rendah. Dendeng dengan formulasi tersebut meskipun tidak memiliki residu nitrit yang terdeteksi dengan pengukuran spektrofotometer, namun kemungkinan masih memiliki peluang mengandung nitrosamin di bawah LOD (limit of detection) alat yang digunakan (GC-MS) (<26,85 µg/kg of NDEA), sehingga pengujian keamanannya akibat keberadaan senyawa MDA dan nitrosamin secara *in vivo* perlu dilakukan.

Penelitian ini bertujuan melakukan evaluasi keamanan konsumsi dendeng sapi dengan menggunakan tikus percobaan yang diberi pakan dendeng sebagai sumber protein selama 42 hari yang dikombinasikan dengan perlakuan induksi stres oksidatif menggunakan senyawa nitrosamin N-nitrosodietilamin (NDEA) secara interaperitoneal. Tikus dibagi menjadi 5 kelompok perlakuan, yang meliputi:

1. kelompok dengan sumber protein daging segar yang dikeringbekukan dan tanpa perlakuan induksi NDEA (kelompok kontrol/K);
2. kelompok dengan dendeng tanpa *curing* dengan nitrit, dan tanpa induksi dengan NDEA (C0TN);
3. kelompok dengan dendeng II tanpa *curing* dengan nitrit, dan diberi perlakuan induksi dengan NDEA (C0N);
4. kelompok dengan dendeng yang di-*curing* dengan nitrit, dan tanpa induksi dengan NDEA (CbTN);
5. kelompok dengan dendeng yang di-*curing* dengan nitrit, dan diberi perlakuan induksi dengan NDEA (CbN) .

Pengujian dilakukan dengan melakukan pengamatan penampilan hewan percobaan, mengukur berat organ ginjal dan hati; kadar MDA pada darah, ginjal dan hati; serta aktivitas enzim SOD dan katalase ginjal dan hati. Selain itu dilakukan pula evaluasi morfologi umum terhadap preparat histologis ginjal, hati dan pankreas, serta status enzim superoksida dismutase (SOD) ginjal dan hati dengan teknik imunohistokimia.

Hasilnya menunjukkan bahwa baik dendeng *curing*, maupun tanpa *curing* tidak menghasilkan perubahan berat organ hati dan ginjal, dengan konversi ransum yang tidak berbeda dengan kontrol. Konsumsi dendeng tidak menghasilkan kadar MDA yang lebih tinggi daripada kontrol, bahkan meningkatkan aktivitas enzim katalase dan SOD pada hati. Dendeng *curing* menghasilkan tingkat kerusakan sel hati dan ginjal yang mendekati kerusakan akibat induksi dengan NDEA. Kesimpulan penelitian ini adalah bahwa dendeng modifikasi aman digunakan sebagai sumber protein, namun untuk dendeng *curing* masih memiliki resiko terhadap kejadian penyakit degeneratif pada hati dan ginjal jika dikonsumsi secara terus menerus dan dalam jangka waktu yang lama.

Kata kunci: keamanan dendeng sapi, nitrit, nitrosamin, malonaldehida

Summary

Nitrosamines and malonaldehyde (MDA), the toxic and mutagenic compound are could be formed in dendeng. But their formation are affected by sodium nitrate/nitrite that used in curing process and ingredients that are rich in antioxidant component. The research before resulted the best formulation that combines spices composition, wet curing and preparation technique that produce good characteristics of dendeng, especially in red colour, and the lowest MDA. That dendeng has no nitrite residual detected by spectrophotometer, but has probability of nitrosamine containing under limit of detection of GC-MS that was used ($<26,85 \mu\text{g/kg}$ of NDEA). Therefore it is necessary to evaluate the consumption safety of dendeng affected by MDA and nitrosamine that are probably present in that product.

The objective of this research was to evaluate the safety consumption of beef dendeng used rats as animal models fed ration containing dendeng as proteins source for 42 days that was combined with stress oxidative treatment by interaperitoneal injection of N-nitrosodiethylamine (NDEA). Rats were divided into 5 group of treatment:

1. group fed ration containing freeze dried meat flour as source of proteins without NDEA injection (control group);
2. group fed ration containing non-cured dendeng as source of proteins, without NDEA injection (C0TN);
3. group fed ration containing non-cured dendeng as source of proteins, with NDEA injection (CON);
4. group fed ration containing cured dendeng as source of proteins, without NDEA injection (CbTN);
5. group fed ration containing cured dendeng as source of proteins, with NDEA injection (CbN) .

Evaluating was done by monitoring of animal performance, measuring of kidney and liver weight, analysis of MDA (plasma, kidney, and liver), analysis of katalase and SOD activities (kidney and liver). Beside that general morphology evaluation was done on histologis of kidney, liver and pankreas using hematoksilin-eosin staining, also SOD status in kidneys and liver were analysed as confirmation used immunohistochemical staining technique .

The result showed that either cured dendeng, or non-cured dendeng did not affect kidneys or liver weight, with the ration conversion were not different to control ration. Dendeng consumption did not increase MDA level compared to control treatment, indeed increased kidneys and liver katalase and SOD activities. Cured dendeng affected degeneration cellular of kidneys and liver like cellular injury caused by injection of NDEA. As the conclusion, dendeng modified is safe to use as animal proteins source, but for cured dendeng still has risk on kidneys and liver degenerative diseases if it was consumed continuously for long periods.

Keywords: beef dendeng safety, nitrite, nitrosamine, malonaldehyde

PRAKATA

Syukur Alhamdulillah penulis panjatkan ke Hadirat Illahi Rabbi, karena atas perkenan-Nya kegiatan penelitian ini dapat diselesaikan dengan baik dan tepat waktu. Hasil penelitian ini telah memberikan gambaran dan kesimpulan yang komprehensif tentang keamanan konsumsi dendeng sapi yang dimodifikasi dalam hal bumbu, teknik *curing* dan preparasi sebelum penggorengannya. Informasi tersebut sangat bermanfaat untuk melengkapi kesimpulan hasil pengujian keamanan secara *in vivo* yang telah dilakukan sebelumnya. Selain itu informasi hasil penelitian ini dapat menjadi dasar untuk pengembangan dan pengembangan produk dendeng sapi modifikasi ini selanjutnya yang masih memerlukan pengujian umur simpan sebelum dapat diaplikasikan sebagai produk siap jual atau paket teknologi yang dapat diaplikasikan di masyarakat.

Penulis berharap semoga hasil penelitian ini dapat menjadi sumber informasi yang terpercaya untuk mendukung pengembangan produk dendeng, sebagai salah satu produk olahan hasil ternak tradisional Indonesia yang aman, sehat, utuh dan halal.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	i
A. LAPORAN HASIL PENELITIAN	ii
RINGKASAN DAN SUMMARY	iii
Ringkasan	iii
Summary	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
Definisi dan Pengertian Dendeng	3
Beberapa Hasil Penelitian Tentang Dendeng Sapi yang Telah Dilakukan	4
Aktivitas Antioksidasi Bumbu-Bumbu yang Digunakan pada Pembuatan Dendeng	6
Penggunaan Nitrat dan Nitrit pada Produk Daging <i>Curing</i>	6
Reaksi Pembentukan, Metabolisme dan Mutagenisitas Senyawa Nitrosamin	7
Pembentukan dan Mutagenisitas Malonaldehida	9
Studi Pendahuluan yang Sudah Dilakukan	10
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	11
Tujuan	11
Manfaat Penelitian	11
IV. METODE PENELITIAN	12
Tempat dan Waktu Penelitian	12
Materi Penelitian	12
Dasar Pemilihan Formulasi Dendeng yang Digunakan pada Tahap Pengujian Keamanan <i>in Vivo</i>	12
Prosedur Pembuatan, Penyimpanan dan Penyiapan Dendeng Sapi ...	13
Pembuatan Ransum Percobaan	14

Pemeliharaan dan Perlakuan pada Hewan Percobaan	15
Prosedur Pengujian	16
Rancangan Percobaan dan Analisis Data	18
V. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
Performans Hewan Percobaan	19
Kadar Malonaldehida, Aktivitas Enzim Katalase dan Superoksida Dismutase	21
Evaluasi Secara Histologis	23
Aktivitas Antioksidasi Dendeng <i>Curing</i> dan Hubungannya dengan Kerusakan Sel	29
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	30
Kesimpulan	30
Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	37
B. DRAF ARTIKEL ILMIAH	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Beberapa formulasi dendeng daging sapi (% dari berat daging)	4
Tabel 2. Komposisi Bahan Pembuatan Dendeng	13
Tabel 3. Komposisi Ransum dengan Sumber Protein Kasein, Daging, Dendeng Tanpa <i>Curing</i> dan Dendeng <i>Curing</i> Basah	14
Tabel 4. Rataan Persentase Bobot Hati dan Ginjal, Pertambahan Bobot Badan Harian Konsumsi dan Konversi Tikus yang Diberi Pakan Dendeng Sebagai Sumber Protein dan Induksi NDEA	20
Tabel 5. Kadar Malonaldehidida dan Aktivitas Enzim Antioksidan pada Tikus Percobaan yang Diberi Pakan Dendeng Sebagai Sumber Protein dan Induksi NDEA	22
Tabel 6. Jumlah Sel Radang dan Persentase Kerusakan Sel pada Ginjal Tikus yang diberi Pakan Dendeng Sebagai Sumber Protein dan Induksi NDEA	25

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Rataan Konsumsi Pakan Hewan Percobaan selama Pemeliharaan	19
Gambar 2. Rataan Bobot Badan Hewan Percobaan selama Pemeliharaan.....	21
Gambar 3. Jaringan Ginjal dan Hati dengan Pewarnaan HE (300x).....	26
Gambar 4. Jaringan Pankreas dengan Pewarnaan HE (200x).....	27
Gambar 5. Jaringan Ginjal dan Hati dengan Pewarnaan Imunohistokimia Antibodi-SOD (400x).....	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Foto Proses Pembuatan Dendeng	38
Lampiran 2. Foto Proses Pembuatan Ransum Percobaan	39
Lampiran 3. Foto Kegiatan Pemeliharaan Hewan Percobaan	40
Lampiran 4. Foto Proses Sampling Darah dan Organ Hewan Percobaan	41
Lampiran 5. Foto Kegiatan Analisis Laboratorium	42
Lampiran 6. ANOVA Hasil Analisis MDA, Enzim Katalase dan Superoksida Dismutase	43
Lampiran 7. Uji Tukey Data Hasil Analisis MDA, Enzim Katalase dan Superoksida Dismutase	44
Lampiran 8. ANOVA Data Performans Hewan Percobaan	45
Lampiran 9. Uji Tukey Data Performans Hewan Percobaan	46
Lampiran 10. Personalia Tim Penelitian	47

I. PENDAHULUAN

Peningkatan jumlah dan jenis kasus penyakit kanker pada beberapa dekade terakhir telah menjadi perhatian khusus masyarakat dunia, termasuk Indonesia. Konsumsi pangan olahan, termasuk produk hasil ternak, yang tidak sehat dan tidak aman disinyalir menjadi salah satu kontributor timbulnya penyakit ini. Hal tersebut diakibatkan keberadaan senyawa berbahaya pada bahan pangan yang terbentuk selama proses pengolahan. Beberapa senyawa berbahaya yang bersifat toksik, mutagenik dan karsinogenik tersebut diantaranya adalah senyawa malonaldehida, nitrosamin, heterosiklik amin (HCA), polisiklik aromatik hidrokarbon (PAH), akrilamida, dan 3-monokloropropan-1,2-diol (3-MCPD). Produk olahan pangan kaya akan protein dan lemak seperti produk hasil ternak, jika pengolahannya tidak dilakukan dengan tepat dapat berpotensi menimbulkan senyawa berbahaya tersebut, yang berarti memberikan sumbangan terhadap kejadian penyakit kanker.

Dendeng merupakan salah satu produk industri hilir bidang peternakan yang berpotensi mengandung senyawa berbahaya, terutama residu nitrit, nitrosamin dan malonaldehida, jika proses pengolahannya tidak dilakukan dengan tepat. Dendeng ini merupakan olahan daging tradisional Indonesia yang diproses melalui penambahan bumbu-bumbu dan pengeringan. Jenis dan komposisi bumbu yang ditambahkan dalam pembuatan dendeng dapat berbeda, tetapi ciri khas rasa dendeng yang umum terdapat di pasaran wilayah pulau Jawa adalah rasa manis dan aroma ketumbarnya yang dominan. Bumbu yang ditambahkan umumnya berupa garam, gula merah, bawang putih, ketumbar, lengkuas, asam jawa dan merica. Selain itu umumnya pada tingkat produksi komersial proses pembuatan dendeng diberi penambahan garam nitrat atau nitrit untuk menghasilkan warna merah, selain berfungsi sebagai pengawet.

Namun demikian hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan nitrit dapat menghasilkan senyawa nitrosamin yang bersifat toksik, mutagenik dan karsinogenik (Sundaresan dan Subramania, 2003; Santarelli *et al.*, 2008; Ahmad *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2009; Kujawska *et al.*, 2009; Kujawska *et al.*, 2010; Morsy *et al.*, 2010), sehingga faktor keamanannya perlu diperhatikan. Pembentukan senyawa nitrosamin terjadi karena adanya prekursor asam amino dan nitrit. Nitrit, selain berasal dari penambahan dalam bentuk garam nitrit secara langsung, dapat pula terbentuk dari reduksi nitrat yang dikenal sebagai sendawa (kalium nitrat). Nitrit kemudian membentuk *nitrosating agent* (N_2O_3), yang selanjutnya dapat bereaksi dengan senyawa amin membentuk nitrosamin (Rotskowska *et al.*, 1998). Pembentukan nitrosamin pada bahan makanan semakin meningkat akibat adanya pemanasan (Yurchenko dan Molder, 2007). Selain

dapat terbentuk pada bahan makanan, nitrosamin dapat pula terbentuk pada saluran pencernaan yang didukung kondisi asam dari lambung (Honikel, 2008).

Senyawa lain yang dapat dihasilkan selama pengolahan dendeng adalah malonaldehida (MDA) yang merupakan produk reaksi oksidasi lipida (Legowo *et al.*, 2002; Handoyo, 2010). Senyawa MDA berkorelasi dengan tingkat ketengikan, semakin tinggi jumlahnya maka produk semakin tercium bau tengik. Seperti halnya nitrosamin, MDA bersifat toksik, genotoksik dan mutagenik (Shamberger *et al.*, 1977; Li *et al.*, 2010), karena dapat bereaksi dengan DNA membentuk DNA *adduct* (Omaye, 2004). Selain itu MDA juga dapat terbentuk di dalam tubuh akibat reaksi oksidasi lipida oleh senyawa radikal bebas yang terdapat dalam tubuh. Radikal bebas dalam tubuh dapat dihasilkan dari proses transpor elektron, atau dari hasil metabolisme senyawa xenobiotik, termasuk senyawa karsinogenik seperti halnya nitrosamin. Keberadaan senyawa radikal bebas tersebut akan mempengaruhi aktivitas enzim antioksidan tubuh, seperti superoksida dismutase (SOD) dan katalase.

Meskipun proses pembuatan dendeng sangat potensial menghasilkan senyawa yang berbahaya, namun penambahan bumbu yang banyak mengandung antioksidan dapat menghambat pembentukan senyawa berbahaya tersebut. Jenis dan komposisi bumbu yang ditambahkan dalam pembuatan dendeng dapat berbeda, tetapi ciri khas rasa dendeng yang umum terdapat di pasaran wilayah pulau Jawa adalah rasa manis dan aroma ketumbar yang dominan. Bumbu yang ditambahkan menurut laporan Suryati *et al.* (2012) umumnya berupa garam, gula merah, bawang putih, ketumbar, lengkuas, asam jawa dan merica.

Modifikasi komposisi penggunaan bumbu yang dikombinasikan dengan teknik *curing* basah dan perendaman dalam air sebelum penggorengan, pada penelitian sebelumnya (penelitian tahap II) terbukti dapat menghambat pembentukan senyawa MDA dan mereduksi residu nitrit hingga pada taraf yang tidak dapat dideteksi. Selanjutnya penelitian ini (tahap III), yang merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya, melakukan pengujian keamanan konsumsi dendeng sapi secara *in vivo* dengan menggunakan tikus sebagai hewan percobaan. Dendeng sapi yang dibuat dengan menggunakan metode dan formulasi bumbu terpilih pada tahap II digunakan sebagai pakan perlakuan sumber protein tikus pada tahap III. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang keamanan konsumsi dendeng sapi hasil modifikasi tersebut secara komprehensif.

II. TINJAUAN PUSTAKA

Definisi dan Pengertian Dendeng

Menurut Kamus Besar Bahasa Indonesia, dendeng adalah sayatan daging yang diberi rempah-rempah kemudian dikeringkan (Depdikbud, 2002). Daging yang digunakan biasanya daging sapi atau rusa. Dendeng dapat memiliki orientasi rasa manis, asin dan juga pedas tergantung dari daerah mana dendeng tersebut berasal (Azman, 2006). Menurut Fong *et al.* (1996), dendeng merupakan produk daging kering yang berasal dari Indonesia yang mirip dengan *jerky*. Dendeng bersifat awet karena paduan bumbu, gula merah dan pengurangan kadar air. Paduan tersebut menghasilkan karakteristik produk yang manis, dan warna coklat gelap. Dendeng dapat dimakan sebagai cemilan atau sebagai lauk nasi. Dendeng disajikan setelah digoreng sebentar untuk menghasilkan flavor dan citarasa yang disukai. Hal ini didukung pernyataan Huang dan Nip (2001), yaitu bahwa dendeng memiliki rasa manis yang disebabkan penambahan gula merah, serta memiliki flavor yang khas karena penambahan bumbu-bumbu yang banyak. Hal inilah yang membedakan dendeng dengan produk daging semi basah lainnya, seperti *meat jerky*, *biltong* dan sejenisnya.

Cara penyajian *meat jerky* berbeda dengan dendeng. *Meat jerky* merupakan bahan makanan siap saji (USDA-FSIS 2007), sedangkan dendeng umumnya disajikan setelah digoreng terlebih dahulu. Sebagai bahan pangan siap saji, *meat jerky* memiliki risiko terhadap kontaminasi mikroba, seperti pernyataan The Jerky FAQ (2007), laporan Keene *et al.* (1997) dan Midura *et al.* (1972), sehingga daging yang digunakan harus dapat dipastikan berasal dari ternak yang sehat dengan penanganan daging yang higienis karena produk tidak mengalami proses pemanasan pada taraf yang dapat memusnahkan mikroba patogen. Menurut Huang dan Nip (2001) *meat jerky* tidak boleh mengandung kadar air lebih dari 45%, dengan a_w 0,70 sampai 0,75. Hal tersebut penting untuk mengendalikan pertumbuhan mikroba pada produk. Namun demikian berdasarkan laporan Fernandez-Salguero *et al.* (1994) a_w *beef jerky* sekitar 0,86. Selanjutnya Huang dan Nip (2001) juga menyatakan bahwa dendeng sayat memiliki a_w 0,52-0,67, sedangkan dendeng giling 0,62-0,66 dengan kadar air 26%.

Berdasarkan uraian di atas, secara prinsip proses pengolahan dendeng dan *meat jerky* memiliki kesamaan, yaitu sama-sama melalui tahap pemberian bumbu pada lembaran daging yang tipis, dan pengeringan. Perbedaannya adalah pada jenis bumbu, cara penyajian dan metode pembuatan lembaran dagingnya. Selain itu kedua produk dapat dikategorikan sebagai olahan daging semi basah (*intermediate moisture*

meat) yang memiliki aktivitas air dari 0,60 sampai 0,91 (Fernandez-Salguero *et al.*, 1994; Huang dan Nip, 2001), dengan kadar air 15%-50% (Huang dan Nip, 2001).

Beberapa Hasil Penelitian Tentang Dendeng Sapi yang Telah Dilakukan

Berdasarkan metode pembuatan lembaran tipis daging yang digunakan terdapat dua jenis dendeng, yaitu dendeng sayat atau iris (Azman, 2006), dan dendeng giling (Margono *et al.*, 1993; Huang dan Nip, 2001; Darmadji *et al.*, 1990). Fong *et al.* (1996) melaporkan prosedur pembuatan dendeng sayat yang sedikit berbeda dengan metode Margono *et al.* (1993), yaitu dengan melakukan pengeringan pada suhu bertahap dari 70 °C selama 1 jam dilanjutkan dengan 50 °C selama 2 jam. Menurut Soputan (2000) dendeng daging sapi iris yang disimpan selama 30 hari pada suhu kamar (27 °C) mempunyai mutu yang lebih baik, dengan rasa direspon suka oleh panelis, dibandingkan dengan dendeng daging sapi giling. Jenis dan komposisi bumbu yang digunakan pada proses pembuatan dendeng sapi berbeda-beda seperti dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Beberapa formulasi dendeng daging sapi (% dari berat daging)

Jenis bahan	Formulasi I ^a	Formulasi II ^b	Formulasi III ^c
Daging	-	-	-
Jinten	0,10	-	-
Garam	3,00	0,40	2,50
Lengkuas	10,00	10,00	2,50
Ketumbar	2,50	1,00	1,50
Bawang putih	2,50	0,50	1,50
Bawang merah	2,50	1,00	5,00
Gula merah	30,00	20,00	30,00
Asam jawa	1,00	-	3,00
Merica	0,20	1,00	1,00

Sumber: ^a Suryati *et al.* (2005); ^b Setiawaty (1985); ^c Sriwahyuni (1986)

Meskipun SNI 1992 mempersyaratkan kadar air dendeng maksimal 12% (BSN, 1992), namun data dari beberapa hasil penelitian dan survei dari beberapa produsen dendeng menunjukkan nilai yang lebih dari 12%, yaitu 13,3%-33,1% (Purnomo, 1987; Bintoro *et al.*, 1987; Soputan, 2000; Handoyo, 2010; Suryati *et al.*, 2012). Kadar air dari berbagai hasil penelitian tersebut lebih dapat diterima jika mengelompokkan dendeng sebagai produk semi basah, yang memiliki kadar air 15%-50% (Huang dan

Nip, 2001). Kadar air dendeng 8%-15% dapat dicapai dengan pengeringan oven pada suhu 70 °C selama 7-8 jam. (Muliandi, 1994). Berdasarkan data bilangan peroksida (Soputan, 2000) dan bilangan TBA (Handoyo, 2010; Legowo *et al.*, 2002) yang terdapat pada dendeng dapat disimpulkan bahwa proses oksidasi pada dendeng telah menunjukkan tingkat lanjut yang menghasilkan senyawa malonaldehida.

