



PENINGKATAN TEKSTUR PRODUK BERBASIS PROTEIN IKAN DENGAN POLIFENOL DARI DAUN ZAITUN (*Olea europaea* L.)

Muh Ali Arsyad^{1*} dan Masahiro Ogawa²

¹Program Studi Pengolahan dan Penyimpanan Hasil Perikanan,
Politeknik Pertanian Negeri Pangkajene Kepulauan,
Jalan Poros Makassar-Pare Km.83 Pangkep, Sulawesi Selatan. 90655
²Departemen Ilmu Biologi Terapan, Fakultas Pertanian, Universitas Kagawa, Jepang

Diterima: 6 Januari 2025/Disetujui: 14 Februari 2025

*Korespondensi: muh.aliarsyadabdullah@gmail.com

Cara sitasi (APA Style 7th): Arsyad, M. A., & Ogawa, M. (2025). Peningkatan tekstur produk berbasis protein ikan dengan polifenol dari daun zaitun (*Olea europaea* L.). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 28(2), 130-141. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v28i2.61826>

Abstrak

Polifenol dari bahan alam misalnya tanaman telah banyak digunakan untuk meningkatkan tekstur bahan dan produk pangan. Daun zaitun mengandung polifenol yang sangat tinggi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh pakan dengan penambahan daun zaitun terhadap struktur protein daging dan sifat fisik gel surimi. Ikan dipelihara terpisah berdasarkan pakan (kontrol, penambahan daun zaitun dan penambahan ekstrak daun zaitun). Karakteristik fisik surimi gel yang ditambahkan tepung daun zaitun (TDZ) dan tepung ekstrak daun zaitun (TEDZ) ditentukan melalui pengukuran kekerasan dan kekenyalan. Ikan yang diberi pakan daun zaitun selama 14 hari mengandung kolagen larut asam 1,1 kali lebih tinggi dibanding daging ikan yang diberi pakan tanpa daun zaitun. Kekerasan gel surimi dengan penambahan TDZ meningkat 38% dan penambahan tepung TEDZ 23%. Kekenyalan gel surimi yang ditambahkan TDZ, yaitu 1,52 kali lebih tinggi dibandingkan dengan gel surimi tanpa penambahan daun zaitun, sedangkan gel yang ditambahkan TEDZ memiliki kekenyalan 1,48 kali lebih tinggi dibandingkan gel surimi tanpa penambahan daun zaitun. Pemberian pakan dengan tambahan daun zaitun mampu memperbaiki tekstur daging melalui peningkatan kuantitas protein kolagen. Penambahan daun zaitun pada surimi terbukti mampu meningkatkan sifat fisik gel yang dihasilkan.

Kata kunci: daun zaitun, gel surimi, kolagen, polifenol, tekstur

Improved Textural Properties of Fish Protein Product with Olive (*Olea europaea* L.) Leaf Polyphenol

Abstrak

Polyphenols from natural materials such as plants have been widely used to improve the texture of ingredients and food products. Olive leaves have a very high polyphenol content. This study aims to determine the effect of feeding with the addition of olive leaves on the protein structure of meat and the physical properties of surimi gel. Fish were kept separately based on feed (control, olive leaf addition, and olive leaf extract addition). Physical characteristics of surimi gel added with olive leaf meal (TDZ) and olive leaf extract meal (TEDZ) were determined by measuring hardness and chewiness. Fish fed olive leaf meal for 14 days had 1.1 times higher acid-soluble collagen content than fish meat fed without olive leaf meal. The hardness of surimi gel with the addition of TDZ increased by 38%, and the addition of TEDZ flour increased by 23%. The suppleness of the surimi gel added with TDZ was 1.52 times higher than the surimi gel without the addition of olive leaves, while the gel added with TEDZ had a suppleness 1.48 times higher than the surimi gel without the addition of olive leaves. Feeding with additional olive leaves can improve meat texture

through increasing the quantity of collagen protein. Research has shown that adding olive leaves to surimi enhances the physical properties of the resulting gel.

Keyword: collagen, olive leaf, surimi gel, polyphenol, texture

PENDAHULUAN

Antioksidan sintesis misalnya *ethoxyquin* (EQ), *dibutylhydroxytoluene* (BHT) dan *butylhydroxyanisol* (BHA) telah digunakan sebagai *feed additive* pada budi daya ikan untuk meningkatkan *oxidative stability* daging yang dihasilkan (Lundebyea *et al.*, 2010) serta pada filet ikan untuk menghambat penurunan mutu (Oğuz & Erbaş, 2023). Suplementasi antioksidan pada pakan budi daya ikan juga mampu mempertahankan mutu dengan menghambat oksidasi pada pakan. Long *et al.* (2022) menunjukkan pakan yang mengandung banyak lemak teroksidasi menyebabkan penurunan kadar vitamin E dan peningkatan kerusakan oksidatif pada otot ikan, yang berdampak negatif pada kualitas daging. Sebaliknya, penggunaan kompleks antioksidan, misalnya *dihydroquercetin* yang dikombinasikan dengan vitamin E, meningkatkan laju pertumbuhan dan kondisi biokimia yang lebih baik pada ikan sehingga meningkatkan kualitas daging yang dihasilkan (Ponomarev *et al.*, 2022). Kualitas daging ikan sangat dipengaruhi oleh kandungan kolagen. Kolagen merupakan salah satu jenis protein struktural berbentuk serat (*fibrous*) yang dikenal dengan protein *myofibrillar* (Rahmawati *et al.*, 2024). Kolagen menentukan atribut utama mutu daging, yaitu tekstur dan daya ikat air (Tang *et al.*, 2024). Degradasi kolagen, terutama selama penyimpanan *post-mortem*, menyebabkan hilangnya kekompakan, membuat daging lebih lembek dan kurang diminati (Mahecha *et al.*, 2007).

