

LAPORAN PENELITIAN

DETERMINASI WARNA DAGING CURING PADA DAGING DAN PRODUK OLAHAN DAGING

OLEH:

**Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc
Prof. Dr. Ir. V. Priyo Bintoro, M.Agr
Dr. Ir. Bambang Dwiloka, M.S
Dr. Ir. Antonius Hintono, M.P**

**FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FEBRUARI
2014**

LEMBAR PENGESAHAN

1. Judul Penelitian : **DETERMINASI WARNA DAGING CURING PADA DAGING DAN PRODUK OLAHAN DAGING**
2. Ketua Peneliti
 - a. Nama : Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc
 - b. Jenis Kelamin : Wanita
 - c. NIP : 198110162003122003
 - d. Jabatan Struktural : III A
 - e. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
 - f. Fakultas : Peternakan dan Pertanian
 - g. Alamat : Kampus peternakan Tembalang Semarang
 - h. Telepon/Fax : 024-7474750
 - i. Alamat rumah : Jl. Cemara Kuning 1-J Bukit Cemara Residence, Bulusan-Tembalang, Semarang
 - j. Telepon/Fax/e-mail : 0816645545
3. Jangka waktu penelitian : 3 bulan
4. Biaya : Rp. 3.425.000,-
5. Anggota peneliti :
 1. Prof. Dr. Ir. V. Priyo Bintoro, M.Agr
 2. Dr. Ir. Bambang Dwiloka, M.S
 3. Dr. Ir. Antonius Hintono, M.P

Semarang, 3 Februari 2014

Mengetahui,
Dekan
Fakultas Peternakan
Universitas Diponegoro

Ketua Peneliti

Prof. Dr. Ir. V. Priyo Bintoro, M. Agr
NIP. 195402131980121001

Bhakti Etza Setiani, S.Pt., M.Sc
NIP. 198110162003122003

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Warna merupakan salah satu parameter mutu daging dan produk olahannya. Sangat jelas terlihat bahwa daging yang warnanya menyimpang, dianggap sebagai daging berkualitas rendah. Persepsi terhadap warna daging, baik yang mentah atau telah dimasak, mempengaruhi keputusan konsumen dalam memilih daging dan produk olahannya. Mioglobin merupakan pigmen utama penyusun 80% dari pigmen daging dan berwarna merah keunguan. Kadar mioglobin daging akan mempengaruhi derajat warna merah daging. Kadar mioglobin bervariasi dengan spesies, umur, jenis kelamin, jenis otot dan aktivitas fisik. Konsentrasi mioglobin dalam daging sapi lebih besar dibandingkan yang terdapat pada daging ayam. Perbedaan kandungan mioglobin ini menyebabkan warna daging sapi terlihat lebih merah daripada daging babi dan daging babi lebih merah dari daging ayam.

Warna merupakan faktor yang pertama menjadi pertimbangan manusia dalam menilai suatu makanan, terutama daging dan produk olahannya. Perbedaan warna daging disebabkan oleh perbedaan konsentrasi dari pigmen myoglobin (3/4 bagian dari total pigmen merah daging), sisanya hemoglobin dari darah. Namun, jika daging terlalu lama terkena oksigen warna merah terang akan berubah menjadi coklat. Timbulnya warna coklat menandakan daging telah terlalu lama terkena udara bebas sehingga kurang diminati konsumen.

Pengawetan daging sebelum dan pada waktu proses pengolahan terjadi lazimnya menggunakan metode perendaman pada larutan bumbu (marinasi) atau secara sederhana hanya pada larutan garam (kyuring). Namun, tingginya konsentrasi garam yang digunakan dapat menyebabkan pembentukan menarik warna abu-abu dalam otot daging. Akibatnya, penggunaannitratuntuk memperbaiki tampilan warna merah segar pada daging berevolusi. Penggunaannitratkemungkinan berevolusisecara tidak sengajakarena kaliumnitrat (sendawa)terdapat pada garam (Benjamin danCollins, 2003). Ketika garam tersebut digunakan pada proses curing daging mengakibatkan pembentukan warna merah cerah yang stabil seperti warna daging segar. Seiring

berkembangnya industri pengolah daging maka aplikasi penggunaan garam sendawa yang mengandung nitrat semakin meningkat. Faktor keamanan pangan kemudian menjadi perhatian lebih lanjut mengingat selama aplikasi penggunaan garam yang mengandung kalium nitrat dapat bereaksi menjadi senyawa nitrit. Residu senyawa nitrit dikemudian waktu diketahui sebagai prekursor terbentuknya sel karsinogenik pada metabolisme tubuh manusia.