Bintoro *et al.* (1987) melaporkan bahwa dendeng yang berasal dari tiga lokasi pasar berbeda di pulau Jawa mengandung nitrit 5-93 ppm dan nitrat 1000-2500 ppm. Kandungan nitritnya memang masih dalam batas yang masih diperbolehkan (maksimal 200 ppm), tetapi kandungan nitratnya melebihi batas ambang yang diperbolehkan di Indonesia, yaitu 500 ppm. Menurut Katan (2009) WHO menetapkan *acceptable daily intake* (ADI) natrium nitrat untuk manusia adalah 5 mg/kg bobot badan atau 3,7 mg nitrat/kg bb, yang berarti setara dengan 222 mg untuk orang dewasa dengan berat 60 kg. *EU scientific committee for food* merekomendasikan ADI untuk nitrat adalah 3,7 mg/kg bb, sedangkan nitrit 0,06 mg/kg bb (Reinik, 2007 dan Okafor *et al.*, 2007).

Hasil penelitian Suryati *et al.* (2005) menunjukkan bahwa dendeng memiliki kadar protein lebih tinggi daripada daging segar untuk setiap berat bahan yang sama, sebagai akibat turunnya kadar air selama pengeringan. Namun demikian proses pengolahan dendeng menurunkan pencernaan protein secara *in vitro*. Pencernaan protein dendeng sapi secara *in vitro* lebih rendah daripada bakso dan sosis. Selain itu proses pengolahan menjadi dendeng pada daging sapi mengubah jenis protein yang terdeteksi pada metode elektroforesis hingga 68%. Protein yang terdeteksi pada dendeng adalah protein yang memiliki bobot molekul rendah 11,29 hingga 50,44 kD, sedangkan pada daging segar 15,04 hingga 114,55 kD.

Muchtadi (1987) melaporkan bahwa pengolahan daging menjadi dendeng tidak mempengaruhi NPU (*net protein utilization*) dan nilai biologis, meskipun terjadi penurunan availabilitas (ketersediaan) lisin akibat reaksi pencoklatan dan enzimatis, yang diukur menggunakan metode *in vitro*. Pengujian mutagenisitas menggunakan *Salmonella typhimurium* TA 98 juga tidak menunjukkan aktivitas mutagenik, baik pada dendeng mentah maupun setelah digoreng. Hasil penelitian tersebut menyimpulkan bahwa meskipun merupakan teknologi sederhana, pengolahan daging menjadi dendeng dapat mempertahankan nilai gizi daging yang tinggi tanpa menimbulkan pengaruh terhadap keamanannya untuk konsumsi manusia. Namun penelitian tersebut perlu diverifikasi dengan mengidentifikasi komponen senyawa berbahaya yang dapat menimbulkan mutagenisitas pada dendeng, serta penambahan garam nitrit pada proses pembuatannya.

Aktivitas Antioksidasi Bumbu-Bumbu yang Digunakan pada Pembuatan Dendeng

Suryati *et al.*, (2012) melaporkan bahwa bumbu rempah yang ditambahkan pada proses pembuatan dendeng di industri beragam, tetapi secara umum bumbu yang sering ditambahkan adalah bawang putih, ketumbar, lengkuas, asam jawa dan merica. Bumbu-bumbu yang digunakan dalam pembuatan dendeng tersebut dilaporkan memiliki aktivitas antioksidasi, seperti: bawang putih (Leelarungrayub *et al.*, 2006, Benkeblia dan Lanzotti, 2007, Gorinstein *et al.*, 2008 dan Tangkanakul *et al.*, 2009), ketumbar (Kaur dan Kapoor, 2002; Wong *et al.*, 2005; dan Tangkanakul *et al.*, 2009), lengkuas (Mahae dan Chaiseri, 2009; Tangkanakul *et al.*, 2009), asam jawa (Soemardji, 2007 dan Tangkanakul *et al.*, 2009) dan merica (Tangkanakul *et al.*, 2009). Bumbu-bumbu tersebut kemungkinan dapat menghambat oksidasi dan pembentukan senyawa berbahaya malonaldehida serta nitrosamin. Hal tersebut salah satunya dilaporkan oleh Choi *et al.* (2007) yang menyatakan bahwa bawang putih mengandung komponen (asam 1,2-benzedikarboksi dan S-oksodiallyl disulfida) yang dapat menghambat pembentukan senyawa nitrosamin (N-nitrosodimetilamin) dan meningkatkan kemampuan *men-scavenging* nitrit. Laporan lain disampaikan oleh Martinez *et al.* (2006) yang menyatakan bahwa merica dapat menghambat kerusakan warna pada daging dan oksidasi lipida yang menghasilkan penghambatan pembentukan *off-odor*.

Penggunaan Nitrat dan Nitrit pada Produk Daging Curing

Saat ini pengertian *curing* dikenal sebagai proses penambahan garam dan nitrat atau nitrit serta bahan lain pada daging yang menghasilkan warna dan flavor khas daging *curing* dan bertujuan untuk mengawetkan produk (Martin, 2001; Sebranek dan Bacus, 2007). Menurut Toldra *et al.* (2009) pengaruh nitrat dan reduksinya menjadi nitrit dapat mengendalikan proses oksidasi lipida, seperti pada pembuatan ham, yang sangat penting untuk pembentukan karakteristik flavor daging yang di-*curing*. Morrissey dan Techivangana (1985) melaporkan bahwa nitrit pada proses *curing* berperan sebagai antioksidan yang dapat menghambat pembentukan senyawa MDA. Penggunaan nitrit 50 ppm efektif dalam menghambat pembentukan MDA, dan efektivitas penghambatannya semakin meningkat dengan peningkatan konsentrasi nitrit hingga 200 ppm. Selain sebagai antioksidan dan berperan dalam menghasilkan flavor yang khas, penambahan nitrit pada proses *curing* juga berperan dalam penghambatan bakteri *Clostridium botulinum* dan pembentukan toksinnya (Christiansen *et al.*, 1973; Toldra *et al.*, 2009).

Natrium nitrit merupakan garam dari asam lemah dan basa kuat, berupa kristal yang berwarna kuning pucat dan mudah larut air. Nitrit merupakan senyawa yang sangat reaktif yang dapat berperan sebagai reduktor dan oksidator, serta nitrosylating agent (membentuk NO). Senyawa NO merupakan donor pasangan elektron dan membentuk kompleks yang sangat stabil dengan logam transisi. Kompleks kovalen-koordinat NO dengan pigmen daging (nitrosilmioglobin, nitrosilhemoglobin, dan dinitrosilhemokrom) membentuk warna merah muda dan merah pada daging (Martin, 2001).

Senyawa NO mudah teroksidasi jika terpapar udara. Mekanisme inilah yang menjelaskan sifat antioksidan dari nitrit. Senyawa NO merupakan rantai radikal terminator yang efektif dalam menghambat perkembangan oksidasi lipida (Martin, 2001). Menurut Jourdeuil *et al.* (1997) dengan adanya molekul oksigen, NO dapat mengalami autooksidasi membentuk berbagai senyawa nitrogen oksida (NO_2 , N_2O_3 dan NO_2^-). Senyawa NO_2 dan N_2O_3 dapat menitrosasi nitrogen substrat nukleofilik penting seperti amin primer dan sekunder membentuk senyawa nitrosamin (Jourdeuil *et al.*, 1997 dan Rostkowska *et al.*, 1998).

Reaksi Pembentukan, Metabolisme dan Mutagenisitas Senyawa Nitrosamin

Pembentukan senyawa nitrosamin selain terbentuk pada produk daging yang di-*curing* dengan menggunakan garam nitrit dan nitrat, yaitu seperti pada produk sosis (Andrade *et al.*, 2005), dapat pula terbentuk pada daging yang diproses dengan pemanggangan, pengasapan dan penggorengan, seperti yang dilaporkan Yurchenko dan Molder (2007). Selain itu pembentukan nitrosamin dapat pula terjadi pada kondisi asam di saluran pencernaan (endogenous) (Omaye, 2004; Reinik, 2007). Amin yang diperlukan untuk pembentukan nitrosamin banyak terdapat pada produk olahan daging yang kaya akan protein (Parnaud *et al.*, 2000, Omaye, 2004, Liu *et al.*, 2009).

Namun demikian, tidak semua produk olahan daging yang di-*curing* mengandung nitrosamin, khususnya pada produk yang di-*curing* dalam waktu sangat singkat. Faktor-faktor yang dapat berpengaruh terhadap kadar nitrosamin, adalah: jumlah nitrit yang ditambahkan pada proses pengolahan, konsentrasi amin dalam daging, jenis dan jumlah bahan lain yang ditambahkan pada proses pengolahan, kondisi pengolahan, umur simpan, suhu penyimpanan, metode pemasakan, dan derajat kematangan pemasakan produk. Reaksi nitrosasi dapat dicegah dengan menstabilkan NO yang terbentuk dari reduksi nitrit sehingga tidak mudah teroksidasi, antara lain oleh asam askorbat, tokoferol dan antioksidan pangan lainnya (Omaye,

2004). Rywotycki (2002) melaporkan bahwa pembentukan nitrosamin pada daging babi yang di-*curing* dengan garam nitrit relatif rendah jika diberi penambahan natrium klorida dan natrium askorbat serta perlakuan pasteurisasi, sebaliknya penambahan polifosfat meningkatkan kadar nitrosamin yang terbentuk.

Nitrosamin stabil dalam tubuh organisme, sebelum mengalami degradasi menjadi derivat aktif secara biologis. Nitrosamin masuk ke dalam hati melalui sistem peredaran darah. Fase pertama biotransformasi nitrosamin adalah hidroksilasi dan dealkilasi. Fase kedua, produk reaksi pertama mengalami transformasi menjadi metabolit polar melalui aksi enzim spesifik yang mengkonjugasinya dengan asam glukoronat, sulfurat, asam amino atau glutation. Karbokasi yang terbentuk selama biotransformasi nitrosamin sangat reaktif. Nitrosamin dikeluarkan sebagian melalui urin dan pernafasan. Nitrosamin yang tertahan didegradasi menjadi karbondioksida melalui intermediet aktif. Senyawa intermediet aktif memiliki aktivitas karsinogenik (Rostkowska *et al.*, 1998 dan Omaye, 2004).

Senyawa nitrosamin yang terbentuk dari reaksi nitrit dengan senyawa amina sekunder dapat memicu kanker pada hati, ginjal, empedu, saluran pencernaan, pankreas dan saluran pernafasan. Senyawa yang umum terbentuk adalah dietilnitrosamin dan dimetilnitrosamin yang sangat karsinogenik. Nitrosopirolidin terbentuk dari asam amino prolin melalui nitrosasi, yang diikuti dekarboksilasi saat peningkatan suhu, seperti pada saat pemanggangan atau penggorengan (Omaye, 2004). Beberapa hasil penelitian pengaruh senyawa nitrosamin terhadap pembentukan sel kanker pada jaringan dan organ hasilnya masih tidak konsisten. Menurut Liu *et al.* (2009) konsumsi daging *curing*/asap lebih dari satu kali dalam seminggu berasosiasi dengan peningkatan risiko leukemia akut. Jiang *et al.* (2008) melaporkan bahwa pada wanita perokok, konsumsi daging *curing* turut meningkatkan risiko terkena penyakit paru-paru kronis.

Parnaud *et al.* (2000) melaporkan bahwa senyawa N-nitros endogenus dan prekursoranya yang terdapat dalam daging sapi, babi dan ayam tidak mengubah *aberrant cryt foci* pada kolon tikus yang diinduksi azoksimetan. Menurut Joosen *et al.* (2009) daging yang di-*curing* dengan nitrit memiliki pengaruh yang sama dengan daging segar terhadap nitrosasi endogenus, tetapi meningkatkan kerusakan DNA oksidatif yang diinduksi air fecesnya berdasarkan uji genotoksisitas menggunakan metode *comet assay*.

Berdasarkan laporan-laporan tersebut produk dendeng yang dibuat melalui proses *curing*, kemungkinan dapat mengandung nitrosamin, atau sekalipun tanpa

nitrosamin pada produk, jika produk dikonsumsi senyawa tersebut masih berpeluang terbentuk dalam tubuh. Hal ini perlu pembuktian secara ilmiah dengan menggunakan tikus sebagai hewan percobaan untuk memastikan keamanannya sebagai pangan jika dikonsumsi secara rutin. Pengujian pengaruh beberapa bahan makanan terhadap timbulnya stres oksidatif dan pembentukan kanker yang diinduksi senyawa nitrosamin yang berupa nitrosodietilamin pada tikus telah dilaporkan oleh Sundaresan dan Subramanian (2003), Rana *et al.* (2004), Morsy *et al.* (2010), Maideen *et al.* (2011), dan George *et al.* (2011).

Pembentukan dan Mutagenisitas Malonaldehida

Otoksidasi lipida merupakan reaksi utama yang terlibat dalam kerusakan lipida, termasuk dalam bahan pangan seperti dendeng. Oksidasi nonenzimatis atau otoksidasi lemak terjadi melalui mekanisme pembentukan radikal bebas yang spesifik dengan hidroperoksida sebagai produk awalnya. Senyawa hidroperoksida yang terbentuk sebagai produk antara reaksi oksidasi lipida (produk primer reaksi oksidasi), didegradasi lanjut menjadi senyawa (produk sekunder) yang bertanggung jawab terhadap flavor yang tidak dikehendaki (*off flavor*). Salah satu produk turunan dari hidroperoksida lipida adalah senyawa malonaldehida (Shahidi dan Wanasundara, 2002).

Malonaldehida atau malondialdehida (MDA) merupakan aldehida yang diturunkan dari peroksida asam lemak tak jenuh ganda yang bersifat toksik, genotoksik dan mutagenik (Shamberger *et al.*, 1977; Li *et al.*, 2010). Malonaldehida (MDA) dapat membentuk DNA-*adduct* (Omaye, 2004). Traverso *et al.* (2004) melaporkan bahwa MDA dapat menghasilkan kerusakan oksidatif sekunder pada protein. Kerusakan tersebut berperan dalam proses penuaan. Hasil penelitian pada hewan dan secara biokimia menunjukkan bahwa produk peroksidasi lipida, termasuk malonaldehida, meningkatkan frekuensi timbulnya tumor (Esterbauer, 1993).

Ketengikan pada produk disebabkan terbentuknya senyawa MDA. Menurut Vann dan DeWitt (2007) level bilangan TBA 1,0 mg malonaldehida/kg pada daging segar akan dapat tercium sebagai flavor oksidatif (ketengikan) oleh panelis terlatih. Pembentukan MDA pada dendeng dapat direduksi dengan penggunaan komponen antioksidan seperti bumbu. Hal ini berdasarkan hasil penelitian Li *et al.* (2010) yang melaporkan bahwa penggunaan campuran bumbu yang memiliki aktivitas antioksidan 10.000 Trolox ekuivalen/250g hamburger dapat menghambat pembentukan MDA dan dapat menurunkan kadar MDA pada plasma dan urin. Selain itu penambahan nitrit,

seperti pada proses pembuatan dendeng, dapat pula menghambat pembentukan MDA, melalui penghambatan reaksi oksidasi (Morrissey dan Techivangana, 1985).

Studi Pendahuluan yang Sudah Dilakukan

Berdasarkan survei yang telah dilakukan pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa metode pembuatan dendeng dengan diiris lebih umum dilakukan oleh produsen dendeng sapi, 7 dari 8 produsen yang dijadikan responden. Dendeng iris lebih menampilkan keaslian serat dan rasa khas dagingnya daripada dendeng yang diproses dengan digiling, sehingga lebih digemari konsumen. Dendeng yang digiling harganya relatif lebih murah, karena dapat menggunakan daging dengan kualitas yang lebih rendah dengan menggunakan bahan-bahan tambahan yang relatif lebih banyak seperti bumbu, tepung dan pewarna. Berdasarkan data hasil penelitian pendahuluan tersebut maka dipilih metode pembuatan lembaran dendeng yang dilakukan adalah dengan metode pengirisan.

Hasil survei pada penelitian pendahuluan terhadap 8 produk dendeng, diperoleh data bahwa kadar air dendeng yang dikeringkan dengan sinar matahari 1 sampai 3 hari memiliki kadar air 13%-33% dengan aw 0.50-0.73, pH 5.13-5.66 dan residu nitrit 3-69 mg/kg. Adanya nitrit yang terdapat pada dendeng hasil survei dari beberapa produsen menunjukkan bahwa dendeng yang beredar di pasaran umumnya diberi penambahan garam nitrat atau nitrit pada proses pembuatannya. Dua dari delapan produsen yang diwawancarai menyatakan tidak menggunakan garam nitrit/nitrat sebagai bahan tambahan (Suryati *et al.*, 2012). Penggunaan nitrit dapat meningkatkan penampilan dendeng menjadi tetap berwarna merah, tetapi residu nitrit dapat membentuk senyawa NO yang berpeluang membentuk senyawa nitrosamin dengan amin dari protein daging, atau bereaksi dengan komponen bumbu yang bersifat sebagai antioksidan. Selain nitrit dan nitrosamin yang menjadi potensi bahaya pada dendeng, malonaldehida yang juga bersifat toksik dan mutagenik, nyata terbentuk berdasarkan hasil penelitian tahap I dan II. Namun demikian pada produk dendeng yang dimodifikasi terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang berperan dalam menurunkan residu nitrit dan senyawa malonaldehida yang terbentuk. Berdasarkan hal tersebut perlu pengujian secara *in vivo* menggunakan tikus sebagai hewan percobaan untuk mengevaluasi keamanan dendeng, terutama terhadap bahaya malonaldehida dan nitrosamin yang berpeluang terbentuk selama proses pembuatan dan pengolahan dendeng.

III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan

Tujuan penelitian ini adalah menguji keamanan konsumsi dendeng secara *in vivo* menggunakan tikus sebagai hewan percobaan. Evaluasi keamanan dilakukan melalui pengamatan:

1. penampilan hewan percobaan secara umum;
2. perubahan berat organ dalam (ginjal dan hati);
3. kadar MDA pada darah, ginjal dan hati;
4. aktivitas enzim SOD dan katalase pada ginjal dan hati secara biokimia;
5. morfologi umum jaringan untuk melihat peradangan dan degenerasi sel dengan pewarnaan hematoksin-eosin (HE) pada organ ginjal, hati, dan pankreas;
6. keberadaan enzim superoksida dismutase (SOD) pada preparat jaringan ginjal dan hati dengan menggunakan teknik pewarnaan imunohistokimia.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan:

1. dapat memberikan informasi tentang pengaruh konsumsi dendeng terhadap status enzim antioksidasi pada ginjal dan hati, serta kondisi pada seluler jaringan organ dalam tubuh, sehingga menjadi bukti secara *in vivo* tentang keamanan konsumsi dendeng sapi yang disebabkan keberadaan residu nitrit, pembentukan senyawa nitrosamin, dan MDA selama proses pengolahan;
2. dapat melengkapi data keamanan dendeng sapi yang dibuat berdasarkan modifikasi bumbu yang dikombinasikan dengan teknik *curing* basah dan preparasi sebelum penggorengan yang telah dibuat sebelumnya.
3. dapat menjadi dasar untuk pelestarian dan pengembangannya sebagai salah satu produk olahan daging tradisional Indonesia yang banyak diproduksi pada skala industri rumah tangga dan memiliki peluang untuk diekspor.

IV. METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di beberapa laboratorium di Lingkungan IPB, yaitu:

1. Laboratorium Pengolahan Hasil Ternak Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan;
2. Laboratorium Terpadu Analisis Hasil Ternak Departemen Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan;
3. Laboratorium Fisiologi Nutrisi Ternak Terapan Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, Fakultas Peternakan;
4. Laboratorium Histologi Departemen Anatomi, Fisiologi dan Farmakologi Fakultas Kedokteran Hewan.

Penelitian berjalan dari bulan Mei sampai Nopember 2012.

Materi Penelitian

Materi utama yang digunakan pada penelitian ini adalah dendeng sapi yang digunakan sebagai bahan untuk pengujian dan tikus sebagai hewan percobaan beserta komponen pakan lainnya untuk pengujian keamanan pangan produk. Bahan pendukung yang digunakan meliputi bahan-bahan kimia untuk analisis enzim dan pembuatan preparat histologis. Peralatan utama yang digunakan antara lain kandang tikus individual yang dilengkapi alat makan dan minum, timbangan, syringe untuk injeksi dan pengambilan sampel darah, tabung penampung darah berheparin, peralatan bedah dan alat-alat gelas, spektrofotometer, peralatan untuk pembuatan blok parafin dan mikrotom, dan mikroskop.

Dasar Pemilihan Formulasi Dendeng yang Digunakan pada Tahap Pengujian Keamanan *in Vivo*

Formulasi dan metode pembuatan dendeng yang digunakan pada tahap ini adalah hasil dari tahap sebelumnya (tahap II), yaitu metode dan formulasi dengan komposisi bumbu yang mampu menghasilkan dendeng dengan kadar nitrosamin, malonaldehida dan residu nitrit yang paling rendah tetapi disukai panelis, yaitu dendeng dengan formulasi bumbu II yang diberi penambahan nitrit dengan metode *curing* basah. Dendeng dengan formulasi tersebut secara *in vitro* masih memiliki kandungan senyawa malonaldehida meskipun dengan kandungan yang paling rendah, dan tidak memiliki residu nitrit yang terukur tetapi memiliki peluang mengandung

nitrosamin di bawah LOD (limit of detection) alat yang digunakan pada tahap II. Selain itu digunakan pula formulasi dan metode pengolahan dendeng dengan bumbu II tanpa penambahan natrium nitrit, yang secara *in vitro* tidak mengandung residu nitrit, dan kemungkinan besar tidak mengandung nitrosamin, tetapi mengandung senyawa malonaldehida yang relatif tidak berbeda dengan formulasi bumbu II yang di-*curing* basah.

