

#### 4. PEMBAHASAN

Ikan kurisi (*Nemipterus nematophorus*) merupakan salah satu jenis ikan demersal dengan permintaan paling tinggi di Indonesia sehingga mudah didapatkan (Pusat Informasi Pelabuhan 2005 in Sulistyawati 2011). Tingginya permintaan ikan kurisi dikarenakan ikan kurisi memiliki kandungan protein yang tinggi dan rendah akan lemak. Salah satu contoh dari hasil olahan ikan kurisi adalah surimi. Surimi merupakan contoh produk olahan ikan yang memanfaatkan karakteristik fungsional protein miofibril dari ikan berprotein tinggi seperti ikan demersal. Protein miofibril memiliki berbagai karakter atau sifat fungsional yang bermanfaat di dalam industri pangan. Protein miofibril yang terkandung di dalam ikan demersal memiliki sifat fungsional yang berbeda-beda tergantung dari jenis ikan. Sifat fungsional protein akan berpengaruh terhadap kualitas produk akhir suatu produk.

Sifat fungsional untuk menentukan protein didefinisikan sebagai sifat-sifat protein yang dapat mempengaruhi karakter pangan selama pengolahan, penyimpanan dan konsumsinya, sehingga menentukan penggunaannya dalam pangan. Sifat yang disebabkan oleh interaksi protein dengan komponen-komponen lainnya, baik langsung maupun tidak langsung, akan berpengaruh pada proses aplikasi, mutu dan penerimaan bahan. Sifat-sifat fungsional miofibril yang diamati meliputi kelarutan terhadap pH, kelarutan terhadap garam, daya ikat air, daya gelasi, daya pembentukan busa, dan aktivitas emulsi.

Di dalam industri pangan kelarutan protein memiliki peran yang penting. Yang dimaksud dengan kelarutan protein yaitu jumlah protein terlarut yang terdapat di dalam suatu pelarut atau larutan (Hettiarachchy *et al*, 1994). Protein dengan kelarutan yang tinggi akan membuat molekul protein dapat menyebar dengan baik. Protein yang dapat menyebar dengan baik akan berpengaruh terhadap hasil akhir suatu produk pangan yang baik pula (Hettiarachchy *et al*, 1994). Kelarutan protein dipengaruhi oleh faktor internal meliputi komposisi asam amino, berat molekul protein, dan konformasi protein, serta faktor eksternal seperti suhu, pH, dan konsentrasi garam atau kekuatan ionik (Zayas, 1997). Selain itu protein yang berasal dari bahan yang berbeda akan memiliki kelarutan serta sifat yang berbeda pula. Dengan kata lain, suatu jenis protein yang dihasilkan dari

bahan yang berbeda memiliki karakteristik masing-masing yang dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti suhu, pH, dan konsentrasi garam (Zayas, 1997). Dari ketiga faktor yang dapat mempengaruhi kelarutan protein tersebut, penyesuaian pH dan konsentrasi garam adalah yang lebih mudah dilakukan untuk skala industri pangan.

Daging ikan tersusun atas tiga jenis yaitu protein sarkoplasma, protein miofibril, dan protein stroma (jaringan ikat). Protein miofibril berperan sebagai protein struktural dan protein gelasi. Protein memiliki ciri-ciri yaitu tidak larut dalam air sehingga berfungsi baik dalam proses pembentukan gel. Berbeda dengan protein miofibril, protein sarkoplasma memiliki sifat larut air sehingga keberadaan protein sarkoplasma dapat mengganggu proses pembentukan gel. Sama halnya dengan protein stroma. Protein stroma memiliki peran struktural di dalam daging ikan yaitu sebagai pelindung yang membentuk serat-serat (Park, 2000). Di dalam produksi surimi protein sarkoplasma dan stroma perlu dihilangkan untuk mencegah kegagalan proses gelasi dari protein miofibril.

Penghilangan protein sarkoplasma dan stroma dapat dilakukan dengan proses pencucian atau *leaching*. Proses *leaching* atau pencucian yang dilakukan berulang-ulang saat proses preparasi miofibril berlangsung merupakan hal krusial yang menentukan berhasil tidaknya ekstraksi protein miofibril. Air sebagai pelarut dengan suhu tertentu yaitu sekitar  $\pm 5^{\circ}\text{C}$  dan pH netral digunakan untuk menghilangkan protein sarkoplasma, protein stroma, darah, lemak dan komponen nitrogen lain dari daging lumat ikan sehingga hanya protein miofibrilar saja yang diperoleh (Park, 2000).

#### **4.1. Kelarutan Protein terhadap pH Pelarut**

Pengukuran kelarutan protein miofibril terhadap pH pelarut ini menggunakan pelarut berbahan dasar larutan NaCl 0,7 M dalam buffer fosfat 0,05 M. Larutan NaCl 0,7 M setara dengan larutan NaCl 4,1%. Penggunaan NaCl dalam pelarut sebesar 4,1% bertujuan untuk meningkatkan kelarutan protein, sehingga pengujian ini dapat dilakukan secara efisien dan efektif. Hal ini sesuai dengan pernyataan Zayas (1997) bahwa penambahan NaCl 1% - 5% dapat meningkatkan kelarutan protein. Larutan NaCl dibuat di dalam larutan buffer. Hal ini dilakukan guna menciptakan suasana pH yang

dikehendaki. Sebagaimana seperti yang dikemukakan Bollag (1991), bahwa penggunaan buffer fosfat bertujuan untuk menyesuaikan pH protein sesuai dengan pH pelarut.

Metode yang dilakukan untuk mengukur kelarutan protein terhadap pH pelarut bertujuan untuk melihat pH fisiologik atau titik isoelektrik dari protein miofibril ikan kurisi. Data dari Tabel 1 dan Gambar 10 menunjukkan nilai kelarutan protein yang berbeda untuk masing-masing pH pelarut. Berdasarkan data tersebut diketahui kelarutan protein paling tinggi berada di dalam pelarut dengan pH 7, sementara nilai kelarutan protein terendah ada pada pelarut dengan pH 5,4. Kelarutan protein mengalami kenaikan saat pH semakin mendekati netral dan akan berkurang kelarutannya saat pH pelarut semakin asam atau basa. Hasil analisis persentase protein miofibril yang larut pada larutan 0,7 M NaCl, menunjukkan bahwa pH larutan kisaran 5-8 mempengaruhi daya kelarutannya secara nyata.

Secara umum protein miofibril dari sampel terus meningkat kelarutannya dan kembali menurun ketika  $pH > 7$ . Banyaknya protein yang terlarut pada suatu larutan merupakan hasil dari adanya interaksi hidrofobik dan gaya elektrostatis antara molekul protein. Kelarutan protein akan meningkat jika interaksi hidrofobik antar molekul lebih kecil daripada gaya elektrostatis (Zayas, 1997). Pada kondisi pH yang asam dan basa, molekul protein memiliki muatan positif atau negatif. Hal ini membuat interaksi antara protein dengan air meningkat, sehingga kelarutan protein juga meningkat. Ketika molekul protein bermuatan nol atau dengan kata lain jumlah proton dengan elektron setara, maka kelarutan protein akan menurun. Kondisi tersebut terjadi saat protein berada pada kondisi isoelektris (Bollag, 1991). Nilai konsentrasi protein terendah yaitu pada pH 5,4, sehingga dapat dinyatakan bahwa pH isoelektrik protein miofibril ikan kurisi (*Nemipterus nematophorus*) adalah 5,4. Selain itu, tingginya nilai kelarutan pada pH 6 - 7 disebabkan pH fisiologik dari daging ikan secara umum adalah berkisar pada pH 6 - 7. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Huda (2001) dan Subagio dkk (2004) di dalam penleitiannya, yang menyatakan bahwa pH fisiologis dari protein miofibril ikan berada dalam rentang pH 6 – 7.

#### 4.2. Kelarutan Protein terhadap Konsentrasi Garam

Data dari Tabel 2 dan Gambar 11 menunjukkan nilai konsentrasi protein yang berbeda untuk masing-masing konsentrasi garam. Pemilihan konsentrasi garam yang digunakan dilakukan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Subagio (2004) sebelumnya. Berdasarkan data tersebut, maka diketahui konsentrasi protein terlarut paling tinggi berada di dalam pelarut dengan konsentrasi garam 0,8 M, sementara nilai konsentrasi protein terlarut protein terendah ada pada pelarut dengan konsentrasi garam 0,1 M. Konsentrasi protein terlarut mengalami kenaikan saat konsentrasi garam semakin tinggi dan akan berkurang kelarutannya saat konsentrasi garam semakin rendah. Meningkatnya konsentrasi protein terlarut secara signifikan ditunjukkan pada saat konsentrasi garam 0,5 M. Konsentrasi garam sangat mempengaruhi kelarutan dari protein miofibril sampel ikan, semakin tinggi konsentrasi garam maka akan semakin tinggi pula kelarutan dari protein itu. Hal tersebut terjadi karena protein akan mengalami *salting in* dengan penambahan garam yang disebabkan oleh interaksi langsung antara garam dengan gugus bermuatan dari protein, yang kemungkinan besar adalah gugus fosfat (Kumosinki and Farrell, 1994). *Salting in* merupakan metode penambahan garam dalam konsentrasi tidak jenuh sebagai zat terlarut yang menyebabkan protein menjadi bermuatan dan memiliki kelarutan lebih besar di dalam larutan garam. Konsentrasi garam yang digunakan harus dalam kondisi rendah atau tidak jenuh. Penambahan jumlah garam yang berlebihan akan mengakibatkan konsentrasi garam menjadi jenuh dan terjadi *salting out* yang dapat menurunkan kelarutan protein miofibril. *Salting out* terjadi karena kandungan garam yang tinggi dengan protein saling bersaing untuk mengikat air dari pelarut. Ion-ion yang berada di permukaan protein akan menarik banyak molekul air dan berikatan dengan kuat (Kristinsson *et al.*, 2000).

#### 4.3. Daya Ikat Air

Pada pengujian daya ikat air Daya ikat protein dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsentrasi protein, pH, kekuatan ion, dan efek pemanasan (Zayas, 1997). Daya ikat air sangat berperan dalam industri pangan. Contohnya aplikasi dalam produk olahan daging seperti sosis, baso, dll, produk olahan hasil laut seperti surimi, karagenan, dll, dan pada produk roti (Wijayanti dkk., 2015). Peran daya ikat air dalam dunia pangan

sangat penting karena daya ikat air berpengaruh terhadap tekstur dari produk pangan yang akan dihasilkan (Kristinsson *et al.*, 2000).

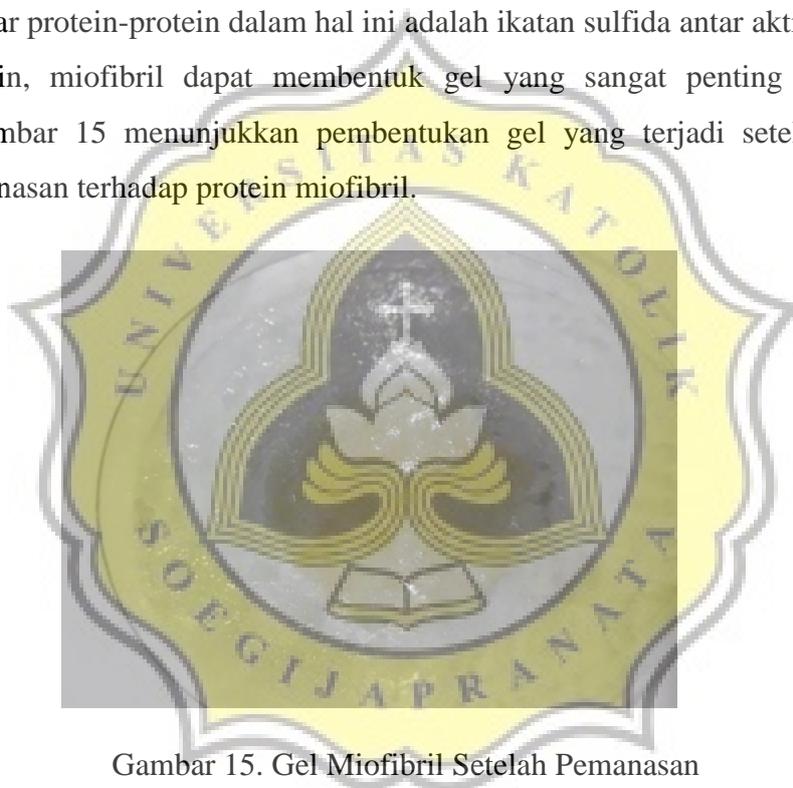
Dari uji daya ikat air yang diulang sebanyak 3 kali dalam 2 *batch*, diketahui volume air mengalami pengurangan setelah dihomogenasi dengan protein miofibril. Penurunan volume air menunjukkan bahwa protein miofibril pada ikan kurisi memiliki kemampuan mengikat air. Air yang terikat dalam setiap gram protein miofibril yaitu 2,3 ml; 1,8 ml; 2 ml; 1,8 ml; 1,5 ml; dan 2 ml dan diperoleh rata-rata volume air yang terikat sebesar 1,9 ml/1 g protein miofibril ikan kurisi. Nilai daya serap air protein miofibril ikan kurisi ini masih termasuk dalam kisaran nilai daya ikat air untuk konsentrat dan isolat protein komersial (1,5–2,5 g H<sub>2</sub>O/g solid) (Lin & Zayas, 1987, dalam Haryasyah, 2009). Kemampuan suatu protein miofibril dalam mengikat air dipengaruhi oleh kemampuan daya ikat air fraksi-fraksi protein di dalamnya. Fraksi protein yang termasuk golongan protein miofibril adalah tipe golongan protein globulin, misalnya miosin, aktin dan aktomiosin (Zayas, 1997). Fraksi-fraksi protein miofibril tersebut sangat berperan pada proses kontraksi dan relaksi daging ikan. Jumlah protein golongan miofibril kurang lebih 50% dari seluruh protein yang ada pada daging. Selain itu, penggunaan protein miofibril yang tidak dilakukan pengeringan juga menyebabkan daya ikat air yang dihasilkan menjadi rendah. Di dalam penelitian Huda *et al* (2001), daya ikat air yang dihasilkan dari konsentrat protein berbagai jenis ikan yang digunakan sebagai bahan baku surimi dapat mencapai 13,5-19 mL/gram protein. Hal tersebut disebabkan bubuk protein memiliki aktivitas (AW) yang jauh lebih rendah karena adanya penambahan perlakuan berupa pengeringan.

Daya ikat air yang dimiliki oleh protein miofibril dipengaruhi oleh beberapa hal seperti temperatur, pH, konsentrasi protein, keberadaan komponen lain seperti garam, lemak, dan polisakarida hidrofilik, dan kondisi penyimpanan (Zayas, 1997). Oleh karena itu, kondisi proses yang berlangsung selama pengestraksian protein miofibril sangat berperan penting dalam mempertahankan karakteristik fraksi-fraksi protein penyusun miofibril. Globulin memiliki sifat yang tidak larut pada air, tetapi larut pada larutan garam encer serta mengendap di dalam larutan garam tinggi. Selain itu, globulin juga bersifat terkoagulasi dengan perlakuan pemanasan. Miosin dan aktin merupakan fraksi

protein miofibril yang memiliki sifat pembentukan gel yang baik. Pembentukan gel dari miosin dan aktin perlu didukung oleh perlakuan pendinginan (*high-low temperature*). Sama halnya dengan miosin dan aktin, aktomiosin juga memiliki sifat pembentukan gel yang baik. Kondisi pH aktomiosin yang menghasilkan pembentukan gel yang paling baik adalah pH 5,0 (*natural actomiosin*) dan pH 5,5 (*crude actomiosin*) (Zayas, 1997).

#### 4.4. Daya Gelasi

Daya gelasi dari protein miofibril ikan sangat diperlukan pada aplikasi produk-produk berbasis gel, seperti bakso, surimi, sosis, dan *nugget*, atau industri *edible film*. Dengan interaksi antar protein-protein dalam hal ini adalah ikatan sulfida antar aktin-miosin atau miosin-miosin, miofibril dapat membentuk gel yang sangat penting bagi industri pangan. Gambar 15 menunjukkan pembentukan gel yang terjadi setelah dilakukan proses pemanasan terhadap protein miofibril.



Gambar 15. Gel Miofibril Setelah Pemanasan

Pada penelitian ini pembentukan gel pada surimi terjadi dalam dua tahap. Mekanisme awal gelasi terjadi melalui proses denaturasi protein akibat perlakuan pemanasan yang diberikan. Tahap kedua adalah terjadi agregasi protein membentuk struktur tiga dimensi. Denaturasi merupakan proses perubahan struktur sekunder, tersier, dan kuartener protein tanpa terjadinya pemecahan ikatan-ikatan kovalen (Rawdkuen *et al.*, 2009). Hal ini mengakibatkan terbukanya gugus reaktif yang sama atau berdekatan dan membentuk ikatan. Ikatan-ikatan antar gugus reaktif protein tersebut akan menahan cairan dan membentuk gel (Damodaran *et al.*, 2008). Empat jenis ikatan yang

berpengaruh terhadap pembentukan struktur jaringan selama proses gelasi, yaitu ikatan garam, ikatan hidrogen, ikatan disulfida dan ikatan hidrofobik. Interaksi hidrofobik terjadi ketika suhu naik dan ikatan hidrogen menjadi tidak stabil (Zayas, 1997).

Penambahan garam ke dalam protein miofibril pada penelitian ini dilakukan untuk mendukung terjadinya proses gelasi. Aktomiosin (miosin dan aktin) merupakan komponen larut garam yang akan membentuk sol (dispersi partikel padat dalam medium cair) yang sangat lengket. Sol yang dipanaskan akan membentuk konstruksi seperti jala dan memberikan sifat elastis (Park, 2000).

Hasil analisis daya gelasi dari protein miofibril sampel ikan (Tabel 5) menunjukkan bahwa ikan kurisi dapat membentuk gel dengan berat tertinggal setelah pemanasan yang termasuk rendah (61,76%) jika dibandingkan dengan ikan laut lainnya seperti ikan mata besar (*Selar crumenophthalmus*) (82,94%) dan ikan kuniran (*Upeneus moluccensis*) (62,70%) (Subagio dkk, 2004) . Ini berarti bahwa protein miofibril ikan kurisi tidak mampu menahan penguapan air sewaktu pemanasan jika dibandingkan dengan ikan kuniran dan ikan mata besar. Sebagaimana yang dijelaskan di dalam penelitian Subagio, dkk (2004) hal ini dapat terjadi kemungkinan karena kemampuan agregat dari protein miofibril dari ikan kurisi yang tinggi, menyebabkan terbentuklah agregat-agregat besar antar miosin. Agregat yang besar ini biasanya bersifat warna opak dan mempunyai *Water Holding Capacity* (WHC) yang rendah (Wijayanti dkk., 2012). Kemampuan agregasi yang berbeda antar jenis ikan dapat disebabkan karena rasio aktin miosin yang berbeda antara keduanya. Selain itu, tidak menutup kemungkinan pula perbedaan kadar asam amino yang mengandung belerang (walaupun sedikit) menyebabkan kemampuan gelasi miofibril setiap jenis ikan berbeda (Subagio dkk., 2004). Hal ini tentunya perlu diteliti lebih lanjut dengan elektroforesis miofibril.

#### **4.5. Daya Pembentukan Emulsi**

Protein mempunyai kemampuan untuk mendukung terjadinya emulsi karena memiliki aktivitas menyerupai surfaktan, yaitu kemampuan untuk menurunkan tegangan permukaan antara komponen hidrofobik dan hidrofilik. Emulsi akan terbentuk saat protein dengan hidrofobisitas yang tinggi terserap pada permukaan air atau minyak.

Pada saat hal tersebut terjadi, protein akan menurunkan tegangan permukaan sehingga terbentuklah emulsi (Subagio dkk., 2004). Emulsi yang terbentuk dari protein miofibril ikan kurisi (*Nemipterus nematophorus*) ditunjukkan pada Gambar 13.

Dari uji daya emulsi yang diulang sebanyak 3 kali dalam 2 *batch*, diketahui persentase emulsi yang diperoleh rata-rata sebesar 35,58%. Dibandingkan dengan hasil penelitian Huda *et al* (2001) yang meneliti tentang daya emulsi bubuk surimi yang mengandung konsentrat protein miofibril (77,5%-80%), diketahui bahwa protein miofibril ikan kurisi memiliki persentase pembentukan emulsi yang rendah. Kemampuan protein dalam membentuk emulsi tergantung pada komponen hidrofobik di dalam protein tersebut (Kinsella, 1985). Komponen hidrofobik sedikit terdapat pada protein miofibril yang banyak tersusun oleh globulin. Hal inilah yang menyebabkan pembentukan emulsi pada protein miofibril ikan kurisi menjadi kurang baik. Daya emulsi sangat diperlukan pada aplikasi produk-produk emulsi, seperti cake, sosis, dan nugget dimana berperan sebagai *stabilizer* yang akan berpengaruh terhadap tekstur produk akhir (Subagio dkk., 2004). Namun, protein miofibril pada ikan kurisi dalam hal ini kurang cocok diaplikasikan sebagai *stabilizer* pada suatu produk pangan.

#### **4.6. Daya Pembentukan Busa**

Pembusaan merupakan salah satu karakter protein yang dapat dimanfaatkan dalam perindustrian pangan. Pembusaan dapat dimanfaatkan untuk produk-produk pangan seperti *cake* dan *whipped cream* (Damodaran *et al*, 2008). Berdasarkan hasil analisis daya busa yang diulang sebanyak 3 kali dalam 2 *batch*, diketahui volume pembentukan busa yang terendah sebesar 13% dan yang tertinggi 20% dan diperoleh rata-rata sebesar 15,833%. Bila dibandingkan dengan bubuk surimi dari *lizardfish* (*Saurida tumbil*) yang juga mengandung konsentrat protein miofibril, daya busa yang dihasilkan ikan kurisi (*Nemipterus nematophorus*) (28%-36,4%) masih tergolong rendah. Busa yang terbentuk pada uji daya pembentukan busa protein miofibril ikan kurisi dapat dilihat pada Gambar 14.

Dalam penelitian ini, busa yang terbentuk menunjukkan sifatnya yang tidak stabil. Hal ini terlihat dari adanya penurunan volume busa apabila didiamkan dalam waktu lebih

dari 3 menit. Pada dasarnya protein memiliki sifat dapat membentuk busa. Dalam pembentukan busa, faktor utama yang paling mempengaruhi adalah kemampuan protein untuk menurunkan tegangan permukaan dari fase cairan (Zayas, 1997). Protein miofibril yang lebih banyak mengandung globulin membuat kemampuan menurunkan tegangan permukaan menjadi rendah (Suarez *et al*, 2014). Selain itu, kemampuan pembentukan busa juga dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor lainnya seperti konsentrasi protein, pH, temperatur, waktu pencampuran, dan metode pembusaan (Zayas, 1997). Berdasarkan hasil penelitian, maka dapat diketahui bahwa kemungkinan keberadaan globulin di dalam protein miofibril ikan kurisi sedikit. Kemungkinan lainnya adalah metode pembusaan yang digunakan untuk protein miofibril dari ikan kurisi bukan yang paling efektif. Hal-hal tersebut yang dapat menyebabkan protein miofibril pada ikan kurisi kurang baik dalam membentuk busa.