1.2. Permasalahan

1. Produk olahan daging semakin beragam seiring dengan permintaan konsumen.
2. Untuk menarik perhatian konsumen, produsen berlomba untuk memproduksi produk olahan daging yang menarik dengan harga terjangkau.
3. Aplikasi pengawetan pangan dengan bahan sintetik (kimia) dianggap sebagai alternatif pemecahan masalah supaya harga produk olahan daging semakin terjangkau.
4. Senyawa kalium nitrat pada garam sendawa sebagai alternatif pengawet dan penstabil warna produk olahan daging.
5. Faktor keamanan pangan dipertanyakan dari aplikasi penggunaan garam sendawa mengingat resiko karsinogenik jika asupan berlebih.

1.3. Tujuan dan Manfaat Penelitian

1. Mengetahui kandungan nitrit pada produk-produk olahan daging
2. Memberikan informasi pada khalayak mengenai ambang aman konsumsi dari residu nitrit pada produk olahan daging.
3. Memberikan informasi pada publik mengenai bahaya keamanan pangan dari konsumsi garam sendawa yang berlebihan yang ada pada produk olahan daging.
4. Memberikan informasi pada publik mengenai ciri-ciri fisik produk olahan daging yang disinyalir mengandung garam sendawa yang melebihi batas normal pemberian.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Warna Daging

Warna daging adalah indikator kualitas yang utama dari daging mentah atau olahan. Intensitas warna dapat digunakan untuk mengevaluasi umur hewan. Daging dari hewan tua mengandung myoglobin lebih banyak sehingga berwarna lebih gelap. Warna kusam, tidak rata dan coklat menunjukkan pertumbuhan mikrobiologi atau daging telah mulai mengalami pembusukan. Warna daging didasarkan pada struktur kimia hemoproteins: hemoglobin dan mioglobin. Sifat fisik seperti daya ikat air dan karakteristik tekstur juga mempengaruhi warna tetapi dalam pengaruh yang tidak signifikan. Pigmen lainnya seperti sitokrom tersisa sedikit berkontribusi untuk warna daging. Warna daging pada dasarnya adalah sebuah fenomena permukaan beberapa milimeter di bawah permukaan daging. Stabilitas warna bisa sangat berbeda. Fungsi mioglobin adalah menyimpan oksigen sedangkan hemoglobin adalah sebagai transport oksigen. Hemoglobin dan mioglobin adalah protein yang terdiri dari protein globin yang khas dan kelompok porfirin. Hemoprotein mampu mengalami reaksi reversibel atau dapat balik dengan molekul oksigen berdasarkan pada cincin ferroporphyrin (protoheme) sebagai kelompok prostetik. Semua vertebrata memiliki kandungan besi sekitar 0,30-3,574 pada hemoprotein untuk berat molekul minimal 16000-18000 g/mol (Ladikos dan Wedzicha, 1988). Rantai polipeptida (globin) terdiri dari 140 sampai 160 asam amino (Antonini dan Brunori, 1971). Hemoglobin terdiri dari dua jenis rantai polipeptida sedangkan mioglobin hanya memiliki satu rantai polipeptida (Perutz, 1965). Kadar mioglobin pada daging dapat digunakan sebagai penilaian warna antara berbagai jenis daging. Kadar mioglobin pada daging bervariasi, tergantung pada spesies, umur dan jenis otot.

Reaksi perubahan warna dalam daging segar adalah reaksi yang dapat balik dan bersifat dinamis dengan interkonversi konstan dari tiga bentuk pigmen: mioglobin, oksimioglobin dan metmioglobin (Fox, 1966). Warna ungu pada

karakteristik mioglobin dapat ditemukan pada area yang lebih dalam dari permukaan daging. Permukaan yang berwarna merah cerah atau merah cherry adalah akibat adanya pigmen oksimioglobin. Selama penyimpanan, lapisan coklat metmioglobin terbentuk pada permukaan daging dan stabil pada beberapa milimeter di bawah permukaan daging. Oksigenasi mioglobin mengarah pada pembentukan warna merah terang oksimioglobin. Dalam proses ini molekul oksigen secara langsung terikat dengan besi-besi heme dalam mioglobin.