Prosedur Pembuatan, Penyimpanan dan Penyiapan Dendeng Sapi

Daging yang digunakan untuk pembuatan dendeng adalah daging sapi beku yang sudah disegarkan kembali dengan jumlah 42 kg. Daging berasal dari sapi dengan bangsa persilangan Australia, umur sekitar 1,5 tahun, jenis kelamin jantan dan bagian daging paha belakang. Prosedur pembuatan dendeng dilakukan mengikuti prosedur (Lioe *et al.*, 2012). Pembuatan dendeng diawali dengan menghilangkan lemak ekstramuskuler dan jaringan ikat dari daging, kemudian diiris tipis (5 mm) menggunakan *slicer* daging. Daging yang digunakan untuk dendeng yang di-*curing* basah, setelah diiris tipis direndam dalam larutan nitrit (150 mg/kg daging atau 150 ppm dilarutkan dalam 1 l air) selama 12 jam pada suhu ruang. Air yang digunakan pada proses *curing* adalah air minum kemasan. Daging yang sudah di-*curing* kemudian dicampur dengan bumbu-bumbu yang sudah dihaluskan (Tabel 2). Setelah diaduk rata, disimpan selama 12 jam pada suhu ruang untuk meresapkan bumbu. Proses pembuatan dendeng yang tidak diberi nitrit hampir sama, perbedaannya adalah tanpa didahului proses perendaman dalam larutan natrium nitrit. Setelah proses pembumbuan irisan daging kemudian dikeringkan dengan oven.

Tabel 2. Komposisi Bahan Pembuatan Dendeng

No.	Nama Bahan	Komposisi (%)
1	Daging Sapi	
2	Garam	2,5
3	Lengkuas	8,5
4	Ketumbar	2
5	Bawang Putih	10
6	Gula Merah	16,5
7	Gula Putih	16,5
8	Asam Jawa	0,3
9	Merica	0,3
10	NaNO ₂ (150 mg/kg)	0,015

Proses pengeringan dilakukan dengan suhu bertahap. Irisan daging yang sudah dibumbui, diletakkan diatas loyang berlubang yang sudah dialasi plastik tahan panas agar daging tidak melekat pada loyang, kemudian dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60 °C selama 3 jam. Setelah 3 jam dan permukaan dendeng kering, dilakukan pembalikan dan alas plastik dilepas, kemudian suhu dinaikkan menjadi 70 °C, dan pengeringan dilanjutkan selama 5 jam, sehingga total waktu pengeringan adalah 8 jam.

Dendeng kemudian dipreparasi dengan perendaman dalam air selama 5 menit, kemudian ditiriskan dan didiamkan selama minimal 15 menit sebelum digoreng. Air yang digunakan untuk merendam adalah air minum kemasan. Penggorengan dilakukan pada suhu minyak 150 °C selama 1,5 menit dalam kondisi terendam minyak. Minyak hanya digunakan untuk dua kali penggorengan dengan volume 2 liter untuk menggoreng sekitar 300 g dendeng. Sampel kemudian dikemas dan disimpan pada lemari es -10 °C, hingga pencampuran dengan bahan ransum lainnya dilakukan.

Pembuatan Ransum Percobaan

Ransum percobaan dibuat dengan mengikuti prosedur AOAC (2005) dengan menggunakan kadar protein ransum sebesar 20%. Komposisi ransum dibuat berdasarkan panduan pada Tabel 3. Bahan tambahan ransum lain yang digunakan

Tabel 3. Komposisi Ransum dengan Sumber Protein Kasein, Daging, Dendeng Tanpa *Curing* dan Dendeng *Curing* Basah

Bahan Pakan (%)	Sumber Protein Ransum			
	Kasein (Standar)	Tepung Daging	Tepung Dendeng Tanpa <i>Curing</i>	Tepung Dendeng <i>Curing</i> Basah
Sumber Protein	24,6	30,8	67,0	70,2
Minyak Jagung	7,6	5,7	2,3	2,2
Mineral Mix	4,8	3,5	2,0	2,0
Vitamin Mix	1,5	1,5	1,5	1,5
Selulosa	1,0	-	-	-
Air	2,7	2,0	1,0	0,9
Pati Jagung	57,8	57,1	27,4	24,5

Keterangan:* AOAC (2005) yang dimodifikasi pada rumus jumlah sumber protein

adalah minyak jagung, campuran mineral, campuran vitamin, CMC sebagai sumber selulosa, air dan tepung jagung. Tepung daging diperoleh dengan mengeringkan

daging giling mentah sejumlah 10 kg dengan metode *freeze drying* yang kemudian dibuat menjadi tepung. Dendeng perlakuan yang sudah digoreng dibuat tepung dengan cara yang sama seperti membuat tepung daging.

Pemeliharaan dan Perlakuan pada Hewan Percobaan

Tikus yang digunakan adalah tikus strain Sprague Dawley dengan umur lepas sapih berjumlah 35 ekor. Tikus dikandangkan secara individual yang dikondisikan pada suhu 24 ± 2 °C dengan pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Tikus dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok berjumlah 7 ekor. Perlakuan yang diberikan adalah ransum dengan sumber protein berbeda (kandungan protein ransum 20%) dan induksi stres oksidatif dengan menggunakan senyawa nitrosamin NDEA. Kelompok tersebut meliputi:

- 1) kelompok dengan sumber protein daging segar yang dikeringbekukan dan tanpa perlakuan induksi NDEA (kelompok kontrol/K);
- 2) kelompok dengan dendeng tanpa *curing* dengan nitrit, dan tanpa induksi dengan NDEA (C0TN);
- 3) kelompok dengan dendeng II tanpa *curing* dengan nitrit, dan diberi perlakuan induksi dengan NDEA (CON);
- 4) kelompok dengan dendeng yang di-*curing* dengan nitrit, dan tanpa induksi dengan NDEA (CbTN);
- 5) kelompok dengan dendeng yang di-*curing* dengan nitrit, dan diberi perlakuan induksi dengan NDEA (CbN) .

Kelompok 1 merupakan kontrol pada penelitian ini. Kelompok 2 ditujukan untuk melihat pengaruh konsumsi dendeng tanpa *curing* nitrit (bebas nitrosamin), tetapi mengandung senyawa malonaldehida pada tikus yang tidak diinduksi stress oksidatif. Kelompok 3 ditujukan untuk melihat pengaruh konsumsi dendeng tanpa *curing* nitrit (bebas nitrosamin), tetapi mengandung senyawa malonaldehida pada tikus yang mendapat induksi stress oksidatif. Kelompok 4 ditujukan untuk melihat pengaruh konsumsi dendeng yang di-*curing* dengan nitrit (berpotensi mengandung nitrosamin) dan mengandung senyawa malonaldehida pada tikus yang tidak diinduksi stres oksidatif. Kelompok 5 ditujukan untuk melihat pengaruh konsumsi dendeng yang di-*curing* dengan nitrit (berpotensi mengandung nitrosamin) dan mengandung senyawa malonaldehida pada tikus yang diinduksi stress oksidatif.

Adaptasi tikus dilakukan selama 5 hari pada awal penelitian dengan pemberian ransum standar dengan sumber protein kasein untuk semua kelompok. Tikus kemudian diberi pakan perlakuan selama 42 hari (enam minggu). Dua minggu

pertama setelah pemberian ransum perlakuan, kelompok tikus yang mendapat perlakuan induksi NDEA, diinjeksi NDEA secara intraperitoneal sebanyak 200 mg/kg bobot badan. Pemberian ransum dan air minum dilakukan *ad libitum*. Bobot tikus ditimbang setiap minggu, sedangkan jumlah ransum ditimbang setiap 2 hari sekali. Tikus pada akhir percobaan (4 minggu setelah induksi NDEA) dianestesi dengan ketamin dan xylazine, kemudian darah diambil dari jantung dan ditampung dengan menggunakan tabung uji yang mengandung heparin. Tikus kemudian dibedah dan dikeluarkan semua darahnya dengan merobek ventrikel kiri jantung, setelah hewan mati diambil organ targetnya (ginjal, hati, pankreas, usus halus dan usus besar).

Sampel organ dibilas dengan larutan NaCl fisiologis, dan organ ginjal dan hati kemudian ditimbang. Sebagian jaringan organ hati dan ginjal organ diambil dan disimpan pada suhu -25 °C untuk analisis secara biokimia, sisanya difiksasi dalam larutan bouin untuk pengujian secara histologis.

Prosedur Pengujian

Pengujian keamanan dilakukan melalui pengamatan penampilan hewan percobaan secara umum, pengukuran berat organ (hati dan ginjal), analisis MDA (plasma, hati dan ginjal), pengujian aktivitas enzim antioksidan (SOD dan katalase) ginjal dan hati, serta pengamatan secara histologis. Pengamatan histologis dilakukan pada preparat jaringan yang diberi pewarnaan hematoksin-eosin (HE) untuk melihat morfologi umum jaringan, dan pewarnaan imunohistokimia untuk melihat status enzim antioksidan SOD pada hati dan ginjal.

- 1. Penampilan Hewan Percobaan.** Penampilan hewan percobaan diamati melalui konsumsi ransum, penambahan bobot badan dan konversi ransum.
- 2. Pengukuran Berat Organ.** Ginjal dan hati pada akhir percobaan, setelah pembedahan, ditimbang. Berat organ kemudian dikonversi terhadap bobot badan sehingga dinyatakan dalam satuan g berat organ/100 g berat badan. Berat organ diukur untuk melihat kelainan pada organ akibat perlakuan.
- 3. Analisis MDA.** Pengukuran MDA dilakukan dengan metode pengujian *tiobarbituric acid reactive substances* (TBARS). Preparasi plasma dilakukan mengikuti prosedur Kujawska *et al.* (2009). Darah yang terkumpul disentrifugasi pada 3000 rpm dengan suhu 4°C selama 15 menit untuk mendapatkan plasma darah. Sampel organ hati atau ginjal sebanyak 1,25 g dicacah dalam kondisi dingin dalam 5 ml PBS (phosphate buffer saline) yang mengandung 11,5 g KCl/L. Homogenat yang dihasilkan disentrifugasi pada 4500 rpm selama 10 menit. Analisis dilakukan sesuai prosedur yang dilakukan Singh *et al.* (2002) dengan modifikasi pada penghitungan

bilangan TBA, yaitu dengan menggunakan senyawa tetraetoksipropana (TEP) sebagai standar pada konsentrasi bertingkat (2, 4, 6, 8 dan 10 μ M).

4. **Analisis SOD.** Sampel organ sebanyak 1,25 g dicacah dan dihancurkan dalam kondisi dingin dalam 5 ml PBS (phosphate buffer saline) yang mengandung 11,5 g KCl/L. Homogenat kemudian disentrifugasi pada 10.000 rpm; 4 °C selama 15 menit. Analisis kemudian dilakukan mengikuti prosedur Kubo *et al.* (2002) yang dimodifikasi pada penggunaan aktivitas dan waktu inkubasi enzim xantin oksidase yang ditambahkan sebelum pengukuran dengan spektrofotometer. Prinsip pengujian adalah mengukur kapasitas menangkap radikal anion superoksida yang dihasilkan secara enzimatik oleh sistem xantin-xantin oksidase. Prosedur analisis diawali dengan mereaksikan 0,06 ml supernatan hati atau ginjal dengan: 2,70 ml buffer Na_2CO_3 40 mM yang mengandung 0,1 mM EDTA (pH 10), 0,06 ml xantin 10 mM, 0,03 ml BSA 0,5%, 0,03 ml nitroblue tetrazolium (NBT) 2,5 mM. Selanjutnya dilakukan penambahan 0,12 ml xantin oksidase (0,04 Unit/mg protein yang diencerkan 20 kali dengan PBS). Absorbansi diukur setelah 40 menit pada $\lambda=560$ nm. Penentuan aktivitas enzim SOD dilakukan mengikuti metode Wijeratne *et al.* (2005). Sebagai kontrol digunakan larutan yang digunakan dalam preparasi organ (PBS + KCl). Aktivitas SOD (%) dihitung mengikuti persamaan berikut:

$$[1-(A/B)] \times 100 \quad ; \quad A = \text{absorbansi larutan sampel};$$

$$B = \text{absorbansi larutan kontrol}.$$

5. **Analisis Katalase.** Preparasi sampel dilakukan seperti untuk analisis SOD. Analisis aktivitas katalase dilakukan mengikuti prosedur Iwai *et al.* (2002) yang dimodifikasi sesuai dengan ukuran kuvet spektrofotometer yang digunakan. Aktivitas katalase diukur berdasarkan reduksi H_2O_2 . Sebanyak 0,125 ml supernatan sampel organ ditambahkan ke dalam 0,5 ml buffer kalium fosfat (pH 7,0) yang mengandung 10 mM H_2O_2 dalam kuvet kuarsa. Perubahan absorbansi pada $\lambda=240$ nm dicatat setiap 15 detik selama 1 menit. Aktivitas katalase dihitung dengan menggunakan data kemiringan (slope) kurva absorbansi larutan sampel (SL) maupun blanko (SLb) dengan persamaan:

$$\text{Aktivitas katalase (U/ml)} = \frac{(SL-SLb)}{0,0436} \times \frac{0,5}{0,125}$$

6. **Pembuatan dan Pengamatan Preparat Jaringan dan Pengujian Enzim Antioksidan secara Imunohistokimia (Kiernan, 1990).** Prosedur pembuatan preparat jaringan dilakukan untuk memperoleh gambaran morfologi umum sel ginjal dan hati dengan menggunakan teknik pewarnaan HE (hematoksilin-eosin).

Aspek yang diamati meliputi peradangan dan kondisi degenerasi sel sampai terjadi nekrosis. Pewarnaan imunohistokimia dilakukan pada jaringan hati dan ginjal untuk melihat status enzim antioksidan SOD. Pembuatan preparat diawali dengan pengambilan sampel organ dari hewan, kemudian difiksasi dengan larutan Bouin. Sampel di-*trimming* untuk menentukan ukuran dan posisi irisan jaringan yang dikehendaki. Sampel kemudian didehidrasi secara bertahap pada larutan alkohol bertingkat (70%, 80%, 90%, 95%, absolut I, II dan III), lalu dijernihkan dengan xilol secara bertahap (xilol I, II dan III). Sampel yang sudah dijernihkan diinfiltrasi dengan parafin cair, dan kemudian ditanam dalam blok parafin untuk kemudian dipotong dengan menggunakan mikrotom dan ditempelkan pada gelas objek. Pewarnaan dilakukan sesuai dengan tujuan pengamatan. Setelah proses pewarnaan preparat sampel ditutup dengan gelas penutup yang ditempelkan menggunakan entelan. Preparat kemudian diamati dengan mikroskop dan didokumentasi dengan kamera digital.

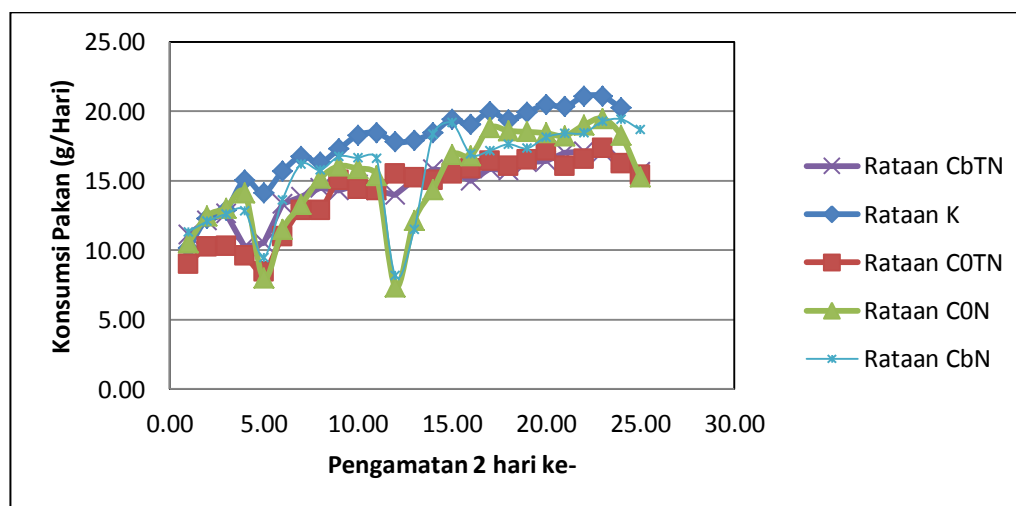
Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan kombinasi ransum dengan induksi NDEA yang berbeda (Kontrol; C0TN; CON; CbTN; dan CbN). Ulangan yang digunakan sebanyak 7 kali berupa jumlah hewan percobaan yang digunakan pada tiap kelompok perlakuan. Data dianalisis dengan sidik ragam dan perbedaan nilai tengah dianalisis dengan uji Tukey.

V. HASIL DAN PEMBAHASAN

Performans Hewan Percobaan

Berdasarkan konsumsi pakan harian, secara umum jumlah konsumsi pakan untuk semua perlakuan meningkat seiring pertambahan lamanya waktu pemeliharaan. Berdasarkan Gambar 1 dapat dilihat bahwa jumlah konsumsi harian kelompok tikus yang diberi ransum yang mengandung tepung daging segar (kelompok kontrol) dari awal hingga akhir perlakuan adalah paling tinggi. Hal tersebut sejalan dengan data pertambahan bobot badan. Tikus yang mendapat ransum kontrol memiliki bobot badan yang lebih tinggi daripada 4 kelompok tikus yang mendapat ransum dendeng sebagai sumber protein (Gambar 2). Data tersebut didukung data pada Tabel 4 yang menunjukkan bahwa rata-rata konsumsi ransum tidak berbeda di antara kelompok tikus yang mendapat ransum dengan sumber protein dendeng, baik yang diinduksi, maupun tanpa induksi NDEA. Namun demikian rata-rata konsumsi ke-4 kelompok perlakuan tersebut nyata lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa ransum dengan sumber protein daging segar memiliki palatabilitas yang lebih tinggi dibandingkan ransum dengan sumber protein dendeng pada hewan percobaan. Faktor penyebab lebih rendahnya palatabilitas ransum dengan sumber protein dendeng dibanding daging adalah karena flavor bumbu dan rasa manis dendeng yang kuat yang kemungkinan tidak disukai oleh tikus.



Gambar 1. Rataan Konsumsi Pakan Hewan Percobaan selama Pemeliharaan

Ransum pada kelompok kontrol memiliki konversi ransum yang tidak berbeda dengan keempat kelompok perlakuan yang mendapat ransum dengan sumber protein dendeng (Tabel 4). Kelompok tikus yang mendapat perlakuan ransum tanpa *curing*

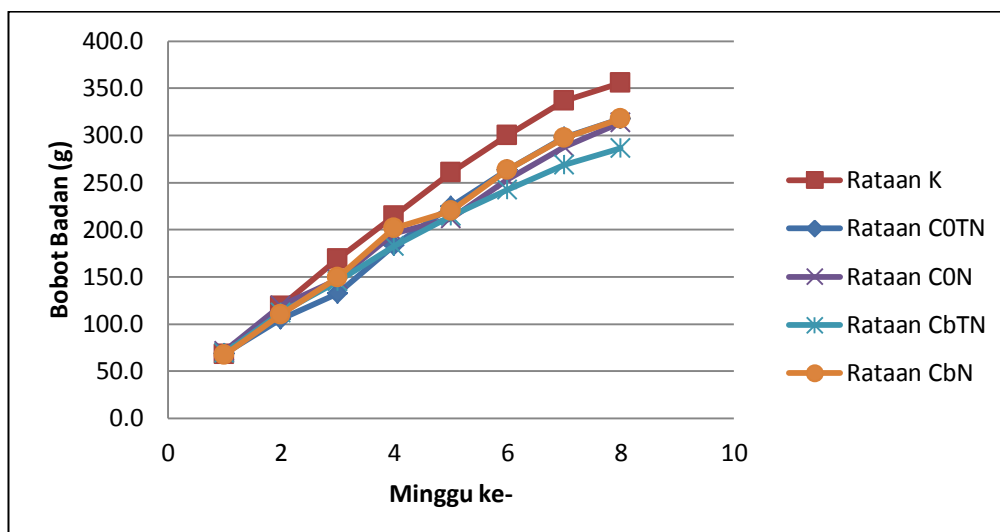
dengan injeksi NDEA memiliki nilai konversi ransum yang lebih rendah daripada kelompok tikus dengan ransum dendeng *curing* tanpa injeksi NDEA. Namun demikian nilai konversi ransum tidak berbeda dengan kedua kelompok yang mendapat injeksi NDEA. Hal ini menunjukkan bahwa kualitas ransum dengan sumber protein dendeng tidak berbeda dengan ransum dengan sumber protein daging segar.