Cara untuk meningkatkan kandungan kolagen dari daging ikan budi daya salah satunya, yaitu penambahan antioksidan pada pakan. Kandungan kolagen daging ikan kurisi merah yang diberi pakan antioksidan 1,6 kali lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol (daging ikan tanpa pemberian pakan antioksidan) (Arsyad & Arham, 2020). Penggunaan antioksidan sintesis tersebut saat ini mendapatkan perhatian

yang sangat serius dari perspektif keamanan pangan. *Dibutylhydroxytoluene* (BHT) mampu mengubah metabolisme lipid, yang menyebabkan peningkatan penyerapan lemak sehingga berkontribusi terhadap obesitas dan aterosklerosis (Mika *et al.*, 2023). *Dibutylhydroxytoluene* (BHT) dan *butylhydroxyanisol* (BHA) umumnya ditemukan dalam produk makanan, dan asupannya yang berlebihan menimbulkan potensi risiko kesehatan (Galal *et al.*, 2024). *Ethoxyquin* (EQ), *dibutylhydroxytoluene* (BHT) dan *butylhydroxyanisol* (BHA) ditemukan pada *fillet* ikan salmon yang telah diberi pakan dengan tambahan antioksidan sintesis (Lundebyea *et al.*, 2010). Masalah tersebut meningkatkan keinginan masyarakat untuk memanfaatkan antioksidan alami yang berasal dari tanaman atau tumbuhan yang terbukti lebih aman dan mudah diaplikasikan. Sierra *et al.* (2022) melaporkan adanya korelasi linier yang kuat antara kandungan polifenol dan kapasitas antioksidan dalam bahan makanan dan minuman, kadar polifenol yang lebih tinggi akan menghasilkan efek antioksidan yang lebih besar.

Polifenol dari bahan tanaman misalnya sabut kelapa (*Cocos nucifera* Linn.) dan apel muda (*Qinguan cultivar*) terbukti memberikan pengaruh positif pada produk surimi yang dihasilkan. Senyawa fenolik sabut kelapa mampu meningkatkan kekuatan gel surimi dari ikan sarden (*Sardinella albella*) (Buamard & Benjakul, 2015). Gel surimi yang ditambahkan polifenol dari apel muda memiliki tekstur yang lebih baik dibandingkan gel surimi tanpa polifenol (Sun *et al.*, 2017). Senyawa fenolik tersebut, terutama dalam bentuk teroksidasi, dapat bekerja sebagai pengikat silang protein yang menghasilkan interkonektivitas protein miofibril dalam gel surimi. Interkoneksi yang teratur antara protein menghasilkan gel surimi yang lebih keras (Arsyad *et al.*, 2018). Tekstur gel surimi yang lebih kenyal dan keras merupakan faktor terpenting dalam penerimaan konsumen.



Daun zaitun dengan 5% dari total berat pohon adalah salah satu produk yang dihasilkan dari proses pemanenan buah (Alcaide & Nefzaoui, 1996). Daun zaitun mengandung polifenol $30,21 \pm 0,31$ mg *gallic acid equivalent* (GAE)/g (Cavalheiro *et al.*, 2014) dan aktivitas antioksidan (Albertos *et al.*, 2018; Arsyad *et al.*, 2018; Botsoglou *et al.*, 2014) yang sangat penting bagi kesehatan (Botsoglou *et al.*, 2010). Kandungan polifenol daun zaitun jauh lebih tinggi dibandingkan daun teh hijau, yaitu 0,19 mg GAE/g (Khan & Mukhtar, 2007). Daun zaitun telah digunakan sebagai teh herbal karena kandungan bioaktif yang dimiliki berupa antioksidan, antihipertensi, antiaterogenik, antiperadangan, hipokolesterolemik dan hipoglikemik (Vogel *et al.*, 2015) yang kemampuannya setara dengan minyak yang diekstrak dari buah zaitun. Oyama *et al.* (2010) memanfaatkan daun zaitun sebagai *feed additive* pada budi daya ikan ekor kuning (*Seriola quinqueradiata*). Daging yang didapatkan dari ikan yang diberikan pakan dengan tambahan daun zaitun mengalami proses pembusukan yang lambat selama penyimpanan dingin. Tepung daun zaitun yang ditambahkan langsung pada daging ikan mackerel (*Trachurus trachurus*) terbukti mampu melindungi dari oksidasi protein dan lemak, meningkatkan aktivitas antioksidan dan menghambat terbentuknya bau tengik selama penyimpanan pada suhu 4°C selama 3 hari (Albertos *et al.*, 2018). Penelitian Arsyad & Rusli (2020) telah meneliti pengaruh penambahan tepung daun zaitun pada pakan terhadap profil protein daging ikan. Pengembangan penelitian terkait pengaruh ekstrak daun zaitun belum dilaporkan sehingga menarik untuk dibandingkan pengaruhnya dengan tepung daun zaitun pada daging ikan. Maka, penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh pakan dengan penambahan daun zaitun terhadap struktur protein daging dan sifat fisik gel surimi.

BAHAN DAN METODE

Pembuatan Tepung Daun Zaitun (TDZ)

Daun zaitun segar didapatkan dari kebun pendidikan Fakultas Pertanian,

Universitas Kagawa, Jepang, dibersihkan dengan air mengalir kemudian dikeringkan menggunakan pengering udara dingin (*Cool Dry Machinery Co., Ltd.*, Kagawa, Jepang) pada suhu 25-40°C selama 36 jam, digiling dalam blender (Model FM-700 G, Iwatani, Co., Tokyo, Jepang) dan selanjutnya disaring menggunakan *nylon mesh filter* (ukuran diameter 108 µm). Tepung hasil penyaringan digunakan sebagai tepung daun zaitun (TDZ) pada penelitian ini.

Pembuatan Tepung Ekstrak Daun Zaitun (TEDZ)

Tepung daun zaitun (TDZ) (20 g) diekstrak dalam 200 mL air pada suhu ruang dengan pengadukan secara terus-menerus selama 2 jam, selanjutnya disaring menggunakan dua lembar kain kasa. Larutan yang telah disaring disentrifugasi pada $10.000 \times g$ selama 20 menit. Supernatan yang dihasilkan diambil dan residunya diekstrak kembali dengan 200 mL air selama 1 jam dan disentrifugasi pada kondisi yang sama. Proses ekstraksi-sentrifugasi diulang sebanyak 3 kali. Supernatan yang dihasilkan disatukan dan selanjutnya dikeringbekukan menggunakan *freeze-drying* untuk mendapatkan ekstrak kering. Bubuk ekstrak yang dihasilkan digunakan sebagai tepung ekstrak daun zaitun (TEDZ) dan disimpan dalam desikator pada suhu 20°C sampai digunakan.