Oksidasi mioglobin yang mengarah pada pembentukan metmioglobin secara ekstensif dipelajari oleh George dan Stratmann (1952). Mereka menemukan bahwa reaksi terjadi pada orde pertama terhadap mioglobin tidak teroksidasi. Oksidasi pigmen heme adalah proses yang oksidasi lambat dan berkesinambungan. Ketika daging dalam keadaan segar, pengurangan aktivitas produksi zat endogen untuk jaringan yang berlangsung secara terus-menerus mengurangi pigmen dan kembali ke warna ungu (Mb) dan keberadaan oksigen harus tetap ada (Fox, 1966). Ketika daging segar dimasak, myoglobin akan teroksidasi membentuk metmioglobin dan setelah denaturasi protein terjadi akan terbentuk warna daging selanjutnya yang disebut metmiokromogen. Metmiokromogen memiliki ion karboksilat dari globin terdenaturasi dan air sebagai aksial ligan. Senyawa ini bertanggung jawab dalam pembentukan warna coklat ketika daging diawetkan atau dimasak (Tarladgis, 1962a).

2.2 Nitrat dan Nitrit

Penelitian di tahun 1899 oleh Lehmann dan Kisskalt, dapat disimpulkan bahwa warna merah muda dari karakteristik daging yang dikuring diakibatkan oleh aktivitas nitrit pada daging. Haldane (1901) menyatakan bahwa pigmen dari daging segar yang dikuring dengan garam sendawa dan terpapar dengan oksigen akan bereaksi menjadi oksidasi nitrat hemoglobin, yang dikonversi menjadi oksidasi nitrat hemochromogen dengan memasak. Hemoglobin pada daging berkisar sejumlah 2,040% dari total pigmen pada daging (Fox, 1966). Jumlah Nitrosil mioglobin lebih signifikan dibandingkan dengan hemoglobin (Nitrosil) oksidasi nitrat. NO-hemochromogen adalah pigmen yang terbentuk setelah daging yang dikuring dengan nitrat diberi perlakuan pemasakan (Fox, 1966; Fox dan Ackerman, 1968). Nitrit bereaksi dengan pigmen untuk

menghasilkan warna, bukan menjadi agensia pewarna otot daging. Peningkatan konsentrasi pemberian nitrit pada daging yang dikyuring akan menghasilkan warna kemerahangelay. Penelitian-penelitian yang dilakukan dalam empat dekade terakhir memberikan informasi yang kompleks mengenai mekanisme perubahan daging kyuring dengan agensia garam nitrit. Nitrit, sebagai oksidan pigmen hemeyang kuat, bereaksi dengan mioglobin dan perubahan pertama yang terjadi adalah perubahan warna ungu-merah ke warna coklat metmioglobin (Cassens *et al.*, 1979.). Seiring dengan waktu pelaksanaan kyuring dan paparan oksigen warna daging semakin terkonversi ke warna merah gelap nitrosilmioglobin (mioglobin oksida nitrat). Perlakuan panas menjadikan protein terdenaturasi sehingga mengubah pigmen dinitrosilferrohemochrome (DNFH) yang berwarna merah muda. Tarladgis (1962b) melaporkan bahwa ketika daging dimasak (dengan penambahan nitrit selama proses kyuring), ikatan antar besipigmen hemedan bagi dari molekul histidindariglobin menjadi rusak sehingga posisi ikatan besi menjadi tersedia untuk oksidan nitrat. Afinitas tinggi oksidan nitrat untuk ferroheme dapat menggantikan karbon monoksida dari karbon-monoxihemoglobin. Secara teoritis, terdapat dua molekul oksidan nitrat yang terkait dengan pigmendaging kyuring yang dimasak. Killday *et al.* (1988) mendalilkan bahwa pigmen yang bertanggung jawab untuk warna merah mudakarakteristik daging kyuring adalah mononitrosilferrohemochrom.

2.3 Nitrit pada Daging Kyuring dan Isu Keamanan Pangan

Proses pengawetan dengan bahan kimia, seperti garam, nitrit dan asam organik untuk menghambat pertumbuhan spora *Clostridium botulinum* telah dimanfaatkan oleh industri daging kyuring untuk menghasilkan produk yang amandan dapat diterima konsumen. Tanpa penggunaan nitrit untuk kyuring daging akan meningkatkan resiko botulisme dari produk daging. Pada awal 1970 baru didapat penelitian tentang potensi bahaya penggunaan nitrit dan nitrat sebagai agensia kyuring pada daging. Nitrit dapat bergabung dengan ikatan amina untuk membentuk N-nitrosamin. Nitrosamin merupakan zat yang bersifat karsinogen yang mudah terbentuk dari beragam senyawa nitrogen. (Preussmann dan Stewart, 1984). Senyawa nitrosodibagi menjadi dua yaitu nitrosamin dan nitrosoamida. Nitrosamin adalah N-nitroso turunan dari amina sekunder sementara nitrosoamida adalah turunan

dari amida tersubstitusi dengan senyawa terkait. N-nitrosamin relatif stabil dalam makanan (Fan dan Tannenbaum, 1972) dan tidak membahayakan selama persiapan atau pengolahan makanan. Nitrosoamida bersifat kurang stabil, terutama pada pH netral.