Tabel 4. Rataan Persentase Bobot Hati dan Ginjal, Pertambahan Bobot Badan Harian Konsumsi dan Konversi Tikus yang diberi Pakan Dendeng Sebagai Sumber Protein dan Induksi NDEA

Peubah	Kontrol (Daging Kering Beku), Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Tanpa Curing, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Tanpa Curing + Injeksi NDEA	Dendeng Curing Basah, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Curing Basah + Injeksi NDEA
Persentase Ginjal thd BB (%)	0,72 ± 0,09	0,73 ± 0,04	0,77 ± 0,07	0,76 ± 0,11	0,74 ± 0,06
Persentase Hati thd BB (%)	4,09 ± 0,34	4,26 ± 0,29	4,13 ± 0,67	4,27 ± 0,54	4,54 ± 0,55
PBBH (g/ekor/hr)	5,75 ± 0,34 ^a	5,05 ± 0,86 ^{ab}	4,53 ± 0,75 ^b	4,15 ± 1,27 ^b	4,81 ± 0,65 ^{ab}
Konsumsi (g/ekor/hr)	18,52 ± 1,11 ^a	14,93 ± 1,73 ^b	15,59 ± 1,26 ^b	15,17 ± 2,69 ^b	16,36 ± 1,50 ^{ab}
Konversi Ransum	3,20 ± 0,14 ^{ab}	2,92 ± 0,24 ^b	3,51 ± 0,53 ^{ab}	3,68 ± 0,46 ^a	3,44 ± 0,48 ^{ab}

Keterangan: Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Kelompok tikus yang diberi ransum dendeng pada pengamatan 2 hari ke-3 (kelompok C0TN dan CbTN) dan ke-4 (kelompok C0N dan CbN) mengalami penurunan konsumsi, yang kemudian mulai meningkat lagi pada 2 hari ke-5 (Gambar 1). Penurunan tersebut terjadi karena pengaruh perubahan dari pakan standar ke pakan perlakuan. Kelompok tikus yang mendapat induksi NDEA, baik pada kelompok ransum dendeng *curing*, maupun non-*curing* mengalami penurunan konsumsi pakan setelah pemberian induksi (2 hari ke 11 atau minggu ke-3 pemeliharaan). Namun konsumsi kembali meningkat pada 2 hari ke-12 dan kembali normal pada 2 hari ke-14 untuk kelompok CbN dan 2 hari ke-15 untuk kelompok C0N. Hal ini mengindikasikan bahwa tikus yang diberi dendeng *curing* dengan nitrit lebih cepat pulih dari tekanan stres akibat perlakuan injeksi NDEA dibanding tikus yang diberi dendeng tanpa *curing*.



Gambar 2. Rataan Bobot Badan Hewan Percobaan selama Pemeliharaan

Persentase bobot ginjal dan hati tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara kelompok tikus yang diberi ransum dengan sumber protein daging segar dan kelompok tikus yang mendapat ransum dendeng (Tabel 4). Demikian pula antara kelompok tikus yang mendapat induksi NDEA dengan tanpa NDEA tidak menghasilkan perbedaan bobot organ hati dan ginjal yang berbeda nyata. Hal ini mengindikasikan bahwa konsumsi ransum dengan sumber protein dendeng, baik yang di-*curing* maupun tanpa *curing* tidak menghasilkan pembesaran organ hati dan ginjal. Tidak berbedanya bobot organ hati dan ginjal pada kelompok tikus yang diberi induksi NDEA dapat menunjukkan bahwa konsumsi dendeng dapat mempertahankan kondisi normal bobot organ hati dan ginjal pada kelompok tersebut dan tidak menimbulkan kelainan pada penampilan hati atau ginjal secara makro.

Kadar Malonaldehida, Aktivitas Enzim Katalase dan Superoksida Dismutase

Kadar MDA plasma kelompok tikus yang diberi ransum dendeng *curing* basah dan diinjeksi NDEA nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada kelompok tikus yang diberi dendeng tanpa *curing*, baik yang diinjeksi NDEA, maupun tidak. Kelompok yang diberi dendeng *curing* tanpa injeksi NDEA memiliki kadar MDA yang tidak berbeda dengan empat kelompok perlakuan lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa konsumsi dendeng, baik yang di-*curing*, maupun tanpa *curing* tidak menghasilkan peningkatan kadar MDA plasma yang nyata (Tabel 5). Namun demikian konsumsi dendeng *curing* menghasilkan peningkatan kadar MDA ($P < 0,01$) pada kelompok yang diinjeksi NDEA.

Berbeda halnya dengan kadar MDA pada plasma, kelompok tikus yang diberi dendeng *curing* dan diinjeksi NDEA memiliki kadar MDA hati yang paling rendah dibanding kelompok kontrol dan yang diberi dendeng tanpa *curing*, baik yang diinjeksi NDEA maupun tidak. Secara umum kelompok tikus yang diberi dendeng *curing* memiliki kadar MDA hati yang lebih rendah daripada kelompok kontrol dan yang diberi dendeng tanpa *curing*, meskipun secara statistik perbedaannya tidak nyata pada kelompok dendeng *curing* yang tidak diinjeksi NDEA. Kadar MDA ginjal kelompok tikus yang diberi dendeng tanpa *curing* dan diinjeksi NDEA nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada kelompok kontrol, tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok yang mendapat perlakuan pakan dendeng lainnya.

Tabel 5. Kadar Malonaldehida dan Aktivitas Enzim Antioksidan pada Tikus Percobaan yang Diberi Pakan Dendeng Sebagai Sumber Protein dan Induksi NDEA

Peubah	Kontrol (Daging Kering Beku), Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Tanpa Curing, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Tanpa Curing + Injeksi NDEA	Dendeng Curing Basah, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Curing Basah + Injeksi NDEA
Kadar MDA					
Plasma (nmol/ml)	4,86 ± 0,61 ^{ab}	4,47 ± 0,24 ^b	4,63 ± 0,75 ^b	5,12 ± 0,81 ^{ab}	5,75 ± 0,46 ^a
Hati (nmol/g)	9,87 ± 0,54 ^a	9,74 ± 1,03 ^a	10,33 ± 1,90 ^a	8,82 ± 1,46 ^{ab}	7,63 ± 0,78 ^b
Ginjal (nmol/g)	17,20 ± 1,23 ^b	19,83 ± 1,08 ^{ab}	21,56 ± 3,01 ^a	19,32 ± 1,51 ^{ab}	19,72 ± 4,61 ^{ab}
Aktivitas Katalase (U/ml)					
Hati	54,55 ± 9,81 ^b	87,92 ± 10,38 ^a	78,69 ± 21,56 ^a	89,94 ± 16,56 ^a	67,33 ± 2,63 ^{ab}
Ginjal	77,22 ± 16,94	89,72 ± 22,23	85,30 ± 19,37	86,56 ± 17,75	97,97 ± 14,15
Aktivitas Penghambatan SOD terhadap Radikal Superoksida (%)					
Hati	15,23 ± 3,70 ^b	39,87 ± 9,45 ^a	37,20 ± 12,54 ^a	45,30 ± 10,76 ^a	32,93 ± 9,84 ^a
Ginjal	18,06 ± 4,60 ^a	12,71 ± 3,66 ^b	17,22 ± 3,98 ^{ab}	23,37 ± 4,72 ^a	22,48 ± 4,43 ^a

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Berdasarkan kadar MDA pada Tabel 5 dapat dilihat bahwa dendeng *curing* basah meskipun diberikan pada tikus yang diberi induksi NDEA tidak menghasilkan kadar MDA plasma dan ginjal yang lebih tinggi daripada kontrol, bahkan menghasilkan MDA hati yang lebih rendah daripada kontrol. Dendeng tanpa *curing* dan yang di-*curing* basah jika diberikan pada tikus tanpa perlakuan injeksi NDEA tidak menghasilkan kadar MDA yang berbeda dengan kontrol baik pada plasma, hati, maupun ginjal. Namun demikian dendeng tanpa *curing* jika diberikan pada tikus yang

diberi induksi NDEA dapat meningkatkan kadar MDA ginjal yang nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol.

Aktivitas katalase hati pada kelompok tikus yang diberi dendeng, baik tanpa *curing*, maupun yang di-*curing* nyata lebih tinggi daripada kontrol, kecuali pada kelompok yang diberi dendeng *curing* dan diinjeksi NDEA (Tabel 5). Hal ini mengindikasikan bahwa konsumsi dendeng, baik tanpa *curing*, maupun yang di-*curing* dapat meningkatkan aktivitas katalase pada hati. Konsumsi dendeng, baik yang di-*curing*, maupun tanpa *curing* tidak menghasilkan perbedaan aktivitas katalase yang nyata pada ginjal. Aktivitas katalase pada ginjal dari keempat kelompok yang diberi perlakuan pakan dendeng tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Tabel 5).

Kelompok tikus yang diberi ransum dengan sumber protein dendeng, baik yang di-*curing*, maupun tanpa *curing*, memiliki aktivitas enzim SOD pada hati yang nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada kelompok kontrol (Tabel 5), tetapi tidak berbeda nyata diantara keempat kelompok yang diberi pakan dendeng. Aktivitas enzim SOD pada kelompok yang diberi dendeng meningkat dua kali lipat lebih dari kelompok kontrol. Hal ini mengindikasikan bahwa konsumsi dendeng dapat meningkatkan aktivitas enzim SOD pada hati dan menekan pengaruh stres oksidatif dari induksi senyawa nitrosamin. Berbeda halnya dengan pada hati, tikus yang diberi pakan dendeng memiliki aktivitas enzim SOD pada ginjal yang tidak berbeda nyata dengan kontrol, bahkan lebih rendah ($P < 0,05$) pada kelompok tikus yang diberi dendeng tanpa *curing* dan tanpa injeksi NDEA (Tabel 5).

Hasil pengujian terhadap aktivitas enzim antioksidan di atas mengindikasikan bahwa konsumsi dendeng dapat meningkatkan aktivitas enzim SOD dan menekan pengaruh stres oksidatif dari induksi senyawa nitrosamin. Peningkatan aktivitas SOD tersebut dapat terjadi karena kandungan antioksidan dendeng yang berasal dari bumbu yang digunakan dan produk Maillard yang memiliki aktivitas antioksidan (Suryati *et al.*, 2012). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa bahan pangan kaya antioksidan dapat meningkatkan status enzim antioksidan dalam tubuh (Sundaresan dan Subramania, 2003; Ahmad *et al.*, 2009; Kujawska *et al.*, 2009; Kujawska *et al.*, 2010; Morsy *et al.*, 2010).

Evaluasi Secara Histologis

Kelompok tikus yang diberi ransum dengan sumber protein dendeng memiliki tingkat kerusakan sel ginjal dan hati yang beragam. Kelompok tikus kontrol memiliki tingkat kerusakan sel hati dan ginjal yang paling rendah (Gambar 3). Kerusakan sel ginjal pada masih bersifat reversibel, yang ditandai dengan inti sel yang masih utuh,

meskipun pada beberapa sel bagian membran sitoplasma sudah mengalami kerusakan. Sel yang mengalami kerusakan lanjut (nekrosa) ditandai dengan hilangnya bagian inti dan batas sel yang bersifat irreversibel. Berdasarkan katagori tersebut kelompok tikus yang mendapat sumber protein dendeng tanpa *curing* dan tanpa induksi NDEA memiliki tingkat kerusakan sel ginjal yang sedikit lebih tinggi dibanding kontrol. Namun demikian pada sel hati pemberian dendeng tanpa *curing* menghasilkan tingkat kerusakan yang sedikit lebih rendah daripada kontrol. Selain itu pada kelompok tersebut menunjukkan adanya proses regenerasi sel hati (Gambar 3).

Kelompok tikus yang mendapat dendeng tanpa *curing* dengan induksi NDEA memiliki tingkat kerusakan sel ginjal dan hati yang hampir sama dengan kelompok tikus yang mendapat sumber protein dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian dendeng *curing* menghasilkan tingkat kerusakan sel yang sebanding dengan induksi NDEA yang diberikan kepada kelompok tikus yang mendapat dendeng tanpa *curing*. Kelompok tikus yang mendapat dendeng *curing* dan induksi NDEA memiliki tingkat kerusakan sel ginjal yang paling parah, tetapi tingkat kerusakan hatinya tidak berbeda dengan kelompok yang mendapat dendeng tanpa *curing* yang diinduksi NDEA dan kelompok yang mendapat dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. Hal ini sejalan dengan persen jumlah sel yang mengalami kerusakan, yaitu mulai degenerasi awal hingga nekrosis, pada ginjal (Tabel 6).

Berdasarkan keberadaan sel radang pada jaringan ginjal (Tabel 6) diketahui bahwa jaringan ginjal kelompok yang mendapat perlakuan dendeng tanpa *curing* dan diinjeksi NDEA, dan kelompok yang mendapat dendeng tanpa *curing* tanpa induksi NDEA memiliki jumlah sel radang per lapang pandang yang paling tinggi dibandingkan perlakuan lainnya. Kelompok kontrol menunjukkan aktivitas sel radang yang paling rendah. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan induksi pada kelompok yang mendapat pakan dendeng tanpa induksi menimbulkan peradangan yang sebanding dengan kelompok yang mendapat pakan dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. Kelompok tikus yang mendapat pakan dendeng *curing* dengan induksi NDEA ternyata memiliki tingkat peradangan yang hampir sama dengan kontrol dan lebih rendah daripada kelompok yang mendapat pakan dendeng tanpa *curing* dan tanpa induksi NDEA.

Hasil ini menunjukkan bahwa induksi dengan NDEA mengakibatkan kerusakan pada sel hati dan ginjal, meskipun tidak berpengaruh terhadap penampilan ternak dan aktivitas enzim antioksidan (SOD dan katalase). Demikian pula pemberian dendeng *curing* menghasilkan tingkat kerusakan sel yang cukup parah, meskipun hal tersebut masih dapat diperbaiki yang terindikasi dari tingginya aktivitas enzim antioksidasi yang

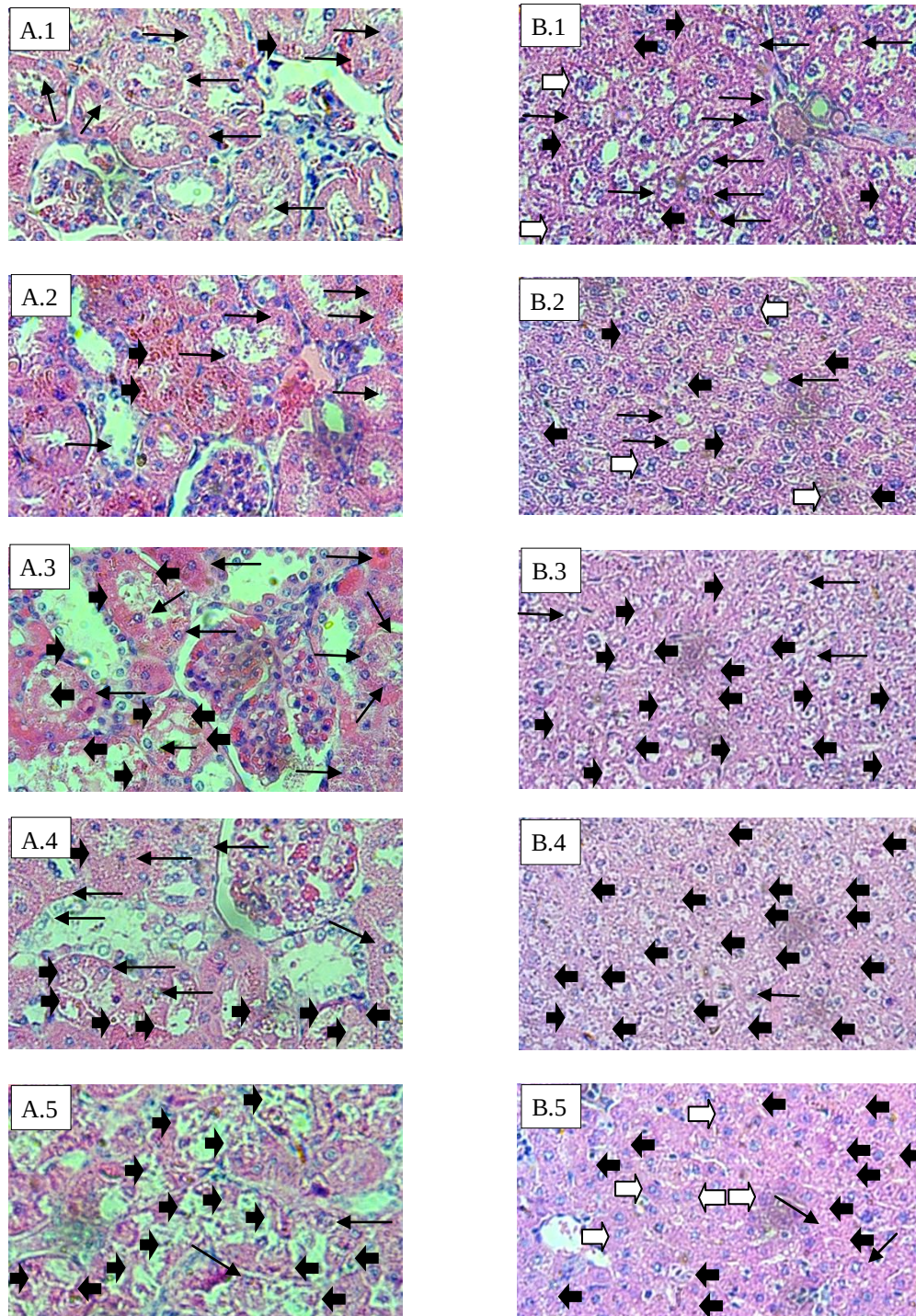
relatif lebih tinggi daripada kontrol dan performans hewan percobaan yang tidak berbeda dengan kontrol.

Tabel 6. Jumlah Sel Radang dan Persentase Kerusakan Sel pada Ginjal Tikus yang diberi Pakan Dendeng Sebagai Sumber Protein dan Induksi NDEA

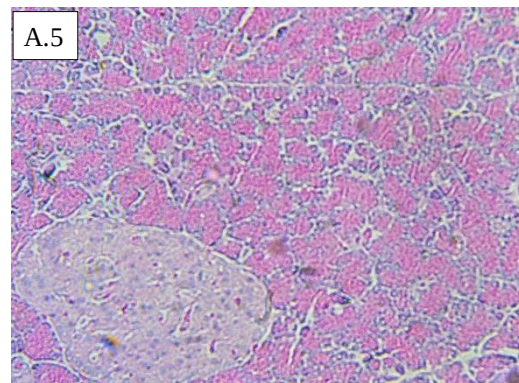
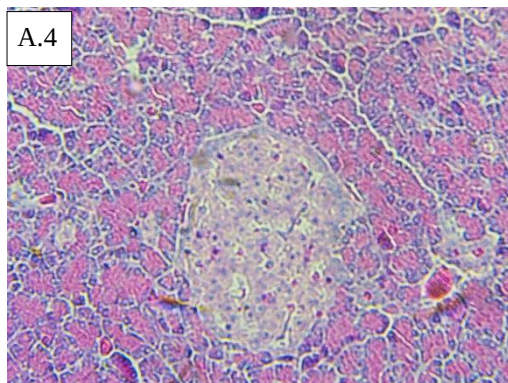
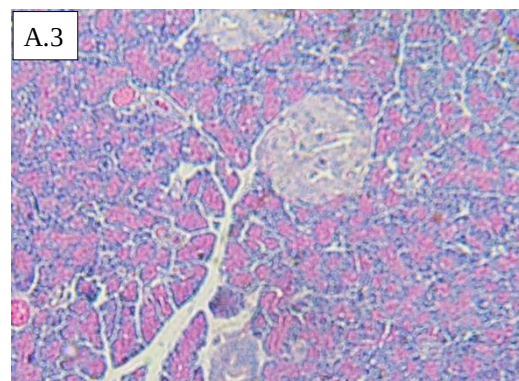
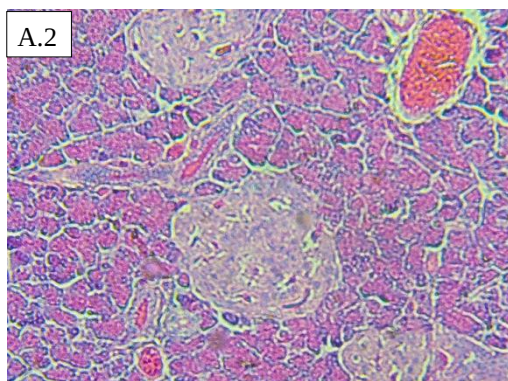
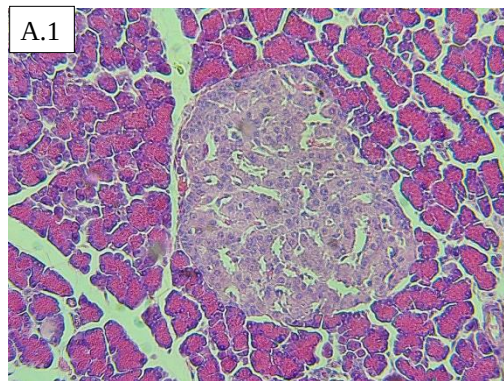
Peubah	Kontrol (Daging Kering Beku, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Tanpa Curing, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Tanpa Curing + Injeksi NDEA	Dendeng Curing, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Curing + Injeksi NDEA
Sel Radang (Jumlah/Lapang Pandang)	11,46	30,77	45,01	43,06	17,14
Persentase Sel Degeneratif s.d Nekrosis (%)	18,82	27,16	98,86	94,80	96,99

Berdasarkan Gambar 4 dapat dilihat bahwa perlakuan pemberian dendeng sebagai sumber protein dan induksi NDEA tidak mempengaruhi morfologi sel-sel pada pankreas. Hal tersebut dapat dilihat dari tidak terdapatnya peradangan dan sel degeneratif yang nyata pada jaringan tersebut. Dengan demikian hampir dapat dipastikan bahwa penggunaan dendeng yang rasanya dominan manis sebagai sumber protein tidak mengakibatkan penurunan fungsi pankreas sebagai penghasil hormon yang mengatur metabolisme glukosa dan enzim-enzim pencernaan.

