

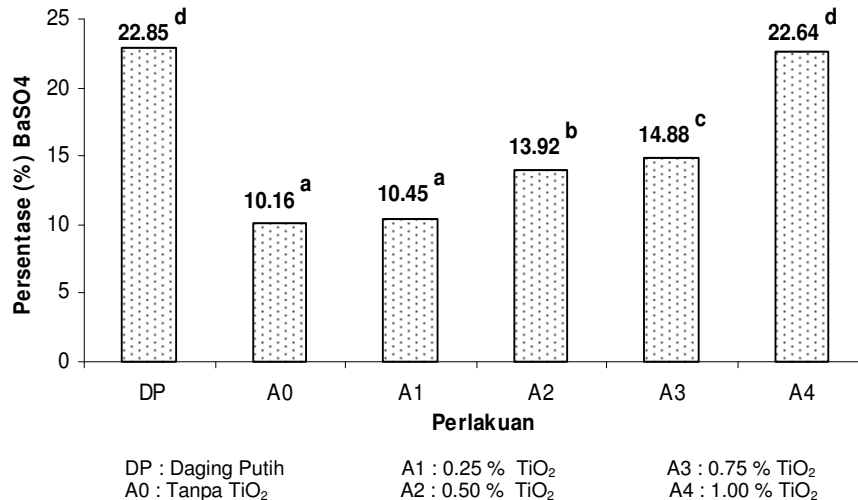
4 HASIL DAN PEMBAHASAN

A. PENELITIAN PENDAHULUAN

Daging merah *Yellow fin* tuna yang telah dicincang (*mince*) diberikan perlakuan penambahan konsentrasi *titanium dioksida* (TiO_2) kemudian dicampurkan dengan bumbu lainnya dan bahan pengikat sehingga homogen. Setelah menjadi *nugget* diuji mutunya. Untuk menguji mutunya dilakukan analisis yang meliputi derajat putih, uji organoleptik *nugget* daging merah dan putih tuna, serta kadar protein *nugget*.

1. Derajat Putih

Nilai hasil pengukuran derajat putih *nugget* daging merah tuna yang dipucatkan dengan pemberian TiO_2 dapat dilihat pada Gambar 13. Derajat putih *nugget* dengan penambahan TiO_2 : 0,25 ; 0,50 ; 0,75 ; 1,00 % ; dan tanpa penambahan TiO_2 adalah : 10,45 ; 13,92 ; 14,88 ; 22,64 dan 10,16 %. Derajat putih *nugget* daging putih tuna sebagai kontrol adalah 22,85 %.



Gambar 13 Nilai derajat putih *nugget* daging merah tuna

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan dengan TiO_2 berpengaruh nyata ($p < 0.05$) pada nilai derajat putih *nugget* daging merah tuna (Lampiran 2). Hasil uji Lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa derajat putih *nugget* daging merah tuna dengan perlakuan TiO_2 sebesar 1,00 % tidak berbeda dengan *nugget* daging putih, tetapi berbeda dengan perlakuan lainnya (Lampiran 3). Hal

ini menunjukkan bahwa konsentrasi 1,00 % efektif untuk memucatkan daging merah tuna. Penggunaan konsentrasi 1 % TiO_2 adalah konsentrasi yang masih direkomendasikan oleh Depkes (1999). *Titanium dioksida* merupakan bahan pemucat dalam bentuk kristal *anatase* yang dapat menyebabkan warna menjadi *opaque* dan penggunaannya maksimal 1 % (Depkes, 1999 dan Mac Daugall, 2002).

Warna merah pada daging tuna menjadi pucat penampakkannya karena *titanium* dalam bentuk *anatase* dapat menyebabkan dispersi warna gelap sehingga menjadi *opaque*. *Titanium* bentuk *anatase* memucatkan makanan bekerja secara dispersi pada produk semi solid (Winarno, 1997).

Titanium dioksida merupakan senyawa anorganik (*Institute of Food Technologists*, 1986 dalam de Man 1997). Selanjutnya de Man (1997) memasukkan *titanium* ke dalam *Lake*. *Lake* menghasilkan warna dalam bentuk dispersi dan dapat dipakai dalam makanan berbasis minyak. MacDougall (2002) menyatakan TiO_2 mempunyai kemampuan mendispersi dalam bentuk minyak dan air.

Warna merah pada daging ikan 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 ikan akan putus. Pigmen *heme* terdapat pada daging dan ikan yang merupakan senyawa tetrapirrol. MacDougall (2002) menyatakan bahwa TiO_2 merupakan oksidator yang dapat memutuskan ikatan rangkap pigmen warna yang kompleks menjadi komponen yang tidak berwarna melalui proses oksidasi.

2. Uji Organoleptik Nugget Daging Merah dan Daging Putih Tuna

Skor rata-rata organoleptik *nugget* daging merah tuna dibandingkan *nugget* daging putih (kontrol) tercantum pada Tabel 6.

Warna memegang peranan penting dalam penerimaan makanan, selain itu warna dapat memberi petunjuk mengenai perubahan kimia dalam makanan (de Man, 1997). Warna juga merupakan salah satu parameter yang digunakan konsumen dalam memilih produk. Hasil uji t (0,05) menunjukkan bahwa nilai rata-rata **warna** *nugget* daging merah tuna penambahan TiO_2 1 % tidak berbeda

nyata dengan kontrol (daging putih) yaitu sebesar 0,5, kecuali pada perlakuan penambahan konsentrasi TiO₂ lainnya (Lampiran 4).

Tabel 6. Skor rata-rata hasil uji organoleptik produk *nugget* daging merah dibandingkan *nugget* daging putih tuna

Parameter	Daging Putih	Daging Merah				
		TiO ₂ 0 %	TiO ₂ 0,25 %	TiO ₂ 0,50 %	TiO ₂ 0,75 %	TiO ₂ 1,00 %
warna	0,5	4,7*	4,1*	3,9*	3,3*	0,9
aroma	0,7	1,5*	1,2	1,2	1,2	1,0
Rasa	0,8	1,2	1,2	1,2	1,2	1,1
tekstur	0,7	2,7*	3,4*	2,8*	2,4*	2,0*

Keterangan : Nilai yang diikuti oleh tanda * pada baris yang sama menunjukkan perbedaan dengan kontrol (daging putih tuna) (P<0,05)

Perbedaan tersebut menurut panelis karena masih nampak warna kecoklatan pada produk *nugget* dari daging merah tuna. Warna daging disebabkan adanya dua pigmen *myoglobin* dan *hemoglobin*, kedua pigmen mengandung *globin* sebagai protein gugus *heme* terdiri atas cincin porfirin dan atom besi. Bila daging dimasak maka panas yang diberikan akan mengkoagulasikan protein (globulin) sehingga *heme* yang terdapat pada molekul terbuka terhadap serangan oksigen dan oksidasi daging merah berubah menjadi *hemin*. Kromoprotein (*myoglobin* dan *hemoglobin*) sering menimbulkan masalah dalam pengolahan yaitu terjadinya perubahan warna yang lebih gelap dan tidak disukai saat pengolahan (pengukusan dan penggorengan). Hal tersebut mengindikasikan bahwa penambahan TiO₂ 0,25 %, 0,50 % dan 0,75 % belum efektif untuk memucatkan warna merah daging tuna.

Pemanasan mengakibatkan terbentuknya sejumlah pigmen globin terdenaturasi dan besi dioksidasi menjadi besi III sehingga berwarna coklat yang disebut *hemikrom*. Serta terjadi oksidasi pada daging merah yang banyak mengandung asam lemak yang juga mempengaruhi warna ke arah lebih gelap (Hultin, 1993).

Stabilitas pigmen dalam bahan pangan sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan. Faktor-faktor tersebut meliputi antara lain : ada tidaknya oksigen, cahaya, substansi oksidasi dan reduksi, unsur logam berat, Aw, pH dan suhu (Purnomo, 1995). Diperlukan kontrol suhu dan pH saat pengolahan nugget

dengan penambahan TiO_2 agar degradasi pigmen dapat menghasilkan warna daging merah yang lebih pucat. Karena perubahan *myoglobin* menjadi metmyoglobin dan hemoglobin menjadi methemoglobin terjadi pada kisaran pH 5 sampai 7 menyebabkan oksidasi besi (II) menjadi besi (III) dan terjadi pembentukan menyebabkan warna menjadi coklat (McDonald and Hultin, 1993).

Hasil uji t (0,05) terhadap nilai rata-rata **aroma** *nugget* dengan berbagai konsentrasi TiO_2 tidak berbeda nyata dengan kontrol yaitu sebesar 0,7 (Lampiran 5). Kecuali pada perlakuan *nugget* daging merah tuna tanpa TiO_2 . Aroma khas *nugget* yaitu harum daging ikan tetap ada tetapi pada *nugget* daging merah tanpa penambahan TiO_2 masih tercium aroma amis yang disebabkan oleh trimetilamin pada otot daging merah lebih dominan. Ikan yang banyak mengandung lemak dan mengandung pro-oksidan dapat merupakan penyebab utama perubahan aroma/odor daging ikan (Hadiwiyoto, 1993 dan Ilyas, 1993)

Menurut Hadiwiyoto (1993) bahwa berbagai peptida-peptida dan asam amino bebas serta asam lemak bebas seringkali dikaitkan dengan rasa dan aroma daging ikan. Senyawa-senyawa lain yang berperan dalam bau/aroma ikan adalah senyawa belerang atsiri, hidrogen sulfida, metil merkaptan, metil disulfida dan gula yaitu ribose, glukosa dan glukosa 6 fosfat (deMan, 1997)

Berdasarkan hasil uji t(0,05) terhadap nilai rata-rata **rasa** *nugget* pada perlakuan daging merah tanpa penambahan TiO_2 dan penambahan TiO_2 tidak berbeda dengan kontrol yaitu sebesar 0,8 (Lampiran 6). *Nugget* daging merah dengan perlakuan tersebut mempunyai rasa ikan yang sangat kuat dan gurih sama dengan *nugget* daging putih tuna (kontrol). Penambahan TiO_2 tidak mengubah rasa ikan pada *nugget* daging merah. Menurut Kunika (1960 dalam Konusu and Yamaguchi, 1982) menyatakan bahwa cita rasa gurih yaitu rasa *umami* pada daging ikan segar dipengaruhi oleh asam *inosinat* (*inosin monofosfat*) yang dan GMP (*guanosine monophosphate*).

Rasa gurih mempunyai kecenderungan yang sama dengan rasa *umami* (Nadia, 2004 yang dikutip Dewi, 2005). Rasa ini di timbulkan oleh senyawa *monosodium glutamate*, (MSG) dan 5' nukleotida seperti 5''-*inosine monophosphate* (IMP) dan 5'-*guanosine monophosphate* GMP). Adanya *flavour* yang diinginkan (harum dan enak) juga dapat terbentuk sebagai akibat reaksi

Maillard. Menurut Muchtadi (1993) bahwa reaksi *Maillard* mengakibatkan sebagian besar bahan pangan mengandung asam amino bebas yang reaksinya berakibat pada terbentuknya *flavour* daripada menurunnya nilai gizi (Hurrel, 1984 yang dikutip Muchtadi, 1993). Pada produk ikan tuna yellowfin yang dikukus ditemukan bahwa penyebab rasa enak adalah IMP sebesar 135 mg/100g bahan baku (Hayashi *et al*, 1978 dalam Konusu and Yamaguchi, 1982).

Tekstur merupakan segi penting dari mutu makanan. Ciri yang sering menjadi acuan adalah kekerasan dan kandungan air (de Man,1997). Pengujian fisik meliputi kekerasan dan elastisitas. Kekerasan didefinisikan sebagai gaya yang dibutuhkan untuk menekan suatu produk sehingga menjadi produk yang diinginkan. Adapun elastisitas adalah kemampuan makanan untuk kembali ke bentuk semula setelah diberi tekanan (Ranggana, 1986).

Hasil uji t (0,05) terhadap nilai rata-rata **tekstur nugget** pada perlakuan daging merah tanpa penambahan TiO₂ dan penambahan TiO₂ berbeda dengan kontrol yaitu sebesar 0,7 (Lampiran 7). Tekstur nugget daging merah dengan perlakuan penambahan TiO₂ dengan berbagai konsentrasi menghasilkan tekstur padat, dan kenyal. Hal ini terjadi karena serat daging merah tuna lebih kecil dibandingkan serat daging putih tuna (kontrol). Serat yang lebih kecil dan pemberian bahan pengikat tidak banyak serta pemberian air es menghasilkan tekstur yang kenyal dan padat. Sifat tekstur dipengaruhi oleh pembentukan gel oleh protein kolagen dan protein sarkoplasma (Zayas, 1997).

Serat daging tuna yang khas yaitu berserat agak kasar dibandingkan dengan serat daging ikan lainnya atau daging ayam yang lebih halus. Serat ini berpengaruh terhadap tekstur *nugget* daging ikan tuna. Untuk mengimbangi serat kasar tersebut dalam penelitian ini digunakan es dengan konsentrasi 7 % seperti disarankan oleh Elingsari (1994) yang menyatakan konsentrasi es 7 % akan memberikan tekstur nugget ikan menjadi baik dan hampir mendekati produk komersial. Konsentrasi es yang kurang dari 7 % akan menghasilkan tekstur nugget yang terlalu kering dan rapuh.

Pemberian es juga akan mengurangi terurainya lipida yang mempunyai andil besar dalam perubahan sifat kekerasan daging ikan. Daging tuna banyak mengandung lemak terutama pada daging merahnya. Menurut Hadiwiyoto (1994)

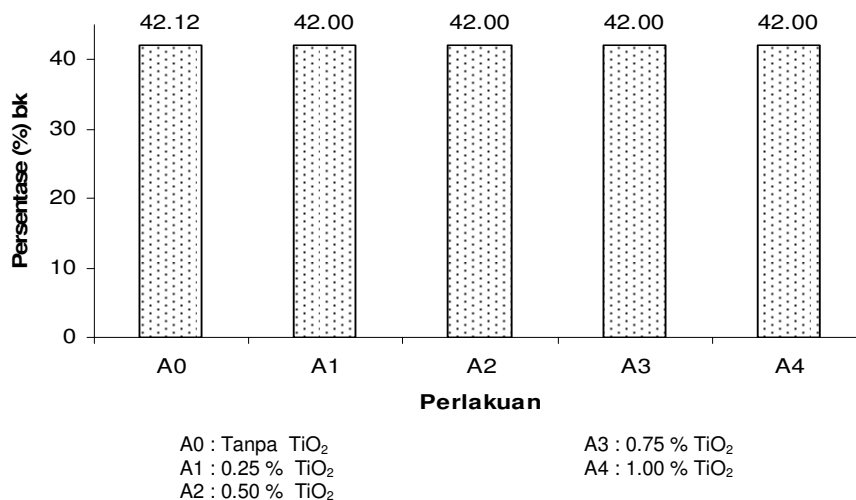
interaksi antara asam lemak dan protein miofibrillar dapat menyebabkan protein menjadi tidak larut dalam air sehingga menyebabkan daging ikan menjadi keras. Menurut Potter (1973) tekstur akan berubah dengan berubahnya kandungan air. Selain kandungan airnya, tekstur juga dipengaruhi oleh lemak, protein, gula dan sebagainya. Tekstur juga dipengaruhi oleh konsentrasi es yang diberikan pada saat penggilingan daging ikan.

Diperlukan keseimbangan formulasi bahan pengikat antara maizena, tepung terigu dan emulsifier seperti susu atau isolat protein lainnya. Konsentrasi bahan pengikat dan emulsifier yang digunakan juga akan mempengaruhi tekstur nugget yang dihasilkan. Formulasi antara maizena dan tepung terigu sangat mempengaruhi kekerasan dan elastisitas produk. Jumlah pati yang besar menyebabkan tekstur menjadi lebih padat dan lebih cenderung keras. Menurut Elingsari (1994) formulasi konsentrasi maizena 1,5 %, isolat protein kedelai 4 % menghasilkan elastisitas standar karena mengandung sedikit pati.

3. Pengaruh Konsentrasi *Titanium Dioksida* terhadap Kadar Protein Nugget

Protein ikan secara umum dapat digolongkan berdasarkan kelarutannya dalam air, yaitu protein yang mudah larut, tidak dapat larut dan protein yang sukar larut. Berdasarkan lokasi terdapatnya dalam daging, yaitu protein sarkoplasma, miofibrillar dan protein jaringan pengikat (stroma). Sedangkan berdasarkan fungsinya yaitu protein penyusun sel dan jaringan serta protein pembentuk atau pembuat enzim, koenzim dan hormon (Hadiwiyoto, 1993).

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa penambahan TiO_2 tidak berpengaruh ($P > 0,05$) terhadap kadar protein *nugget* (Lampiran 8). Kadar protein nugget daging merah penambahan TiO_2 0,25 % ; 0,50 % , 0,75 % ; 1 % dan tanpa TiO_2 adalah 42,0 ; 42,0 ; 42,0 ; 42,0 dan 42,12 % bk (Gambar 14) lebih rendah dibandingkan dengan kadar protein nugget daging putih 57,96 % bk. Kadar protein yang lebih rendah dari protein daging putih tuna karena awal bahan baku mengalami pencucian. Protein sarkoplasma merupakan protein larut air (*water soluble protein*) saat mengalami pencucian, dan pengepresan, serta pencincangan larut terbawa air sehingga mempengaruhi kadar protein *nugget*



Gambar 14 Kadar protein *nugget* pada berbagai penambahan TiO_2

Syartiwidya (2003) menyatakan bahwa viskositas daging cincang *minced* lebih tinggi karena berkurangnya air bebas akibat pencincangan dengan meat *separator*, juga penambahan jumlah padatan sol yang berasal dari denaturasi protein miofibril dan koagulasi protein terlarut (darah, protein sarkoplasma).

Penambahan bahan pemucat TiO_2 (0,25 % ; 0,50 % , 0,75 % ; 1 %) tidak mempengaruhi kadar protein *nugget* dengan perlakuan. Hal ini diduga pada proses pemucatan pembuatan/pengolahan nugget daging merah tuna masih pada range pH 6,0. Hal ini sesuai dengan pendapat MacDougall (2002) bahwa pemucatan dengan TiO_2 tidak mempengaruhi kadar protein. Karmas (1982) menyatakan bahwa daging ikan dapat dipucatkan pada pH 6,0 – 10 tanpa menurunkan kualitas proteinnya.

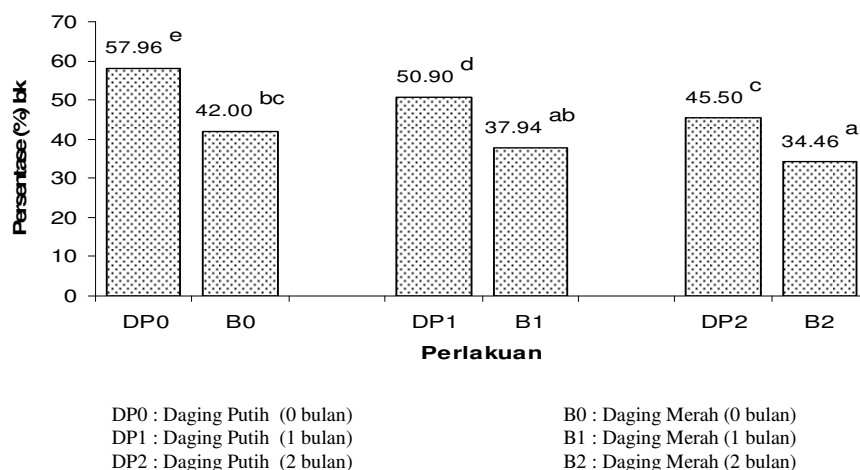
B PENELITIAN LANJUTAN 1

Penelitian ini dilakukan setelah diperoleh konsentrasi *Titanium dioksida* yang efektif memucatkan daging merah tuna pada penelitian pendahuluan yaitu penambahan TiO_2 1 %. Penelitian ini dilakukan untuk mengamati perubahan mutu gizi nugget yang disimpan pada suhu -18°C dengan masa simpan 0, 1 dan 2 bulan. Pada produk olahan yang disimpan akan mengalami proses penurunan mutu dan nilai gizi yang berbeda antara suatu produk dengan produk lainnya.

1. Protein Nugget

Kadar protein *nugget* perlakuan penyimpanan beku selama penelitian tercantum pada Gambar 15. Semakin lama penyimpanan maka semakin rendah kadar protein. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan beku berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar protein (Lampiran 9). Hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa kadar protein antar perlakuan berbeda (Lampiran 10).

Dari hasil analisis diperoleh bahwa kadar protein *nugget* daging putih tuna lebih besar dibandingkan dengan *nugget* daging merah tuna yang dipucatkan. Daging merah tuna mempunyai kadar protein yang lebih rendah dibandingkan daging putih tuna (Suzuki, 1981).



Gambar 15 Kadar protein *nugget* daging merah dan daging putih tuna selama penyimpanan beku

Penurunan kadar protein selama penyimpanan beku pada *nugget* daging putih dan merah diduga karena adanya denaturasi protein. Karena pada *nugget* pengamatan tidak memakai anti denaturasi pada pembuatannya, sehingga saat pembekuan terjadi denaturasi protein. Connell (1968) menyatakan bahwa proses pembekuan cenderung menyebabkan susunan makanan berubah dan perubahan ini akan langsung berakibat pada susunan proteinnya. Dyer dan Dingle (1961) menjelaskan bahwa perubahan yang terjadi adalah denaturasi protein, perubahan sistem garam, protein dan air selama pembekuan dan perubahan dalam sistem

aktomiosin. Suzuki (1981) menyatakan denaturasi protein akibat pembekuan menyebabkan hilangnya molekul air dari ruang, menyebabkan molekul menjadi dekat satu sama lain dan membentuk berbagai ikatan silang yang menimbulkan agregasi.

Hal tersebut juga diduga akibat adanya *loss drip* (cairan yang keluar/eksudasi) yang terjadi pada saat *thawing* sebelum diadakan pengukuran kadar protein *nugget* daging tuna. *Drip* menyebabkan beberapa *nutrient* seperti garam, polipeptida, asam amino, asam laktat, purin dll yang larut dalam air akan terbawa bersama air yang keluar dari *nugget*. Polipeptida, asam amino dan asam laktat tersebut mengandung nitrogen yang hilang akibat *drip* dan tak terukur saat pengukuran dengan metode Kjeldhal dimana pengukurannya berdasarkan pengamatan jumlah nitrogen.

Menurut Taub dan Singh (1998) protein terdenaturasi pada suhu beku disebabkan karena faktor : 1). perubahan kandungan air, 2). perubahan lemak pada ikan dan 3) aktivitas enzim trimethylamin oksidase (TMAO-ase). Selanjutnya Djazuli *et al* (2001) menyatakan bahwa denaturasi dapat diartikan sebagai proses terpecahnya ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dengan ikatan garam dan terbukanya lipatan molekul. Perusakan asam amino dan denaturasi protein menyebabkan meningkatnya nilai pH dengan terlepasnya N dan hilangnya air.

Suzuki (1981) menyatakan akibat pembekuan terjadi denaturasi protein yang salah satunya adalah kelarutan protein sarkoplasma maupun miofibriler menurun. Protein sarkoplasma pada umumnya kandungannya lebih tinggi pada species ikan pelagik dibandingkan ikan demersal. Jumlah prosentase *myoglobinnya* lebih besar dari *hemoglobin* dan *cytochrome*.

Sesuai penelitian Arannilewa, *et al* (2005) menemukan pada penyimpanan beku ikan *Nile Tilapia* selama 0, 1 dan 2 bulan kandungan proteinnya mengalami penurunan. Hal tersebut diduga ada hubungannya dengan denaturasi akibat pembekuan. Mallikage (2001) menemukan penurunan kadar protein pada ikan *Herring* yang didinginkan pada air es, es dengan air laut dan es.

Pada suhu beku denaturasi protein lebih cepat terjadi karena protein ikan lebih sensitif terhadap pembekuan. Formaldehid yang dihasilkan dari aktivitas

enzim TMAO-ase dapat menyebabkan terjadinya ikatan silang dari protein otot dan meningkatkan kekenyalan. Formaldehid dapat meningkatkan kecepatan denaturasi protein selama penyimpanan beku oleh interaksi dengan rantai sisi protein yang dihasilkan pada waktu agregasi protein melalui interaksi non kovalen (Zayas, 1997).

Denaturasi protein juga disebabkan oleh penyimpanan beku, yang dipercepat dengan adanya proses penggilingan/pencincangan. Degradasi enzimatik dari trimetilamin (TMAO) menjadi dimetilamin (DMA) dan formaldehid dapat menyebabkan beberapa kerusakan tekstural. Kerusakan ini terjadi karena adanya formaldehid yang berikatan dengan protein (Gratham, 1981).

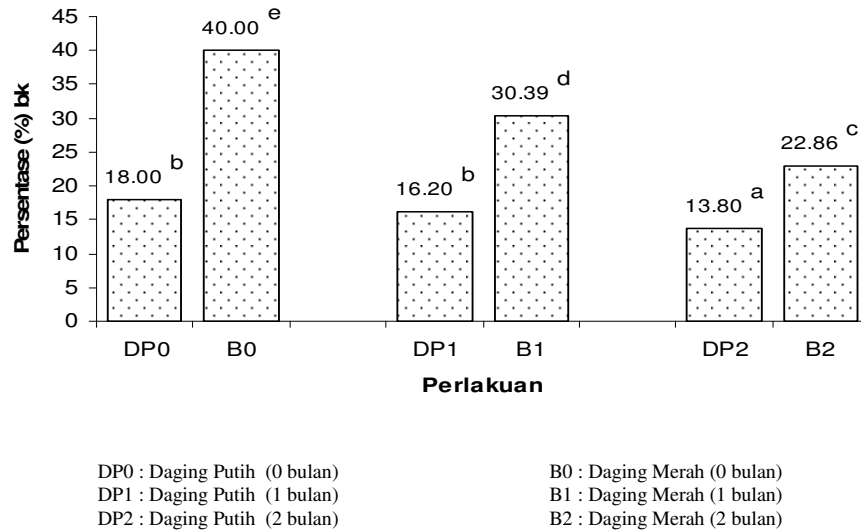
2. Lemak Nugget

Ikan umumnya terdiri atas asam-asam lemak yang mempunyai berat molekul tinggi dari berbagai panjang rantai karbon yang berbeda antara 12 - 26 atom karbon. Ikan tuna mempunyai kadar lemak sebesar 8 % yang terdiri dari 2,2 % asam lemak jenuh, (palmitat 1,6 %, stearat 0,3 %) dan 5,2 % asam lemak tidak jenuh (oleat 1,4 %, linoleat 0,2 % dan lain-lain 3,6 %). Komposisi asam lemak ikan berbeda bergantung jenis ikan, makanannya dan musim (Almatsier, 2002).

Kadar lemak *nugget* daging merah dan daging putih tuna selama penyimpanan beku tercantum pada Gambar 16. Semakin lama penyimpanan maka semakin rendah kadar lemak. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan beku berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar lemak *nugget* ikan (Lampiran 11). Hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa kadar lemak antar perlakuan berbeda (Lampiran 12).

Penurunan kadar lemak pada penyimpanan beku satu dan dua bulan (B1 dan B2). Menurut Syartiwidya (2003) menyatakan bahwa pada nugget yang disimpan beku, perubahan mikrostruktur yang terjadi selama penyimpanan terlihat rongga-rongga sebagian membentuk parit atau saluran, sehingga air atau lemak akan mudah mengalir keluar nugget saat thawing. Hidrolisa akibat enzim lipolitik akan berlangsung lambat pada suhu rendah tetapi tidak terhenti. Aktifitas enzim akan dapat dicegah aktifitasnya pada kisaran suhu -20 sampai -30°C . Enzim

lipase masih aktif mengadakan hidrolisa lemak meski suhunya -29°C . Enzim lipase dapat aktif pada suhu rendah dan beku karena mempunyai energi aktifitas yang rendah (Borgstrom , 1969 dan Hadiwiyoto, 1993)



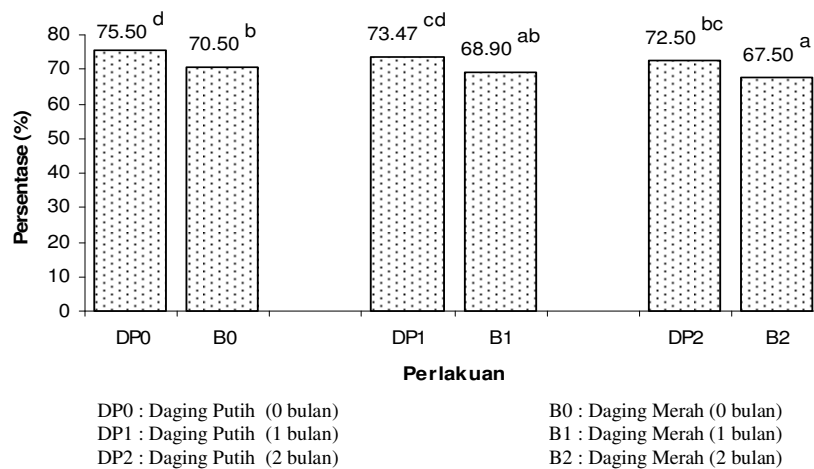
Gambar 16 Kadar lemak *nugget* daging merah dan daging putih tuna selama penyimpanan beku

Kadar lemak daging merah tuna lebih tinggi dari daging putih (Suzuki, 1981). Learson dan Kaylor (1990) menyatakan bahwa daging merah kaya akan lemak, suplai oksigen dan mengandung *myoglobin*. Daging merah mengandung *myoglobin* dan *hemoglobin* yang bersifat prooksidan serta kaya akan lemak (Okada, 1990). Menurut Hultin (1993) Komponen yang penting yang menyebabkan oksidasi lipid pada daging merah adalah antara lain : vascular system, *haemoglobin*, *myoglobin*, mitokondria, lipid, tokoferol, *lipolytic* enzim, Fe, Cu, ascorbat, histidin. Daging merah mempunyai dua kemampuan yaitu : prooksidasi dan sangat sedikit antioksidasi.

Kerusakan lemak yang utama adalah timbulnya bau dan rasa tengik yang disebut proses ketengikan. Hal ini disebabkan oleh autooksidasi radikal asam lemak tidak jenuh dalam lemak. Otoksidasi dimulai dengan pembentukan radikal-radikal bebas yang disebabkan oleh faktor-faktor yang dapat mempercepat reaksi seperti cahaya, panas, peroksida lemak dan hidroperoksida. logam-logam berat seperti Fe, Co, dan Mn, logam porfirin seperti hematin, hemoglobin, mioglobin, klorofil dan enzim-enzim lipoksidase (Hultin, 1993).

3. Kadar Air

Kadar air *nugget* selama penyimpanan beku tercantum pada Gambar 17. Semakin lama masa penyimpanan maka semakin rendah kadar air *nugget*. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan beku berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar air (Lampiran 13). Hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa kadar air antar perlakuan berbeda (Lampiran 14). Semakin lama waktu penyimpanan, daya ikat air akan semakin menurun yang ditunjukkan dengan meningkatnya jumlah air bebas.



Gambar 17 Kadar air *nugget* daging merah dan daging putih tuna selama penyimpanan beku

Hal ini terjadi karena terjadi pengkerutan protein karena penggilingan, pemasakan dan disimpan beku, sehingga rongga-rongga akan semakin kecil. Selain itu daya ikat air semakin rendah karena rongga yang kecil hanya mampu memperangkap dan mengikat air sedikit. Menurunnya kadar air disebabkan oleh terjadinya degradasi protein miofibril (aktin dan miosin) sehingga protein tidak dapat mengikat air lagi dengan baik. Penyimpanan beku menyebabkan es yang terbentuk dalam matriks protein menyebabkan melemahnya sistem ikatan hidrogen, sehingga menghasilkan disintegrasi struktur tiga dimensi protein dan menyebabkan agregasi protein. Konsekuensinya jaringan protein tidak dapat mengikat air.

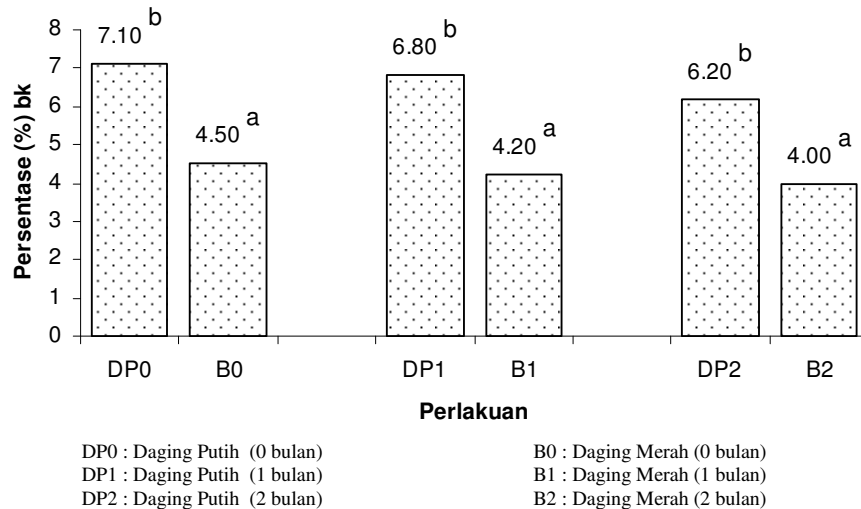
Menurut Syartiwidya (2003) menyatakan bahwa pada nugget yang disimpan beku, perubahan mikrostruktur yang terjadi selama penyimpanan terlihat rongga-rongga sebagian membentuk parit atau saluran, sehingga air atau lemak akan mudah mengalir keluar nugget saat thawing. Stansby (1963) menyatakan jumlah air yang dilepaskan dipengaruhi oleh lama pembekuan, suhu pembekuan dan suhu pencairan. Semakin lama penyimpanan beku semakin banyak air yang dilepaskan. Jumlah air yang dilepaskan kira-kira 1 – 20 %. Penurunan ini ada hubungannya dengan WHC, diduga berkurangnya sifat hidrofilitas sehingga menurunkan kemampuan mengikat air karena proses pencucian terjadi pengurangan air dan pada saat penyimpanan terjadi denaturasi protein yang menyebabkan berkurangnya gugus hidrofilik. Sent *et al* (1981) menyatakan jumlah air yang diserap terutama sekali bergantung pada jumlah dan kemampuan gugus hidrofilik untuk melakukan ikatan hidrogen dengan air. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan Scott *et al.* (1988 yang diacu Afrianto, 1995) dimana kadar air akan menurun dengan meningkatnya lama penyimpanan beku.

4. Kadar Abu

Kadar abu menggambarkan banyaknya mineral yang tidak terbakar menjadi zat yang menguap. Besarnya kadar abu pada produk *nugget*, diduga karena bahan baku yang digunakan adalah bahan pangan hewani yang cukup tinggi kandungan abunya. Sudarmaji *et al* (1989) menyatakan bahwa makanan yang berasal dari hewani mengandung kadar abu yang tinggi, hal ini disebabkan oleh kandungan beberapa mineral seperti kalsium, besi dan fosfor.

Kadar abu *nugget* selama penyimpanan beku tercantum pada Gambar 18. Semakin lama penyimpanan maka semakin rendah kadar abu *nugget*. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan beku berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar abu (Lampiran 15). Hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa perlakuan nugget daging merah tanpa penyimpanan beku dan penyimpanan beku berbeda dengan kontrol (Lampiran 16). Penurunan kadar abu tidak terlalu mempengaruhi kandungan gizi *nugget* karena mineral yang

dibutuhkan oleh tubuh tidak sebanyak protein. Metode pengolahan seperti *leaching* dan pengukusan mempengaruhi kandungan mineral pada *nugget*.



Gambar 18 Kadar abu *nugget* daging merah dan daging putih tuna selama penyimpanan beku

Pengolahan dengan pengukusan air menyebabkan mineral berkurang lebih banyak (Karmas, 1982). Mineral umumnya tidak mengalami kerusakan dan penurunan selama pengolahan, kecuali mengalami *leaching* (Andarwulan dan Purwiyato, 2004).

Tingginya kadar abu yang diperoleh dibandingkan dengan hasil-hasil penelitian produk olahan daging merah selama ini diduga karena daging merah yang digunakan mengandung kulit tuna bagian lateral dan serpihan tulang yang terikut saat pengolahan. Tetapi prosentase kadar abu *nugget* daging merah lebih rendah dibandingkan dengan *nugget* daging putih tuna. Menurut de Man (1997) penyebaran mineral antara bentuk terlarut dan bentuk tak terlarut. Mineral yang tidak larut berasosiasi dengan protein. Karena mineral terutama berasosiasi dengan bagian daging non lemak. Daging yang tidak berlemak biasanya kandungan mineralnya atau kadar abunya tinggi. Mineral yang terdapat pada ikan tuna adalah kalsium, fosfor, besi dan sodium.

Menurut Ilyas (1982) kandungan mineral pada ikan terdapat dalam jumlah kecil tapi sangat penting bagi tubuh manusia. Misalnya brom (Bro), magnesium

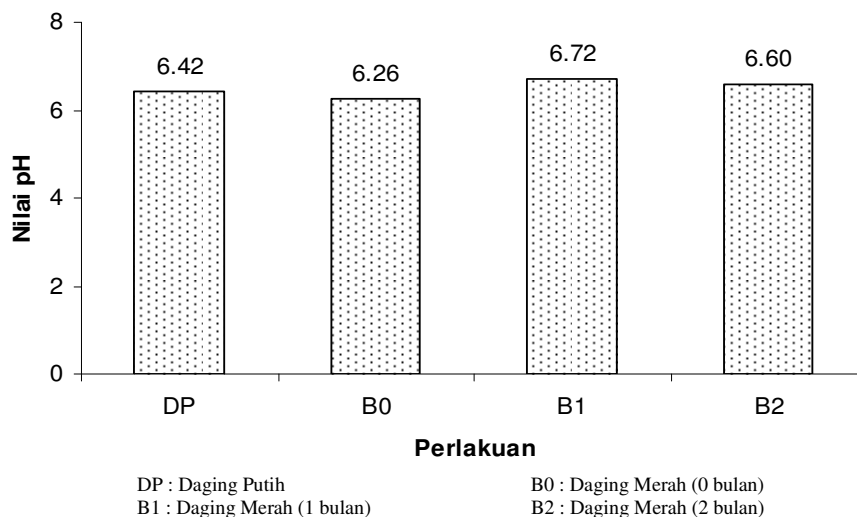
(Mg), selenium (Se), arsen (As), kobal (Co,) serta mengandung iodium (I) dan kalsium (Ca) dalam jumlah yang cukup besar.

5. pH Nugget Daging Merah

Nilai pH suatu bahan makanan menunjukkan derajat keasaman makanan. Nilai pH pada makanan akan mempengaruhi mikroorganismenya yang dapat tumbuh. Jasad renik yang dapat tumbuh pada kisaran pH 3 - 6 (Fardiaz, 1989).

Nilai pH *nugget* perlakuan selama penelitian tercantum pada Gambar 19. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan beku tidak berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap nilai pH (Lampiran 17). Perubahan pH pada *nugget* yang disimpan beku terjadi karena menggunakan daging merah tuna yang merupakan protein sarkoplasma yang mempunyai pH isoelektrik yang tinggi, mengandung enzim-enzim yang terlibat dalam metabolisme energi seperti glikolisis (Xiong dalam Nakai, 2000).

Kisaran nilai pH pada nugget selama pembekuan memenuhi kisaran yang dianjurkan oleh Shimizu, *et al* (1992) bahwa kisaran pH optimum untuk pembentukan gel yaitu 6,5 -7,5. Pembekuan mengurangi atau memperlambat kegiatan enzim dalam metabolisme.



Gambar 19 Nilai pH *nugget* daging merah tuna selama penyimpanan beku

Sesuai dengan hasil penelitian Arannilewa, *et al* (2005) pH ikan *Nile Tilapia* mengalami peningkatan selama penyimpanan beku 0, 1 dan 2 bulan. Kondisi daging ikan tersebut telah mengalami kekakuan dan proses kekakuan daging ikan pada pH sekitar netral dikatakan sebagai proses kekakuan alkalis (Hadiwiyoto, 1993).

Pada daging ikan segar nilai pH mula-mula kurang lebih 6,4 - 6,6 karena rendahnya cadangan glikogen dalam daging ikan. Setelah ikan mati pH terendah yang yang dapat dicapai hanya 6,2, kecuali pada jenis tertentu misalnya ikan gepeng (*flat fish*) nilai pH : 5,5.

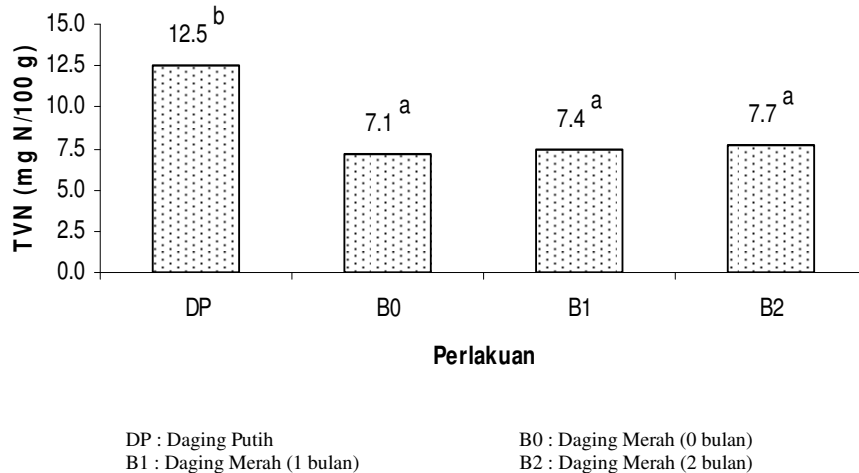
6. Analisis TVN (*Total Volatile Nitrogen*)

Pengukuran TVN (*Total Volatile Nitrogen*) pada produk *nugget* digunakan sebagai petunjuk adanya kebusukan bahan makanan yang mengandung protein. Pola peningkatan nilai TVN berhubungan dengan kegiatan bakteri proteolitik dalam menguraikan protein menjadi senyawa protein yang lebih sederhana dan menguraikan TMAO (*Trimetil Amin Oksida*) menjadi TMA (*Trimetil Amin*). Semakin tinggi aktifitas bakteri maka semakin tinggi nilai TVN.

Kadar TVN *nugget* selama penelitian tercantum pada Gambar 20. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan beku berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar TVN *nugget* (Lampiran 18). Hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa perlakuan *nugget* daging merah berbeda dengan kontrol selama penyimpanan beku (Lampiran 19). Penyimpanan beku dapat mempengaruhi nilai TVN. Penurunan suhu menyebabkan enzim tidak dapat bekerja secara optimal atau lebih mendekati inaktivasi enzim, hal ini menyebabkan proses penguraian senyawa protein menjadi senyawa yang lebih sederhana terhambat. Terhambatnya proses tersebut menyebabkan terhentinya atau melambatnya produksi senyawa-senyawa asam amino volatil.

Kadar TVN dipengaruhi oleh nilai TVN bahan baku awal dan kadar protein yang terdapat pada bahan baku. Nilai TVN daging merah lebih rendah dari daging putih karena kadar protein yang terdapat pada daging merah lebih

rendah dari daging putih sehingga senyawa organik yang akan diuraikan oleh bakteri proteolitik juga lebih sedikit.



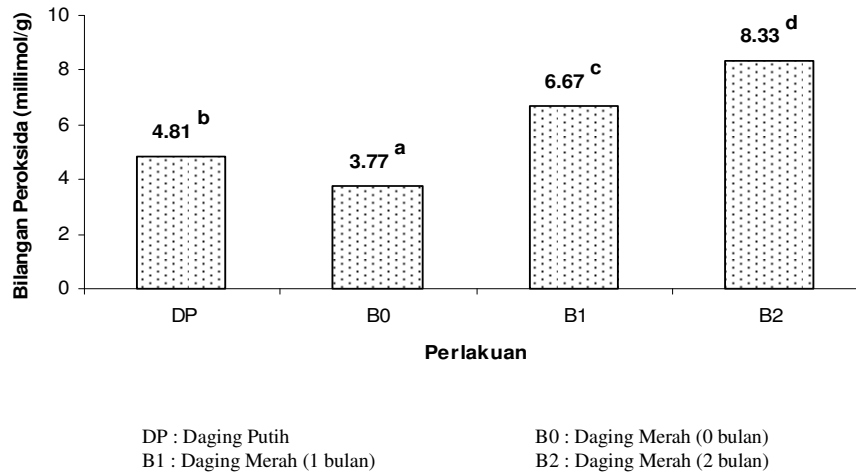
Gambar 20 Kadar TVN *nugget* daging merah tuna selama penyimpanan beku

Kadar TVN *nugget* daging merah selama penelitian masih layak untuk dikonsumsi karena masih pada batas kesegaran ikan segar (7,1 – 7,7 mg N/100 g) sedangkan batas kesegaran, ikan masih dapat dimakan mempunyai kadar TVN 20 - 25 mg N/100 g (Stansby dan Olcott, 1983). Lebih lanjut Stansby dan Olcott, 1983) menyatakan ikan dikatakan sangat segar jika mempunyai kadar TVN 12 mg N/ 100 g daging atau lebih kecil kadar dan ikan dikatakan segar jika mempunyai 12 -20 mg/100, ikan ini sudah mulai mengalami dekomposisi serta ikan dikatakan busuk jika kadar TVN lebih dari 25 mg/ 100g daging ikan

7. Analisis TPC (Total Plate Count)

Nilai *Total Plate Count* (TPC) *nugget* selama penelitian tercantum pada Tabel 7. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan beku tidak berpengaruh nyata ($p > 0,05$) terhadap nilai TPC *nugget* daging merah tuna (Lampiran 20). Kisaran nilai TPC pada *nugget* masih dapat ditolerir karena masih di bawah batasan nilai maksimal nilai TPC untuk produk perikanan berdasarkan SNI tahun 1992 yaitu 10^4 CFU/g. Suhu beku dapat menyebabkan penarikan air bebas yang terdapat pada produk sehingga *water activity* menjadi rendah.

penyimpanan beku berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar bilangan peroksida *nugget* daging merah (Lampiran 21). Hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa kadar bilangan peroksida *nugget* antar perlakuan daging merah tuna berbeda (Lampiran 22).



Gambar 21 Kadar bilangan peroksida *nugget* daging merah tuna selama penyimpanan beku

Kadar asam lemak yang tinggi pada daging merah menyebabkan terjadinya oksidasi. Pembekuan tidak dapat menghambat reaksi oksidasi tetapi hanya memperlambat. Enzim lipase tetap melakukan aktifitasnya selama pembekuan. Energi yang dibutuhkan selama beraktifitas sangat sedikit. Dan oksigen yang tidak digunakan oleh mikroba digunakan oleh enzim lipase dalam melakukan reaksi oksidasi.

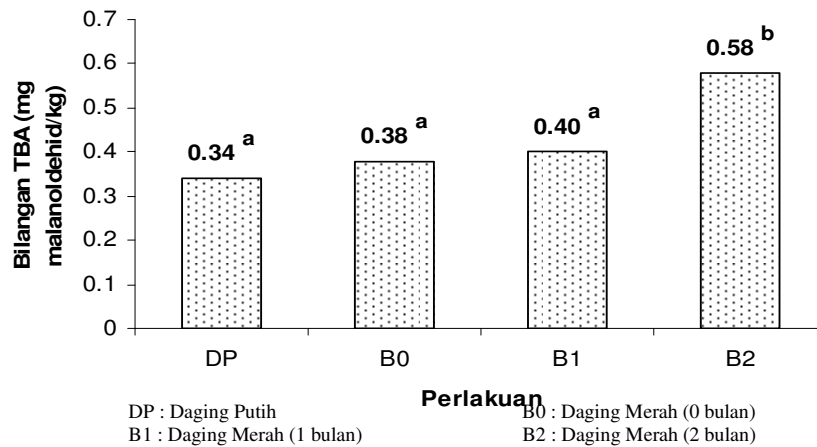
Bilangan peroksida pada *nugget* daging merah selama penyimpanan masih memenuhi nilai lebih rendah dari batas maksimum produk perikanan 10 – 20 millimol/g (Connell, 1980). Bilangan peroksida ini memberi indikasi adanya oksidasi namun belum terjadi ketengikan oleh reaksi oksidasi primer. Warna pada daging ikan berasal dari *heme* dan *mioglobin*. *Heme* yang mengandung Fe jika mengalami pemucatan warna pada daging ikan menyebabkan ikatan rangkap hemenya akan terputus. Terputusnya ikatan *heme* tersebut menyebabkan tidak dapat mengikat oksigen, hal ini mengurangi ketengikan pada produk *nugget*.

Pada makanan yang berasal dari laut, transisi metal dilakukan oleh besi yang merupakan proses lingkaran redoks dan penting dalam kontribusinya pada aktivasi oksigen. Sebagian besar dari besi dalam otot ikan ditemukan dalam *heme protein* yaitu *hemoglobin* dan *myoglobin*. Keduanya merupakan pigmen utama dan larut dalam air. *Ferritin* merupakan protein terlarut yang mempunyai fungsi untuk menyimpan besi sebelum digunakan oleh proses biosintesis di dalam sel (Hultin, 1993).

9. Analisis TBA (*Thiobarbituric Acid*)

Pengukuran asam tiobarbiturat ini dilakukan untuk mengetahui adanya reaksi lebih lanjut pada lemak yang menyebabkan ketengikan pada *nugget*. Lemak yang tengik akan bereaksi dengan asam tiobarbiturat menghasilkan warna merah. Intensitas warna menunjukkan derajat ketengikan. Kadar TBA *nugget* selama penelitian tercantum pada Gambar 22.

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan beku berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap kadar TBA *nugget* (Lampiran 23). Hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa kadar TBA perlakuan *nugget* daging merah penyimpanan beku nol bulan dan *nugget* daging merah penyimpanan beku satu bulan dan kontrol berbeda dengan *nugget* daging merah tuna penyimpanan dua bulan (Lampiran 24).



Gambar 22 Kadar TBA *nugget* daging merah tuna selama penyimpanan beku

Semakin lama penyimpanan beku semakin tinggi kadar TBA *nugget* daging merah tuna. Ini berarti semakin lama masa penyimpanan beku hanya mampu menekan tingginya laju oksidasi tetapi tidak dapat menghentikan jumlah lemak yang teroksidasi. Angka malonaldehid cenderung meningkat dan tidak teruapkan selama pembekuan dan terakumulasi di dalam *nugget* selama penyimpanan pada suhu rendah sehingga tertahan di dalam struktur gel.

Kadar TBA *nugget* daging merah selama penyimpanan beku memenuhi nilai lebih rendah dari batas maksimum kadar TBA untuk hasil perikanan yaitu 1-2 malonaldehid/g (Connell, 1980). Schwartz dan Watts (1957 dalam Borgstrom, 1965) menemukan deteriosasi yang diakibatkan oleh oksidasi lemak pada *oyster* yang telah dikukus selama penyimpanan beku.

Olcot (1972) menjelaskan bahwa proses oksidasi lemak pada ikan beku lebih cepat terjadi selama pembekuan. Aktifitas mikroba terhenti sehingga oksigen yang biasanya dipergunakan oleh mikroba tersedia bagi oksidasi lemak. Pembekuan akan memekatkan larutan dalam sel sehingga komponen metalik seperti *heme* menjadi pekat dan ini dapat mempercepat ketengikan. Pada daging *nugget* selama penyimpanan tidak sampai mengalami ketengikan karena gusgus *heme* yang berisi porfirin pada *hemoglobin* dan *mioglobin* terputus akibat pemucatan dengan TiO_2 .

Menurut Afrianto (1995) rata-rata kadar TBA sosis semakin meningkat dengan semakin lamanya penyimpanan beku, yaitu berkisar antara 0,35 hingga 4,93 mg malonaldehid/kg. Peningkatan TBA pada *nugget* beku sampai minggu ke 5 sebesar 3 mg malonaldehid/kg (Syartiwidya, 2003).

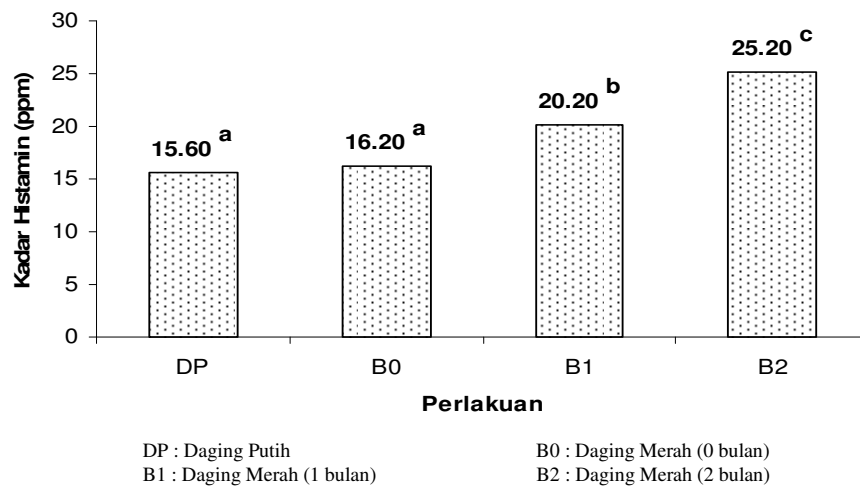
Daging merah mengandung *mioglobin* dan *haemoglobin* yang bersifat prooksidan serta kaya oleh lemak (Okada, 1990). Lebih adari 80 % protein dari daging merah tuna adalah *mioglobin* dan *haemoglobin*, kandungan *mioglobinnya* lebih dari 3.500 mg/100 g (Watanabe, 1990). Hal tersebut yang mendukung terjadinya oksidasi. Nilai TBA yang diperoleh selama penyimpanan *nugget* beku meningkat tetapi belum menimbulkan bau tengik dan masih mempunyai aroma ikan yang khas.

10. Kadar Histamin

Histamin merupakan senyawa hasil *dekarboksilasi* asam amino histidin (α -amino- β -imidazol asam propionat). Histamin menyebabkan keracunan apabila terserap melalui makanan dalam dosis tinggi. Histamin banyak terdapat pada daging merah ikan. Adanya histamin dalam makanan menandakan adanya kerusakan makanan akibat penanganan yang tidak baik.

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan beku berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap kadar histamin *nugget* daging merah tuna (Lampiran 25). Hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa kadar histamin antar perlakuan *nugget* daging merah tuna penyimpanan satu bulan dan dua bulan berbeda dengan kontrol kecuali *nugget* perlakuan daging merah tuna penyimpanan nol bulan (Lampiran 26). Pada Gambar 23 memperlihatkan bahwa selama pembekuan tetap terbentuk histamin pada produk *nugget*.

Kadar histamin yang terbentuk selama penelitian masih memenuhi nilai lebih rendah batas maksimum yaitu : 5 mg/100g (50 ppm) sesuai dengan FDA (1998). Enzim lebih stabil dibandingkan bakteri pada suhu beku dan reaktif dengan sangat cepat setelah *thawing* (FDA, 1998). Histamin dapat terakumulasi didalam daging ikan karena adanya kesalahan penanganan bahan baku sebelum dan sesudah pembekuan.



Gambar 23 Kadar histamin *nugget* daging merah tuna selama penyimpanan beku

Satu enzim yang masih ada dan terdapat sebelum pembekuan pada ikan dapat meneruskan pembentukan histamin di dalam daging ikan sel bakteri dalam keadaan injury selama penyimpanan beku (Baranowski *et al*, 1985 ; FDA 1998 dalam Kim *et al*, 2002) Istilah *Scombroid Food Poisoning* adalah merupakan istilah yang umum digunakan untuk menyebutkan ikan mengandung senyawa toksin (histamine) dalam tuna, mackarel dan ikan-ikan sejenis tuna lainnya terutama ikan yang memiliki daging merah yang banyak.

Menurut Stratton and Taylor (1991 dalam Kim *et al*, 2002) histamin tidak mempunyai bau dan warna yang mengindikasikan keberadaannya di dalam makanan. Sifatnya stabil karena tidak mudah untuk dibuang atau dirusak dengan pemasakan, tekanan ataupun pembekuan. FDA (1995 yang diacu Kim *et al*, 2002 dan FDA, 1998) menetapkan pedoman HACCP histamin sebesar 5 mg/100 g (50 ppm) pada daging ikan. Histidin bebas yang terdapat pada daging ikan erat sekali berhubungan dengan terbentuknya histamin. Histamin di dalam daging ikan diproduksi oleh enzim yang menyebabkan dan meningkatkan pecahan histidin melalui proses *dekarboksilasi* (potongan gugus karboksil).

Morganella Morganii membentuk jumlah histamin yang berbeda dan kontaminasinya produk segar sebesar (>200 mg/100g) dan beku sebesar (> 20 mg/100g) ikan mackerel, mahi-mahi dan albacore ikan. Kelangsungan hidup *Morganella Morganii* tidak pada suhu antara -20⁰C – 30⁰C pada ke dua suhu tersebut mengalami kenaikan jumlah histamin yang terbentuk (Kim *et al*, 2002).

C PENELITIAN LANJUTAN 2

Pada tahap penelitian lanjutan 2 diamati nilai biologis protein secara *in vivo* pada tikus *Sprague Dawley* pada usia sapih 21-23 hari kemudian dilakukan adaptasi selama 4 hari dengan pemberian ransum kasein sesuai standar (AOAC 1990 yang diacu Muchtadi, 1993).

1. Formulasi Ransum

Pada Tabel 8 disajikan rekapitulasi hasil analisis proksimat kasein, *nugget* daging putih, *nugget* daging merah penyimpanan nol bulan, *nugget* daging

merah penyimpanan satu bulan dan *nugget* daging merah penyimpanan dua bulan. Data hasil proksimat tersebut dijadikan dasar perhitungan untuk formulasi ransum tikus yang digunakan dalam percobaan. Persamaan yang digunakan dalam perhitungan berdasarkan AOAC (1984 yang diacu Muchtadi, 1993). Komposisi bahan untuk pembuatan 100 g ransum dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel. 8 Rekapitulasi analisis proksimat Kasein, DP, B0, B1 dan B2

Komponen	Kasein	DP	B0	B1	B2
Protein (% bk)	80,30	61,68	57,52	62,63	61,03
Lemak (% bk)	0,50	1,08	4,17	1,99	2,66
Air (% bb)	11,20	12,10	10,72	13,10	15,59
Abu (% bk)	3,50	5,77	11,60	9,75	8,85
Serat (% bk)	0,30	0,47	0,79	0,42	0,54
Karbohidrat lain *)	4,20	18,90	15,20	12,11	11,33

Keterangan : *) Karbohidrat dihitung *by difference*

DP = Tepung nugget daging putih tuna

B0 = Tepung nugget daging merah tuna penyimpanan 0 bulan

B1 = Tepung nugget daging merah tuna penyimpanan 1 bulan

B2 = Tepung nugget daging merah tuna penyimpanan 2 bulan

Tabel. 9 Komposisi bahan untuk pembuatan ransum 100 g

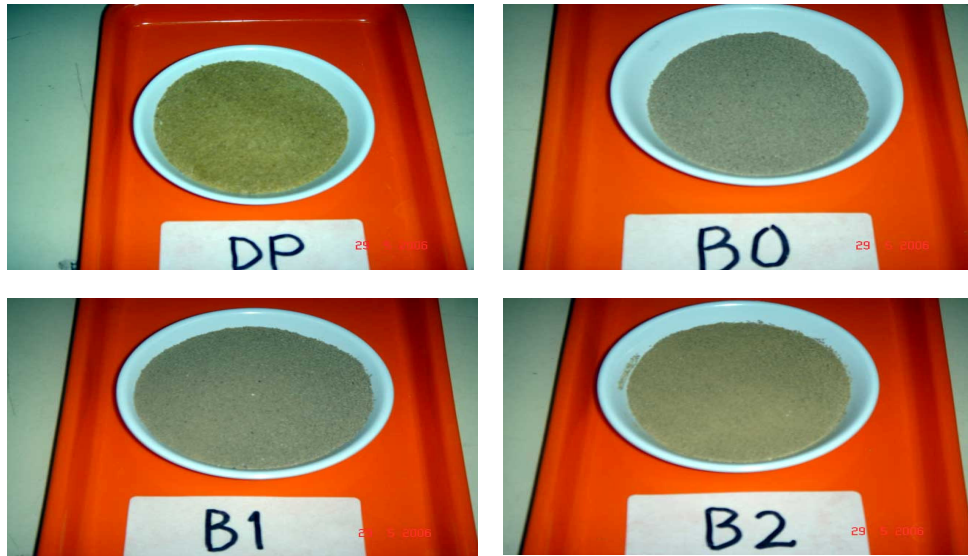
Komposisi bahan (g)	Perlakuan					
	Kasein	Non Protein	DP	B0	B1	B2
Sumber protein	12,45	-	16,21	17,39	15,96	16,62
Minyak jagung	7,94	8	7,85	7,84	7,86	7,86
Mineral mix	4,56	5	1,00	4,94	4,98	4,93
Vitamin	1,00	1	1,00	1,00	1,00	1,00
Selulosa	0,96	1	0,84	0,83	0,845	0,84
Air	3,61	5	4,96	4,93	4,97	4,99
Pati	69,48	80	64,24	63,07	64,41	64,06
Jumlah	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Keterangan : DP = Tepung nugget daging putih tuna

B0 = Tepung nugget daging merah tuna penyimpanan 0 bulan

B1 = Tepung nugget daging merah tuna penyimpanan 1 bulan

B2 = Tepung nugget daging merah tuna penyimpanan 2 bulan



Gambar 24 Tepung *nugget* daging putih tuna (DP), tepung *nugget* daging merah tuna penyimpanan nol bulan (B0), tepung *nugget* daging merah tuna penyimpanan satu bulan (B1) dan tepung *nugget* daging merah tuna penyimpanan dua bulan (B2)

2 Perkembangan Berat Badan, Jumlah Konsumsi Ransum dan Efisiensi Ransum Tikus Selama Percobaan.

Laju pertambahan berat badan tikus selama percobaan antara setiap perlakuan pada semua grup umumnya meningkat, kecuali pada perlakuan tikus dengan ransum non protein tidak mengalami peningkatan. Peningkatan berat badan tikus sangat berhubungan dengan asupan protein dari ransum yang dikonsumsi. Peningkatan berat badan tikus ini berkaitan dengan umur tikus yang tidak akan berhenti bertumbuh sampai dengan umur 100 hari, meskipun dengan kecepatan yang menurun (Muchtadi, 1993).

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa penyimpanan beku berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap pertambahan berat badan tikus (Lampiran 27) dan hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa perlakuan ransum tepung *nugget* daging putih dan daging merah tuna berbeda dengan kasein tetapi antara ransum tepung *nugget* daging tuna tidak berbeda (Lampiran 28). dan Tabel 10.

Pada semua perlakuan tikus yang diberi ransum : tepung *nugget* daging putih tuna, tepung *nugget* daging merah tuna penyimpanan nol bulan, satu bulan

dan dua bulan menunjukkan penambahan berat badan yang besar dibandingkan tikus yang diberikan ransum kasein.

Tabel 10 Pengaruh perlakuan terhadap penambahan berat badan tikus, jumlah konsumsi ransum dan efisiensi ransum

Perlakuan	Parameter		
	Pertambahan berat (g)	Jumlah konsumsi ransum (g bk)	Efisiensi ransum (%)
Kasein	53,8 ± 5,5 ^b	231,4 ± 19,0 ^b	23,37 ± 2,9 ^b
Non Protein	-8,4 ± 14,6 ^a	153,6 ± 14,6 ^a	-5,41 ± 8,8 ^a
DP	94,8 ± 9,5 ^d	321,2 ± 55,9 ^d	30,22 ± 5,8 ^c
B0	89,6 ± 20,2 ^{cd}	313,4 ± 34,3 ^{cd}	28,35 ± 4,1 ^c
B1	88,4 ± 6,9 ^{cd}	316,4 ± 23,7 ^{cd}	27,97 ± 1,6 ^c
B2	82,0 ± 6,9 ^c	285,8 ± 22,9 ^c	28,71 ± 1,5 ^c

Keterangan : Nilai yang diikuti oleh huruf sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $\alpha = 0,01$ (Uji Tukey)

Hal tersebut menunjukkan bahwa ransum tepung *nugget* daging putih tuna dan *nugget* daging merah tuna dengan dan tanpa penyimpanan beku, memenuhi kebutuhan protein untuk pertumbuhan tikus percobaan. Sebagai bahan pangan, ikan merupakan sumber protein, lemak dan mineral yang sangat baik dan lengkap. Astawan, (2004) menyatakan bahwa keunggulan utama protein ikan dibandingkan produk lainnya terletak pada kelengkapan komposisi asam aminonya dan kemudahannya untuk dicerna. Muchtadi (1993) menyatakan bahwa protein yang mudah dicerna (dihidrolisis) oleh enzim-enzim pencernaan, serta mengandung asam-asam amino esensial yang lengkap serta dalam jumlah yang seimbang, merupakan protein yang bernilai gizi tinggi.

Fungsi protein utama bagi tubuh adalah sebagai zat pembangun tubuh, zat pengatur dalam tubuh, mengganti bagian tubuh yang rusak serta melindungi /mempertahankan tubuh dari serangan penyakit (Sediaoetama, 1991). Bila mengkonsumsi ransum tanpa protein, maka nitrogen yang hilang (*obligatory nitrogen*) pasti berasal dari protein tubuh yang dipecah untuk memenuhi kebutuhan metabolisme, sehingga pertumbuhan terganggu dan berat badan menjadi menurun.

Berdasarkan hasil pengamatan pada tikus dengan ransum non protein, tikus perlakuan tersebut mengalami penurunan berat badan sebesar 8,5 %. Kebutuhan proteinnya diperoleh dengan cara memecah protein yang terdapat pada otot daging dan digunakan hanya untuk *maintenance*, tidak bertindak sebagaimana fungsinya. Nitrogen yang dikeluarkan dari tubuh merupakan hasil buangan metabolisme protein, karena itu jumlah protein yang terbuang mewakili jumlah protein yang harus diganti. Secara normal protein yang diganti diperoleh melalui asupan makanan (ransum). Kekurangan protein menyebabkan gangguan pada absorpsi dan transportasi zat-zat gizi, sehingga ransum yang dikonsumsi tidak dapat diabsorpsi dan tidak akan menambah massa otot.

Hal tersebut sejalan dengan pendapat Read (2002 yang diacu Handayani, 2005) yang menyatakan bahwa konsumsi protein dan energi yang rendah akan menyebabkan penurunan berat badan dan massa otot termasuk massa organ internal. Muchtadi (1993) menjelaskan bahwa peningkatan dan penambahan massa otot hanya mungkin terjadi apabila tersedia protein dalam jumlah yang lebih banyak dibandingkan dengan yang dibutuhkan untuk pemeliharaan dan penggantian jaringan.

Akibat tidak adanya energi dan kurangnya asupan protein maka kondisi tubuh menjadi lesu menyebabkan berkurangnya aktivitas dan nafsu makan. Tikus non protein banyak berdiam diri di sudut kandang dan kurang nafsu makan sehingga ransum banyak yang tersisa. Penelitian yang dilakukan *Du Higginbotham* dan *White* (2000) melihat bahwa penurunan konsumsi protein (kasein) dari 10 % menjadi 2 % dalam diet tikus akan mengakibatkan penurunan berat badan, air tubuh, berat karkas dan energi tubuh.

Kelesuan pada grup tikus ini diduga akibat terjadinya gangguan neurotransmitter dan transpor elektron, yang akhirnya menurunkan kelincahan dan nafsu makan tikus (Handayani, 2005). Lebih jelas Koolman (1996 yang diacu Handayani, 2005) menyatakan bahwa fungsi dari komponen amino adalah sebagai substansi sinyal, dimana substansi sinyal yang penting adalah GABA (γ -aminobutyrate) yang merupakan derivat glutamat. Hilangnya nafsu makan diduga akibat terganggunya penyampaian sinyal lapar ke otak sehingga tidak ada perintah untuk makan.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan lama penyimpanan beku berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap efisiensi ransum (Lampiran 29) (pertambahan berat badan/jumlah konsumsi ransum $\times 100$ %). Hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa perlakuan ransum tepung *nugget* daging putih dan daging merah tuna berbeda dengan kasein (Lampiran 30). Nilai efisiensi ransum tepung *nugget* daging putih, tepung *nugget* daging merah tuna penyimpanan nol bulan, satu bulan dan dua bulan lebih besar dibandingkan perlakuan kasein.

Hal tersebut menunjukkan bahwa ransum tepung *nugget* daging putih, tepung *nugget* daging merah tuna penyimpanan nol bulan, satu bulan dan dua bulan lebih efisien dalam meningkatkan berat badan. Adapun jumlah konsumsi ransum berkisar antara 285,8 -321,2 g dan efisiensi berkisar antara 27,97 – 30,22 %. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa masa penyimpanan berpengaruh sangat nyata ($P < 0,01$) terhadap jumlah konsumsi ransum (Lampiran 31). Dari hasil uji lanjut *Tukey* diperoleh bahwa nilai antar perlakuan berbeda (Lampiran 32). Pada *nugget* daging putih tuna dimana kandungan proteinnya lebih tinggi tentunya mempengaruhi daya cerna, jumlah konsumsi dan efisiensi yang tinggi dibandingkan daging merah yang lebih sedikit kandungan proteinnya.

Protein merupakan salah satu penghasil utama energi. Jadi bila energi kurang cukup di dalam hidangan, maka protein lebih banyak yang dikatabolisme menjadi energi. Hal ini berarti semakin kurang protein yang tersedia untuk keperluan lain, termasuk untuk sintesa protein tubuh. Tepung *nugget* daging putih dan tepung *nugget* merah ikan penyimpanan nol, satu dan dua bulan menghasilkan warna yang berbeda.

Pada Gambar 24 memperlihatkan bahwa tepung daging putih mempunyai warna kuning terang, tepung *nugget* warna merah penyimpanan 2 bulan berwarna agak kekuningan hampir sama dengan warna tepung *nugget* daging putih. Diduga pada tepung *nugget* penyimpanan beku dua bulan terjadi pemucatan warna yang lebih besar akibat adanya degradasi warna tunaxantin karena pembekuan dan waktu pembekuan yang lebih lama. Pigmen warna pada daging merah tuna selain *mioglobin* dan *haemoglobin*, juga tunaxanthin.

Tunaxanthin akan mengalami pengurangan warna akibat pembekuan (Simpson, 1963)

Pada tepung *nugget* penyimpanan nol bulan berwarna kecoklatan demikian pula tepung *nugget* daging merah penyimpanan satu bulan berwarna coklat muda. Kedua tepung *nugget* tersebut memiliki aroma khas ikan yang kuat dibandingkan dengan tepung daging putih dan tepung *nugget* daging merah penyimpanan dua bulan mempunyai aroma lebih wangi khas ikan. Tepung daging putih dan tepung *nugget* daging merah penyimpanan dua bulan memiliki tekstur yang halus dibandingkan tepung *nugget* daging merah penyimpanan nol bulan dan satu bulan. Lama penyimpanan beku berpengaruh terhadap tekstur. *Nugget* daging merah penyimpanan dua bulan lebih lunak sehingga saat penepungan menghasilkan tekstur yang lebih halus dibandingkan dengan *nugget* daging merah penyimpanan nol bulan dan satu bulan.

Perbedaan warna yang dimiliki oleh tepung *nugget* tersebut terjadi akibat pengolahan bahan pangan berprotein. Menurunnya nilai gizi protein pangan dan timbulnya warna pigmen coklat (*melanoidin*) serta flavour merupakan reaksi antara protein dengan gula-gula pereduksi selama pengolahan dan penyimpanan. Reaksi maillard terjadi akibat pemanasan pada pangan berprotein tinggi (terutama grup ϵ -amino dari lisin dan grup dari α -amino N-terminal) yang juga mengandung gula pereduksi.

Hasil pengamatan terhadap tepung *nugget* memperlihatkan bahwa reaksi *Maillard* lebih besar terjadi pada tepung *nugget* daging merah penyimpanan nol bulan karena berasal dari nugget yang tidak diberikan bahan pemucat *titanium dioksida*. Warna daging merah awal yang banyak mengandung *mioglobin* dan *haemoglobin* menyebabkan warna tepung *nugget* daging merah nol bulan lebih coklat dibandingkan tepung *nugget* daging merah penyimpanan satu bulan dan dua bulan.

Tepung *nugget* daging merah penyimpanan dua bulan memiliki warna yang agak kekuningan akibat reaksi *Maillard* yang lebih sedikit terjadi karena mengalami pembekuan yang lebih lama. Karena pigmen warna *Tunaxanthin* mengalami penurunan warna akibat pembekuan. Sehingga warna lebih terang dibandingkan tepung *nugget* daging merah penyimpanan satu bulan. Desroiser

(1959) menyatakan pembekuan menyebabkan perubahan cita rasa, perubahan warna dan kehilangan zat gizi serta kehilangan tekstur pada saat *thawing*.

3 Evaluasi Mutu Protein Secara *in vivo*

Uji ini dilakukan untuk menilai mutu protein *nugget* ikan. Ada dua metode pengukuran yaitu metode pertumbuhan dan metode keseimbangan nitrogen. Metode pertumbuhan dihitung berdasarkan hubungan kualitatif antara laju pertumbuhan dengan jumlah protein yang dikonsumsi.

Metode keseimbangan nitrogen diukur berdasarkan jumlah N yang dikonsumsi, jumlah N yang diserap dan jumlah N yang ditahan. Dari hasil analisis kadar nitrogen pada ransum yang dikonsumsi (N intake), urine dan feses, dapat dihitung nilai daya cerna (DC) sejati, nilai biologis (NB) dan *Net Protein Utilization* (NPU) seperti yang disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11 Daya cerna sejati, Nilai Biologis dan *Net Protein Utilization* tepung nugget daging putih dan daging merah dibandingkan dengan kasein

Ransum	Rata-rata		
	DC sejati (%)	Nilai Biologis	NPU
Kasein	97,61 ± 0,6 ^{ab}	97,61 ± 0,5 ^b	96,82 ± 0,8 ^b
DP	98,46 ± 0,7 ^c	92,99 ± 5,8 ^a	91,54 ± 5,3 ^a
B0	98,48 ± 0,4 ^c	92,08 ± 4,7 ^a	90,68 ± 3,9 ^a
B1	98,07 ± 0,7 ^{bc}	93,11 ± 2,8 ^a	91,29 ± 2,2 ^a
B2	96,81 ± 0,8 ^a	96,81 ± 0,8 ^{ab}	95,08 ± 0,7 ^{ab}

Keterangan : Nilai yang diikuti oleh huruf sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata pada $\alpha = 0,05$ (Uji Tukey)

Hasil uji analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap daya cerna sejati protein (Lampiran 33). Hasil uji *Tukey* menunjukkan bahwa ransum perlakuan *nugget* daging merah penyimpanan beku nol bulan dan *nugget* daging merah penyimpanan satu bulan berbeda dengan *nugget* daging merah penyimpanan dua bulan. Namun *nugget* daging merah penyimpanan beku dua bulan tidak berbeda dengan kasein (Lampiran 34). Ransum *nugget* perlakuan termasuk dalam kategori baik karena memiliki nilai daya cerna sejati di atas 90 %. Hal ini sesuai dengan pendapat Stansby and Oleott

(1983) bahwa mutu protein dari berbagai jenis ikan hampir sama yaitu mempunyai daya cerna 90 – 95 %.

Secara umum nilai cerna protein ikan sangat tinggi (lebih dari 90%). Hal ini menunjukkan bahwa ikan sangat mudah dicerna. Dengan demikian ikan dapat digunakan sebagai sumber protein untuk menunjang pertumbuhan dan perkembangan tubuh. Daya cerna protein yang tinggi menunjukkan tingginya daya guna protein bagi tubuh.

Hasil uji analisis sidik ragam menunjukkan bahwa lama penyimpanan beku berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap nilai biologis (Lampiran 35). Hasil uji lanjut *Tukey* menunjukkan bahwa ransum perlakuan *nugget* daging putih, daging merah penyimpanan nol bulan dan satu bulan berbeda dengan kasein namun tidak berbeda dengan *nugget* daging merah penyimpanan dua bulan (Lampiran 36). Nilai biologis ini dinyatakan sebagai prosentase nitrogen yang diabsorpsi terhadap nitrogen yang ditahan tubuh. Nilai biologis ke empat ransum *nugget* termasuk tinggi karena di atas 90. *Nugget* daging putih dan *nugget* daging merah tuna mempunyai nilai yang hampir sama. Hal tersebut mengindikasikan bahwa protein pada ke empat ransum tersebut mampu berperan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan sel tikus percobaan secara optimal karena memiliki kualitas yang baik.

Nilai biologis kasein lebih tinggi dari ke empat ransum perlakuan *nugget*. Hal ini diduga karena pada pengolahan susu kasein tidak menggunakan tahapan pemanasan seperti halnya yang dialami oleh ransum *nugget* daging tuna. Ikan merupakan bahan makanan yang mempunyai nilai biologis 80 sampai 90. Baik daging putih maupun daging merah mempunyai nilai biologis yang hampir sama. Daging merah mempunyai kandungan *myoglobin* tinggi diimbangi dengan banyaknya jaringan pengikat dan pembuluh darah. Daging putih mempunyai jenis-jenis protein yang berkualitas tinggi, sedangkan kandungan asam amino kedua macam daging tersebut boleh dikatakan sama. Penyimpanan tanpa pendinginan dapat menurunkan nilai biologiknya. Menurut Almatsier (2002) nilai biologis diatas 70 % atau lebih pada suatu makanan mampu memberikan pertumbuhan bila dikonsumsi dalam jumlah yang cukup dan konsumsi energi yang mencukupi.

Net Protein Utilization (NPU) digunakan untuk mengukur kualitas protein dengan mempertimbangkan nilai cerna antar protein, artinya tidak saja memperhatikan jumlah protein yang ditahan akan tetapi juga jumlah protein yang mampu dicerna. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa lama penyimpanan beku berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap nilai NPU protein *nugget* (Lampiran 37). Hasil uji lanjut *Tukey* (Lampiran 38) menunjukkan bahwa ransum perlakuan *nugget* daging putih, daging merah penyimpanan nol bulan dan satu bulan berbeda dengan kasein namun tidak berbeda dengan *nugget* daging merah penyimpanan dua bulan.

Hal ini sejalan dengan data daya cerna dan nilai biologis pada ketiga ransum tepung *nugget* daging putih, tepung *nugget* daging merah penyimpanan nol bulan dan dua bulan tersebut juga rendah. Gaman dan Sherrington (1992) menyatakan bahwa NPU menunjukkan prosentase protein dalam produk yang mampu diubah tubuh menjadi protein tubuh. Jadi inti penggunaan protein makanan dapat dikembalikan sebagai penggunaan asam amino yang dihasilkan pada pemecahan protein makanan tersebut.

Penggunaan asam amino untuk sintesa protein adalah melepaskan gugusan amino atau gugusan karboksil. Proses ini berlangsung melalui proses *transaminasi* atau *deaminasi*. *Transaminasi* ialah suatu asam amino baru yang berbeda dari asam amino asal, tetapi diperlukan oleh tubuh. Sediaoetama (1991) menyatakan perlu asam keto yang strukturnya sejenis dengan asam amino yang hendak dibentuk. Pada *deaminasi* gugus aminonya dilepaskan dari asam amino asal, selanjutnya diproses dan rekssi siklus dan menghasilkan ikatan organik *ureum* (urea) yang kemudian dibuang melalui ginjal di dalam urin.

Sebagian besar asam amino telah diabsorpsi pada saat asam amino diujung usus halus. Namun karena suatu sebab, absorpsi mungkin tidak terjadi secara komplit. Asam amino yang tidak diabsorpsi ini masuk ke dalam usus besar. Di dalam usus besar terjadi metabolisme oleh mikroflora kolon yang produknya dikeluarkan melalui feses. Karena itu pengukuran kadar nitrogen feses dan urin menjadi hal penting dalam metode ini.