Nitrit tidak dapat bereaksi secara langsung dengan amina tetapi harus dikonversi menjadi hidrida nitrous (N_2O_3). Namun jika kondisinya terlalu asam, amina tidak mampu bereaksi dengan hidrida nitrat (N_2O_3). Artinya anhidra nitrat pada makanan akan bereaksi cepat pada kisaran tertentu, yaitu 2-4 dalam makanan. Namun, oksida nitrogendapat bereaksi secara langsung dengan amina tanpa memerlukan kondisi asam seperti dalam kasus nitrit. Nitrosamin juga dapat terbentuk selama pengolahan makanan. Nitrogen oksida terbentuk ketika daging yang diolah dengan pengasapan. Nitrosamin juga dapat terbentuk pada proses fisiologis normal dalam perut manusia melalui reaksi antara amina dan nitrit (Ohshima dan Bartsch, 1981).

Nitrit dapat berasal dari dua sumber yaitu dari konsumsi makanan yang mengandung nitrit dan dari konversi nitrat menjadi nitrit dalam tubuh. Sumber utama makanan nitrit adalah sayuran (sekitar 80-85%) dengan kontribusi daging yang kering hanya sejumlah kecil (Hotchkiss dan Cassens, 1987). Bit, lobak, bayam dan selada mengandung tingkat tertinggi nitrat dan nitrit. Konsumsi aman sehari-hari adalah diperkirakan sekitar 100 mg/day sebagai akibat dari kekhawatiran meningkatkan bahaya nitrosamine. Kandungan nitrosamin dapat diketahui secara signifikan dari analisis kromatografi gas (GC) dan kromatografi cair bertekanan tinggi/ *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) dengan menggunakan detektor yang disebut energi termal analyzer (TEA). Detektor TEA bekerja pada kondisi termal dekomposisi nitrosamin untuk mengetahui oksida nitrat yang kemudian direaksikan dengan ozon untuk menghasilkan nitrogen dioksida chemiluminescent (Loepky, 1994).

BAB III

MATERI DAN METODE

Penelitian akan dilaksanakan pada bulan Oktober 2013 di Laboratorium Kimia Pangan dan Gizi. Pengujian kandungan nitrit akan dilaksanakan di Laboratorium Biokimia Nutrisi. Keduanya berada di lingkungan kampus Fakultas Peternakan dan Pertanian, Universitas Diponegoro, Semarang.

3.1. Alat dan Bahan Penelitian

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sosis sapi, sosis ayam dan daging sapi. Bahan untuk pengujian kandungan ppm nitrit adalah acetone dan hydrochloric acid. Alat yang harus disediakan untuk penelitian ini adalah satu set spektrofotometer, mortar, kertas karbon, kertas saring Whatman No.1, kuvet dan mortar. Pengujian ppm kandungan nitrit memerlukan ruang gelap tanpa cahaya dan bersuhu dingin. Data yang harus diobservasi adalah total pigmen (ppm), nitrosopigmen (ppm) dan % konversi nitroso pigmen ke total pigmen

3.2 Pengujian Total Pigmen Daging Kyuring

Solvent yang diperlukan :40 mL acetone; 3 mL HCl (hydrochloric acid); 7 mL air daging. Sejumlah 40 mL solvent dibuat dalam rasio 3mL : 7mL.

Prosedur pengujian: mengaluskan daging di mortar kemudian ditimbang 2 gr sampel dan masukkan dalam tabung reaksi berukuran 125 atau 250 mL. Acetone dan HCl sejumlah 43 mL ditambahkan dan digojog manual selama 10 menit. Penyaringan dilakukan 2 kali menggunakan kertas saring Whatman No.1. Larutan hasil penyaringan kemudian dimasukkan ke dalam kuvet. Pembacaan pada spektrofotometer dilakukan pada absorbansi 640 dalam 1 jam kemudian dibandingkan dengan kuvet blanko yang berisi acetone teracidifikasi. Tidak disarankan untuk menggunakan disposable kuvet.