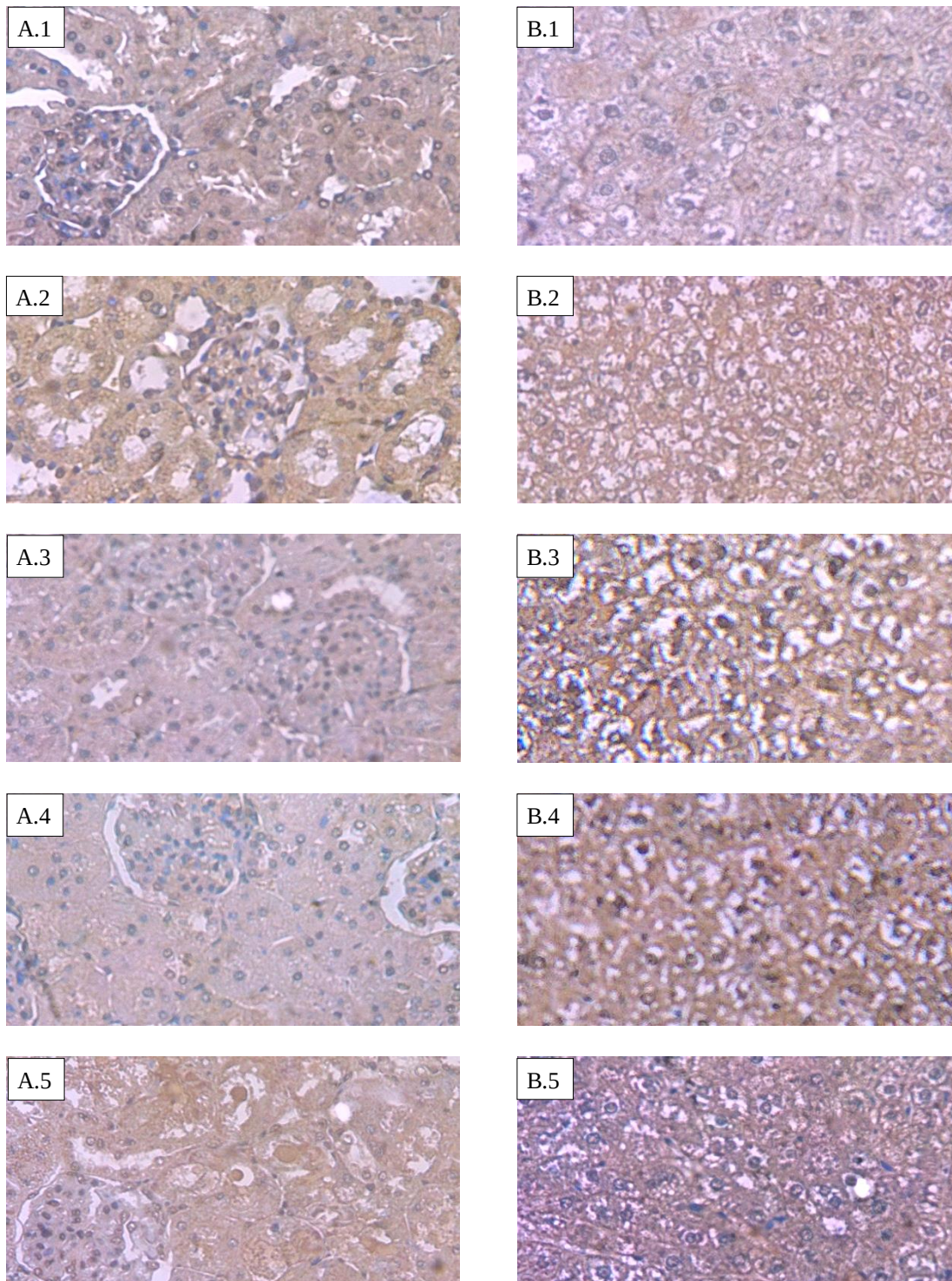
Pewarnaan dengan imunohistokimia antibodi-SOD yang digunakan untuk memverifikasi aktivitas enzim SOD pada jaringan hati dan ginjal menunjukkan hasil yang sejalan dengan pengujian secara biokimia (Tabel 5). Aktivitas enzim SOD pada jaringan ginjal kontrol relatif tidak berbeda dengan kelompok perlakuan, yang ditunjukkan dengan keberadaan inti dan plasma sel berwarna coklat yang relatif tidak berbeda. Kondisi aktivitas SOD tersebut sedikit berbeda dengan yang ditunjukkan pada jaringan hati yang menunjukkan bahwa kelompok yang mendapat perlakuan pakan dendeng *curing* dan tanpa *curing*, baik yang diinduksi, maupun tanpa induksi NDEA memiliki sitoplasma yang hampir semuanya berwarna coklat, sedangkan kontrol masih memiliki sitoplasma yang berwarna biru. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa meskipun pemberian dendeng sebagai sumber protein menghasilkan peradangan dan sel degenerasi yang lebih tinggi, terutama pada kelompok yang mendapat dendeng *curing* dan diinduksi NDEA, tetapi masih dapat diimbangi dengan tingginya aktivitas enzim antioksidan SOD pada perlakuan tersebut. Tingginya aktivitas enzim SOD pada kelompok yang mendapat pakan dendeng tersebut akibat tinggi aktivitas antioksidan yang berasal dari bumbu pada dendeng.



Gambar 3. Jaringan Ginjal dan Hati dengan Pewarnaan HE (300x). A.1 Jaringan ginjal tikus yang diberi daging (kontrol). A.2 Jaringan ginjal tikus yang diberi dendeng tanpa *curing*, tanpa induksi NDEA. A.3 Jaringan ginjal tikus yang diberi dendeng tanpa *curing* dengan induksi NDEA. A.4 Jaringan ginjal tikus yang diberi dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. A.5 Jaringan ginjal tikus yang diberi dendeng *curing* dengan induksi NDEA. B.1 Jaringan hati tikus yang diberi daging (kontrol). B.2 Jaringan hati tikus yang diberi dendeng tanpa *curing*, tanpa induksi NDEA. B.3 Jaringan hati tikus yang diberi dendeng tanpa *curing* dengan induksi NDEA. B.4 Jaringan hati tikus yang diberi dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. B.5 Jaringan hati tikus yang diberi dendeng *curing* dengan induksi NDEA. →: kerusakan sel awal (reversible). ➡: kerusakan sel lanjut (irreversible). ◻: regenerasi sel.



Gambar 4. Jaringan Pankreas dengan Pewarnaan HE (200x). A.1 Jaringan pankreas tikus yang diberi daging (kontrol). A.2 Jaringan pankreas tikus yang diberi dendeng tanpa *curing*, tanpa induksi NDEA. A.3 Jaringan pankreas tikus yang diberi dendeng tanpa *curing* dengan induksi NDEA. A.4 Jaringan pankreas tikus yang diberi dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. A.5 Jaringan pankreas tikus yang diberi dendeng *curing* dengan induksi NDEA.



Gambar 5. Jaringan Ginjal dan Hati dengan Pewarnaan Imunohistokimia Antibodi-SOD (400x). A.1 Jaringan ginjal tikus yang diberi daging (kontrol). A.2 Jaringan ginjal tikus yang diberi dendeng tanpa *curing*, tanpa induksi NDEA. A.3 Jaringan ginjal tikus yang diberi dendeng tanpa *curing* dengan induksi NDEA. A.4 Jaringan ginjal tikus yang diberi dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. A.5 Jaringan ginjal tikus yang diberi dendeng *curing* dengan induksi NDEA. B.1 Jaringan hati tikus yang diberi daging (kontrol). B.2 Jaringan hati tikus yang diberi dendeng tanpa *curing*, tanpa induksi NDEA. B.3 Jaringan hati tikus yang diberi dendeng tanpa *curing* dengan induksi NDEA. B.4 Jaringan hati tikus yang diberi dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. B.5 Jaringan hati tikus yang diberi dendeng *curing* dengan induksi NDEA.

Aktivitas Antioksidasi Dendeng *Curing* dan Hubungannya dengan Kerusakan Sel

Keberadaan bumbu yang mengandung antioksidan yang tinggi mengakibatkan dendeng memiliki aktivitas antioksidasi (Suryati *et al.*, 2012). Aktivitas antioksidasi pada dendeng berdasarkan hasil penelitian tahap II pada pengujian keamanan secara *in vitro* dapat menurunkan residu nitrit hingga pada taraf yang tidak terdeteksi, tetapi masih memiliki kadar MDA 1-2 mg/kg BK dengan warna coklat kemerahan pada dendeng yang diproses *curing*. Warna merah tersebut mengindikasikan adanya pengikatan NO oleh mioglobin (protein daging) membentuk MbNO. Proses pencernaan protein daging akan didegradasi oleh enzim pencernaan menjadi asam amino, sedangkan NO berpeluang menjadi bebas. NO dapat bersifat sebagai antioksidan, namun apabila berikatan dengan asam amino sekunder dapat membentuk senyawa nitrosamin.

Antioksidan pada dendeng mampu menahan pembentukan radikal bebas yang ditimbulkan akibat reaksi peroksidasi pada tingkat selular. Hal ini ditunjukkan dengan kadar MDA yang tidak mengalami peningkatan pada kelompok tikus yang mendapat pakan dendeng sebagai sumber protein, bahkan mampu menekan pembentukan radikal bebas di tingkat sel yang ditunjukkan dengan tingginya aktivitas enzim antioksidan SOD kelompok tersebut. Demikian pula dengan aktivitas enzim katalase.

Berdasarkan tingkat kerusakan sel yang berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan dan kadar MDA kelompok tikus yang mendapat pakan dendeng sebagai sumber protein yang relatif tidak berbeda dengan kontrol, dapat dicermati bahwa senyawa xenobiotik yang menimbulkan kerusakan seluler bukanlah senyawa MDA atau produk oksidasi lipida lainnya, tetapi akibat senyawa nitrosamin. Kerusakan sel akibat senyawa nitrosamin terlihat dari kelompok yang mendapat perlakuan induksi NDEA. Kerusakan tersebut tidak berbeda dengan jaringan hati dan ginjal pada kelompok tikus yang mendapat pakan dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. Kerusakan seluler tersebut menunjukkan bahwa dendeng yang diproses dengan *curing* menggunakan nitrit sangat potensial menghasilkan senyawa nitrosamin yang bersifat toksik pada sel hati dan ginjal. Berdasarkan fakta tersebut maka konsumsi dendeng yang diproses dengan *curing* sebaiknya tidak dikonsumsi secara terus menerus dalam waktu yang lama, seperti halnya pada perlakuan penelitian ini.

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penampilan yang ditunjukkan hewan percobaan dan aktivitas enzim antioksidan, dendeng hasil modifikasi (formulasi dan teknik preparasi) merupakan sumber protein hewani yang aman, meskipun untuk dendeng yang di-*curing* dengan nitrit masih memiliki resiko terhadap kerusakan sel hati dan ginjal jika dikonsumsi secara terus menerus dan dalam jangka waktu yang lama.

Saran

Beberapa saran yang dapat disampaikan berdasarkan hasil penelitian ini adalah:

1. dendeng hasil modifikasi, terutama yang diproses tanpa *curing* dapat digunakan sebagai sumber protein hewani yang aman, sehat, utuh dan halal;
2. dendeng yang diproses dengan *curing* sebaiknya tidak dikonsumsi secara terus menerus dan dalam waktu yang lama;
3. aplikasi paket teknologi yang dihasilkan pada penelitian ini perlu dilengkapi dengan pengujian umur simpan terlebih dahulu.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R., S. Ahmed, N. Uddin Khan, & A. Hasnain. 2009 *Operculina turpethum* attenuates *N*-nitrosodimethylamine induced toxic liver injury and clastogenicity in rats. *Chemico-Biological Interactions* 181: 145–153.
- Aksu, M.I. and M. Kaya. 2005. Effect of storage temperatures and time on shelf-life of sliced and modified atmosphere packaged pastirma, a dried meat product, produced from beef. *J. Sci. Food Agric.* 85:1305–1312.
- Aktas, N., M.I. Aksu, and M. Kaya. 2005. Changes in myofibrillar proteins during processing of pastirma (Turkish dry meat product) produced with commercial starter cultures. *Food Chem.* 90:649–654.
- Andrade. A., F.G.R. Reyes, and S. Rath. 2005. A method for the determination of volatile *N*-nitrosamines in food by HS-SPME-GC-TEA. *Food Chem.* 91:173-179.
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 2005. Agricultural Chemistry, Washington D.C.
- Azman. 2004. Pembuatan dendeng bermutu dari jenis daging dan cara pengeringan yang berbeda. *Jurnal Stigma* 12(4):486-490.
- Azman. 2006. Peningkatan mutu dendeng dengan menggunakan tenda pengering. *Prosiding Peternakan* 2006. Hal: 171-176.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 1992. SNI 01-2908-1992. Dendeng Sapi. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Benkeblia, N. & V. Lanzotti. 2007. Allium thiosulfinates: chemistry, biological properties and their potential utilization in food preservation. *Food* 1(2): 193-201.
- Bintoro, P., J-I. Morita J-I, K. Mikawa, & T. Yasui. 1987. Chemical and microbiology analysis of an Indonesian dried beef (dendeng sapi). *J. Fac. Agr. Hokkaido Univ.* 63(3):287-292.
- Burnham, G.M., D.J. Hanson, C.M. Koshic, and S.C. Ingham. 2008. Death of *Salmonella* Serovars, *Escherichia coli* O157 : H7, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* during the drying of meat: A case study using biltong and droëwors. *J. Food Safety* 28:198–209.
- Choi, S.Y., M.J. Chung, S.J. Lee, J.H. Shin, & N.J. Sung. 2007. *N*-nitrosamine inhibition by strawberry, garlic, kale, and the effects of nitrite-scavenging and *N*-nitrosamine formation by functional compounds in strawberry and garlic. *Food Control* 18:485–491.
- Christiansen, L.N., R. W. Johnston, D.A. Kaurter, J.W. Howard, & W.J. Aunan. 1973. Effect of nitrite and nitrate on toxin production by *Clostridium botulinum* and on nitrosamine formation in perishable canned comminuted cured meat. *Appl. Microbiol.* 25(3):357-362.

- Darmadji, P., M. Izumimoto, T. Miyamoto, and K. Katoaka. 1990. Lactic fermentation effects on preservative qualities of dendeng giling. *J. Food Sci.* 55 (Issue 6): 1523 – 1527.
- [Depdikbud] Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Pusat Pembinaan dan Pengembangan Bahasa. 2002. *Kamus Besar Bahasa Indonesia*. Ed ke-3. Jakarta, Balai Pustaka.
- Elmali, M., H. Yaman, Z. Ulukanli, and K. Tekinsen. 2007. Microbiological and some chemical features of the pastrami sold in Turkey. *Medycyna Wet* 63 (8) 931:934.
- Essien, A.D. and J.O. Akpan. 2007. Altered morphology of liver and pancreas tissues of offsprings of albino rats by charred meat. *Nigerian J. Physiol. Sci.* 22(1-2): 49-53.
- Esterbauer, H. 1993. Cytotoxicity and genotoxicity of lipid-oxidation product. *Am. J. Clin. Nutr.* 57 (suppl.):779S-786S.
- Fernandez-Salguero, J., R. Gomez, & M.A. Carmona. 1994. Water activity of Spanish intermediate-moisture meat product. *Meat Sci.* 38:341-346.
- Fong, P.I., S.B. Campbell, P.A. Baumgartne, R.C. Mulley. 1996. A Manufacturer's Guide to Venison Forequarter. RIRDC (Rural Industries Research and Development Corporation) Research Paper No. 96/8. DPIE copysshop, Canberra.
- Garcia, F.A., I.Y. Mizubuti, M.Y. Kanashiroa, and M. Shimokomaki. 2001. Intermediate moisture meat product: biological evaluation of charqui meat protein quality. *Food Chem.* 75:405–409.
- George S., Chaturvedi P and B. Moseki. 2011. A comparative study of therestorative effects of *Ocimum gratissimum* and *Ocimum canum* on alcohol induced hepatotoxicity in albino rats. *AJVAND* 11(7): 5614-5628.
- Gorinstein, S., H. Leontowicz, M. Leontowicz, J. Namiesnik, K. Najman, J. Drzewiecki, M. Cvikrova, O. Martincova, E. Katrich, & S. Trakhtenberg. 2008. Comparison of the main bioactive compounds and antioxidant activities in garlic and white and red onions after treatment protocols. *J. Agric. Food Chem.* 56:4418–4426.
- Handoyo, M.P. 2010. Oksidasi dendeng giling kering oven selama penyimpanan. Skripsi. Fapet IPB, Bogor.
- Honikel, K.O. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Sci.* 78: 68–76.
- Huang T.C. & W.K. Nip. 2001. Intermediate-moisture meat and dehydrated meat. Di dalam: Y. H. Hui, W.K. Nip, R. W. Rogers, & O. A. Young, Editor. *Meat Science and Applications*. Marcel-Dekker, Inc., New York.
- Iwai, M., H.W. Liu, R. Chen, A. Ide, S. Okamoto, R. Hata, M. Sakanaka, T. Shiuchi, and M. Horiuchi. 2004. Possible inhibition of focal cerebral ischemia by angiotensin II type 2 receptor stimulation. *Circulation* 110: 843-848.

- Jiang, R., C.A. Camargo Jr., R. Varraso, D.C. Paik, W.C. Willett, & R.G. Barr. 2008. Consumption of cured meats and prospective risk of chronic obstructive pulmonary disease in women. *Am. J. Clin. Nutr.* 87(4): 1002–1008.
- Joosen, A.M.C.P., G.G.C. Kuhnle, S.M. Aspinall, T.M. Barrow, E. Lecommandeur, A. Azqueta, A.R. Collins, S.A. Bingham. 2009. Effect of processed and red meat on endogenous nitrosation and DNA damage. *Carcinogenesis* 30(8):1402–1407.
- Jourd'heuil, D, D. Kang, & M.B. Grisham. 1997. Interactions between superoxide and nitric oxide: implications in DNA damage and mutagenesis. *Front in Biosci.* 2:d189-196.
- Katan, M.B. 2009. Nitrate in foods: harmful or healthy? Editorial. *Am. J. Clin. Nutr.* 90:11-12.
- Kaur, C & H.C. Kapoor. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Intern. J. of Food Sci. and Tech.* 37:153-161.
- Keene, W.E., E. Sazie, J. Kok, D.H. Rice, D.D.Hancock, V.K. Balan, T. Zhao, & M.P. Doyle. 1997. An outbreak of *Escherichia coli* 0157:H7 infections traced to jerky made from deer meat. *JAMA* 277(15):1229-1231.
- Kiernan, J.A. 1990. *Histological and Histochemical Methods*. Edisi ke-2. Pergamon Press, England.
- Kubo, I., N. Masuoka, P. Xiao, & H. Haraguchi. 2001. Antioxidant activity of dodecyl gallate. *J. Agric. Food Chem.* 50: 3533-3539.
- Kujawska, M.,E. Ignatowicz, M. Murias, M. Ewertowska, K. Mikołajczyk, and J. Jodynis-Liebert. 2009. Protective effect of red beetroot against carbon tetrachloride- and *N*-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress in rats. *J. Agric. Food Chem.* 57: 2570–2575.
- Kujawska, M., E. Ignatowicz, M. Ewertowska, J. Markowski, & J. Jodynis-Liebert. 2010. Cloudy apple juice protects against chemical-induced oxidative stress in rat. *Eur. J Nutr.* On line May 2010.
- Legowo, A.M., Soepardi, R. Miranda, I.S.N. Anisa, dan Y. Rohidayah. 2002. Pengaruh perendaman daging pra kyuring dalam jus daun sirih terhadap ketengikan dan sifat organoleptik dendeng daging sapi selama penyimpanan. *J Teknol. dan Industri Pangan* 13(1):64-69.
- Leelarungrayub, N., V.Rattanapanone, N. Chanarat, & J.M. Gebicki. 2006. Quantitative evaluation of the antioxidant properties of garlic and shallot preparations. *Nutr* 22: 266–274.
- Li, Z., S.M. Henning, Y. Zhang, A. Zerlin, L. Li, K. Gao, R.P. Lee, H. Karp, G. Thames, S. Bowerman, D. Heber. 2010. Antioxidant-rich spice added to hamburger meat during cooking results in reduced meat, plasma, and urine malondialdehyde concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.* 91:1180–1184.
- Lioe. H. N., M. Astawan, S. Usmiati, & T. Suryati. 2011. Penggunaan Bumbu dan Teknik Preparasi pada Dendeng Sapi untuk Mempertahankan Mutu dan

Mereduksi Senyawa Berbahaya Nitrosamin. Laporan Hasil Penelitian KKP3T. IPB-Deptan.

- Liu, C.Y., Y.H. Hsu, M.T. Wu, P.C. Pan, C.K. Ho, L. Su, X. Xu, Y. Li, & D.C. Christiani (The Kaohsiung Leukemia Research Group). 2009. Cured meat, vegetables, and bean-curd foods in relation to childhood acute leukemia risk: A population based case-control study. *BMC Cancer* 9:15.
- Mahae, N. & S. Chaiseri. 2009. Antioxidant activities and antioxidative components in extracts of *Alpinia galanga* (L.) Sw. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 43 : 358 – 369.
- Maideen, N.M.P., R. Velayutham, & G. Manavalan. 2011. role of *prosopis cineraria* against N-nitrosodiethylamine-induced liver tumor in rats with reference to marker enzymes and nucleic acid contents. *Bangladesh J. Pharmacol.* 6:128-132.
- Margono, T., D. Suryati, & S. Hartinah. 1993. *Buku Panduan Teknologi Pangan*. Pusat Informasi Wanita dalam Pembangunan. PDII-LIPI bekerjasama dengan Swiss Development Cooperation, PDII-LIPI, Jakarta. Dalam: Esti & Haryanto. Kantor Deputi Menergristek Bidang Pendayagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan Teknologi. <http://www.ristek.go.id>. [23 Oktober 2009].
- Martin, M. 2001. Meat curing technology. Di dalam: Y. H. Hui, W.K. Nip, R. W. Rogers, & O. A. Young, Editor. *Meat Science and Applications*. Marcel-Dekker, Inc., New York.
- Martínez, L., I. Cilla, J.A. Beltrán, & P. Roncalés. 2006. Effect of *Capsicum annuum* (red sweet and cayenne) and *Piper nigrum* (black and white) pepper powders on the shelf life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *J. of Food Sci.* 71(1):S48-S53.
- Midura, T.F., G.S. Nygaard, R.M. Wood, & H.L. Bodily. 1972. *Clostridium botulinum* type f: isolation from venison jerky. *Appl Microbiol* 24(2):165-167.
- Morrissey, P.A. & J.Z. Techivangana. 1985. The antioxidant activities of nitrite and nitrosylmyoglobin in cooked meats. *Meat Sci.* 14:175–190.
- Morsy, A.F.M., H.S. Ibrahim, & M. A. Shalaby. 2010. Protective effect of broccoli and red cabbage against hepatocellular carcinoma induced by N-nitrosodiethylamine in rats. *Journal of American Science* 6(12):1136-1144.
- Muliandi. 1994. Aplikasi kinetika Arrhenius untuk pendugaan umur simpan dendeng sapi giling. Skripsi. Fateta IPB, Bogor.
- Muchtadi D. 1987. Studies "dendeng", an Indonesia traditional preserved meat product. II. nutritional value and mutagenic effect by bioassay. *Forum Pascasarjana* 10(2):1-10.
- Nummer, B.A., J.A. Harrison, M.A. Harrison, P. Kendall, J.N. Sofos, & E.L. Andress. 2004. Effects of Preparation Methods on the Microbiological Safety of Home-Dried Meat Jerky. Review. *J. Food Prot.* 67(10):2337–2341.
- Okafor, P.N., O. Nwosu, J. Chukwu, J. Agbayi, & E.N. Maduagwu. 2007. Occurrence of malondialdehyde and N- nitrosamines and their precursors in some Nigerian ice creams, yogurts, meat and fish species. *Afr. Biochem. Res.* 1 (1):001-005.

