

AKTIVITAS TRIMETHYLAMINE-N-OXIDE DEMETHYLASE (TMAOase) DALAM PEMBENTUKAN FORMALDEHID ALAMI PADA IKAN BELOSO (*Saurida tumbil*)

Azizah Nuraini*, Tati Nurhayati, Mala Nurilmala

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,
Institut Pertanian Bogor, kampus IPB Dramaga, Jalan Agatis, Bogor, Jawa Barat 16680

Telepon (0251) 8622909-8622907, Faks (0251) 8622907

*Korespondensi: azizahnuraini@yahoo.com

Diterima: 16 Oktober 2017/ Disetujui: 15 Desember 2017

Cara sitasi: Nuraini A, Nurhayati T, Nurilmala M. 2017. Aktivitas *trimethylamine-n-oxide demethylase* (TMAOase) dalam pembentukan formaldehid alami pada ikan beloso (*Saurida tumbil*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(3): 549-558.

Abstrak

Pembentukan formaldehid pada tubuh ikan dapat terjadi secara alami melalui kerja enzim trimethylamine-N-Oxide demethylase (TMAO)ase yang memecah TMAO menjadi formaldehid dan dimetilamin. Pembentukan formaldehid pada ikan dapat terjadi selama penyimpanan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas TMAOase dan perannya dalam pembentukan dimetilamin dan formaldehid alami ikan beloso (*Saurida tumbil*) segar yang disimpan pada suhu *chilling*. Pengamatan dilakukan setiap 2 hari selama 16 hari penyimpanan. Analisis yang dilakukan yaitu kandungan formaldehid, dimetilamin, dan aktivitas spesifik enzim TMAOase. Kandungan formaldehid mengalami peningkatan selama penyimpanan yaitu $0,22 \pm 0,00$ ppm pada hari ke-0 menjadi $7,45 \pm 0,46$ ppm pada hari ke-16. Hasil uji dimetilamin juga meningkat selama penyimpanan dari $0,93 \pm 0,50$ ppm pada hari ke-0 menjadi $27,26 \pm 1,8$ ppm pada hari ke-16. Hasil pengujian aktivitas spesifik TMAOase ikan beloso meningkat selama penyimpanan yaitu $1,15$ U/mg pada hari ke-0, menjadi $16,47$ U/mg pada hari ke-16.

Kata kunci: dimetilamin, formaldehid, ikan beloso, suhu *chilling*, *trimethylamine-N-Oxide demethylase*

Activity of Trimethylamine-N-Oxide Demethylase (TMAOase) in the Forming of Natural Formaldehyde in Greater Lizardfish (Saurida tumbil)

Abstract

Formaldehyde found in the fish has been occurred naturally through the work of trimethylamine-N-Oxide demethylase (TMAO)ase enzyme that broke TMAO into formaldehyde and dimethylamine. Formaldehyde found in fish has been occurred during storage. This reserch was aimed to determine the TMAOase activity and its role in dimethylamine and formaldehyde formation in Greater lizardfish (*Saurida tumbil*), which stored at chilling temperature. Observations were made every 2 days for 16 days of storage. Analysis performed in formaldehyde content determination, dimethylamine content determination, and specific activity of TMAOase enzyme. The result of formaldehyde test was increasing during storage, from $0,22 \pm 0,00$ ppm on day 0 to $7,45 \pm 0,46$ ppm on day 16. The results of dimethylamine test increased during storage from $0,93 \pm 0,50$ ppm at day 0 to $27,26 \pm 1,8$ ppm on day 16. The results of TMAOase specific activity in Greater lizardfish increased during storage from $1,15$ U/mg on day 0, to $16,47$ U/mg on day 16.

Keywords: chilling temperature, dimethylamine, formaldehyde, Greater lizardfish, TMAOase

PENDAHULUAN

Sektor perairan memiliki potensi besar dalam memenuhi kebutuhan pangan di Indonesia. Sumberdaya ikan Indonesia salah satunya yaitu ikan beloso

(*Saurida tumbil*) termasuk jenis ikan yang tertangkap dalam jumlah banyak dan merupakan hasil samping dari usaha penangkapan udang. Hasil tangkapan ikan beloso pada tahun 2013 adalah 20.867 ton

dan naik menjadi 22.283 ton pada tahun 2014. Ikan beloso mempunyai daging relatif cukup banyak dan banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan surimi (Riyadi 2006). Produk hasil perikanan memiliki kelemahan yaitu cepat mengalami pembusukan dan penurunan mutu. Kemunduran mutu merupakan faktor alami yang terjadi akibat pengaruh enzim, reaksi biokimiawi dalam tubuh dan aktivitas bakteri (Husni *et al.* 2015).

Kesegaran ikan tidak dapat ditingkatkan melainkan dipertahankan. Penurunan mutu kesegaran ikan tersebut dapat dipertahankan dengan melakukan proses penanganan yang tepat. Teknik penanganan yang paling umum dilakukan adalah penggunaan suhu rendah atau disebut juga teknik pendinginan ikan. Pendinginan ikan merupakan salah satu proses yang digunakan untuk mengatasi pembusukan ikan, baik selama penangkapan, pengangkutan, maupun penyimpanan (Siburian *et al.* 2012). Teknik pendinginan dengan menggunakan es banyak dilakukan oleh nelayan untuk menjaga kesegaran ikan selama penanganan, akan tetapi pada praktiknya beberapa oknum menggunakan pengawet nonpangan lain untuk menjaga kesegaran ikan. Salah satu bahan kimia yang sering disalahgunakan sebagai bahan pengawet pangan adalah formalin. Formalin sangat berbahaya untuk tubuh karena bersifat toksik, karsinogen, mutagen yang menyebabkan perubahan sel serta jaringan tubuh, korosif dan iritatif (Harsojo dan Kadir 2013).

Penggunaan formalin yang mengandung 37% formaldehid sebagai bahan tambahan makanan telah dilarang. Beberapa penelitian menunjukkan fakta bahwa formaldehid terbentuk secara alami pada ikan (Riyanto *et al.* 2006; Murtini *et al.* 2014; Bianchi *et al.* 2007) hal ini mengindikasikan perlunya penafsiran tentang penetapan kandungan formalin (formaldehid) dalam peraturan yang ditetapkan, karena dalam kenyataannya formaldehid dapat terbentuk selama proses kemunduran ikan.

Perubahan mutu setelah ikan mati dapat disebabkan oleh aktivitas enzim, biokimia, fisik, mikrobiologi dan pembentukan formaldehid secara alami dapat

berlangsung selama proses pembusukan (Murtini *et al.* 2014). Leelapongwattana *et al.* (2005) menyatakan bahwa formaldehid alami merupakan produk dekomposisi enzimatis dari trimetilamin oksida (TMAO) pada ikan selama penyimpanan *post-mortem* dengan hasil samping dimetilamin. Benjakul *et al.* (2004) melaporkan bahwa enzim trimetilamin-n-oksida demetilase (TMAOase) merupakan enzim endogenus yang berperan dalam pemecahan TMAO menjadi formaldehid dan dimetilamin.

Informasi mengenai pembentukan formaldehid alami yang terbentuk dari hasil kerja TMAOase masih sangat terbatas, sehingga perlu dilakukan penelitian terkait aktivitas TMAOase dalam pembentukan formaldehid alami. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas TMAOase dan perannya dalam pembentukan formaldehid dan dimetilamin alami ikan beloso (*Saurida tumbil*) segar yang disimpan pada suhu *chilling*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan adalah ikan beloso (*Saurida tumbil*) yang telah diidentifikasi oleh LIPI dengan bobot ± 150 -200 gram/ekor yang diperoleh dari Tempat Pelelangan Ikan Cituis Tangerang, Banten. Ikan beloso disimpan pada suhu *chilling* ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) dan dianalisis setiap 2 hari sekali selama 16 hari. Sampel ikan beloso diambil secara acak sebanyak 3 ekor untuk 3 kali ulangan yang kemudian dilakukan pengamatan.

Bahan kimia yang digunakan untuk analisis bahan terdiri dari tris base (Merck), HCl (Merck), asam asetat (Merck), NaCl (Merck), TCA (Merck), FeCl_2 (Merck), substrat TMAO (Sigma-Aldrich), cystein (Merck), asam askorbat (Merck), DMA (Merck), bovin serum albumin (Sigma-Aldrich), *Coomassie Brilliant Blue* (Applichem), etanol (Merck), asam fosfat (Merck), kertas saring Whatman, pereaksi Nash (15 g amonium asetat (Merck), 0,3 mL asam asetat (Merck) dan 0,2 mL asetil aseton (Merck)), copper ammonia (25 g amonium asetat (Merck), 0,2 cooper sulfat (Merck), 25 mL NaOH 40% (Teknis), 20 mL amonia (Merck) dan akuades.

Alat yang digunakan terdiri dari sentrifuge (J2-21 Beckman), spectro UV-Vis RS *Spectrophotometer* (UV-2500), mikro pipet (Thermo Scientific), pH meter (Thermo Electron), *waterbath* (SWBR17), vorteks (VM-300) dan alat-alat gelas (Pyrex).

Metode Penelitian

Ikan beloso segar diperoleh dari Pangkalan Pendaratan Ikan (PPI) Cituis, Tangerang, Banten. Pengangkutan dilakukan menggunakan *cool box*. Ikan beloso disimpan pada suhu *chilling* ($\pm 4^{\circ}\text{C}$) dan dianalisis setiap 2 hari sekali selama 16 hari. Analisis yang dilakukan selama penyimpanan yaitu kadar formaldehid (Nash 1953) dan dimetilamin (Dyer dan Mounsey 1945). Selain itu pada setiap pengamatan juga dilakukan ekstraksi enzim TMAOase. Ekstrak kasar TMAOase digunakan untuk pengujian aktivitas enzim (Benjakul *et al.* 2003) dan protein Bradford (Bradford 1976).

Analisis kadar formaldehid

Analisis kadar formaldehid ikan beloso ditentukan menggunakan reagen asetilaseton menurut metode Nash (1953). Sebanyak 3 mL asetilaseton ditambahkan ke 3 mL sampel dan dicampur merata. Campuran reaksi diinkubasi pada suhu 60°C selama 15 menit, lalu didinginkan dalam air mengalir. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 412 nm. Kandungan FA dihitung dari kurva standar.