Solvent kuvet blanko teracidifikasi berisi 8 mL acetone; 0,6 mL HCl dan 1,4 mL H₂O. Semua tahapan prosedur pengujian dilakukan di ruang yang gelap dan dingin. Semua analisis disiapkan dalam duplo.

Kalkulasi perhitungan

Optikal density x 680 ppm = **total pigmen (ppm)**

$A_{640} \times 680 \text{ ppm} = \text{total pigmen (ppm)}$

Optikal density pada 640nm = $2 - \log \% \text{ transmittan}$

Optikal density berasal dariberat molekul NO-heme = 646 (lower rounded)

Optikal density = absorbansi peak dari konsentrasi total heme daging
(mioglobin, oksimioglobin dan metmioglobin)

3.3 Pengujian Kandungan Nitroso Pigment Daging Kyuring

Larutan solvent yang diperlukan adalah 40 mL acetone dan 3 mL air terdestilasi. Larutan blanko yang dipersiapkan adalah 8 mL acetone dan 2 mL air terdestilasi.

Prosedur pengujian: menghaluskan daging di mortar kemudian ditimbang 2 gr sampel dan dimasukkan dalam tabung reaksi berukuran 250 atau 125 mL. Reagen acetone dan air terdestilasi ditambahkan sampai sejumlah 43 mL dan dilakukan penggojokan secara manual selama 10 menit. Larutan kemudian dilakukan penyaringan sebanyak 2 kali menggunakan kertas saring Whatman No.1 kemudian dilakukan pembacaan pada spektrofotometer pada absorbansi 640 dalam 1 jam dan kemudian dibandingkan dengan kuvet blanko berisi acetone teracidifikasi. Tidak disarankan untuk menggunakan disposable kuvet. Semua prosedur dilakukan di ruang yang gelap dan dingin dan semua analisis disiapkan dalam duplo.

Kalkulasi perhitungan:

Optical density x 289 = nitroso pigment (ppm)

% konversi = $\frac{\text{nitrosopigment(ppm)}}{\text{totalpigment(ppm)}} \times 100$

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Determinasi Pigmen Daging Kyuring

Pengujian pigmen daging kyuring didasarkan pada ekstraksi heme dari produk daging kyuring dalam pelarut *acetone water*. Kadar air dari sampel daging biasanya diperhitungkan sedemikian rupa sehingga dihitung sebagai 80 % hasil dari ekstraksi aseton dan air (Kramlich *et al.*, 1973). Perbandingan *acetone* dan air supaya ekstraksi berlangsung maksimum dilakukan pada rasio 4:1. Jumlah air yang digunakan tidak sebanyak jumlah *acetone* karena diasumsikan air daging atau jus daging berkontribusi besar dalam proses ekstraksi. Penambahan HCl dalam pelarut menjadikan metode ekstraksi ini dapat diaplikasikan untuk mengukur total pigmen daging (Hornsey, 1956).

4.2. Analisa Total Pigmen

Penggantian 1 ml air dengan 1 ml asam klorida pekat dalam pelarut yang digunakan kemudian membiarkan larutan tersebut selama 1 jam sebelum penyaringan dapat melarutkan asam heme dalam 80% *acetone*. Protein heme berasal dari berbagai struktur pigmen daging yang dihasilkan dari proses oksidasi pigmen nitrit oksida. *Optical density* yang digunakan untuk mengukur hasil filtrasi dari total heme pigmen pada daging adalah sebesar 640 m μ (Hornsey, 1956).

Keseluruhan jumlah konsentrasi pigmen yang terukur mengindikasikan warna merah daging. Konsentrasi tersebut dapat diperoleh dengan mengekstrak struktur pigmen daging pada larutan asam aseton (Hornsey, 1956). Konsentrasi pigmen tersebut kemudian dikonversikan menjadi asam heme yang dapat terukur pada 640 m μ . Secara umum konsentrasi pigmen terukur sebagai protein mioglobin lebih tinggi ditemukan pada otot daging yang lebih aktif, lebih tua dan daging dari hewan yang mengkonsumsi pakan dengan kandungan zat besi yang tinggi. Warna merah pada daging berasal dari *myoglobin* dan *hemoglobin* yang menjadi pigmen utama pada daging merah (Casseens dan Cooper, 1971 dan Winarno, 1984). Pada *myoglobin* terdapat gugus *heme* yang mengandung porfirin (Fe)

yang jika mengalami pemucatan akibat bahan pemucat maka *heme* pada daging akan putus. Pigmen *heme* terdapat pada daging merupakan senyawa tetrapirrol.