- Okolie, N.P., M.O. Akioyamen, N. Okpoba and C. Okonkwo. 2009. Malondialdehyde levels of frozen fish, chicken and turkey on sale in Benin City markets. *Afr. J. Biotechnol.* 8(23):6638-6640.
- Omaye, S. T. 2004. *Food and Nutritional Toxicology*. CRC Press, Boca Raton.
- Parnaud, G., B. Pignatelli, G. Peiffer, S. Tache, & D.E. Corpet. 2000. Endogenous N-nitroso compound, and their precursors, present in bacon, do not initiate or promote aberrant crypt foci in the colon of rat. *Nutr. Cancer* 38(1):74-80.
- Purnomo, H. 1987. Aspects of the stability of intermediate moisture meat. Dissertation. University of New South Wales, New South Wales.
- Rana, P., S. Vadhera and G. Soni. 2004. In vivo antioxidant potential of rice bran oil (RBO) in albino rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 48(4):428-436.
- Reinik, M. 2007. Nitrate, nitrite, n-nitrosamines and polycyclic aromatic hydrocarbons in food: analytical methods, occurrence, and dietary intake. Dissertation. Tartu University, Estonia.
- Rostkowska, K., K. Zwierz, A. Rozanski, J. Moniuszko-Jakoniuk, and A. Roszczenko. 1998. Formation and metabolism of N-nitrosamines. *Polish J. of Environ. Studies* 7(6): 321-325.
- Rywotycki, R. 2002. The effect of selected functional additives and heat treatment on nitrosamine content in pasteurized pork ham. *Meat Sci.* 60:335–339.
- Santarelli, R. L., F. Pierre, and D.E. Corpet. 2008. Processed meat and colorectal cancer: a review of epidemiologic and experimental evidence. *Nutr. Cancer* 60(2): 131–144.
- Sebranek, J.G. & J.N. Bacus. 2007. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issue? *Meat Sci* 77:136-147.
- Setiawaty, E. 1985. Mempelajari beberapa sifat protein dendeng sapi. Skripsi. Fateta IPB, Bogor.
- Shahidi, F. & U.N. Wanasundara. 2002. *Methods for Measuring Oxidatives Rancidity in Fats and Oils*. In: Akoh CC, Min DB, editors. *Food Lipids. Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. 2nd ed. Marcel Dekker, New York. pp.465-483.
- Shamberger, R.J., B.A. Shamberger and C.E. Willis. 1977. Malonaldehyde content of Food. *J. Nutr.* 107: 1404-1409.
- Singh, R.P., K. N. Chidambara Murthy, & G. K. Jayaprakasha. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *J. Agric. Food Chem* 50: 81-86.
- Soemardji AA. 2007. *Tamarindus Indica* L. Or “Asam Jawa” : The sour but sweet and useful. Visiting Professor of The Institute of Natural Medicine. University of Toyama – Japan. (July – September 2007).
- Soputan, J.E.M. 2000. Perubahan mutu dendeng sapi selama penyimpanan pada suhu kamar. Tesis. UNSRAT, Manado.

- Sriwahyuni, B. 1986. Mempelajari pengaruh penambahan natrium bisulfit dan sendawa terhadap mutu dendeng sapi selama penyimpanan. Skripsi. Fateta IPB, Bogor.
- Sundaresan, S. and P. Subramanian. 2003. S-allylcysteine inhibits circulatory lipid peroxidation and promotes antioxidants in n-nitrosodiethylamine-induced carcinogenesis. *Pol. J. Pharmacol.* 55:37–42.
- Suryati, T., Komariah, Jakaria, S. Darwati, & H. Nuraini. 2005. Perubahan-perubahan protein yang diakibatkan oleh proses pengolahan pada daging sapi, domba, dan ayam. Laporan Penelitian Program Hibah Kompetisi A2 Jurusan Ilmu Produksi Ternak, Fakultas Peternakan IPB. Bogor: IPT Fapet IPB.
- Suryati, T, M.Astawan, H. N. Lioe, & T.Wresdiyati, 2012. Curing Ingredient, Characteristic, Total Phenolic, and Antioxidant Activity of Commercial *Dendeng*. *Med. Pet.* 35(2):111-116.
- Tangkanakul, P., P. Auttaviboonkul, B. Niyomwit, N. Lowvitoon, P. Charoenthamawat, & G. Trakoontivakorn. 2009. Antioxidant capacity, total phenolic content and nutritional composition of Asian foods after thermal processing. *Intern Food Res J* 16: 571-580.
- The Jerky FAQ. 2007. Jerky Making Methods. The Jerky FAQ. <http://www.jerkyfaq.com>. [5 Pebruari 2010].
- Toldra, F., M.C. Aristoy, & M. Flores. 2009. Relevance of nitrate and nitrite in dry-cured ham and their effects on aroma development. *Grasas Y Aceites*, 60 (3): 291-296 (Special Issue).
- [USDA-FSIS] U.S. Department of Agriculture–Food Safety and Inspection Service. 2007. Quick Guide on Processing Jerky and Compliance Guideline for Meat and Poultry Jerky Produce by Small and Very Small Plants. USDA-FSIS, Washington, D.C. http://www.fsis.usda.gov/pdf/compliance_guideline_jerky.htm. [4 Pebruari 2010].
- Vann, D.G. & C.A.M. DeWitt. 2007. Evaluation of solubilized proteins as an alternative to phosphates for meat enhancement. *J. Food Sci.* 72(1):C72-C77.
- Walubo, A., C. Coetsee and A.M. Badenhorst. 2004. Effect of the South African traditional meat, biltong, on cancer-associated enzymes CYP2E1 and CYP1A2. *SAMJ* 94(11): 903-905.
- Wijeratne, S.S.K., S.L. Cuppett, and V. Schlegel. 2005. Hydrogen peroxide induced oxidative stress damage and antioxidant enzyme response in Caco-2 human colon cells. *J. Agric. Food Chem.* 53: 8768-8774.
- Wong, S.P., L.P. Leong, & J.H.W. Koh. 2005. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. doi:10.1016/j.foodchem.2005.07.058.
- Yurencho, S. and U. Molder. 2007. The occurrence of volatile N-nitrosamines in Estonian meat products. *Food Chem.* 100:1713–1721.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Foto Proses Pembuatan Dendeng



**Proses Curing dengan Larutan
Garam Nitrit**



Proses Pembumbuan



Proses Pengeringan



**Dendeng Setelah Proses
Pembalikan**



Pengemasan Dendeng

Lampiran 2. Foto Proses Pembuatan Ransum Percobaan



**Proses Perendaman Dendeng
Sebelum Penggorengan**



Proses Penggorengan Dendeng



Dendeng Setelah Penggorengan



**Dendeng Setelah Penepungan
dengan *Freeze Drying***



**Ransum Percobaan dengan
Dendeng Sebagai Sumber Protein**

Lampiran 3. Foto Kegiatan Pemeliharaan Hewan Percobaan



a. Pemantauan Suhu dan Kelembaban Kandang dengan Menggunakan Termometer Bola Basah-Bola Kering



b. Suasana Kandang Percobaan

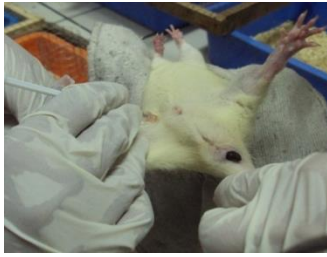


c. Penimbangan Sisa Pakan



d. Penggantian Pakan

Lampiran 4. Foto Proses Sampling Darah dan Organ Hewan Percobaan



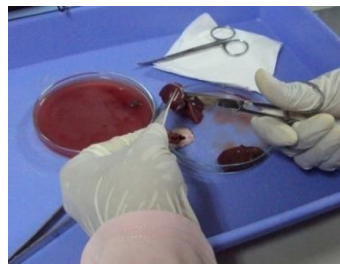
a. Pemberian Anastesi



e. Pencucian Organ dalam NaCl Fisiologis



b. Pengambilan Darah dari Jantung



f. Proses Trimming Organ Hati dan Ginjal



c. Penampungan Darah ke dalam Tabung Berheparin



g. Penimbangan Organ Hati dan Ginjal

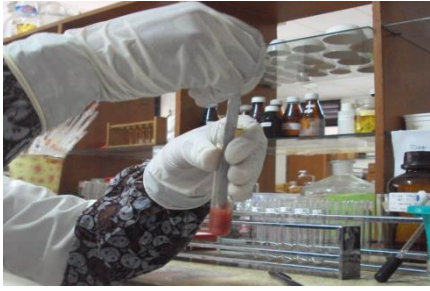


d. Pembedahan dan Pengeluaran Darah dari Jantung



h. Proses Fiksasi Jaringan Organ dengan Larutan Bouin

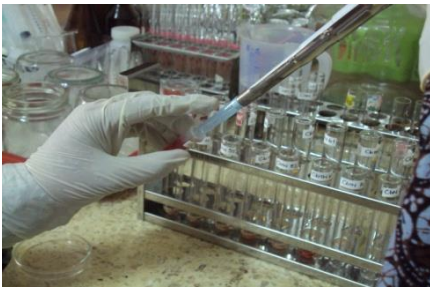
Lampiran 5. Foto Kegiatan Analisis Laboratorium



a. Pembuatan Homogenat Hati dan Ginjal untuk Analisis MDA, Katalase dan SOD



d. Penyiapan Supernatan untuk Analisis MDA



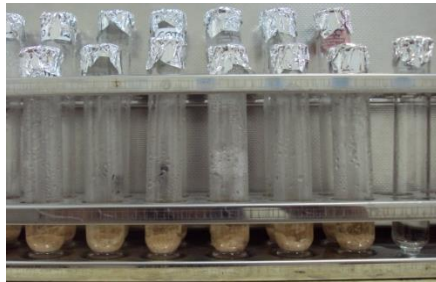
b. Penyiapan Supernatan untuk Analisis SOD



e. Pemanasan sampel dalam Waterbath pada Analisis MDA



c. Reaksi Warna Biru Formazan pada Analisis SOD



f. Reaksi Warna Merah Muda pada Analisis MDA



g. Spektrofotometer yang Digunakan pada Analisis MDA, Katalase dan SOD

Lampiran 6. ANOVA Hasil Analisis MDA, Enzim Katalase dan Superoksida Dismutase

1. ANOVA untuk MDA Plasma

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	7.0247	1.75618	4.70	0.0046
Error	30	11.2212	0.37404		
Total	34	18.2459			

Grand Mean 4.9651 CV 12.32

2. ANOVA untuk MDA Hati (Transformasi)

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	75.881	18.9703	5.02	0.0032
Error	30	113.303	3.7768		
Total	34	189.184			

Grand Mean 21.345 CV 9.10

3. ANOVA untuk MDA Ginjal (Transformasi)

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	2514.27	628.567	2.61	0.0551
Error	30	7218.05	240.602		
Total	34	9732.32			

Grand Mean 45.590 CV 34.02

4. ANOVA untuk Aktivitas Katalase Ginjal (Transformasi)

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	32.497	8.12432	1.13	0.3623
Error	30	216.208	7.20693		
Total	34	248.705			

Grand Mean 51.916 CV 5.17

5. ANOVA untuk Aktivitas Katalase Hati (Transformasi)

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	72.030	18.0074	2.47	0.0661
Error	30	218.852	7.2951		
Total	34	290.882			

Grand Mean 36.884 CV 7.32

6. ANOVA untuk Aktivitas SOD Hati (Transformasi)

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	83.030	20.7575	22.9	0.0000
Error	28	25.326	0.9045		
Total	32	108.356			

Grand Mean 13.532 CV 7.03

7. ANOVA untuk Aktivitas SOD Ginjal (Transformasi)

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	73.914	18.4786	6.86	0.0005
Error	30	80.861	2.6954		
Total	34	154.775			

Grand Mean 15.906 CV 10.32

Lampiran 7. Uji Tukey Data Hasil Analisis MDA, Enzim Katalase dan Superoksida Dismutase

1. Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of MDA HATI Perlakuan

Mean Homogeneous Groups

3	10.333	A
1	9.8714	A
2	9.7371	A
4	8.8171	AB
5	7.6357	B

2. Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of MDA Plasma

Perlakuan Mean Homogeneous Groups

5	5.7471	A
4	5.1200	AB
1	4.8557	AB
3	4.6343	B
2	4.4686	B

3. Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of MDA Ginjal

Perlakuan Mean Homogeneous Groups

3	21.566	A
2	19.830	AB
5	19.723	AB
4	19.317	AB
1	17.203	B

4. Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Katalase Ginjal

Perlakuan Mean Homogeneous Groups

5	97.969	A
2	89.724	A
4	86.556	A
3	85.299	A
1	77.216	A

5. Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Katalase Hati

Perlakuan Mean Homogeneous Groups

4	89.939	A
2	87.830	A
3	78.691	A
5	67.333	AB
1	54.556	B

6. Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of SOD Hati Perlakuan

Mean Homogeneous Groups

4	45.301	A
2	39.867	A
3	37.197	A
5	32.930	A
1	15.228	B

7. Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of SOD Ginjal

Perlakuan Mean Homogeneous Groups

4	23.369	A
5	22.477	A
1	18.064	AB
3	17.220	AB
2	12.706	B

Lampiran 8. ANOVA Data Performans Hewan Percobaan

1. ANOVA untuk PBBH (Transformasi)

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	2748.73	687.183	3.95	0.0109
Error	30	5225.20	174.173		
Total	34	7973.93			

Grand Mean 19.226 CV 68.64

2. ANOVA untuk Konsumsi (Transformasi)

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	39135.6	9783.89	5.47	0.0020
Error	30	53632.2	1787.74		
Total	34	92767.8			

Grand Mean 50.419 CV 83.86

3. ANOVA untuk Konversi Ransum

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	2.47829	0.61957	3.92	0.0113
Error	30	4.74571	0.15819		
Total	34	7.22400			

Grand Mean 3.3400 CV 11.91

4. ANOVA untuk Persentase Berat Ginjal

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	0.01280	0.00320	0.54	0.7052
Error	30	0.17671	0.00589		
Total	34	0.18951			

Grand Mean 0.7471 CV 10.27

5. ANOVA untuk Persentase Berat Hati

Source	DF	SS	MS	F	P
Perlakuan	4	0.87611	0.21903	0.89	0.4841
Error	30	7.41434	0.24714		
Total	34	8.29046			

Grand Mean 4.2557 CV 11.68

Lampiran 9. Uji Tukey Data Performans Hewan Percobaan

1. Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of PBBH

Perlakuan	Mean	Homogeneous Groups
1	5.8286	A
2	5.0714	AB
5	4.8000	AB
3	4.5143	B
4	4.1714	B

2. Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Konsumsi

Perlakuan	Mean	Homogeneous Groups
1	18.457	A
5	16.357	AB
3	15.600	B
4	15.157	B
2	14.943	B

3. Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Konversi Ransum

Perlakuan	Mean	Homogeneous Groups
4	3.6857	A
3	3.4857	AB
5	3.4429	AB
1	3.1571	AB
2	2.9286	B

4. Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Persentase Berat Ginjal

Perlakuan	Mean	Homogeneous Groups
3	0.7743	A
4	0.7629	A
5	0.7429	A
2	0.7343	A
1	0.7214	A

5. Tukey HSD All-Pairwise Comparisons Test of Persentase Berat Hati

Perlakuan	Mean	Homogeneous Groups
5	4.5386	A
4	4.2700	A
2	4.2557	A
3	4.1271	A
1	4.0871	A

Lampiran 10. Personalia Tim Penelitian

Nama Lengkap dan Gelar	Posisi	Gol/pangkat dan NIP	Jabatan Struktural/fungsional	Bidang Keahlian	Alokasi Waktu (jam /minggu)
Tuti Suryati, S.Pt., M.Si.	Peneliti Utama	III-C/Penata 197205161997022001	-/ Lektor	Teknologi Hasil Ternak	10
Zakiah Wulandari, S.Tp., M.Si.	Peneliti	III-C/Penata 197502071998022001	-/ Lektor	Teknologi Hasil Ternak	6
Devi Murtini, S.Pt.	Teknisi			Teknologi Hasil Ternak	8

B. DRAF ARTIKEL ILMIAH

**KEAMANAN KONSUMSI DENDENG SAPI YANG DIBUAT DENGAN
FORMULASI DAN TEKNIK PREPARASI YANG MAMPU MEREDUKSI
RESIDU NITRIT DAN SENYAWA MALONALDEHIDA**

(Beef Dendeng Consumption Safety Made with Formulation and Preparation Technique
That Could Reduce Nitrite Residue and Malonaldehyde Compound)

Tuti Suryati¹⁾, Zakiah Wulandari¹⁾

¹⁾ Dep. Ilmu Produksi dan Teknologi Peternakan, Fakultas Peternakan IPB

ABSTRAK

Residu nitrit, senyawa malonaldehida dan nitrosamin dapat terbentuk pada dendeng. Tujuan penelitian adalah menguji keamanan *in vivo* dendeng hasil modifikasi (formulasi dan teknik preparasi). Pengujian dilakukan dengan menggunakan tikus percobaan yang diberi perlakuan dendeng (tanpa *curing* dan dengan *curing* menggunakan NaNO₂) sebagai sumber protein yang dibandingkan dengan daging sapi sebagai kontrol. Perlakuan pakan diberikan selama 42 hari dan dikombinasikan dengan induksi stres oksidatif menggunakan senyawa nitrosodietilamin (NDEA). Hasilnya menunjukkan bahwa baik dendeng *curing*, maupun tanpa *curing* tidak menghasilkan perubahan berat organ hati dan ginjal, dengan konversi ransum yang tidak berbeda dengan kontrol. Konsumsi dendeng tidak menghasilkan kadar MDA yang lebih tinggi daripada kontrol, bahkan meningkatkan aktivitas enzim katalase dan SOD pada hati. Dendeng *curing* menghasilkan tingkat kerusakan sel hati dan ginjal yang mendekati kerusakan akibat induksi dengan NDEA. Dapat disimpulkan bahwa dendeng modifikasi pada penelitian ini aman digunakan sebagai sumber protein, namun untuk dendeng *curing* memiliki resiko terhadap penyakit degeneratif pada hati dan ginjal jika dikonsumsi secara terus menerus dan dalam jangka waktu yang lama.

Kata kunci: keamanan dendeng sapi, residu nitrit, malonaldehida.

ABSTRACT

Nitrite residual, malonaldehyde and nitrosamine compound could be formed in dendeng. The objective of this research was to evaluate the *in vivo* safety of modified dendeng (formulation and preparation technique). The evaluation used rats as animal model fed ration containing dendeng (with or without curing used NaNO₂) as proteins source as compared to beef as control. The feed treatment was conducted for 42 days and combined with stress oxidative induce used nitrosodietilamin (NDEA). The result showed that the non-cured and cured dendeng didn't change liver and kidneys weight, with ration conversion were not different from control. Dendeng consumption didn't produce MDA level that higher than control, indeed increased liver katalase and SOD activation. Cured dendeng resulted liver and kidneys cell injury close on injury level of liver and kidneys resulted in NDEA induce. The conclusion, dendeng modified in this research was safe as proteins source, but the cured dendeng had risk on liver and kidneys degenerative diseases if was consumed continuously for long time.

Keywords: safety of beef dendeng, nitrite residue, malonaldehyde.

PENDAHULUAN

Dendeng merupakan salah satu produk industri hilir bidang peternakan yang berpotensi mengandung senyawa berbahaya, terutama residu nitrit, nitrosamin dan malonaldehida, jika proses pengolahannya tidak dilakukan dengan tepat. Proses pembuatan dendeng pada tingkat produksi komersial umumnya diberi penambahan garam nitrat atau nitrit untuk menghasilkan warna merah, selain berfungsi sebagai pengawet. Penggunaan nitrit dapat menghasilkan senyawa nitrosamin yang bersifat toksik, mutagenik dan karsinogenik (Sundaresan dan Subramania, 2003; Santarelli *et al.*, 2008; Ahmad *et al.*, 2009; Liu *et al.*, 2009; Kujawska *et al.*, 2009; Kujawska *et al.*, 2010; Morsy *et al.*, 2010), sehingga faktor keamanannya perlu diperhatikan. Pembentukan senyawa nitrosamin terjadi karena adanya prekursor asam amino dan nitrit. Nitrit, selain berasal dari penambahan dalam bentuk garam nitrit secara langsung, dapat pula terbentuk dari reduksi nitrat yang dikenal sebagai sendawa (kalium nitrat). Nitrit kemudian membentuk *nitrosating agent* (N_2O_3), yang selanjutnya dapat bereaksi dengan senyawa amin membentuk nitrosamin (Rotskowska *et al.*, 1998). Pembentukan nitrosamin semakin meningkat akibat adanya pemanasan (Yurchenko dan Molder, 2007). Selain itu nitrosamin dapat pula terbentuk pada saluran pencernaan yang didukung kondisi asam dari lambung (Honikel, 2008).

Senyawa lain yang dapat dihasilkan selama pengolahan dendeng adalah malonaldehida (MDA) yang merupakan produk reaksi oksidasi lipida (Legowo *et al.*, 2002). Senyawa MDA berkorelasi dengan tingkat ketengikan, semakin tinggi jumlahnya maka produk semakin tercium bau tengik. Seperti halnya nitrosamin, MDA bersifat toksik, genotoksik dan mutagenik (Shamberger *et al.*, 1977; Li *et al.*, 2010), karena dapat bereaksi dengan DNA membentuk DNA *adduct* (Omaye, 2004). Selain itu MDA juga dapat terbentuk di dalam tubuh akibat reaksi oksidasi lipida oleh senyawa radikal bebas yang terdapat dalam tubuh. Keberadaan senyawa radikal bebas tersebut akan mempengaruhi aktivitas enzim antioksidan tubuh, seperti superoksida dismutase (SOD) dan katalase.

Meskipun proses pembuatan dendeng sangat potensial menghasilkan senyawa yang berbahaya, namun penambahan bumbu yang banyak mengandung antioksidan dapat menghambat pembentukan senyawa berbahaya tersebut. Jenis dan komposisi bumbu yang ditambahkan dalam pembuatan dendeng dapat berbeda, tetapi ciri khas

rasa dendeng yang umum terdapat di pasaran wilayah pulau Jawa adalah rasa manis dan aroma ketumbar yang dominan. Bumbu yang ditambahkan menurut Suryati *et al.* (2012) umumnya berupa garam, gula merah, bawang putih, ketumbar, lengkuas, asam jawa dan merica.

Modifikasi komposisi penggunaan bumbu yang dikombinasikan dengan teknik perendaman dalam air sebelum penggorengan, pada penelitian sebelumnya (penelitian tahap II) terbukti dapat menghambat pembentukan senyawa MDA dan mereduksi residu nitrit hingga pada taraf yang tidak dapat dideteksi. Selanjutnya penelitian ini (tahap III), yang merupakan lanjutan dari penelitian sebelumnya, melakukan pengujian keamanan konsumsi dendeng sapi secara *in vivo* dengan menggunakan tikus sebagai hewan percobaan. Dendeng sapi yang dibuat dengan menggunakan metode dan formulasi bumbu terpilih pada tahap II digunakan sebagai pakan perlakuan sumber protein tikus pada tahap III. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji secara *in vivo* keamanan konsumsi dendeng sapi hasil modifikasi.

METODE PENELITIAN

Prosedur Pembuatan dan Penyiapan Dendeng Sapi

Daging yang digunakan untuk pembuatan dendeng adalah daging sapi beku yang sudah disegarkan kembali. Daging berasal dari sapi dengan bangsa persilangan Australia, umur sekitar 2 tahun, jenis kelamin jantan dan bagian daging paha belakang. Komposisi dan prosedur pembuatan dendeng mengikuti Lioe *et al.* (2011). Formulasi dendeng yang dibuat ada dua yaitu yang menggunakan penambahan natrium nitrit dengan teknik *curing* basah (dendeng *curing*) dan tanpa penambahan natrium nitrit (dendeng tanpa *curing*). Larutan *curing* dibuat dengan melarutkan sebanyak 150 mg/kg daging yang kemudian dilarutkan dengan 1 liter air.

Dendeng yang digunakan sebagai bahan pakan sebelum digoreng dipreparasi dengan perendaman dalam air selama 5 menit, kemudian ditiriskan dan didiamkan selama minimal 15 menit. Penggorengan dilakukan pada suhu minyak 150 °C selama 1,5 menit dalam kondisi terendam minyak. Minyak hanya digunakan untuk dua kali penggorengan dengan volume 2 liter untuk menggoreng sekitar 300 g dendeng. Sampel kemudian dikemas dan disimpan dalam *freezer* dengan suhu -10 °C, hingga digunakan untuk bahan pembuatan ransum.

Pembuatan Ransum Percobaan

Ransum percobaan diformulasi dengan mengikuti prosedur AOAC (2005) dengan menggunakan kadar protein ransum sebesar 20%. Komposisi ransum dibuat seperti pada Tabel 2. Tepung daging sebagai bahan protein ransum kontrol diperoleh dengan mengeringkan daging segar sejumlah 10 kg dengan metode *freeze drying* yang kemudian dibuat menjadi tepung. Dendeng perlakuan yang sudah digoreng dibuat tepung dengan cara yang sama seperti membuat tepung daging.

Tabel 1. Komposisi Ransum dengan Sumber Protein Kasein, Daging, Dendeng Tanpa *Curing* dan Dendeng *Curing* Basah

Bahan Pakan (%)	Sumber Protein Ransum			
	Kasein (Standar)	Tepung Daging	Tepung Dendeng Tanpa <i>Curing</i>	Tepung Dendeng <i>Curing</i> Basah
Sumber Protein	24,6	30,8	67,0	70,2
Minyak Jagung	7,6	5,7	2,3	2,2
Mineral Mix	4,8	3,5	2,0	2,0
Vitamin Mix	1,5	1,5	1,5	1,5
Selulosa	1,0	-	-	-
Air	2,7	2,0	1,0	0,9
Pati Jagung	57,8	57,1	27,4	24,5

Keterangan:* AOAC (2005) yang dimodifikasi pada jumlah protein

Prosedur Pemeliharaan, Perlakuan dan Pengambilan Sampel pada Hewan Percobaan

Prosedur pemeliharaan, perlakuan dan sampling pada penelitian ini telah mendapat persetujuan dari Tim Komisi Bioetik IPB. Tikus yang digunakan adalah tikus strain Sprague Dawley dengan umur lepas sapih berjumlah 35 ekor. Tikus dikandangkan secara individual yang dikondisikan pada suhu 24 ± 2 °C, dengan pencahayaan 12 jam terang dan 12 jam gelap. Tikus dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok berjumlah 7 ekor. Perlakuan yang diberikan adalah ransum dengan sumber protein berbeda (kandungan protein ransum 20%) dan induksi stres oksidatif dengan menggunakan senyawa nitrosamin NDEA. Kelompok tersebut meliputi:

- 1) kelompok dengan sumber protein daging segar yang dikeringbekukan dan tanpa perlakuan induksi NDEA (kelompok kontrol/K);
- 2) kelompok dengan dendeng tanpa *curing* dengan nitrit, dan tanpa induksi dengan NDEA (C0TN);
- 3) kelompok dengan dendeng II tanpa *curing* dengan nitrit, dan diberi perlakuan induksi dengan NDEA (C0N);
- 4) kelompok dengan dendeng yang di-*curing* dengan nitrit, dan tanpa induksi dengan NDEA (CbTN);
- 5) kelompok dengan dendeng yang di-*curing* dengan nitrit, dan diberi perlakuan induksi dengan NDEA (CbN) .

Adaptasi tikus dilakukan selama 5 hari pada awal penelitian dengan pemberian ransum standar dengan sumber protein kasein untuk semua kelompok. Tikus kemudian diberi pakan perlakuan selama 42 hari (enam minggu). Dua minggu pertama setelah pemberian ransum perlakuan, kelompok tikus yang mendapat perlakuan induksi NDEA, diinjeksi NDEA secara intraperitoneal sebanyak 200 mg/kg bobot badan. Pemberian ransum dan air minum dilakukan *ad libitum*. Bobot tikus ditimbang setiap minggu, sedangkan jumlah ransum ditimbang setiap 2 hari sekali.

Tikus pada akhir percobaan (4 minggu setelah induksi NDEA) dianasthesi dengan ketamin dan xylazine, kemudian darah diambil dari jantung dengan syringe dan ditampung dengan menggunakan tabung uji yang mengandung heparin. Tikus kemudian dibedah dan dikeluarkan semua darahnya dengan merobek ventrikel kiri jantung, setelah hewan mati diambil organ targetnya (ginjal dan hati). Sampel organ dibilas dengan larutan NaCl fisiologis, dan organ ginjal dan hati kemudian ditimbang. Sebagian jaringan organ hati dan ginjal organ diambil dan disimpan pada suhu -25 °C untuk analisis secara biokimia, sisanya difiksasi dalam larutan bouin untuk pengujian secara histologis.

Prosedur Pengujian

- 1. Penampilan Hewan Percobaan.** Penampilan hewan percobaan diamati melalui konsumsi ransum, pertambahan bobot badan dan konversi ransum.
- 2. Pengukuran Berat Organ.** Ginjal dan hati pada akhir percobaan, setelah pembedahan, ditimbang. Berat organ kemudian dikonversi terhadap bobot badan

sehingga dinyatakan dalam satuan g berat organ/100 g berat badan. Berat organ diukur untuk melihat kelainan pada organ akibat perlakuan.

3. **Analisis MDA.** Pengukuran MDA dilakukan dengan metode pengujian *tiobarbituric acid reactive substances* (TBARS). Preparasi plasma dilakukan mengikuti prosedur Kujawska *et al.* (2009). Darah yang terkumpul disentrifugasi pada 3000 rpm dengan suhu 4°C selama 15 menit untuk mendapatkan plasma darah. Sampel organ hati atau ginjal sebanyak 1,25 g dicacah dalam kondisi dingin dalam 5 ml PBS (phosphate buffer saline) yang mengandung 11,5 g KCl/L. Homogenat yang dihasilkan disentrifugasi pada 4500 rpm selama 10 menit. Analisis dilakukan sesuai prosedur yang dilakukan Singh *et al.* (2002) dengan modifikasi pada penghitungan bilangan TBA, yaitu dengan menggunakan senyawa tetraetoksipropena (TEP) sebagai standar pada konsentrasi bertingkat (2, 4, 6, 8 dan 10 µM).
4. **Analisis SOD.** Sampel organ sebanyak 1,25 g dicacah dan dihancurkan dalam kondisi dingin dalam 5 ml PBS (phosphate buffer saline) yang mengandung 11,5 g KCl/L. Homogenat kemudian disentrifugasi pada 10.000 rpm; 4 °C selama 15 menit. Analisis kemudian dilakukan mengikuti prosedur Kubo *et al.* (2002) yang dimodifikasi pada penggunaan aktivitas dan waktu inkubasi enzim xantin oksidase yang ditambahkan sebelum pengukuran dengan spektrofotometer. Prinsip pengujian adalah mengukur kapasitas menangkap radikal anion superoksida yang dihasilkan secara enzimatik oleh sistem xantin-xantin oksidase. Prosedur analisis diawali dengan mereaksikan 0,06 ml supernatan hati atau ginjal dengan: 2,70 ml buffer Na₂CO₃ 40 mM yang mengandung 0,1 mM EDTA (pH 10), 0,06 ml xantin 10 mM, 0,03 ml BSA 0,5%, 0,03 ml nitroblue tetrazolium (NBT) 2,5 mM. Selanjutnya dilakukan penambahan 0,12 ml xantin oksidase (0,04 Unit/mg protein yang diencerkan 20 kali dengan PBS). Absorbansi diukur setelah 40 menit pada λ=560 nm. Penentuan aktivitas enzim SOD dilakukan mengikuti metode Wijerata *et al.* (2005). Sebagai kontrol digunakan larutan yang digunakan dalam preparasi organ (PBS + KCl). Aktivitas SOD (%) dihitung mengikuti persamaan berikut:

$$[1-(A/B)] \times 100 \quad ; \quad \begin{array}{l} A = \text{absorbansi larutan sampel;} \\ B = \text{absorbansi larutan kontrol.} \end{array}$$

5. Analisis Katalase. Preparasi sampel dilakukan seperti untuk analisis SOD. Analisis aktivitas katalase dilakukan mengikuti prosedur Iwai *et al.* (2002) yang dimodifikasi sesuai dengan ukuran kuvet spektrofotometer yang digunakan. Aktivitas katalase diukur berdasarkan reduksi H₂O₂. Sebanyak 0,125 ml supernatan sampel organ ditambahkan ke dalam 0,5 ml buffer kalium fosfat (pH 7,0) yang mengandung 10 mM H₂O₂ dalam kuvet kuarsa. Perubahan absorbansi pada $\lambda=240$ nm dicatat setiap 15 detik selama 1 menit. Aktivitas katalase dihitung dengan menggunakan data kemiringan (slope) kurva absorbansi larutan sampel (SL) maupun blanko (SLb) dengan persamaan:

$$\text{Aktivitas katalase (U/ml)} = \frac{(\text{SL}-\text{SLb})}{0,0436} \times \frac{0,5}{0,125}$$

6. Pembuatan dan Pengamatan Preparat Jaringan dan Pengujian Enzim Antioksidan secara Imunohistokimia (Kiernan, 1990). Prosedur pembuatan preparat jaringan dilakukan untuk memperoleh gambaran morfologi umum sel ginjal dan hati dengan menggunakan teknik pewarnaan HE (hematoksilin-eosin).

Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap dengan 5 perlakuan kombinasi ransum dengan induksi NDEA yang berbeda (Kontrol; C0TN; C0N; CbTN; dan CbN). Ulangan yang digunakan sebanyak 7 kali. Data dianalisis dengan sidik ragam dan perbedaan nilai tengah dianalisis dengan uji Tukey.

HASIL DAN PEMBAHASAN

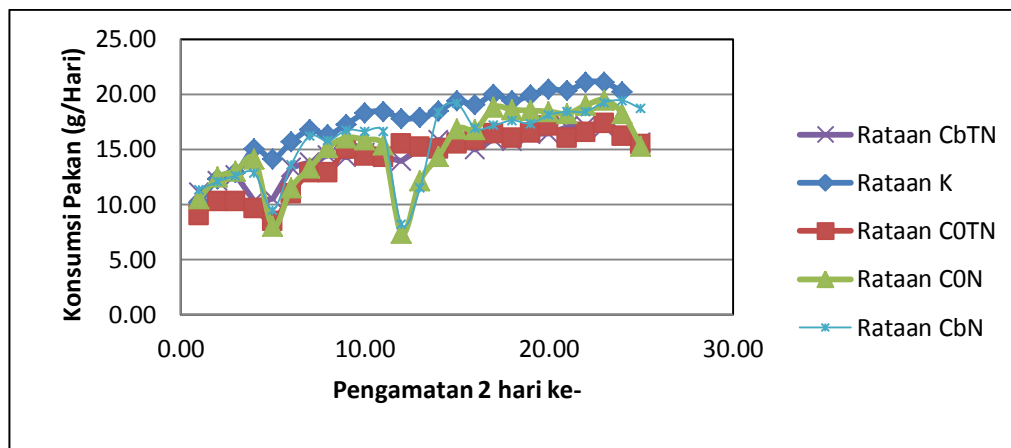
Penampilan Hewan Percobaan

Konsumsi harian kelompok tikus yang diberi ransum yang mengandung tepung daging segar (kelompok kontrol) dari awal hingga akhir perlakuan adalah paling tinggi (Gambar 1). Hal tersebut sejalan dengan data pertambahan bobot badan. Tikus yang mendapat ransum kontrol memiliki bobot badan yang lebih tinggi daripada 4 kelompok tikus yang mendapat ransum dendeng sebagai sumber protein (Gambar 2). Data tersebut didukung data pada Tabel 3 yang menunjukkan bahwa rata-rata konsumsi ransum tidak berbeda di antara kelompok tikus yang mendapat ransum dengan sumber protein dendeng, baik yang diinduksi, maupun tanpa induksi NDEA. Namun demikian rata-rata

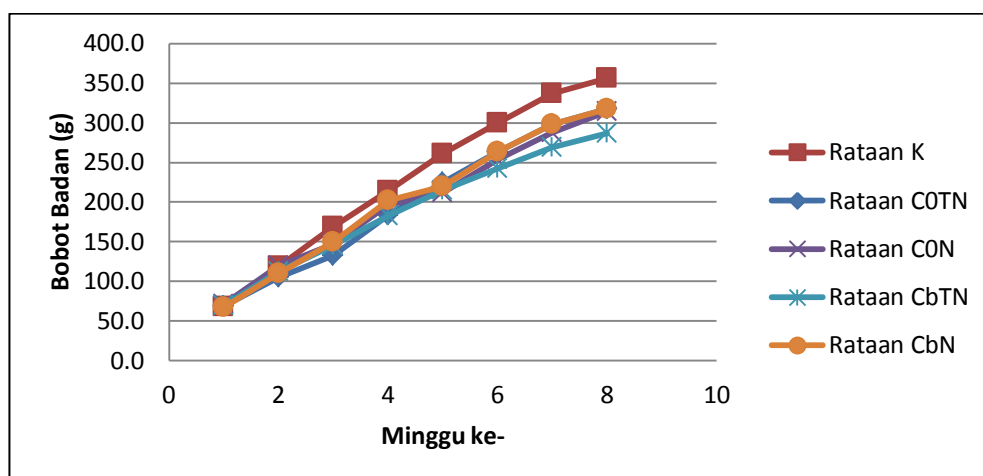
konsumsi ke-4 kelompok perlakuan tersebut nyata lebih rendah dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan bahwa ransum dengan sumber protein daging segar memiliki palatabilitas yang lebih tinggi dibandingkan ransum dengan sumber protein dendeng pada hewan percobaan. Faktor penyebab lebih rendahnya palatabilitas ransum dengan sumber protein dendeng dibanding daging adalah karena flavor bumbu dan rasa manis dendeng yang kuat yang kemungkinan menjadi faktor pembatas kesukaan tikus terhadap ransum tersebut.

Ransum pada kelompok kontrol memiliki konversi ransum yang tidak berbeda dengan keempat kelompok perlakuan yang mendapat ransum dengan sumber protein dendeng (Tabel 3). Kelompok tikus yang mendapat perlakuan ransum tanpa *curing* dengan injeksi NDEA memiliki nilai konversi ransum yang lebih rendah daripada kelompok tikus dengan ransum dendeng *curing* basah tanpa injeksi NDEA. Namun demikian nilai konversi ransum tidak berbeda dengan kedua kelompok yang mendapat injeksi NDEA. Hal ini menunjukkan bahwa kualitas ransum dengan sumber protein dendeng tidak berbeda dengan ransum dengan sumber protein daging segar.

Kelompok tikus yang diberi ransum dendeng pada pengamatan 2 hari ke-3 (kelompok C0TN dan CbTN) dan ke-4 (kelompok C0N dan CbN) mengalami penurunan konsumsi, yang kemudian mulai meningkat lagi pada 2 hari ke-5 (Gambar 1). Penurunan tersebut terjadi karena pengaruh perubahan dari pakan standar ke pakan perlakuan. Kelompok tikus yang mendapat induksi NDEA, baik pada kelompok ransum dendeng *curing*, maupun *non-curing* mengalami penurunan konsumsi pakan setelah pemberian induksi (2 hari ke 11 atau minggu ke-3 pemeliharaan). Namun konsumsi kembali meningkat pada 2 hari ke-12 dan kembali normal pada 2 hari ke-14 untuk kelompok CbN dan 2 hari ke-15 untuk kelompok C0N. Hal ini mengindikasikan bahwa penampilan tikus yang diberi dendeng *curing* dengan nitrit lebih cepat pulih dari tekanan stres akibat perlakuan injeksi NDEA dibanding tikus yang diberi dendeng tanpa *curing*.



Gambar 1. Rataan Konsumsi Pakan Hewan Percobaan selama Periode Perlakuan



Gambar 2. Rataan Bobot Badan Hewan Percobaan selama Periode Perlakuan

Persentase bobot ginjal dan hati tidak menunjukkan adanya perbedaan yang nyata antara kelompok tikus yang diberi ransum dengan sumber protein daging segar dan kelompok tikus yang mendapat ransum dendeng (Tabel 3). Demikian pula antara kelompok tikus yang mendapat induksi NDEA dengan tanpa NDEA tidak menghasilkan perbedaan bobot organ hati dan ginjal yang berbeda nyata. Hal ini mengindikasikan bahwa konsumsi ransum dengan sumber protein dendeng, baik yang di-*curing* maupun tanpa *curing* tidak menghasilkan pembesaran organ hati dan ginjal. Tidak berbedanya bobot organ hati dan ginjal pada kelompok tikus yang diberi induksi NDEA dapat menunjukkan bahwa konsumsi dendeng dapat mempertahankan kondisi normal bobot organ hati dan ginjal pada kelompok tersebut.

Tabel 2. Persentase Bobot Hati dan Ginjal, Pertambahan Bobot Badan Harian, dan Konsumsi Tikus yang Diberi Dendeng sebagai Sumber Protein dan Stres Oksidatif dengan Injeksi NDEA

Peubah	Kontrol, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Tanpa Curing, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Tanpa Curing + Injeksi NDEA	Dendeng Curing Basah, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Curing Basah + Injeksi NDEA
Persentase Ginjal thd BB (%)	0,72 ± 0,09	0,73 ± 0,04	0,77 ± 0,07	0,76 ± 0,11	0,74 ± 0,06
Persentase Hati thd BB (%)	4,09 ± 0,34	4,26 ± 0,29	4,13 ± 0,67	4,27 ± 0,54	4,54 ± 0,55
PBBH (g/ekor/hr)	5,75 ± 0,34 ^a	5,05 ± 0,86 ^{ab}	4,53 ± 0,75 ^b	4,15 ± 1,27 ^b	4,81 ± 0,65 ^{ab}
Konsumsi (g/ekor/hr)	18,52 ± 1,11 ^a	14,93 ± 1,73 ^b	15,59 ± 1,26 ^b	15,17 ± 2,69 ^b	16,36 ± 1,50 ^{ab}
Konversi Ransum	3,20 ± 0,14 ^{ab}	2,92 ± 0,24 ^b	3,51 ± 0,53 ^{ab}	3,68 ± 0,46 ^a	3,44 ± 0,48 ^{ab}

Keterangan: Superskrip berbeda pada baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Kadar Malonaldehida, Aktivitas Enzim Katalase dan Superoksida Dismutase

Kadar MDA plasma kelompok tikus yang diberi ransum dendeng *curing* dan diinjeksi NDEA nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada kelompok tikus yang diberi dendeng tanpa *curing*, baik yang diinjeksi NDEA, maupun tidak. Keempat kelompok tikus yang diberi dendeng memiliki kadar MDA yang tidak berbeda dengan kelompok kontrol. Hal ini mengindikasikan bahwa konsumsi dendeng, baik yang di-*curing*, maupun tanpa *curing* tidak menghasilkan peningkatan kadar MDA plasma yang nyata (Tabel 3). Namun demikian konsumsi dendeng *curing* menghasilkan peningkatan kadar MDA ($P < 0,05$) pada kelompok yang diinjeksi NDEA.

Berbeda halnya dengan kadar MDA pada plasma, kelompok tikus yang diberi dendeng *curing* dan diinjeksi NDEA memiliki kadar MDA hati yang paling rendah dibanding kelompok kontrol dan yang diberi dendeng tanpa *curing*, baik yang diinjeksi NDEA maupun tidak. Secara umum kelompok tikus yang diberi dendeng *curing* memiliki kadar MDA hati yang lebih rendah daripada kelompok kontrol dan yang diberi dendeng tanpa *curing*, meskipun secara statistik perbedaannya tidak nyata pada kelompok dendeng *curing* yang tidak diinjeksi NDEA. Kadar MDA ginjal kelompok tikus yang diberi dendeng tanpa *curing* dan diinjeksi NDEA nyata lebih tinggi ($P < 0,05$)

daripada kelompok kontrol, tetapi tidak berbeda nyata dengan kelompok yang mendapat perlakuan pakan dendeng lainnya.

Tabel 3. Kadar Malonaldehida dan Aktivitas Enzim Antioksidan pada Tikus Percobaan yang Diberi Dendeng Sebagai Sumber Protein dan Induksi NDEA

Peubah	Perlakuan				
	Kontrol, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Tanpa Curing, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Tanpa Curing + Injeksi NDEA	Dendeng Curing Basah, Tanpa Injeksi NDEA	Dendeng Curing Basah + Injeksi NDEA
Kadar MDA					
Plasma (nmol/ml)	4,86 ± 0,61 ^{ab}	4,47 ± 0,24 ^b	4,63 ± 0,75 ^b	5,12 ± 0,81 ^{ab}	5,75 ± 0,46 ^a
Hati (nmol/g)	9,87 ± 0,54 ^a	9,74 ± 1,03 ^a	10,33 ± 1,90 ^a	8,82 ± 1,46 ^{ab}	7,63 ± 0,78 ^b
Ginjal (nmol/g)	17,20 ± 1,23 ^b	19,83 ± 1,08 ^{ab}	21,56 ± 3,01 ^a	19,32 ± 1,51 ^{ab}	19,72 ± 4,61 ^{ab}
Aktivitas Katalase (U/ml)					
Hati	54,55 ± 9,81 ^b	87,92 ± 10,38 ^a	78,69 ± 21,56 ^a	89,94 ± 16,56 ^a	67,33 ± 2,63 ^{ab}
Ginjal	77,22 ± 16,94	89,72 ± 22,23	85,30 ± 19,37	86,56 ± 17,75	97,97 ± 14,15
Aktivitas Penghambatan SOD terhadap Radikal Superoksida (%)					
Hati	15,23 ± 3,70 ^b	39,87 ± 9,45 ^a	37,20 ± 12,54 ^a	45,30 ± 10,76 ^a	32,93 ± 9,84 ^a
Ginjal	18,06 ± 4,60 ^a	12,71 ± 3,66 ^b	17,22 ± 3,98 ^{ab}	23,37 ± 4,72 ^a	22,48 ± 4,43 ^a

Keterangan: Huruf superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$).

Hasil penelitian ini (Tabel 3) menunjukkan bahwa dendeng *curing* meskipun diberikan pada tikus yang diberi induksi stres oksidatif dengan NDEA tidak menghasilkan kadar MDA plasma dan ginjal yang lebih tinggi daripada kontrol, bahkan menghasilkan MDA hati yang lebih rendah daripada kontrol. Baik dendeng *curing*, maupun tanpa *curing* jika diberikan pada tikus tanpa perlakuan injeksi NDEA tidak menghasilkan kadar MDA yang berbeda dengan kontrol baik pada plasma, hati, maupun ginjal. Namun demikian dendeng tanpa *curing* jika diberikan pada tikus yang diberi induksi NDEA dapat meningkatkan kadar MDA ginjal yang nyata lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol.

Aktivitas katalase hati pada kelompok tikus yang diberi dendeng, baik tanpa *curing*, maupun yang di-*curing* nyata lebih tinggi daripada kontrol, kecuali pada kelompok yang diberi dendeng *curing* dan diinjeksi NDEA (Tabel 3). Hal ini mengindikasikan bahwa konsumsi dendeng, baik tanpa *curing*, maupun yang di-*curing*

dapat meningkatkan aktivitas katalase pada hati. Konsumsi dendeng, baik yang *di-curing*, maupun tanpa *curing* tidak menghasilkan perbedaan aktivitas katalase yang nyata pada ginjal. Aktivitas katalase pada ginjal dari keempat kelompok yang diberi perlakuan pakan dendeng tidak berbeda nyata dengan kelompok kontrol (Tabel 3).

Kelompok tikus yang diberi ransum dengan sumber protein dendeng, baik yang *di-curing*, maupun tanpa *curing*, memiliki aktivitas enzim SOD pada hati yang nyata lebih tinggi ($P < 0,05$) daripada kelompok kontrol (Tabel 5), tetapi tidak berbeda nyata diantara keempat kelompok yang diberi pakan dendeng. Aktivitas enzim SOD pada kelompok yang diberi dendeng meningkat dua kali lipat lebih dari kelompok kontrol. Berbeda halnya dengan pada hati, tikus yang diberi pakan dendeng memiliki aktivitas enzim SOD pada ginjal yang tidak berbeda nyata dengan kontrol, bahkan lebih rendah ($P < 0,05$) pada kelompok tikus yang diberi dendeng tanpa *curing* dan tanpa injeksi NDEA (Tabel 3).

Hal ini mengindikasikan bahwa konsumsi dendeng dapat meningkatkan aktivitas enzim SOD dan menekan pengaruh stres oksidatif dari induksi senyawa nitrosamin. Peningkatan aktivitas SOD tersebut dapat terjadi karena kandungan antioksidan dendeng yang berasal dari bumbu yang digunakan dan kemungkinan produk Maillard yang dihasilkan (Suryati *et al.*, 2012). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa bahan pangan kaya antioksidan dapat meningkatkan status enzim antioksidan dalam tubuh (Sundaresan dan Subramania, 2003; Ahmad *et al.*, 2009; Kujawska *et al.*, 2009; Kujawska *et al.*, 2010; Morsy *et al.*, 2010).

Morfologi Seluler

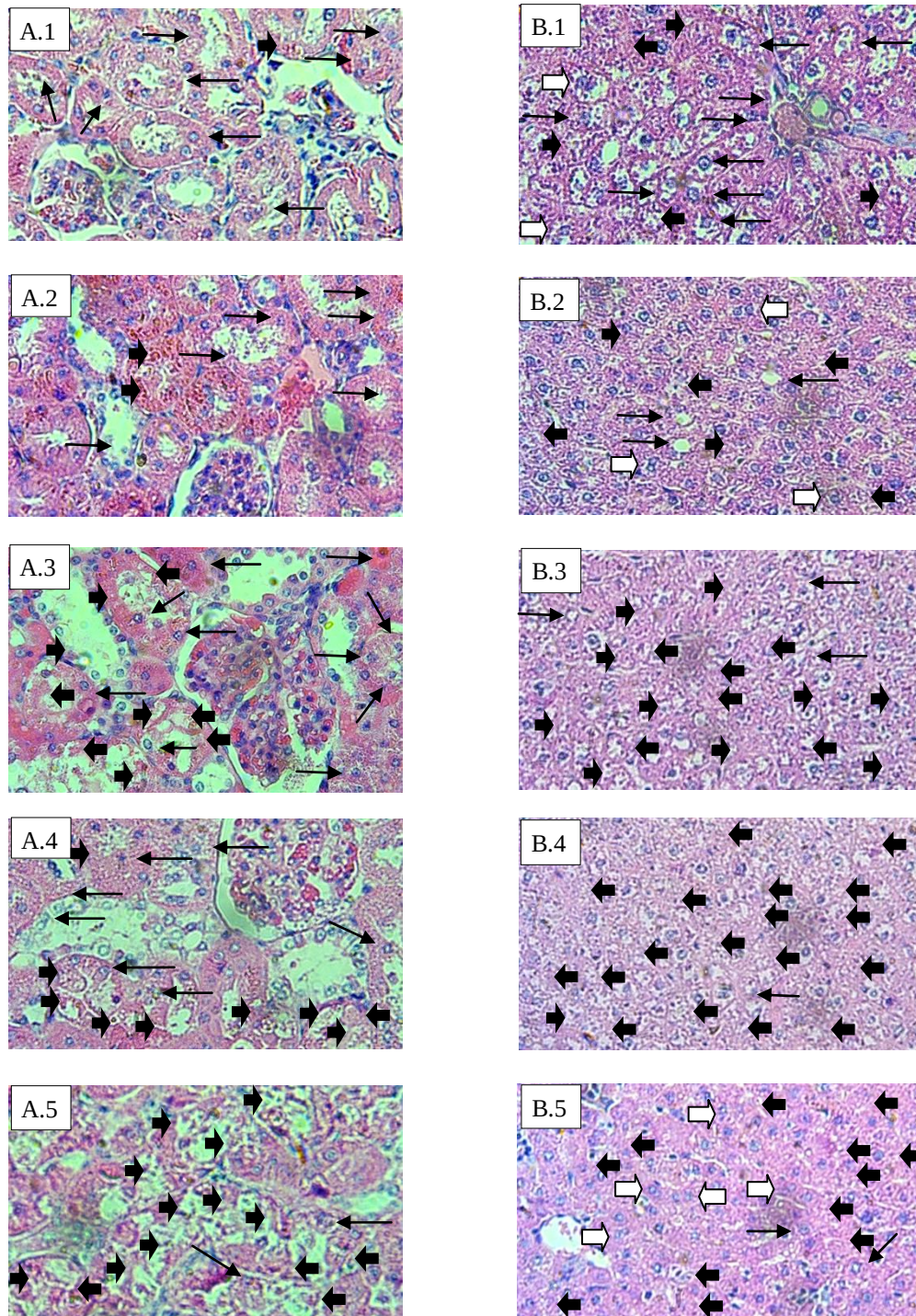
Kelompok tikus yang diberi ransum dengan sumber protein dendeng memiliki tingkat memiliki sel ginjal dan hati yang beragam. Kelompok tikus kontrol memiliki tingkat kerusakan sel hati dan ginjal yang paling rendah (Gambar 3). Kerusakan sel ginjal pada pada tingkat masih bersifat reversibel, yang ditandai dengan inti sel yang masih utuh, meskipun pada beberapa sel bagian membran sitoplasma sudah mengalami kerusakan. Sel yang mengalami kerusakan lanjut (nekrosa) ditandai dengan hilangnya bagian inti dan batas sel yang bersifat irreversibel. Berdasarkan katagori tersebut kelompok tikus yang mendapat sumber protein dendeng tanpa *curing* dan tanpa induksi NDEA memiliki tingkat kerusakan sel ginjal yang sedikit lebih tinggi dibanding kontrol. Namun demikian pada sel hati pemberian dendeng tanpa *curing* menghasilkan

tingkat kerusakan yang sedikit lebih rendah daripada kontrol. Selain itu pada kelompok tersebut menunjukkan adanya proses regenerasi sel hati (Gambar 3).

Kelompok tikus yang mendapat dendeng tanpa *curing* dengan induksi NDEA memiliki tingkat kerusakan sel ginjal dan hati yang hampir sama dengan kelompok tikus yang mendapat sumber protein dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian dendeng *curing* menghasilkan tingkat kerusakan sel yang sebanding dengan induksi NDEA yang diberikan kepada kelompok tikus yang mendapat dendeng tanpa *curing*. Kelompok tikus yang mendapat dendeng *curing* dan induksi NDEA memiliki tingkat kerusakan sel ginjal yang paling parah, tetapi tingkat kerusakan hatinya tidak berbeda dengan kelompok yang mendapat dendeng tanpa *curing* yang diinduksi NDEA dan kelompok yang mendapat dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. Hasil ini menunjukkan bahwa induksi dengan NDEA mengakibatkan kerusakan pada sel hati dan ginjal, meskipun tidak berpengaruh terhadap penampilan ternak dan aktivitas enzim antioksidan (SOD dan katalase). Demikian pula pemberian dendeng *curing* menghasilkan tingkat kerusakan sel yang cukup parah, meskipun hal tersebut masih dapat diperbaiki yang terindikasi dari tingginya aktivitas enzim antioksidasi yang relatif lebih tinggi daripada kontrol dan performans hewan percobaan yang tidak berbeda dengan kontrol.

Aktivitas Antioksidasi Dendeng *Curing* dan Hubungannya dengan Kerusakan Sel

Keberadaan bumbu yang mengandung antioksidan yang tinggi mengakibatkan dendeng memiliki aktivitas antioksidasi (Suryati *et al.*, 2012). Aktivitas antioksidasi pada dendeng berdasarkan hasil penelitian tahap II pada pengujian keamanan secara *in vitro* dapat menurunkan residu nitrit hingga pada taraf yang tidak terdeteksi, tetapi masih memiliki kadar MDA 1-2 mg/kg BK dengan warna coklat kemerahan pada dendeng yang diproses *curing*. Warna merah tersebut mengindikasikan adanya pengikatan NO oleh mioglobin (protein daging) membentuk NO-mioglobin (Honikel, 2008). Protein daging pada proses pencernaan akan didegradasi oleh enzim pencernaan menjadi asam amino, sedangkan NO berpeluang menjadi bebas. NO dapat bersifat sebagai antioksidan yang menghambat perkembangan oksidasi lipida (Martin, 2001), namun apabila berikatan dengan asam amino primer atau sekunder dapat membentuk senyawa nitrosamin (Honikel, 2008; Rostkowska *et al.*, 1998).



Gambar 3. Jaringan Ginjal dan Hati dengan Pewarnaan HE (300x). A.1 Jaringan ginjal tikus yang diberi daging (kontrol). A.2 Jaringan ginjal tikus yang diberi dendeng tanpa *curing*, tanpa induksi NDEA. A.3 Jaringan ginjal tikus yang diberi dendeng tanpa *curing* dengan induksi NDEA. A.4 Jaringan ginjal tikus yang diberi dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. A.5 Jaringan ginjal tikus yang diberi dendeng *curing* dengan induksi NDEA. B.1 Jaringan hati tikus yang diberi daging (kontrol). B.2 Jaringan hati tikus yang diberi dendeng tanpa *curing*, tanpa induksi NDEA. B.3 Jaringan hati tikus yang diberi dendeng tanpa *curing* dengan induksi NDEA. B.4 Jaringan hati tikus yang diberi dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. B.5 Jaringan hati tikus yang diberi dendeng *curing* dengan induksi NDEA. →: kerusakan sel awal (reversible). ➡: kerusakan sel lanjut (irreversible). ⇨: regenerasi sel.

Antioksidan pada dendeng mampu menahan pembentukan radikal bebas yang ditimbulkan akibat reaksi peroksidasi pada tingkat selular. Hal ini ditunjukkan dengan kadar MDA yang tidak mengalami peningkatan pada kelompok tikus yang mendapat pakan dendeng sebagai sumber protein, bahkan mampu menekan pembentukan radikal bebas di tingkat sel yang ditunjukkan dengan tingginya aktivitas enzim antioksidan SOD kelompok tersebut. Demikian pula dengan aktivitas enzim katalase.

Berdasarkan tingkat kerusakan sel yang berbanding terbalik dengan aktivitas antioksidan yang dihasilkan dan kadar MDA kelompok tikus yang mendapat pakan dendeng sebagai sumber protein yang relatif tidak berbeda dengan kontrol, dapat dicermati bahwa senyawa xenobiotik yang menimbulkan kerusakan seluler bukanlah senyawa MDA atau produk oksidasi lipida lainnya, tetapi akibat senyawa nitrosamin. Kerusakan sel akibat senyawa nitrosamin terlihat dari kelompok yang mendapat perlakuan induksi NDEA. Kerusakan tersebut tidak berbeda dengan jaringan hati dan ginjal pada kelompok tikus yang mendapat pakan dendeng *curing* tanpa induksi NDEA. Kerusakan seluler tersebut menunjukkan bahwa dendeng yang diproses dengan *curing* menggunakan nitrit sangat potensial menghasilkan senyawa nitrosamin yang bersifat toksik pada sel hati dan ginjal. Berdasarkan fakta tersebut maka konsumsi dendeng yang diproses dengan *curing* sebaiknya tidak dikonsumsi secara terus menerus dalam waktu yang lama, seperti halnya pada perlakuan penelitian ini.

KESIMPULAN

Berdasarkan penampilan yang ditunjukkan hewan percobaan dan aktivitas enzim antioksidan, dendeng hasil modifikasi (formulasi dan teknik preparasi) merupakan sumber protein hewani yang aman, meskipun untuk dendeng yang di-*curing* dengan nitrit masih memiliki resiko terhadap kerusakan sel hati dan ginjal jika dikonsumsi secara terus menerus dan dalam jangka waktu yang lama.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih disampaikan kepada Program Penelitian Unggulan Fakultas IPB yang telah membiayai penelitian ini. Terimakasih juga disampaikan kepada Bagian Teknologi Hasil Ternak dan Laboratorium Terpadu Departemen IPTP, Bagian Fisiologi Nutrisi Ternak Terapan Departemen INTP-Fapet IPB, serta Laboratorium Histologi Departemen AFF-FKH IPB yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, R., S. Ahmed, N. Uddin Khan, & A. Hasnain. 2009 *Operculina turpethum* attenuates *N*-nitrosodimethylamine induced toxic liver injury and clastogenicity in rats. *Chemico-Biological Interactions* 181: 145–153.
- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Washington D.C: Agricultural Chemistry.
- Honikel, K.O. 2008. The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Sci.* 78: 68–76.
- Kujawska, M., E. Ignatowicz, M. Murias, M. Ewertowska, K. Mikołajczyk, & J. Jodynis-Liebert. 2009. Protective effect of red beetroot against carbon tetrachloride- and *N*-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress in rats. *J. Agric. Food Chem.* 57: 2570–2575.
- Kujawska, M., E. Ignatowicz, M. Ewertowska, J. Markowski, & J. Jodynis-Liebert. 2010. Cloudy apple juice protects against chemical-induced oxidative stress in rat. *Eur. J Nutr.* On line May 2010.
- Legowo, A.M., Soepardi, R. Miranda, I.S.N. Anisa, dan Y. Rohidayah. 2002. Pengaruh perendaman daging pra kyuring dalam jus daun sirih terhadap ketengikan dan sifat organoleptik dendeng daging sapi selama penyimpanan. *J Teknol. dan Industri Pangan* 13(1):64-69.
- Li, Z., S.M. Henning, Y. Zhang, A. Zerlin, L. Li, K. Gao, R.P. Lee, H. Karp, G. Thames, S. Bowerman, D. Heber. 2010. Antioxidant-rich spice added to

- hamburger meat during cooking results in reduced meat, plasma, and urine malondialdehyde concentrations. *Am. J. Clin. Nutr.* 91:1180–1184.
- Lioe, H. N., M. Astawan, S. Usmiati, & T. Suryati. 2011. Penggunaan Bumbu dan Teknik Preparasi pada Dendeng Sapi untuk Mempertahankan Mutu dan Mereduksi Senyawa Berbahaya Nitrosamin. Laporan Hasil Penelitian KKP3T. IPB-Deptan.
- Liu, C.Y., Y.H. Hsu, M.T. Wu, P.C. Pan, C.K. Ho, L. Su, X. Xu, Y.Li, and D.C. Christiani (The Kaohsiung Leukemia Research Group). 2009. Cured meat, vegetables, and bean-curd foods in relation to childhood acute leukemia risk: A population based case-control study. *BMC Cancer* 9:15.
- Martin, M. 2001. Meat curing technology. Di dalam: Y. H. Hui, W.K. Nip, R. W. Rogers, & O. A. Young, Editor. *Meat Science and Applications*. Marcel-Dekker, Inc., New York.
- Morsy, A.F.M., H.S. Ibrahim and M. A. Shalaby. 2010. Protective effect of broccoli and red cabbage against hepatocellular carcinoma induced by N-nitrosodiethylamine in rats. *Journal of American Science* 6(12):1136-1144.
- Omaye, S. T. 2004. *Food and Nutritional Toxicology*. CRC Press, Boca Raton.
- Rostkowska, K., K. Zwierz, A. Rozanski, J. Moniuszko-Jakoniuk, A. Roszczenko. 1998. Formation and metabolism of N-nitrosamines. *Polish J. of Environ. Studies* 7(6): 321-325.
- Santarelli, R. L., F. Pierre, and D.E. Corpet. 2008. Processed meat and colorectal cancer: a review of epidemiologic and experimental evidence. *Nutr. Cancer* 60(2): 131–144.
- Shamberger, R.J., B.A. Shamberger and C.E. Willis. 1977. Malonaldehyde content of Food. *J. Nutr.* 107: 1404-1409.
- Sundaresan, S. and P. Subramanian. S-allylcysteine inhibits circulatory lipid peroxidation and promotes antioxidants in n-nitrosodiethylamine-induced carcinogenesis. *Pol. J. Pharmacol.* 55:37–42.
- Suryati, T, M.Astawan, H. N. Lioe, & T.Wresdiyati, 2012. Curing Ingredient, Characteristic, Total Phenolic, and Antioxidant Activity of Commercial *Dendeng*. *Med. Pet.* 35(2):111-116.
- Yurencho, S. and U. Molder. 2007. The occurrence of volatile N-nitrosamines in Estonian meat products. *Food Chem.* 100:1713–1721.