Analisis kadar dimetilamin

Analisis kadar dimetilamin ikan beloso dengan *copper-dithiocarbamat* menurut metode Dyer dan Mounsey (1945). Sebanyak 1 mL *copper-ammonia* ditambahkan ke dalam 2 mL sampel kemudian dicampur, lalu ditambahkan 4 mL larutan 5% CS_2 -toluene, lalu diinkubasi pada suhu 50°C selama 2 menit. Larutan tersebut ditambahkan 30% asam asetat, dan lapisan toluene dipindahkan ke tube yang mengandung 0,5-1,0 g Na_2SO_4 anhydrous. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 440 nm. Kandungan DMA dihitung menggunakan kurva standar.

Analisis aktivitas TMAOase

Analisis aktivitas TMAOase dilakukan berdasarkan metode yang digunakan Benjakul *et al.* (2003) yang dimodifikasi dengan TMAO sebagai substrat. Sebanyak 2,5 mL campuran reaksi (120 mM tris-asetat, 24 mM TMAO, 2,4 mM sistein, 2,4 mM askorbat, dan 0,24 mM FeCl_2 , pH 7), dengan penambahan 0,5 mL larutan enzim yang ditambahkan. Inkubasi dilakukan pada suhu 25°C selama 20 menit dan menambahkan 1 mL TCA 5% untuk menghentikan reaksi. Campuran reaksi disentrifugasi pada $8.000\times g$ selama 15 menit. Supernatan digunakan untuk menentukan kadar dimetilamin. Blanko diuji dengan tahapan dan bahan yang sama, namun tidak ditambahkan enzim. Blanko dikurangkan dari data untuk membuang produk dimetilamin dan TMA yang terbentuk secara nonenzimatis. Satu unit (U) aktivitas TMAOase didefinisikan sebagai produksi 1 μmol dimetilamin per menit dan pengujian dimetilamin dilakukan dengan metode *copper-ammonia* (Dyer dan Mounsey 1945).

Analisis konsentrasi protein

Konsentrasi protein ditentukan menggunakan metode Bradford (1976) dengan *bovine serum albumin* (BSA) sebagai standar. Persiapan pereaksi Bradford dilakukan dengan cara melarutkan 25 mg *coomassie brilliant blue* dalam 12,5 mL etanol 95%, lalu ditambah dengan 25 mL asam fosfat 85% (b/v). Jika telah larut dengan sempurna, maka campuran ditambah akuades hingga 250 mL dan disaring dengan kertas saring Whatman 1 dan dilakukan pengenceran 5 kali sesaat sebelum digunakan. Konsentrasi protein ditentukan menggunakan metode Bradford dengan cara sebanyak 0,1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 5 mL pereaksi Bradford, diinkubasi selama 3 menit dan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Larutan standar dilakukan sama seperti larutan sampel. Nilai absorbansi yang didapat kemudian dimasukkan ke dalam kurva standar Bradford untuk menentukan konsentrasi protein yang terkandung dalam sampel. Larutan standar yang digunakan adalah 0,1–1,0 mg/mL.

ANALISIS DATA

Analisis data diperlukan untuk mendapatkan kesimpulan dari percobaan yang dilakukan. Data-data kuantitatif yang diperoleh dari hasil penelitian diolah menggunakan *Microsoft Excel* 2013. Analisis yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis secara deskriptif menggunakan standar deviasi yang ditunjukkan dalam hasil berupa tabel dan grafik.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Formaldehid Ikan Beloso Selama Penyimpanan Suhu *Chilling*

Formaldehid pada ikan secara alamiah terbentuk melalui reaksi reduksi trimetilamin oksida (TMAO) menjadi formaldehid secara enzimatis oleh bantuan TMAOase dengan hasil samping dimetilamin (Benjakul *et al.* 2003). Hasil analisis kadar formaldehid ikan beloso selama penyimpanan suhu *chilling* dapat dilihat pada Gambar 1.

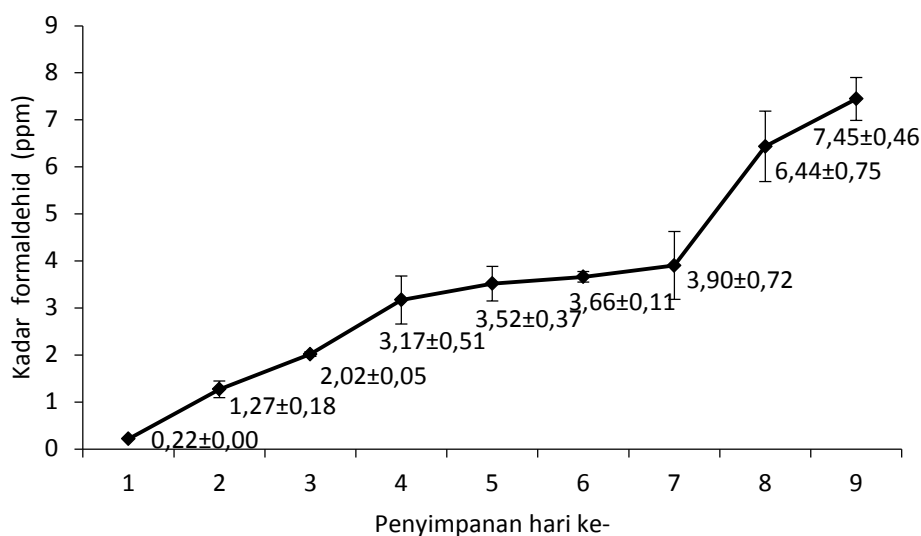
Gambar 1 menunjukkan bahwa kadar formaldehid selama penyimpanan suhu *chilling* mengalami kenaikan. Kadar formaldehid pada pengamatan hari ke-0 adalah 0,22 ppm dan terus mengalami kenaikan hingga didapatkan kadar formaldehid sebesar 7,45 ppm pada pengamatan hari ke-16. Hal ini menunjukkan bahwa telah terjadi perombakan daging ikan oleh enzim sehingga pembentukan formaldehid mengalami kenaikan selama penyimpanan. Murtini *et al.* (2004) menyatakan bahwa

pembentukan formaldehid alami dapat berlangsung selama proses pembusukan, semakin busuk ikan maka semakin tinggi pula kandungan formaldehid alaminya.

Kadar formaldehid meningkat tajam setelah 12 hari penyimpanan. Hal tersebut mungkin disebabkan kandungan mikroba pembusuk sudah dalam jumlah yang cukup optimal untuk melakukan perombakan daging ikan secara maksimal. Leelapongawattana *et al.* (2005) menjelaskan bahwa formaldehid alami yang terdeteksi pada ikan dapat bereaksi dengan komponen daging ikan. Molekul formaldehid yang berikatan dengan protein akan menyebabkan terjadinya pengumpulan atau gumpalan yang dapat menyebabkan protein kehilangan kelarutan.

Hasil analisis kadar formaldehid dari beberapa penelitian menunjukkan hasil yang berbeda-beda kadar formaldehid cumi-cumi yang disimpan pada suhu *chilling* selama 15 hari adalah 8,37 ppm (Apandi 2017), kadar formaldehid ikan kembung yang disimpan pada suhu *chilling* selama 18 hari adalah 9,95 ppm (Sahliyah 2017). Kadar formaldehid selama penyimpanan 12 hari pada bawal bintang sebesar 0,95 ppm, kakap putih sebesar 1,5 ppm, bandeng sebesar 0,715 ppm, kakap merah sebesar 1,381 ppm dan kerapu cantrang sebesar 1,303 ppm (Murtini *et al.* 2014). Hal ini menunjukkan bahwa kandungan formaldehid dipengaruhi oleh perbedaan spesies.

Faktor utama yang mempengaruhi



Gambar 1 Kandungan formaldehid ikan beloso pada penyimpanan suhu *chilling* selama 16 hari

kandungan formaldehid yang terbentuk menurut Li *et al.* (2007) tergantung pada waktu dan suhu penyimpanan. Suhu penyimpanan yang semakin rendah maka peningkatan formaldehidnya semakin kecil. Murtini *et al.* (2014) menyatakan bahwa suhu rendah dapat menghambat penurunan mutu ikan yang terlihat dari kandungan formaldehid yang terbentuk masih dalam level yang rendah. Hal ini disebabkan karena aktivitas enzim yang menguraikan TMAO sedikit terhambat karena penggunaan suhu rendah.

Kadar formaldehid pada ikan yang utuh belum mengalami penyiangan akan lebih besar dibandingkan dengan ikan yang sudah disiangi. Benjakul *et al.* (2003) menyatakan bahwa penyiangan yang dilakukan pada ikan beloso berpengaruh terhadap nilai formaldehid yang dihasilkan. Formaldehid yang terbentuk pada ikan beloso menunjukkan bahwa ikan beloso memiliki TMAO dan TMAOase yang tinggi. Pembentukan formaldehid pada organ-organ tertentu seperti jeroan dan hati dapat terjadi lebih cepat, dan dapat dihambat dengan cara penyiangan.

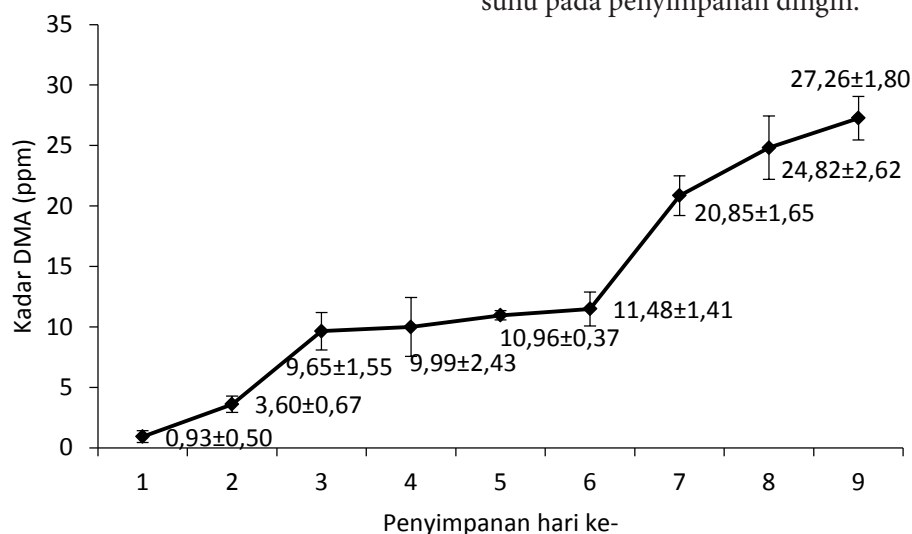
Batasan formalin dan asumsi paparan harian yang dapat diterima pada bahan tambahan makanan dan sumber nutrisi tambahan dalam data konsumsi pangan aktual berdasarkan *World Health Organization* (WHO) pada tahun 2002 yaitu sekitar 1,5 mg hingga 14 mg per hari untuk orang dewasa. Batasan formalin untuk negara Indonesia yaitu sebesar 0,3 ppm untuk kadar tertinggi

yang diperkenankan dan 0,37 mg/m³ untuk paparan singkat yang diperkenankan (BSN 2005).

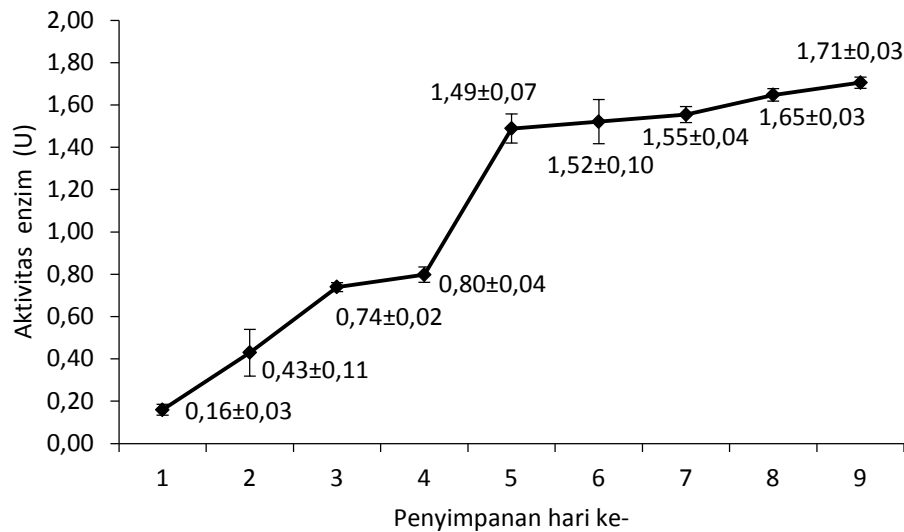
Kadar Dimetilamin Kadar Dimetilamin Ikan Beloso Selama Penyimpanan Suhu *Chilling*

Pengukuran kadar dimetilamin (DMA) dapat digunakan sebagai penanda yang efektif dalam menentukan kesegaran ikan. Dimetilamin secara alami terbentuk sebagai hasil samping reduksi trimetilamin oksida (TMAO) oleh enzim endogenus yang juga akan menghasilkan formaldehid (Murtini *et al.* 2014). Hasil analisis kandungan dimetilamin pada ikan beloso selama penyimpanan suhu *chilling* disajikan pada Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan bahwa kadar dimetilamin terdeteksi pada awal penyimpanan. Kadar dimetilamin terus meningkat hingga pengamatan hari ke-16. Peningkatan kandungan dimetilamin dikarenakan adanya perombakan oleh enzim dan mikroba. Hasil ini sesuai dengan pernyataan Benjakul *et al.* (2004) dimetilamin setelah 3 hari penyimpanan secara bertahap meningkat pada daging cincang ikan cakalang dan *red seabream* yang disimpan pada suhu dingin. Khidhir (2011) menyatakan bahwa dimetilamin diproduksi secara autolisis selama penyimpanan dan berhubungan dengan membran dalam otot ikan sehingga produksinya akan lebih tinggi pada ikan dengan penanganan yang kasar serta fluktuasi suhu pada penyimpanan dingin.



Gambar 2 Kandungan dimetilamin ikan beloso pada penyimpanan suhu *chilling* selama 16 hari



Gambar 3 Aktivitas TMAOase ikan beloso pada penyimpanan suhu *chilling* selama 16 hari

Kandungan dimetilamin pada awal pengamatan adalah 0,93 ppm dan meningkat menjadi 27,26 ppm pada pengamatan hari ke-16. Kandungan dimetilamin yang dihasilkan besar kemungkinan disebabkan oleh bahan baku yang masih utuh dan belum mengalami penyiangan, sehingga dimungkinkan enzim dan bakteri lebih banyak terakumulasi pada jeroan ikan. Benjakul *et al.* (2004) melaporkan bahwa enzim trimetilamin-N-oksida demethylase (TMAOase) yang berperan dalam perombakan TMAO menjadi dimetilamin dan formaldehid terakumulasi sangat tinggi pada bagian jeroan ikan (*lizardfish*) terutama sangat tinggi terdeteksi pada bagian ginjal.

Kadar dimetilamin berbeda tergantung spesies dan kondisi penyimpanan. Cumi-cumi yang disimpan pada suhu *chilling* selama 9 hari memiliki kadar DMA 15,95 ppm (Apandi 2017). Ikan kembung yang disimpan pada suhu *chilling* selama 15 hari memiliki kadar DMA 4,44 ppm (Sahliyah 2017).

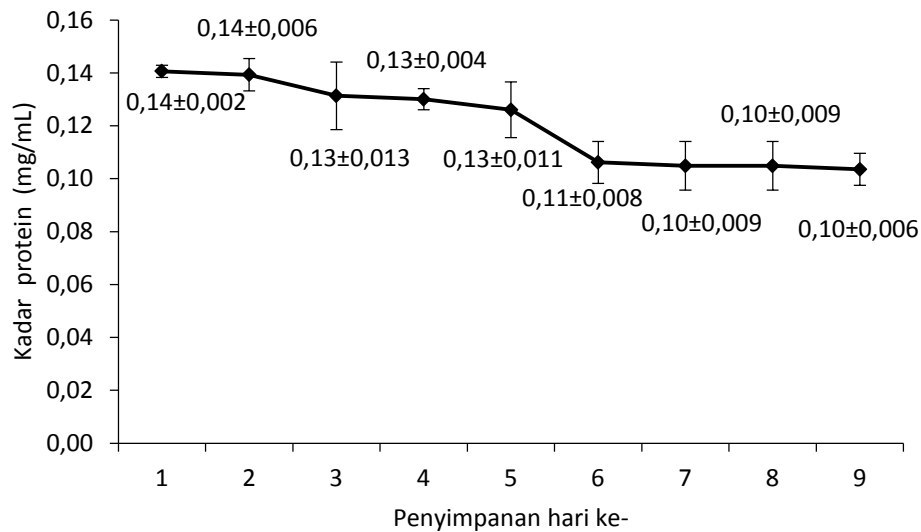
Enzim Trimethylamin-N-Oxide Demethylase (TMAOase)

TMAOase adalah salah satu enzim yang menunjukkan penurunan kualitas mutu ikan. Kandungan terbesar TMAOase terdapat pada ikan dengan spesies ganoid seperti *Alaska Pollock* dan *Pacific Whiting*, dengan aktivitasnya yang tergantung pada habitat, kondisi fisiologis serta kandungan TMAO masing-masing ikan (Lee *et al.* 2016). Nilai

aktivitas enzim TMAOase pada ikan beloso selama penyimpanan suhu *chilling* disajikan pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan hasil bahwa adanya peningkatan aktivitas TMAOase selama penyimpanan suhu *chilling* dari 0,16 U/mL pada hari ke 0 menjadi 1,71 U/mL pada hari ke 16. Peningkatan ini dikarenakan kristal es yang terus berkembang selama penyimpanan dapat mengakibatkan kerusakan membran sel pada daging ikan, yang mengakibatkan TMAOase terlepas dari jaringan. Oksidasi fosfolipid dalam membran sel yang menyebabkan jaringan otot rusak sehingga TMAOase dapat terlepas dari jaringan otot sehingga aktivitasnya terus meningkat selama penyimpanan (Lee *et al.* 2016). Peningkatan secara drastis terdapat pada penyimpanan hari ke-6 menuju hari ke-8, hal ini bisa disebabkan karena TMAOase yang terdapat pada jaringan otot mulai terlepas secara maksimal. TMAOase yang terlepas dari jaringan otot menyebabkan kenaikan aktivitas enzim. Terlepasnya TMAOase dari jaringan otot yang disebabkan melemahnya membran dapat menyebabkan kenaikan aktivitas enzim (Lee *et al.* 2016).

Lee *et al.* (2016) melaporkan bahwa terjadi kenaikan aktivitas TMAOase pada *Alaska Pollock* yang disimpan pada suhu 4°C selama 12 jam. Aktivitas TMAOase pada daging cincang *lizardfish* yang disimpan pada suhu -20°C pada penelitian Leelapongwattana *et al.*

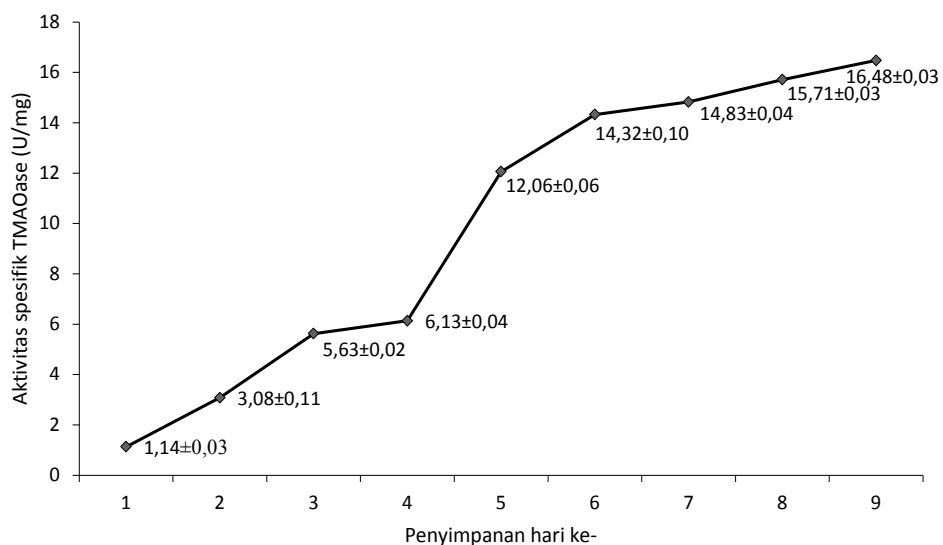


Gambar 4 Konsentrasi protein TMAOase beloso pada penyimpanan suhu *chilling* selama 16 hari

(2005) mengalami kenaikan maksimal pada minggu ke 6. Penelitian lain yang dilakukan Leelapongwattana *et al.* (2005) menunjukkan aktivitas TMAOase pada *lizardfish* utuh yang disimpan pada suhu -20°C mengalami kenaikan maksimal pada minggu ke-12.

Penyimpanan suhu rendah masih memungkinkan enzim dalam ikan untuk beraktivitas. Aktivitas TMAOase salah satunya mengubah protein dalam otot secara struktural maupun secara fungsional (Badii dan Howel 2002). Nilai konsentrasi protein enzim TMAOase pada ikan beloso selama penyimpanan suhu *chilling* tersaji pada Gambar 4.

Gambar 4 menunjukkan hasil kadar protein mengalami penurunan dari 0,14 mg/mL menjadi 0,10 mg/mL pada penyimpanan selama 16 hari dengan suhu 4°C. Penurunan kadar protein selama penyimpanan ini bisa disebabkan karena selama penyimpanan protein mengalami denaturasi dan *unfolding* yang disebabkan oleh enzim. Akibat dari denaturasi dan *unfolding* maka protein akan menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana (Badii dan Howel 2002). Salah satu enzim yang dapat mengurai senyawa-senyawa protein dalam ikan menjadi produk yang lebih sederhana adalah TMAOase.



Gambar 5 Aktivitas spesifik TMAOase beloso pada penyimpanan suhu *chilling* 16 hari

Hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Badii dan Howel (2002) yaitu kadar protein pada ikan *cod* dan *haddock fillet* mengalami penurunan saat disimpan pada suhu -10°C maupun -30°C selama 30 minggu. Penelitian Leelapongwattana et al. (2005) tentang penyimpanan ikan beloso utuh dan *fillet* dengan pengemasan vacuum maupun *non-vacuum* pada suhu -20°C selama 24 minggu kadar protein pada semua perlakuan menurun. Menurut Badii dan Howel (2001) penurunan kadar protein bisa juga disebabkan agregasi pada saat penyimpanan suhu rendah tidak terjadi secara sempurna.

Pengukuran kemurnian larutan enzim diperoleh dengan menghitung nilai aktivitas spesifik yaitu jumlah unit aktivitas per miligram protein (Wuryati 2004). Aktivitas spesifik dihitung dengan cara membagi aktivitas enzim (U/mL) dengan konsentrasi protein (mg/mL) sehingga diperoleh nilai aktivitas spesifik dengan satuan U/mg. Nilai aktivitas spesifik TMAOase ikan beloso selama penyimpanan suhu *chilling* tersaji pada Gambar 5.

Hasil dari aktivitas spesifik TMAOase pada ikan beloso mengalami kenaikan pada hari ke-0 yaitu 1,14 U/mg menjadi 16,48 U/mg pada hari ke-16. Kenaikan aktivitas spesifik enzim dapat disebabkan karena lepasnya TMAOase yang terdapat dalam jaringan otot. Lepasnya enzim disebabkan lemahnya jaringan otot dikarenakan denaturasi jaringan. Aktivitas spesifik yang semakin meningkat juga bisa disebabkan kandungan substrat enzim yang semakin besar. Substrat TMAOase adalah TMAO yang dikatalisis menjadi dimetilamin dan formaldehid sebagai indikator kesegaran ikan (Lee et al. 2016). Penyimpanan hari ke-6 menuju ke-8 menunjukkan peningkatan paling besar, hal ini bisa diakibatkan karena pada hari tersebut jaringan otot yang rusak paling besar. Kerusakan jaringan otot yang semakin besar dapat meningkatkan aktivitas enzim. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian dari Lee et al. (2016) peningkatan aktivitas spesifik TMAOase pada saat penyimpanan pacific whiting selama 5 hari pada suhu -18°C dan -80°C .

KESIMPULAN

Kadar formaldehid alami dan dimetilamin pada ikan beloso meningkat seiring dengan peningkatan aktivitas spesifik enzim TMAOase. Peningkatan formaldehid dan dimetilamin terjadi selama 16 hari penyimpanan pada suhu *chilling* sehingga ikan tidak layak untuk dikonsumsi.

Saran dari penelitian ini yaitu perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai karakterisasi TMAOase (suhu, pH dan logam berat) dan molekuler TMAOase.

DAFTAR PUSTAKA

- Apandi RR. 2017. Pembentukan formaldehid alami pada cumi-cumi (*Loligo sp.*) selama penyimpanan suhu *chilling*. [skripsi]. Bogor (ID): Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- [BPS] Badan Pusat Statistik Perikanan Tangkap Indonesia. 2014. Statistik Perikanan Tangkap. Direktorat Jendral Perikanan Tangkap. Jakarta.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. 2005. Standar Nasional Indonesia 19-0232-2005. Nilai Ambang Batas (NAB) zat kimia di udara tempat kerja. Jakarta (ID): Badan Standardisasi Indonesia.
- Badii F, Howell NK. 2001. A comparison of biochemical changes in cod (*Gadus morhua*) and haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) fillets during frozen storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 82(2001): 87-97.
- Badii F, Howell NK. 2002. Changes in the texture and structure of cod and *haddock fillets* during frozen storage. *Journal Food Hydrocolloids*. 16(2002): 313-319.
- Benjakul S, Wonnop V, Muneheiko T. 2003. Partial purification and characterization of trimethylamine-N-oxide demethylase from *lizardfish* kidney. *Journal Comparative Biochemistry and Physiology part B*. 135(2): 359-371.
- Benjakul S, Visessanguan W, Tanaka M. 2004. Induced formation of dimethylamine and formaldehyde by *lizardfish* (*Saurida micropectoralis*) kidney trimethylamine-N-oxide demethylase. *Food Chemistry*. 84(2004): 297-305.

- Bianchi F, Careri M, Musci M, Mangia A. 2007. Fish and food safety: determination of formaldehyde in 12 fish species by SPME extraction and GC-MS analysis. *Journal Food Chemical*. 100(3): 1049-1053.
- Bradford MM. 1976. A rapid and sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Journal Analytical Biochemistry*. 7(2): 234-254.
- Dyer WJ, Mounsey YA. 1945. Amines in fish muscle. II. Development of trimethylamine and other amines. *Journal Fisheries Research Board of Canada*. 6(5): 359-367.
- Fu XY, Xue CH, Miao BC, Liang JN, Li ZJ, Cu FX. 2006. Purification and characterization of trimethylamine-N-oxide demethylase from Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*). *Journal Agriculture Food Chemistry*. 54(3): 968-972.
- Harsojo, Kadir I. 2013. Penggunaan formalin dan boraks serta kontaminasi bakteri pada otak-otak. *Jurnal Iptek Nuklir Ganendra*. 16(1): 9-17.
- Husni A, Brata AK, Budgiyanti SA. 2015. Peningkatan daya simpan ikan kembung dengan ekstrak etanolik *Padina* sp. selama penyimpanan suhu kamar. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 18(1): 1-10.
- Khidhir ZK. 2011. Comparative Quality Assessments of Five Local Fresh Fish in Sulaimani City Markets. [thesis]. Turki (TR): College of Veterinary Medicine, University of Sulaimani.
- Lee J, Quentin F, Park JW. 2016. Effect of pre-freezing treatments on the quality of Alaska Pollock fillets subjected to freezing/thawing. *Journal Food Bioscience*. 16(2016): 50-55.
- Lee J, Park JW. 2016. Pasific whiting frozen fillets as affected by postharvest processing and storage conditions. *Journal Food Chemistry*. 201(2016): 177-184
- Leelapongwattana K, Benjakul S, Visessanguan W, Howell NK. 2005. Physicochemical and biochemical changes during frozen storage of minced flesh of lizardfish (*Saurida micropectoralis*). *Journal of Food Chemistry*. 90(2005): 141-150.
- Leelapongwattana K, Benjakul S, Visessanguan W, Howell NK. 2005. Physicochemical and biochemical changes in whole lizardfish (*Saurida microprctoralisz*) muscles and fillets during frozen storage. *Journal of Food Biochemistry*. 29(2005): 547-569.
- Li J, Zhu J, Ye L. 2007. Determination of formaldehyde in squid by highperformance liquid chromatography. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 16(1): 127-130.
- Murtini JT, Riyanto R, Priyanto N, Hermana I. 2014. Pembentukan formaldehid alami pada beberapa jenis ikan laut selama penyimpanan dalam es curai. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan*. 9(2):143-151.
- Nash T. 1953. The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *Journal Biochemical*. 55(1):416-421.
- Rachmawati N, Riyanto R, Ariyani F. 2007. Pembentukan formaldehid pada ikan kerapu macan (*Epinephelus fuscoguttatus*) selama penyimpanan pada suhu kamar. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 2(2): 137-143.
- Riyadi PH. 2006. Pemanfaatan ikan beloso sebagai bahan baku pembuatan pasta ikan dengan penambahan tepung garut. *Jurnal Saintek Perikanan*. 2(1): 8-21.
- Riyanto R, Kusmarwati A, Dwiwitno. 2006. Pembentukan formaldehid pada ikan kerapu (*Epinephalus fuscoguttatus*) selama penyimpanan pada suhu kamar. *Journal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 1(2):111-116.
- Sahliyah AR. 2017. Kemunduran mutu dan pembentukan formaldehid alami pada ikan kembung (*Rastrelliger* sp.) selama penyimpanan suhu chilling. [skripsi]. Bogor (ID): Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Siburian ETP, Dewi P, Kariada N. 2012. Pengaruh suhu dan waktu penyimpanan terhadap bakteri dan fungi ikan bandeng. *Unnes Journal of Life Science*. 1(2):101-105.

[WHO] World Health Organization. 2002.
Formaldehyde: Concise International
Chemical Assessment Document
40. Geneva (CH): Wissenschaftliche
Verlagsgesellschaft.