Tabel 1. Nilai Total Pigmen Daging

Sampel	Abs	Total pigmen (ppm)
Sosis sapi	0,016	10,88
Sosis ayam	0,062	42,16
Daging sapi	0,033	22,44
Daging ayam	0,013	8,84

Sumber: Data Primer Penelitian (2013)

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa terjadi peningkatan pigmen setelah dilakukan pengolahan. Untuk total pigmen daging ayam mentah sebesar 8,84 ppm kemudian setelah diolah menjadi produk sosis ayam terdapat kandungan total pigmen sebesar 42,16 ppm. Data untuk daging sapi segar didapat kandungan total pigmen 22,44 ppm setelah diolah menjadi produk sosis sapi meningkat menjadi 10,88 ppm. Hal ini menunjukkan telah dilakukan perlakuan curing atau penambahan pigmen pada sosis. Menurut Lestari *et al.* (1997) warna merupakan salah satu parameter spesifik kualitas daging. Warna daging akan mengalami perubahan warna setelah pemasakan kecuali jika ditambahkan bahan pembentuk warna.

Pengolahan sosis sapi tidak dilakukan penambahan bahan pembentuk warna, terbukti terjadinya penurunan total pigmen dari 22,44 ppm menjadi 10,88 ppm. Sebaliknya, pada sosis ayam meningkat drastis dari 8,84 ppm menjadi 42,16 ppm.

4.3. Analisa Nitroso Pigmen dan Persentase Konversi Total Pigmen

Tabel 2. Nilai Nitroso Pigmen dan % konversi-nya ke Total Pigmen

Sampel	Abs	Nitroso pigmen (ppm)	% Konversi
Sosis sapi	0,047	13,58	124,84
Sosis ayam	0,666	192,47	456,53
Daging sapi	0,010	2,89	12,88
Daging ayam	0,047	13,58	153,65

Sumber: Data Primer Penelitian (2013).

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui nilai nitroso pigmen paling terkecil daging sapi sebesar 2,89 ppm dan terbesar sosis ayam sebesar 192,47 ppm. Menurut Tambunan (2008) nilai nitroso pigmen dipengaruhi oleh perbedaan tipe serabut otot dan kandungan myoglobin. Mioglobin merupakan bagian dari protein sarkoplasma dan bersifat larut dalam air. Sebuah molekul mioglobin terdiri dari sebuah molekul protein yang disebut globin dan bagian non protein yang disebut gugus heme. Struktur dasar heme terdiri atas empat satuan pirol yang disambung-sambungkan menjadi cincin porfirin dengan atom N-nya terikat dengan atom besi (Fe) pusat. Karena terdiri dari sebuah porfirin yang mengandung satu atom besi (Fe), maka heme didalam mioglobin disebut juga Fe^{2+} -protoporfirin.

Mioglobin yang berwarna merah keunguan ini dapat mengalami perubahan warna karena reaksi kimia. Atom besi yang terletak dibagian tengah gugus heme merupakan logam transisi yang bisa berada dalam bentuk feri (Fe^{3+} , bentuk teroksidasi) dan fero (Fe^{2+} , bentuk tereduksi). Besi ini juga mempunyai kemampuan berikatan dengan oksigen dan teroksidasi tanpa menjadi teroksidasi. Besi didalam heme memiliki enam ikatan koordinasi. Setiap ikatan merupakan pasangan elektron yang diterima besi dari lima atom nitrogen, empat dari cincin porfirin dan satu dari residu asam amino globin. Ikatan ke enam tersedia untuk berikatan dengan atom yang dapat memberikan pasangan elektron. Derajat kemudahan pemberian pasangan elektron tersebut menentukan sifat ikatan yang terbentuk dan warna senyawa kompleks. Faktor lain yang berperan dalam pembentukan warna adalah kondisi oksidasi atom besi dan kondisi fisik globin. Jika daging segar dipotong, warnanya adalah merah keunguan dari mioglobin. Ketika berada didalam lingkungan beroksigen, maka permukaan daging segar akan berwarna merah terang karena terjadinya oksigenasi mioglobin menjadi oksimioglobin. Oksigen yang masuk kedalam otot kemudian dipakai untuk reaksi biokimiawi didalam otot. Kondisi ini menghasilkan gradien oksigen dari jenuh di permukaan sampai nol pada beberapa cm didalam otot. Pada konsentrasi oksigen rendah (1-2%), atom fero (Fe^{2+}) akan teroksidasi menjadi feri (Fe^{3+}) dan sisi ikatan keenam akan berikatan dengan air membentuk metmioglobin berwarna coklat. Reaksi oksidasi fero menjadi feri bersifat reversible dan juga terjadi pada bentuk mioglobin. Bentuk warna kimia daging segar yang diinginkan oleh kebanyakan konsumen adalah merah terang oksimioglobin. Proporsi relatif dan distribusi ketiga pigmen daging yaitu mioglobin yang merah keunguan, oksimioglobin yang merah terang dan metmioglobin yang berwarna coklat akan menentukan intensitas warna daging. Persentase konversi total pigmen dihitung