Pembuatan Pakan dengan Tambahan Daun Zaitun

Tepung daun zaitun (TDZ) dan tepung ekstrak daun zaitun (TEDZ) dipanaskan terlebih dahulu dalam *microwave* (Toshiba MM-EM24P, Japan) untuk menginaktivkan enzim endogenous yang bisa mengoksidasi dan mendegradasi senyawa fenol. TDZ dan TEDZ yang sudah dipanaskan ditambahkan ke *meat pie* (*Repash super food*) dan larutan agar panas. Campuran pakan dan daun zaitun tersebut diaduk hingga membentuk gel, selanjutnya dipotong kecil berbentuk bulat (diameter $\pm 0,1$ cm) dan dikeringanginkan pada suhu ruang selama 12 jam. Pakan kontrol dibuat dengan cara yang sama tanpa penambahan TDZ dan TEDZ (*Table 1*).

Table 1 Formula of fish feed
Tabel 1 Formulasi pakan ikan

Composition	Control	TDZ	TEDZ
Commercial feed (% w/w)	24.81	24.81	24.81
Heat treated olive leaf powder (% w/w)	-	1.24	-
Heat treated olive leaf extract powder (% w/w)	-	-	1.24
Agar (% w/w)	0.74	0.74	0.74
Hot water (% v/w)	74.44	73.20	73.20
Total	100.00	100.00	100.00

Kandungan polifenol tepung daun zaitun dan tepung ekstrak daun zaitun yang digunakan pada penelitian ini masing-masing sebesar 70 mg GAE/g berat kering dan 1,9 mg GAE/mg berat kering. Kandungan polifenol pakan kontrol dan pakan dengan tambahan TDZ dan TEDZ masing-masing sebesar 0,09; 0,20 dan 0,10 mg/g. Kandungan oleuropein pakan kontrol 0 ppm, sementara pada pakan +TDZ dan pakan +TEDZ masing-masing sebesar 55,37 ppm dan 38 ppm.

Pemeliharaan Ikan Kurisi

Ikan kurisi merah (panjang ± 5 cm) yang diperoleh dari Yoshikawa Suisan Co., Ltd., Kagawa, Jepang dibagi ke dalam tiga kelompok yang berbeda, yaitu kelompok ikan yang diberi pakan kontrol (5 ekor), ikan yang diberi pakan +TDZ (5 ekor) dan pakan +TEDZ (5 ekor). Ikan tersebut dipelihara dalam air laut buatan (*instant ocean*) yang dipisahkan oleh jaring dalam 1 akuarium transparan kapasitas 40 L. Akuarium dilengkapi dengan lampu LED, pemanas untuk menjaga suhu air 25°C dan *aerator*. Ikan dipelihara selama 14 hari dengan frekuensi pemberian pakan sebanyak 2 kali dalam sehari. Selama masa pemeliharaan rata-rata suhu air 25,0 $\pm$ 0,11°C, pH 7,4 $\pm$ 0,5 dan *specific gravity* adalah 1,022 $\pm$ 0,001.

Kadar Air Sampel

Daging ikan (0,25 g), surimi (1 g) dan gel surimi (1 g) masing-masing ditempatkan dalam wajan foil aluminium kemudian didehidrasi dalam oven pada suhu 105 $\pm$ 1°C selama 12 jam. Sampel yang telah didehidrasi ditempatkan pada desikator dan kemudian

ditimbang menggunakan timbangan elektrik. Kadar air pada sampel dihitung menggunakan persamaan berikut (Lertwittayanon *et al.*, 2013):

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(W_i - W_f)}{W_i} \times 100\%$$

Keterangan:

W_i = berat daging sebelum didehidrasi

W_f = berat akhir daging setelah didehidrasi

Ekstraksi Protein Sarkoplasma dan Kolagen

Ekstraksi protein sarkoplasma dilakukan berdasarkan metode Kumar *et al.* (2013). Daging (0,2 g) dihomogenkan dalam 1 mL akuades menggunakan *homogenizer* (Nissei AM-8, Nihonseiki Kaisha Ltd, Tokyo, Jepang) selama 30 detik. Daging yang sudah homogen disentrifugasi pada 10.000 $\times$ g selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan adalah protein sarkoplasma yang larut air. Konsentrasi protein sarkoplasma ditentukan dengan menggunakan metode biuret (Janairo *et al.*, 2020).

Endapan dari proses ekstraksi protein sarkoplasma larut air adalah fraksi tidak larut air yang selanjutnya digunakan untuk ekstraksi kolagen larut asam. Ekstraksi kolagen larut asam dilakukan berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Blanco *et al.* (2019) dengan sedikit modifikasi. Larutan 4 mL NaOH 0,1 N ditambahkan pada endapan dari proses ekstraksi protein sarkoplasma dan dihomogen menggunakan *homogenizer*. Larutan sampel yang sudah homogen selanjutnya disentrifugasi pada 10.000 $\times$ g selama 15 menit. Proses pencucian alkali pada sampel dilakukan sebanyak 3 kali



ulangan. Endapan yang dihasilkan selanjutnya diekstraksi dalam 2 mL larutan 0,5 M asam asetat dengan pengadukan selama 72 jam menggunakan pengaduk magnet selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan $10.000 \times g$ selama 15 menit. Endapan dari proses sentrifugasi diekstraksi kembali dalam larutan yang sama selama 48 jam dan selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan $10.000 \times g$ selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan dari 2 kali proses ekstraksi digabung sebagai kolagen larut asam. Konsentrasi kolagen larut asam dihitung dengan menggunakan *Sirius-Red* berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Kliment *et al.* (2011) dengan sedikit modifikasi. *Staining agent* (*direct red* 80 dalam asam pikrik) 1 mL ditambahkan ke dalam 100 μ L sampel selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan $10.000 \times g$ selama 10 menit. Larutan 1 mL NaOH 0,5 M ditambahkan pada endapan dan larutan warna yang dihasilkan dipindahkan ke sumur 96-well plate selanjutnya absorban diukur pada panjang gelombang 550 nm dengan spektrofotometer. Konsentrasi kolagen dihitung menggunakan kolagen larut asam dari kulit babi sebagai standar (0,1-0,5 mg/mL dalam 0,5 M asam asetat).

Ekstraksi Protein Miofibril

Seluruh prosedur ekstraksi protein miofibril dilakukan pada suhu maksimum 4°C berdasarkan metode Ge *et al.* (2018) dengan modifikasi. Daging (0,5 g) dihomogenkan dalam 2 mL larutan 20 mM *sodium phosphate buffer* (pH 7,5) menggunakan *homogenizer* pada kecepatan 4.500 rpm selama 30 detik. Larutan sampel disentrifugasi pada kecepatan $8.000 \times g$ selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dibuang dan endapan kembali dihomogenkan dalam 2 mL pada larutan yang sama. Setelah proses homogenisasi-sentrifugasi dilakukan 3 kali, endapan yang dihasilkan selanjutnya dilarutkan dalam 2 mL larutan 20 mM *sodium phosphate buffer* (pH 8,0) yang mengandung 0,5 M NaCl. Larutan tersebut adalah protein miofibril. Konsentrasi protein miofibril dihitung dengan metode biuret menggunakan BSA sebagai standar (Dorey & Draves, 1998).

Pembuatan Gel Surimi

Prosedur pembuatan surimi dilakukan berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Arsyad *et al.* (2019). Filet ikan kurisi berukuran $\pm 3 \times 10$ cm didapatkan dari supermarket Miki-cho, Jepang. Filet tersebut dipotong menjadi kotak ukuran $0,5 \times 0,5 \times 0,5$ cm³. Potongan filet direndam dalam air deionasi, diinkubasi selama 10 menit dan kemudian didehidrasi menggunakan keranjang. Proses perendaman-dehidrasi diulang sebanyak tiga kali. Daging kotak yang telah dicuci digiling menggunakan mesin penggiling (daging giling yang dihasilkan disebut surimi). Kadar air surimi ditepatkan 80% dengan menambahkan air deionasi. Tepung daun zaitun (TDZ) (0,2% b/b) atau tepung ekstrak daun zaitun (TEDZ) (0,2% b/b), polifosfat (sodium polifosfat: sodium pirofosfat = 1:1; Kirin Kyowa Foods Co. Ltd. (Tokyo, Jepang) (0,2% b/b), sorbitol (5,0% b/b) dan sodium klorida (3,0% b/b) ditambahkan pada surimi selanjutnya dihomogenkan menggunakan *food processor*.

Pasta surimi dimasukkan ke dalam *casing* Krehalon[®] PVDC diameter 17 mm menggunakan *handmade sausage stuffer* dan kedua ujung *casing* diikat menggunakan tali. Pasta surimi yang dalam *casing* diinkubasi pada suhu $40,0 \pm 0,1^{\circ}\text{C}$ selama 60 menit dalam *water bath* kemudian dipanaskan pada suhu $90 \pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 30 menit. Gel surimi yang dihasilkan segera didinginkan dalam es curai selama 30 menit kemudian *casing* dilepas. Gel surimi dipotong menjadi gel silinder (diameter 1,7 cm dan panjang 1,0 cm) dengan interval 10 mm menggunakan pisau. Gel silinder dibiarkan pada suhu ruang selama 3 jam sebelum diukur kekerasan dan kekenyalannya.

Kekerasan dan Kekenyalan Gel Surimi

Kekerasan dan kekenyalan gel surimi dianalisis menurut Arsyad *et al.* (2019) dengan modifikasi menggunakan *Rheoner II creep meter* (Yamaden, Japan) yang dilengkapi dengan *cylindrical plunger* (diameter 3 mm). Gel silinder (diameter 1,7 cm, tinggi 1,0 cm) ditempatkan di *rheometer* selanjutnya

kekerasan dan kekenyalan gel surimi diukur dengan kecepatan penetrasi 1,0 mm/detik. Kekerasan dan kekenyalan direpresentasikan sebagai *stress* (N/m²) dan *strain* (%) dibagian atas puncak pertama dari kurva kekerasan versus kekenyalan.

Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Profil protein pada sampel dilakukan dengan SDS-PAGE berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Laemmli (1970) dengan modifikasi. Surimi gel, 1 g sampel dihaluskan dan dihomogenkan dalam 10 mL larutan *dissociation water* menggunakan Nissei AM-8 homogenizer pada kecepatan 4500 rpm selama 1 menit. Sampel yang telah dihomogenkan diaduk selama 12 jam pada suhu 4°C kemudian disentrifugasi pada kecepatan 4.500 ×g selama 20 menit. Sementara persiapan sampel kolagen larut asam (40 µL) dinetralkan dengan menambahkan 1,14 M NaHCO₃ (10 µL). Sampel yang telah disiapkan (50 µL) ditambahkan ke 12,5 µL larutan SDS *sample buffer* (100 mM Tris-HCl buffer, pH 6,7; mengandung 5,0% SDS, 0,004% *bromophenol blue* dan 2,0% β-mercaptoethanol). Larutan yang terdiri atas sampel dan SDS *sample buffer* dipanaskan pada suhu 100°C selama 5 menit kemudian larutan tersebut (10 µL) dimasukkan ke dalam sumur gel pemisah SDS-PAGE yang terbuat dari 10% *acrylamide*. Gel yang dihasilkan kemudian diwarnai dengan 0,025% *coomassie brilliant blue R-250*.

Analisis Data

Analisis statistik dilakukan menggunakan perangkat lunak SPSS 15.0

(SPSS Inc., Chicago, IL, AS) dengan *one-way analysis of variance*. Perbedaan rata-rata antara perlakuan (pakan kontrol; pakan +TDZ dan pakan +TEDZ serta gel surimi tanpa penambahan TDZ atau TEDZ; gel +TDZ dan gel +TEDZ) ditentukan dengan menggunakan *Duncan multiple range test* dengan tingkat kepercayaan 95%. Data yang ditampilkan merupakan rata-rata dari minimal tiga kali ulangan untuk setiap perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Pakan Polifenol terhadap Profil Protein Daging Ikan

Kandungan protein sarkoplasma larut air dan miofibril yang diekstrak dari daging ikan yang diberi pakan dengan tambahan tepung daun zaitun dan tepung ekstrak daun zaitun tidak berbeda nyata dengan ikan yang diberi pakan tanpa tambahan daun zaitun (Table 2). Kadar air pada daging ikan dari 3 kelompok berbeda juga ditemukan tidak berbeda nyata. Hal yang berbeda ditemukan pada kandungan kolagen larut asam, ikan yang diberi pakan dengan tambahan tepung daun zaitun dan tepung ekstrak daun zaitun memiliki kandungan kolagen larut asam ±10% lebih tinggi dibandingkan ikan yang diberi pakan tanpa tambahan daun zaitun.

Suplementasi antioksidan misalnya senyawa fenol pada ikan budi daya mampu menurunkan laju oksidasi protein sehingga meminimalkan degradasi protein kolagen pada daging ikan yang dihasilkan (López *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Hatae *et al.* (1986) dan Sikorski *et al.* (1984) menemukan korelasi yang kuat antara kandungan kolagen dengan tekstur daging ikan, tekstur daging yang lebih keras mengandung protein kolagen

Table 2 Protein composition and water content of muscle fish

Tabel 2 Komposisi protein dan kadar air daging ikan

Parameter	Control	TDZ	TEDZ
Sarcoplasmic (mg/g)	38.42±3.65 ^a	36.12± 4.75 ^a	35.72±5.35 ^a
Myofibril (mg/g)	89.77±9.98 ^a	91.52±10.70 ^a	90.43±8.85 ^a
Acid Soluble Collagen (mg/g)	0.90±0.10 ^a	0.99± 0.14 ^b	0.97±0.15 ^b
Water content (%)	77.20±7.50 ^a	75.76± 8.34 ^a	76.47±6.54 ^a

Data are presented as mean±SD, and different superscript letters in the same row show significant differences (p<0.05)



yang lebih banyak. Hal tersebut disebabkan karena kolagen bertindak sebagai komponen utama jaringan ikat yang memengaruhi tekstur daging ikan. Daging ikan salmon bertekstur kompak mengandung kolagen larut asam yang lebih tinggi dibanding daging ikan salmon berstruktur lembek (Moreno *et al.*, 2012). Stabilitas kolagen pada daging mampu mempertahankan tekstur pada daging (López *et al.*, 2015).

Penelitian menemukan bahwa penambahan antioksidan alami terbukti mampu meningkatkan tekstur daging. Belut (*Anguilla japonica*) yang diberi pakan dengan tambahan polifenol daun tochu memiliki kandungan kolagen larut asam 2,5 kali lebih tinggi dan tekstur daging yang lebih baik dibanding kontrol (Tanimoto *et al.*, 1993). Pemberian pakan dengan tambahan daun teh hijau mampu meningkatkan tekstur daging ikan ekor kuning (Nakagawa *et al.*, 2007). Perbaikan tekstur daging pada ikan kurisi merah yang diberi pakan antioksidan dari daun zaitun melalui peningkatan kandungan protein kolagen (Arsyad *et al.*, 2018; Nozaki *et al.*, 2020). Polifenol menunjukkan sifat antioksidan yang kuat dengan menetralkan radikal bebas dan mengurangi stres oksidatif, yang sangat penting untuk melindungi kolagen dari degradasi (Shubina *et al.*, 2024; Muzolf-

Panek *et al.*, 2024). Mekanisme perlindungan ini sangat penting untuk menjaga integritas kolagen, yang berkontribusi pada tekstur dan kualitas daging (Lee *et al.*, 2023).

Suplementasi daun zaitun terbukti meningkatkan jumlah kolagen dalam daging ikan (Table 2). Hasil analisis SDS-Page menunjukkan bahwa kolagen larut asam yang diekstrak dari daging ikan kontrol dan dari ikan yang diberi suplementasi daun zaitun (TDZ) menunjukkan dua rantai α yang berbeda, masing-masing α_1 dan α_2 serta rantai β dan berat molekul α_1 (100 kDa) dan α_2 (120 kDa) serta rantai β (200 kDa) (Rimoin *et al.*, 1994). Berdasarkan berat molekul kolagen larut asam yang ditampilkan pada Figure 1, menunjukkan bahwa kolagen dari daging ikan adalah kolagen tipe 1. Kolagen tipe 1 terdiri atas rantai α_1 dan α_2 merupakan protein struktural penting pada tulang, kulit, tendon, ligamen, dan jaringan ikat lainnya (Yanqin *et al.*, 2019). Hal tersebut menunjukkan bahwa suplementasi daun zaitun tidak memberikan pengaruh terhadap kualitas kolagen.

Karakter Fisik Gel Surimi yang ditambahkan Daun Zaitun

Karakter fisik gel surimi (kekerasan dan kekenyalan) adalah indikator utama dalam menentukan kualitas gel surimi (Arsyad *et*

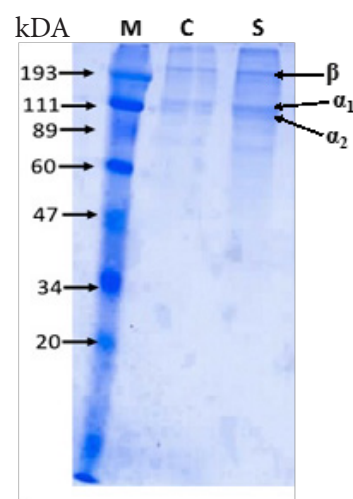


Figure 1 SDS-PAGE patterns of acid-soluble collagen from control (C) and TDZ fish after 14 days of culture, M (marker)

Gambar 1 Pola SDS-PAGE kolagen larut asam dari ikan kontrol (C) dan TDZ setelah 14 hari kultur, M (marker)

al., 2019; Arsyad *et al.*, 2018). Gel surimi yang memiliki kekerasan dan kekenyalan tinggi adalah produk gel yang diinginkan konsumen. Cara meningkatkan kekerasan dan kekenyalan gel surimi yang dihasilkan salah satunya adalah dengan penambahan bahan alam dari tanaman yang kaya polifenol. Gel surimi ikan kewan (*Ctenopharyngodon idellus*) yang ditambahkan 0,5% polifenol apel muda memiliki gel 1,1 kali lebih keras dibandingkan gel tanpa penambahan apel muda. Daun zaitun mengandung polifenol 66.63 mg GAE/g berat kering (Mkaouar *et al.*, 2018). Karakter fisik gel surimi yang telah ditambahkan tepung daun zaitun dan tepung ekstrak daun zaitun disajikan pada *Table 3*.

Kekerasan (*breaking stress*) dan kekenyalan (*breaking strain*) gel surimi meningkat secara signifikan dengan penambahan tepung daun zaitun (TDZ) dan tepung ekstrak daun zaitun (TEDZ). Penambahan TDZ dan TEDZ masing-masing mampu meningkatkan 38 dan 23% kekerasan gel surimi. Hal yang sama ditemukan pada kekenyalan, gel surimi yang ditambahkan TDZ dan TEDZ masing-masing memiliki kekenyalan 1,52 dan 1,48 kali lebih tinggi dibanding gel surimi tanpa penambahan tepung daun zaitun tepung ekstrak daun zaitun dan (kontrol). Senyawa fenol yang dimiliki daun zaitun menginduksi ikatan silang protein pada surimi, menyebabkan peningkatan integritas struktur sehingga menghasilkan secara signifikan tekstur gel yang lebih kompak (Arsyad *et al.*, 2018). Hasil penelitian ini sejalan dengan Balange & Benjakul (2009) yang melaporkan penambahan senyawa

fenol sabut kelapa pada surimi ikan mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) menghasilkan matriks gel yang lebih halus dan meningkatkan ikatan silang protein sehingga menghasilkan gel yang lebih kompak.

Expressible moisture pada kedua kelompok gel surimi (penambahan dan tanpa penambahan daun zaitun) menunjukkan perbedaan yang signifikan. Gel surimi yang mengandung TDZ dan TEDZ memiliki *expressible moisture* lebih rendah dibanding kontrol, hal tersebut menandakan bahwa penambahan TDZ dan TEDZ pada surimi mampu meningkatkan kemampuan daya ikat air gel surimi walaupun kadar air pada gel surimi yang mengandung TDZ dan TEDZ lebih rendah dibanding kontrol tetapi perbedaan tersebut tidak sebesar *expressible moisture*. Hasil tersebut menunjukkan bahwa penurunan kadar air gel surimi dengan penambahan TDZ dan TEDZ bukan merupakan faktor utama dalam meningkatkan kapasitas daya ikat air gel surimi. Hal tersebut sejalan dengan laporan Balange & Benjakul (2009), gel surimi dari ikan swangi (*Priacanthus tayenus*) yang ditambahkan senyawa fenol (asam tannik) memiliki *expressible water* yang lebih rendah dan kemampuan daya ikat air yang lebih tinggi dibandingkan gel surimi tanpa penambahan asam tannik.

Penambahan daun zaitun pada surimi terbukti mampu meningkatkan tekstur gel yang dihasilkan. Konno *et al.* (2011) dan An *et al.* (2021) melaporkan korelasi positif yang signifikan antara ikatan silang *myosin heavy chain* (MHC) dengan kekuatan gel surimi,

Tabel 3 Physical properties and water holding capacity of gels prepared from TDZ and TEDZ surimi

Tabel 3 Karakteristik fisik dan *water holding capacity* gel surimi yang ditambahkan TDZ dan TEDZ

Parameter	Control	TDZ	TEDZ
Breaking stress (10^5 N/m; n= 8)	1.28±0.12 ^a	1.77±0.20 ^b	1.70±1.01 ^b
Breaking strain (%; n=8)	28.00±3.12 ^a	42.56±5.40 ^b	41.28±6.31 ^b
Expressible moisture (%; n=3)	17.90±0.98 ^a	14.13±2.14 ^b	13.98±2.31 ^b
Water content (%; n=3)	59.78±7.60 ^a	58.67±6.80 ^a	59.41±7.05 ^a

Data are presented as mean±SD, and different superscript letters in the same row show significant differences ($p<0.05$)



peningkatan ikatan silang MHC pada surimi akan memperbaiki tekstur gel yang dihasilkan. Analisis SDS-PAGE pada ekstrak protein dari surimi gel dilakukan untuk memastikan apakah surimi gel yang ditambahkan daun zaitun memiliki ekstra ikatan silang MHC. *Figure 2* memperlihatkan bahwa pita MHC memiliki berat molekul sekitar 200 kDa. Hasil tersebut sesuai dengan hasil penelitian Young *et al.* (1986) yang melaporkan bahwa berat molekul MHC 200 kDa pada ayam, sapi, manusia, tikus, kelinci, dan nematoda. Kondisi ini menunjukkan tingkat konsistensi yang tinggi dalam berat molekul MHC di berbagai organisme.

Bagian atas gel (*) (*Figure 2*), pita tebal menunjukkan pembentukan kompleks protein dengan berat molekul tinggi pada semua sampel, hal tersebut menunjukkan terbentuknya ikatan kovalen pada semua sampel. Pita MHC yang ditemukan pada gel surimi yang ditambahkan TDZ dan TEDZ lebih tipis dibandingkan dengan gel kontrol, hal tersebut menjelaskan menunjukkan bahwa penambahan TDZ dan TEDZ memfasilitasi pembentukan ikatan kovalen non-disulfida,

seperti ikatan isopeptida ϵ -(γ -glutamil)-lisin (GL) atau menyebabkan pembentukan ikatan kovalen selain ikatan SS dan ikatan GL (Ogawa *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Pemberian pakan dengan tambahan daun zaitun mampu meningkatkan kandungan kolagen pada daging yang dihasilkan. Kandungan kolagen memberikan kontribusi positif terhadap tekstur daging. Penambahan daun zaitun pada surimi terbukti mampu meningkatkan sifat fisik gel yang dihasilkan sehingga daun zaitun berguna untuk meningkatkan tekstur produk protein ikan.

DAFTAR PUSTAKA

Albertos, I., Martín-Diana, A. B., Jaime, I., Avena-Bustillos, R. J., McHugh, T. H., Takeoka, G. R., Dao, L., & Rico, D. (2018). Antioxidant effect of olive leaf powder on fresh Atlantic horse mackerel (*Trachurus trachurus*) minced muscle. *Journal of Food Processing and Preservation*, 42(1), 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13397>

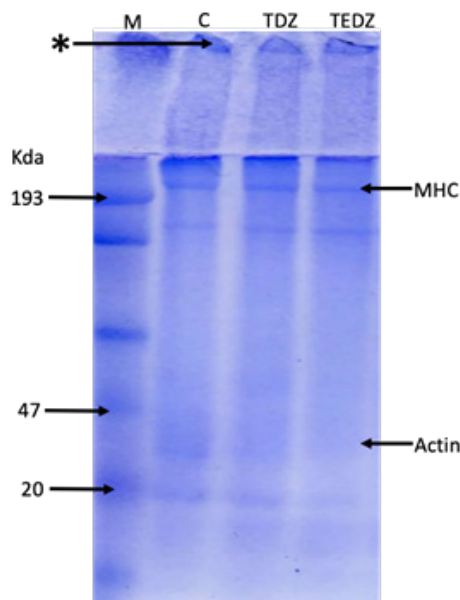


Figure 2 SDS-PAGE pattern of protein solubilized from surimi gel. M: marker; C: control; TDZ: surimi gel with olive leaf flour and TEDZ = surimi gel with olive leaf extract flour

Gambar 2 Pola SDS-PAGE protein yang dilarutkan dari gel surimi. M: marker; C: kontrol; TDZ : gel surimi dengan tepung daun zaitun; TEDZ = gel surimi dengan tepung ekstrak daun zaitun

- Alcaide, E. M., & Nefzaoui, A. (1996). Recycling of olive oil by-products: Possibilities of utilization in animal nutrition. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 38(3–4), 227–235. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(96\)00055-8](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(96)00055-8)
- Armenta López, G.E., Sumaya Martínez, M.T., Spanopoulos Hernández, M., Balois Morales, R., Sánchez Herrera, M., Jiménez Ruíz, E. (2015). Inclusion of natural antioxidant compounds in fish feeds to counteract oxidative stress. *Revista Bio Ciencias*, 3(2), 68–78. <https://doi.org/10.15741/REVBIO.03.02.01>
- Arsyad, M. A., Akazawa, T., Nozaki, C., Yoshida, M., Oyana, K., Mukai, T., & Ogawa, M. (2018). Effects of olive leaf powder supplemented to fish feed on muscle protein of red sea bream. *Fish Physiology and Biochemistry*, 44(5), 1299–1308. <https://doi.org/10.1007/s10695-018-0521-1>
- Arsyad, M. A., Akazawa, T., & Ogawa, M. (2018). Effects of olive leaf powder on mechanical properties of heat-induced surimi gel. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 28, 2–13. <https://doi.org/10.1080/10498850.2018.1559904>
- Arsyad MA, Rusli A. (2020). Profil protein daging ikan kurisi merah (*Pagrus major*) yang diberi pakan dengan tambahan tepung daun zaitun (*Olea europaea* L.). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1), 93–102. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i1.30890>
- Arsyad, M. A., Rusli, A., & Ogawa, M. (2019). Sifat mekanik gel surimi yang ditambahkan olive leaf extract powder. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 22(2), 318–326. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v22i2.27772>
- Balange, A., & Benjakul, S. (2009). Enhancement of gel strength of bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*) surimi using oxidised phenolic compounds. *Food Chemistry*, 113(1), 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.039>
- Balange, A. K., & Benjakul, S. (2009). Effect of oxidised phenolic compounds on the gel property of mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) surimi. *LWT - Food Science and Technology*, 42(6), 1059–1064. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.01.013>
- Blanco, M., Vázquez, J. A., Pérez-martín, R. I., & Sotelo, C. G. (2019). Collagen extraction optimization from the skin of the small-spotted catshark (*S. canicula*) by response surface methodology. *Marine Drug*, 1–14. <https://doi.org/10.3390/md17010040>
- Barik, S.K., Banerjee, S., Bhattacharjee, S., Gupta, S.K.D., Mohanty, S., & Mohanty, B.P. (2013). Proteomic analysis of sarcoplasmic peptides of two related fish species for food authentication. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171, 1011–1021. <https://doi.org/10.1007/S12010-013-0384-Y>
- Botsoglou, E., Govaris, A., Ambrosiadis, I., Fletouris, D., & Papageorgiou, G. (2014). Effect of olive leaf (*Olea europaea* L.) extracts on protein and lipid oxidation in cooked pork meat patties enriched with n-3 fatty acids. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(2), 227–234. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6236>
- Botsoglou, E., Govaris, A., Christaki, E., & Botsoglou, N. (2010). Effect of dietary olive leaves and/or α -tocopheryl acetate supplementation on microbial growth and lipid oxidation of turkey breast fillets during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 121(1), 17–22. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.083>
- Cavalheiro, C. V., Rosso, V. D., Paulus, E., Cichoski, A. J., Wagner, R., Menezes, C. R. de, & Barin, J. S. (2014). Composição química de folhas de oliveira (*Olea europaea* L.) da região de Caçapava do Sul, RS. *Ciência Rural*, 44(10), 1874–1879. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20131139>
- Dorey, R. C., & Draves, J. A. (1998). Spectrophotometric determination of total protein-biuret Method. *Quantitative Analysis Laboratory: A New Approach Funded by the National Science Foundation*, 48(3), 1–3.



- Galal, S. A., Mousa, M. M., Elzanfaly, E. S., Hussien, E. M., Amer, E. A., & Zaazaa, H. E. (2024). Quantitative analysis of residual butylated hydroxytoluene and butylated hydroxyanisole in *Salmo salar*, milk, and butter by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 453, 139653. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139653>
- Ge, L., Xu, Y., Xia, W., Zhao, N., & Jiang, Q. (2018). Contribution of myofibril filament disassembly to textural deterioration of ice-stored grass carp fillet: Significance of endogenous proteolytic activity, loss of heat shock protein and dephosphorylation of myosin light chain. *Food Chemistry*, 269, 511–518. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.047>
- H. Nakagawa, M. Sato, D.M. Gatlin III. (2007). Dietary Supplements for the Health and Quality of Cultured Fish. Page 244. CABI; Illustrated edition
- Janairo, G., Sy, M. L., Yap, L., & Llanos-lazaro, N. (2020). Determination of the sensitivity range of biuret test for undergraduate biochemistry experiments determination of the sensitivity range of biuret test for undergraduate biochemistry experiments. *eJournal Sci Technol*, 6(5), 77–83.
- Khan, N., & Mukhtar, H. (2007). Tea polyphenols for health promotion. *Life Sciences*, 81(7), 519–533. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2007.06.011>
- Kliment, C. R., Englert, J. M., Crum, L. P., & Oury, T. D. (2011). Original article a novel method for accurate collagen and biochemical assessment of pulmonary tissue utilizing one animal. *Int J Clin Exp Pathol*, 4(4), 349–355.
- Konno, K., Imamura, K., & Yuan, C.H. (2011). Myosin denaturation and cross-linking in alaska pollack salted surimi during its preheating process as affected by temperature. *Food Science and Technology Research*, 17(5), 423–428. <https://doi.org/10.3136/fstr.17.423>
- Laemmli, U.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680–685.
- Lee, B., Kim, J. Y., Ryu, Y.-C., Lee, K., & Choi, Y. M. (2023). Research Note: Expression levels of collagen-related genes in PSE conditions and white striping features of broiler pectoralis major muscle. *Poultry Science*, 102(4), 102471. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.102471>
- Lertwittayanon, K., Benjakul, S., Maqsood, S., & Encarnacion, A.B. (2013). Effect of different salts on dewatering and properties of yellowtail barracuda surimi. *International Aquatic Research*, 5(10), 1–12. <https://doi.org/10.1186/2008-6970-5-10>
- Marzoni, M., Chiarini, R., Castillo, A., Romboli, I., De Marco, M., & Schiavone, A. (2014). Effects of dietary natural antioxidant supplementation on broiler chicken and Muscovy duck meat quality. *Animal Science Papers and Reports*, 32(4), 359–368.
- Magdalena, Mika., Anna, Antończyk., Agnieszka, Wikiera. (2023). Influence of synthetic antioxidants used in food technology on the bioavailability and metabolism of lipids - in vitro studies. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 73(1), 95–107. <https://doi.org/10.31883/pjfn.161366>
- Mkaouar, S., Krichen, F., Bahloul, N., Allaf, K., & Kechaou, N. (2018). Enhancement of bioactive compounds and antioxidant activities of olive (*Olea europaea* L.) leaf extract by instant controlled pressure drop. *Food and Bioprocess Technology*, 11, 1222–1229. <https://doi.org/10.1007/s11947-018-2098-1>
- Moreno, H. M, Montero, M. P., Gómez-Guillén, M. C., Fernández-Martín, F., Mørkøre, T., & Borderías J. (2012). Collagen characteristics of farmed Atlantic salmon with firm and soft fillet texture. *Food Chemistry*, 134(2), 678–85. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.160>
- Muzolf-Panek, M., Zaworska-Zakrzewska, A., Czech, A., Lisiak, D., & Kasprówicz-

- Potocka, M. (2024). Antioxidative status and meat quality traits as affected by dietary supplementation of finishing pigs with natural phenolics. *Antioxidants*, 13(11), 1362. <https://doi.org/10.3390/antiox13111362>
- Nowsad, A. A., Kanoh, S., & Niwa, E. (1993). Aggregation of myosin heavy chain while grinding surimi and setting its paste. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 59(11), 1-2.
- Nozaki, C., Hibi, K., Akazawa, T., Nishiyama, T., Oyama, K., Yoshida, M., Mukai, T., Hayakawa, S., & Ogawa, M. (2020). Effects of feeding olive leaf powder on the chewiness of yellowtail meat. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 86, 483-493.
- Ogawa, M., Inoue, M., Hayakawa, S., O'Charoen, S., and Ogawa, M. (2017). Effects of rare sugar d-allulose on heat-induced gelation of surimi prepared from marine fish. *Journal Science and Food Agriculture*, 97(14), 5014-5020. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8381>
- Oyama, K., Tochino, M., Ueta, Y., Takemori, H., & Tada, T. (2010). Effects of a diet supplemented with powdered olive olea europaea leaf on prevention of dark muscle discoloration in cultured yellowtail *Seriola quinqueradiata*. *Aquaculture Science*, 58(2), 279-287.
- Rahmawati, H., Agustini, T. W., Dewi, E. N., & Trianto, A. (2024). Karakteristik hidrolisat kolagen kulit ikan tenggiri kering dengan enzim papain. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(12), 1156-1171. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i12.55831>
- Ronald, B., Young, Debra, M., Moriarity, Christopher, E., McGee. (1986). Structural analysis of myosin genes using recombinant DNA techniques. *Journal of Animal Science*, <http://dx.doi.org/10.2527/JAS1986.631259X>
- Rimoin, D.L., Cohn, D.H. & Eyre, D. (1994). Clinical-molecular correlations in the skeletal dysplasias. *Pediatric Radiology*, 24, 425-426. <https://doi.org/10.1007/BF02011909>
- Shubina, V. S., Kobayakova, M. I., Penkov, N. V., Mitenko, G. V., Udaltsov, S. N., & Shatalin, Yu. V. (2024). Two novel membranes based on collagen and polyphenols for enhanced wound healing. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(22), 12353. <https://doi.org/10.3390/ijms252212353>
- Tang, Z., He, Y., Zhang, J., Zhao, Z., Nie, Y.-Q., & Zhao, X. (2024). Study on the structural changes of boneless chicken claw collagen and its effect on water retention performance. *Foods*, 13(22), 3682. <https://doi.org/10.3390/foods13223682>
- Taşbozan, O., & Erbaş, C. (2023). Antioxidant additives in fish feeds. *Black Sea Journal of Agriculture*, 6(3), 321-325. <https://doi.org/10.47115/bsagriculture.1246497>
- Yanqin, Lu., Shie, Zhang., Shie, Zhang., Yanzhou, Wang., Xiuzhi, Ren., Jinxiang, Han., Jinxiang, Han. (2019). Molecular mechanisms and clinical manifestations of rare genetic disorders associated with type I collagen. *Intractable & Rare Diseases Research*, 8(2), 98-107. <https://doi.org/10.5582/IRDR.2019.01064>