berdasarkan kemungkinan 100% protein haematin dapat terkonversi menjadi nitroso pigmen (Kramlich *et al.*, 1973). Persentase konversi yang rendah dimungkinkan karena rendahnya kandungan nitroso pigmen.

4.4. Sodium nitrite dan Keamanan Pangan

Nitrit (NO^{2-}) adalah anion dari garam nitrit anorganik. Sodium nitrit, dengan rumus kimia NaNO_2 berwujud bubuk putih kristal agak kekuningan, memiliki kelarutan 82 g/100 mL air pada 20°C, higroskopis, memiliki titik leleh 270°C dan terurai di atas 320°C. Perlahan-lahan mengoksidasi di udara untuk natrium nitrat. Sodium nitrit digunakan sebagai agensia antimikroba, pengawet dan fiksatif warna pada daging dan ikan. Pelabelan untuk penggunaan makanan hanya dijual dalam campuran dengan garam (NaCl) atau pengganti garam. Sebagai aditif makanan, sodium nitrit berperan dalam menstabilkan warna pada ikan dan daging serta dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Clostridium botulinum* yang menghasilkan toksin botulinum. Sodium nitrit dapat pula diaplikasikan dalam pembuatan pewarna azo, senyawa nitroso dan senyawa organik lainnya. Aplikasi lainnya adalah dalam pencelupan dan pencetakan kain tekstil, pemutihan serat, dalam fotografi, dalam pelapis logam untuk phosphatising dan sebagai reagen analitis (EFSA, 2009).

Sebagai bahan tambahan pangan sintesis, nitrit mempunyai batas keamanan untuk penggunaannya. Sodium nitrit berpotensi sebagai prekursor karsinogenik dalam akumulasi penggunaannya. Dosis penggunaan nitrit yang diijinkan berdasarkan SNI 01-0222-1995 pada sosis adalah 125 ppm, korned dalam kaleng 50 ppm dan burger 125 ppm (Tambunan, 2008). Pada Tabel 2. untuk produk sosis sapi dan ayam didapat hasil kandungan nitrat yang diasumsikan dalam persentase konversi kandungan nitroso pigmen masing-masing sebesar 124,84 ppm dan 456,53 ppm. Penggunaan nitrat pada sosis ayam sebesar 456,53 ppm diketahui sangat tinggi melebihi batas aman SNI yang hanya sebesar 125 ppm.

Pada Peraturan Menteri Kesehatan RI No. 235/Men.Kes/VI/79 tentang Bahan Tambahan Makanan, ditetapkan bahwa konsentrasi nitrat (dalam bentuk garam natrium atau kalium) untuk mengawetkan daging dibatasi penggunaannya sampai 500 ppm, sedangkan untuk nitrit dibatasi sampai 200 ppm. Konsumsi nitrit pada manusia dibatasi sampai 0,4 ppm per hari (Tambunan, 2008). Batas aman tidak dilampaui untuk residu nitrat pada daging segar. Tabel 2. untuk analisa penggunaan nitrat dalam persentase konversi

total nitroso pigmen didapat hasil 12,88 ppm untuk daging sapi dan 153, 65 ppm untuk daging ayam.

BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1. Simpulan

Hasil pengujian kandungan zat pewarna tambahan yang diberikan pada daging dan produk olahannya terdapat kandungan zat pewarna tambahan yaitu garam sendawa atau nitrat. Kandungan nitrat pada produk olahan daging terbukti lebih tinggi daripada produk daging segar, baik untuk daging ayam atau sapi. Hal tersebut menunjukkan bahwa telah dilakukan proses kyuring dengan ditambahkan zat pewarna nitrat. Tujuan dilakukan proses kyuring adalah untuk memperkuat warna pigmen daging. Penggunaan nitrat sebagai agensia kyuring dinilai terlalu berlebihan diaplikasikan dalam produk olahan daging.

5.2. Saran

Sosialisasi untuk melarang penggunaan senyawa nitrat dan nitrit untuk bahan tambahan pangan sangat sulit dalam realisasi aplikasi di industri pengolahan. Mengacu pada peraturan keamanan pangan, tanggung jawab produsen dalam memproduksi pangan yang aman untuk dikonsumsi hendaknya dilakukan dengan menggunakan bahan tambahan pangan khususnya nitrat dan nitrit dalam takaran yang masih diperbolehkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Antonini, E. and M. Bhunori. 1971. Hemoglobin and myoglobin in their reactions with ligands. North Holland Publishing Company, Amsterdam, The Netherlands.
- Benjamin, N. And Collins. 2003. Nitrite in Food Preservatives. 2nd edition. Edited by N.J. Russel and G. W. Gould. Kluwer Academis/Plenum Publisher. New York.
- Cassens, R.G., M.L. Greaser, T. Ito and M. Lee. 1979. Reactions of nitrite in meat. Food Technol. **33**(7):46.
- Cassens, R.G. and c.C. Cooper. 1971. Red and white muscle. Advan. Food. Res., 19:1.
- Fan, T.Y. and S.R. Tannenbaum. 1972. Stability of N-nitroso compounds. J.Food Sci37:274.
- Fox Jr., J.B. 1966. The chemistry of meat pigments. J. Agric. Food Chem. **14**(3):207.
- Fox Jr., J.B. and S.A. Ackerman. 1968. Formation of nitric oxide myoglobin: Mechanisms of the reaction with various reductants. J. Food Sci. 333364.
- George, P. and C. J. Stratmann. 1952. The oxidation of myoglobin to metmyoglobin by oxygen. **1**. Biochem. J. 51:103.
- Haldane, J. 1901. The red colour of salted meat. Hviene 1 :115.
- Hornsey, H.C. 1956. The colour of cooked pork: I-Estimation of the nitric oxide-haem pigments. J. Food Agric. **7**: **534-540**
- Hotchkiss, J.H. and R.G. Cassens. 1987 Nitrate, nitrite, and nitroso compounds in foods. Scientific Status Summary by the Inst. of Food Technologists' Expert Panel on Food Safety and Nutrition, **41**(4):127.
- Kramlich, W.E., A.M. Pearson, and F.W. Tauber. 1973. Processed Meats. The Avi Publishing Company, Inc. Wetsport, Connecticut.
- Ladikos, D. and B.L. Wedzicha. 1988. The chemistry and stability of the haem-protein complex in relation to meat. Food Chem. 29:143.
- Lestari, R.P., Srikandi, F., dan Betty, S.L.J. 1997. Pengaruh Metode Pemasakan dan Penyimpanan terhadap Stabilitas Warna Daging dengan Penambahan Pigmen Angkak. Bul. Tek. Dan Industri Pangan. **8** (3): 8-12.
- Loepky, R.N. 1994. Nitrosamine and N-nitroso compound chemistry and biochemistry, in "Nitrosamines and related N-nitroso compounds", ed. R.N. Loepky, and C.J. Michejda, p. **1**, American Chemical Society Symposium Series 553, Washington, DC.. U.S.

- Ohshima, H. and H. Bartsch. 1981. Quantitative estimation of endogenous nitrosation in humans by monitoring N-nitrosoproline excreted in the urine. *Cancer Res.* 41:3658.
- Perutz, M.F. 1965. Structure and function of haemoglobin. I. A tentative atomic model of horse oxyhaemoglobin. *J. Mol. Biol.* 13:646.
- Preusmann, R. and B.W. Stewart. 1984. N-nitroso carcinogens. In "Chemical carcinogens", 26 edn., ed. C.E. Searle, Am. Chem. Soc., Washington DC., US. (p. 643).
- Tambunan, R.D. 2008. Determination of cured meat pigments on three cured beef muscles. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner, Bogor.
- Tarladgis, B.G. 1962a. Interpretation of the spectra of meat pigments. I. Cooked meats. *J. Sci. Food Agric.* 13:481.
- Tarladgis, B.G. 1962b. Interpretation of the spectra of meat pigments. II. Cured Meats. The mechanisms of colour fading. *J-Sci. Food Agric*, 13: 485.
- The ESFA Journal. 2009. Scientific Opinion. Nitrite as undesirable substances in animal feed. Scientific opinion of the panel on Contaminants in the food chain. 1017. 1-47.
- Winarno, F.G. 1984. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta