

## Perubahan Nilai Gizi dan Alergenisitas Produk Olahan Intermediat Surimi dan Otak-Otak Ikan Tenggiri Siap Santap

[Changes in the Nutritional Value and Allergenicity of Surimi Intermediate Product and Ready to Eat Otak-Otak of Tenggiri Fish]

Vina Giovani<sup>1)</sup>, Nurheni Sri Palupi<sup>2)\*</sup>, Dian Herawati<sup>2)</sup>, dan Saraswati<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Program Studi Ilmu Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University, Bogor, Indonesia

<sup>2)</sup> Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, IPB University, Bogor, Indonesia

Diterima 16 Oktober 2023 / Disetujui 18 November 2023

### ABSTRACT

Fish is one of the nine major food allergens. Avoiding consumption of fish is a common preventive measure to mitigate fish allergies. On the other hand, food processing may potentially alter the allergenicity of fish, and thus, it is important to identify the most effective fish processing methods that can reduce its allergenicity. This research aimed to characterize the nutritional value, intensity of allergens, and allergenicity from the processing of tenggiri fish processing to produce surimi as intermediate food and ready to eat (RTE) otak-otak. The processing steps consisted of washing and adding cryoprotectant during surimi processing, and using deep and air frying methods in RTE otak-otak processing. Changes in the nutritional value and intensity of allergens of fish meat and its processed products were measured using proximate analysis and SDS-PAGE electrophoresis, respectively. The alterations in the allergenicity were investigated using immunoblotting and ELISA. The results revealed changes in the nutritional value due to the processing. Surimi production successfully removed a protein band of 10–13 kDa, which is suspected to be an allergen. Additionally, both deep and air frying methods effectively removed allergenic proteins with molecular weights above 100 kDa. Immunoblotting assay showed the allergen only appeared in fish meat absent in all of the processed products. The allergenicity rates of surimi and otak-otak was reduced by 90.78 and 98.68%, respectively, as compared to the fish meat. In conclusion, the nutritional value of air-fried otak-otak is superior while the allergenicity is lower than the deep-fried ones. Therefore, air frying processing method for tenggiri fish can be potentially used to produce hypoallergenic fish products.

**Keywords:** air frying, food allergy, otak-otak, surimi, tenggiri fish

### ABSTRAK

Ikan merupakan satu dari sembilan bahan pangan penyebab utama alergi. Menghindari konsumsi ikan dan hasil olahannya merupakan pencegahan umum untuk menghindari alergi karena ikan. Meskipun demikian, pengolahan pangan mampu merubah alergenitas ikan, sehingga perlu dicari metode pengolahan ikan yang paling efektif yang dapat menurunkan alergenitas. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi perubahan nilai gizi, intensitas protein alergen, dan alergenitasnya pada pengolahan ikan tenggiri. Prosedur pengolahan meliputi pencucian lumatan daging ikan, penambahan krioprotektan pada surimi, serta metode penggorengan otak-otak dengan minyak, dan non minyak atau *air frying*. Perubahan kandungan gizi dan profil protein pada ikan tenggiri dan produk olahannya masing-masing dianalisis dengan proksimat dan elektroforesis SDS-PAGE. Perubahan alergenitas secara kualitatif diuji dengan *immunoblotting* dan secara kuantitatif menggunakan metode ELISA. Hasil analisis menunjukkan adanya perubahan nilai gizi akibat metode pengolahan yang diberikan. Pembuatan surimi mampu menghilangkan pita protein dengan BM 10–13 kDa yang diduga alergen. Selain itu, penggorengan otak-otak dengan metode minyak dan *air frying* mampu menghilangkan protein penyebab alergi pada BM diatas 100 kDa. Hasil *immunoblotting* menunjukkan bahwa pita alergen terdeteksi pada daging segar namun pada seluruh produk olahannya tidak terdeteksi. Alergenitas surimi dan otak-otak masing-masing berkurang hingga 90,78 dan 98,68% dibandingkan dengan daging segar. Nilai gizi dan alergenitas pada otak-otak yang digoreng menggunakan *air frying* lebih baik dibandingkan dengan yang digoreng menggunakan minyak. Dengan demikian, prosedur pengolahan ikan tenggiri dengan pencucian dan penambahan krioprotektan pada pembuatan surimi serta metode *air frying* pada pembuatan produk siap santap dapat berpotensi untuk diaplikasikan dalam pembuatan pangan ikan hipoalergenik.

**Kata kunci:** air frying, alergi pangan, ikan tenggiri, otak-otak, surimi

\*Penulis Korespondensi: E-mail: [hnpalupi@apps.ipb.ac.id](mailto:hnpalupi@apps.ipb.ac.id)

## PENDAHULUAN

Ikan merupakan bahan pangan sumber protein hewani yang memiliki banyak manfaat kesehatan setelah dikonsumsi. Di sisi lain, bagi sebagian orang mengonsumsi ikan dapat menimbulkan risiko bahaya karena dapat menyebabkan terjadinya alergi ikan (Mokolensang *et al.*, 2023). Ikan sebagai salah satu dari sembilan bahan pangan utama penyebab alergi dapat menimbulkan gejala klinis seperti gatal pada permukaan tubuh dan mulut, kejang perut, asma, hingga reaksi anafilaksis yang dapat mengancam jiwa (Mukherjee *et al.*, 2023). Oleh karena itu, menghindari konsumsi pangan yang mengandung alergen merupakan langkah yang banyak dilakukan agar terhindar dari reaksi alergi (Tsai *et al.*, 2023). Hal ini menyebabkan penderita alergi memiliki keterbatasan terhadap pilihan asupan protein hewani. Akibatnya, penderita berpotensi mengalami defisiensi makro dan mikronutrien yang berpengaruh terhadap terhambatnya pertumbuhan dan penurunan kesehatan tubuh (Rifat *et al.*, 2023).

Alergen atau protein pemicu reaksi alergi pada ikan dapat diakses pada database *Allergen Nomenclature* (WHO/IUIS, 2023). Beberapa alergen yang reaktif terhadap antibodi IgE manusia diantaranya parvalbumin sebagai alergen mayor (Ruethers *et al.*, 2018), kolagen (Kobayashi *et al.*, 2016a) dan tropomiosin sebagai alergen minor (Tsai *et al.*, 2023). Berbeda dengan protein pada umumnya, alergen mempunyai daerah sekuen asam amino yang disebut epitop, yang secara spesifik akan berikatan dengan paratop pada antibodi menghasilkan IgE, lalu menghasilkan respon alergi pada individu atopik (Stephen *et al.*, 2017).

Berbagai studi mengenai pengolahan banyak dilakukan untuk menurunkan alergenitas pangan, salah satunya yaitu pembuatan surimi. Surimi merupakan produk intermediet dari daging ikan. Secara komersial, proses pencucian dan penambahan krioprotektan pada pengolahan surimi dianggap penting karena dapat meningkatkan mutu surimi (Lestari *et al.*, 2018). Pencucian dilakukan untuk menghilangkan protein sarkoplasma, kotoran, darah, dan lemak (Wijayanti *et al.*, 2021). Penambahan krioprotektan di akhir proses juga digunakan untuk menjaga kekenyalan surimi selama penyimpanan (Parvathy dan George, 2014). Selain meningkatkan sifat gel, proses pencucian dapat membuang protein penyebab alergi sehingga dapat menurunkan alergenitas pada ikan (Kurata *et al.*, 2017; Pérez-Tavarez *et al.*, 2021).

Surimi dapat diolah menjadi berbagai produk siap santap, contohnya otak-otak. Pada penelitian ini otak-otak digoreng dengan minyak dan tanpa minyak (*air frying*). Pengolahan otak-otak dengan suhu tinggi berpotensi mengubah reaktivitas alergi karena rusaknya sisi epitop pada protein yang bersifat sensitif terhadap panas sehingga memengaruhi kemam-

puannya dalam berikatan dengan IgE (Chatterjee *et al.*, 2006). Penelitian yang dilakukan oleh Palupi *et al.* (2021) mengungkapkan bahwa penggorengan dengan minyak mampu menurunkan alergenitas ikan.

Perubahan alergenitas ikan akibat proses pengolahan telah banyak dipelajari, namun tahapan dalam pengolahan ikan menjadi produk intermediet surimi, seperti pencucian dan penambahan krioprotektan belum banyak diteliti. Selain itu, pengolahan surimi menjadi produk siap santap, seperti otak-otak menggunakan *air frying* (penggorengan tanpa minyak) juga belum banyak diteliti di Indonesia. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi perubahan nilai gizi, intensitas protein alergen, dan alergenitas ikan serta produk olahannya, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pengolahan pada pembuatan produk pangan hipoalergenik.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan tenggiri yang diperoleh dari pasar Muara Angke, Jakarta pada Agustus tahun 2022. Selain itu juga digunakan bahan kimia yang meliputi 0,2% natrium tripolifosfat dan 5% polidekstrosa sebagai krioprotektan, bahan untuk elektroforesis SDS-PAGE, antibodi antiparvalbumin monoklonal primer (PARV-19; Sigma-Aldrich, Saint Louis, Amerika Serikat), dan kit ELISA parvalbumin (3M™ Fish Protein ELISA Wells, 3M Australia, Sydney, Australia).

### Pelaksanaan penelitian

Penelitian terbagi menjadi empat tahap yaitu (i) persiapan sampel, (ii) analisis perubahan nilai gizi ikan tenggiri dan produk olahannya, (iii) analisis perubahan berat molekul sampel berdasarkan SDS-PAGE, dan (iv) analisis perubahan alergenitas ikan tenggiri protein dan produk olahannya dengan *immunoblotting* dan ELISA.

### Persiapan sampel

Persiapan sampel dimulai dengan memisahkan daging segar (DS) dari kulit, tulang, dan isi perut. DS lalu dilumatkan, dicuci sebanyak 3 kali dengan air dingin (5–10°C) (1:4), dan diperas hingga air berkurang 80%. Pada langkah ini diperoleh surimi tanpa krioprotektan (STK). Pada akhir proses, surimi ditambahkan krioprotektan berupa polidekstrosa 5% dan natrium tripolifosfat 0,2% (b/v) dan diaduk sampai homogen. Krioprotektan berfungsi untuk pembentukan gel ikan sehingga meningkatkan sifat gel surimi. Pada tahap ini diperoleh surimi dengan krioprotektan (SDK).

Surimi tanpa krioprotektan (STK) digunakan sebagai bahan baku pada pembuatan otak-otak. Sebanyak STK sebanyak 300 g dicampur dengan 20

g bawang merah, 24 g bawang putih, 10 g garam, 3 g gula pasir, 43 g butir telur, dan 200 g tepung tapioka. Adonan otak-otak yang telah dibentuk selanjutnya direbus 5 menit. Setelah matang, otak-otak ditiriskan. Otak-otak digoreng dengan metode penggorengan minyak (OGM) (120°C, 5 menit) dan penggorengan tanpa minyak atau *air frying* (OAF) (200°C, 15 menit). Sampel DS, STK, SDK, OGM, dan OAF selanjutnya dianalisis perubahan nilai gizi, perubahan profil protein dengan SDS-PAGE, dan perubahan alergenisitas secara kualitatif dianalisis menggunakan metode *immunoblotting* dan secara kuantitatif menggunakan metode ELISA.

### Analisis perubahan nilai gizi ikan tenggiri dan produk olahannya

Perubahan nilai gizi sampel dilakukan dengan uji proksimat sesuai AOAC (2012). Pengujian meliputi kadar air, kadar abu, protein, lemak, dan karbohidrat pada sampel. Kadar air dianalisis dengan pengeringan oven suhu 104°C, kadar abu dengan metode pengabuan kering pada tanur suhu 500°C, pengujian kadar protein dengan metode Kjeldahl, kadar lemak dengan ekstraksi soxhlet, dan analisis karbohidrat metode *by difference* atau pengurangan 100% dengan hasil penjumlahan kadar air, kadar abu, kadar lemak, dan kadar protein.

### Ekstraksi protein

Penentuan profil protein ikan tenggiri dan produk olahannya dimulai dengan proses ekstraksi protein yang dilakukan menurut Nugraha *et al.* (2020). Sampel sebanyak 10 g diekstrak menggunakan 40 mL bufer Tris-HCl (0,1 M; pH 8,0) dan dihomogenkan selama 2 menit. Homogenat didiamkan selama semalam pada suhu 4°C lalu di sentrifugasi pada kecepatan 10,000  $\times$ g selama 30 menit pada suhu 4°C untuk mendapatkan supernatan. Supernatan disimpan pada suhu -20°C.

### Penentuan protein terlarut dengan Bradford

Protein terlarut hasil ekstraksi dianalisis dengan metode Bradford (1976). Sebanyak 5  $\mu$ L larutan ekstrak protein sampel diambil dan ditambahkan dengan 250  $\mu$ L reagen bradford pada mikroplate. Larutan diinkubasi selama 5 menit dan diukur menggunakan alat pembaca mikroplate dengan panjang gelombang 595 nm. Larutan *bovine serum albumin* (BSA) digunakan sebagai standar.

### Analisis profil protein ekstrak protein ikan tenggiri dan produk olahannya menggunakan elektroforesis SDS-PAGE

SDS-PAGE merupakan analisis elektroforesis yang digunakan untuk memisahkan protein berdasarkan berat molekul (BM). Analisis profil protein dengan SDS-PAGE elektroforesis sesuai Laemmli (1970) dengan gel pemisah (*separating*) 12% dan gel pe-

ngumpul (*stacking*) 4%. Ekstrak protein ditambahkan pada bufer sampel (0,0658 M bufer tris pH 6.8, 2,1% SDS, 26,3% gliserol, 5% 2-merkaptotanol, dan 0,01% bromofenol biru) dengan perbandingan 1:1 (v/v) lalu dipanaskan 90°C selama 5 menit. sebanyak 15  $\mu$ L ekstrak protein diinjeksikan pada sumur SDS-PAGE gel dan dipisahkan pada 100 V selama 90 menit dengan bufer *running* (0,025 tris, 0,1924 M glisin, dan 0,10% SDS). Gel selanjutnya divisualisasi dengan *Coomasie Brilliant Biru G-250* (Merck, Darmstadt, Jerman) (*staining*) selama 30 menit. Penghilangan warna gel (*destaining*) ditambahkan sampai muncul intensitas warna pada pita protein pada gel. Berat molekul dan intensitas protein pada sampel diukur dengan *software Gel Analyzer 19.1.* dan Persamaan 1.

$$\frac{\text{Intensitas Pita Protein (area/mg)} = \text{area di bawah kurva}}{\text{konsentrasi protein (mg/mL)} \times \text{volume injeksi (mL)}} \quad (1)$$

### Analisis profil protein alergen berdasarkan Immunoblotting

Alergenisitas ekstrak protein ikan tenggiri dan produk olahannya secara kualitatif dianalisis menggunakan teknik *immunoblotting* dengan monoklonal antibodi PARV-19 yang spesifik mendeteksi alergen mayor BM 10-13 kDa. Analisis *immunoblotting* sesuai Gajewski dan Hsieh (2009) dengan modifikasi. *Immunoblotting* merupakan metode pengujian alergenisitas secara kualitatif untuk mengetahui ada tidaknya alergen pada matriks pangan. Setelah dilakukan pemisahan ekstrak protein dengan SDS-PAGE, pita protein gel hasil elektroforesis yang tidak terwarnai ditransfer ke membran PVDF yang diaktifkan (Bio-Rad, Hercules, Amerika Serikat) menggunakan sistem transfer elektroforesis transblot basah (Bio-Rad) selama 1 jam pada 100 V. membran diblokir dengan susu skim 5% (b/v) (saline bufer tris atau TBS) selama selama 1 jam pada suhu 25°C. Membran dicuci dengan 20 mM Tris, 500 mM NaCl, dan 0,05% Tween 20 (saline tween 20 bufer tris atau TBST; pH 7,6) 3 kali, masing-masing selama 5 menit. Setelah dicuci, membran diinkubasi selama 1 jam dengan antibodi antiparvalbumin monoklonal primer (PARV-19; Sigma-Aldrich, Saint Louis, Amerika Serikat) yang diencerkan 1:3.000 dalam buffer antibodi (1% susu skim (b/v) dalam TBS). Membran dicuci dengan TBST sebanyak 3 kali kemudian diinkubasi dengan antibodi sekunder (*goat anti-mouse IgG alkaline phosphatase conjugate*; Sigma-Aldrich, Saint Louis, Amerika Serikat) dengan pengenceran 1:30.000 dalam bufer antibodi selama 1 jam pada suhu kamar. Setelah dicuci, membran divisualisasikan menggunakan substrat 5-bromo-4-kloro-3-indolyl-fosfat-p-nitroblue tetrazolium (Sigma-Aldrich, Saint Louis, Amerika Serikat) selama 20 menit. Reaksi warna dihentikan dengan mencuci membran dengan

air suling. Hasil deteksi positif protein alergen ditandai dengan munculnya pita keunguan gelap.

### Analisis perubahan alergenitas berdasarkan ELISA

Analisis alergenitas ELISA dilakukan dengan *3M™ Fish Protein ELISA Wells*. ELISA merupakan metode yang dilakukan untuk mengkuantifikasi reaktivitas ikatan antibodi dengan protein yang diuji. Antibodi telah tertanam pada 96 wells ELISA kit. Semua sampel dianalisis sesuai dengan reagen dan prosedur yang sudah disediakan pada ELISA kit *3M™ Fish Protein*. Densitas optik (OD) setiap sampel diukur menggunakan alat pembaca ELISA (BIO-RAD, London, Inggris) pada panjang gelombang 450 nm. Nilai OD digunakan untuk menghitung konsentrasi protein alergen (ppm) dan dihitung persentase alergenitasnya menggunakan Persamaan 2.

Alergenitas (%) =

$$\frac{\text{konsentrasi protein alergen sampel (ppm)}}{\text{konsentrasi protein alergen daging segar (ppm)}} \times 100\% \quad (2)$$

### Analisis data

Perlakuan dalam penelitian ini dilakukan dengan dua kali ulangan dan analisis dilakukan secara duplo. Data yang diperoleh selanjutnya diolah menggunakan *analysis of variance* (ANOVA) menggunakan bantuan perangkat lunak SPSS (*Statistical Product and Service Solutions*) 20 dengan taraf signifikansi  $p < 0,05$ . Semua data ditampilkan dalam bentuk nilai rata-rata  $\pm$  standar deviasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Perubahan nilai gizi ikan tenggiri dan produk olahannya

Proses pencucian dan penambahan krioprotektan memengaruhi nilai gizi ikan tenggiri (Tabel 1). Kadar air surimi tanpa krioprotektan (STK) dan surimi dengan krioprotektan (SDK) memenuhi persyaratan mutu SNI 2694:2013 dengan batas maksimal 80% (BSN, 2013). Kadar abu dan kadar lemak STK turun secara signifikan akibat pencucian lumatan daging. Kadar lemak SDK meningkat 0,2% setelah ditambahkan krioprotektan. Kadar protein STK dan SDK berbeda nyata dibandingkan dengan daging segar (DS). Protein sarkoplasma memiliki sifat larut air sehingga ikut terbuang bersama air pencucian. Krioprotektan berfungsi sebagai koagulan sehingga menyebabkan lipatan struktur protein menjadi terbuka atau *unfold* menjadi struktur primernya dan kelarutannya menjadi berkurang (Yang *et al.*, 2020).

Surimi selanjutnya digunakan sebagai bahan pembuatan otak-otak. Penambahan bahan-bahan

yang lain memengaruhi kadar abu. Kadar air otak-otak goreng minyak (OGM) dan otak-otak *air frying* (OAF) turun karena penggorengan dengan suhu tinggi menguapkan air yang terperangkap pada bahan. Penggorengan secara signifikan menurunkan kadar protein OGM dan OAF karena protein umumnya tidak tahan panas sehingga penggorengan suhu tinggi dapat mendenaturasi protein. Penelitian mengungkapkan bahwa pengolahan pangan suhu tinggi seperti penggorengan (160°C) dapat menurunkan kadar protein (Arwani *et al.*, 2022). Selain itu, proses penggorengan juga menyebabkan reaksi Maillard yang dapat merusak lisin, sistein dan ketersediaan asam amino lainnya sehingga protein tidak terdeteksi dengan metode Kjeldahl (Wijaya *et al.*, 2019). OGM menunjukkan peningkatan kadar lemak yang signifikan hingga 8,85% sedangkan OAF hanya 2,38%. Selain lebih sehat karena lemak yang rendah, penggorengan *air frying* mampu menghasilkan rasa dan kerenyahan yang lebih baik dibandingkan penggorengan minyak (Yu *et al.*, 2020).

### Perubahan profil protein ekstrak protein ikan tenggiri dan produk olahannya dengan elektroforesis SDS-PAGE

Hasil SDS-PAGE Gambar 1A menunjukkan adanya pemisahan pita protein ekstrak protein ikan tenggiri dan produk olahannya. Hasil analisis yang diukur dengan *gel analyzer* (Gambar 1B) dapat dilihat bahwa 13 pita protein tebal yang terdeteksi pada daging segar (DS), 14 pita protein pada surimi tanpa krioprotektan (STK), 16 pita protein pada surimi dengan krioprotektan (SDK), dan 7 pita protein terdeteksi pada otak-otak goreng minyak (OGM) maupun otak-otak *air frying* (OAF). Beberapa pita protein alergen yang cukup tebal terdeteksi yaitu fraksi parvalbumin (10-13 kDa), tropomiosin (33-38 kDa), aldolase (40 kDa), beta enolase (50 kDa), dan pita protein lebih dari 100 kDa diduga sebagai kolagen.

Pengolahan ikan dapat memengaruhi jumlah pita protein. Bertambahnya pita protein pada ekstrak protein surimi diduga akibat pembentukan fraksi aktomiosin selama proses pencucian bertingkat dan penambahan krioprotektan di akhir proses (Nugraha *et al.*, 2020). Otak-otak yang digoreng menggunakan minyak dan *air frying* keduanya memiliki penurunan jumlah pita protein yang signifikan karena rusaknya protein yang tidak tahan panas. Pengolahan suhu tinggi dapat mendenaturasi protein sehingga menurunkan solubilitas atau daya kemampuan larutnya (Zhu dan Hsieh, 2021). Pita protein pada siap santap otak-otak yang tetap muncul dari hasil SDS-PAGE di antaranya parvalbumin, *myosin light chain*, dan tropomiosin karena protein tersebut memiliki sifat tahan panas.

Tabel 1. Perubahan nilai gizi ikan tenggiri dan produk olahannya  
 Table 1. Nutritional value of tenggiri fish and its processed foods

Sampel (Sample)	Kadar Air (%) (bb) (Moisture Content (%) (wb))	Kadar Abu (%) (bk) (Ash Content (%) (db))	Kadar Protein (%) (bk) (Protein Content (%) (db))	Kadar Lemak (%) (bk) (Fat Content (%) (db))	Kadar Karbohidrat (%) (bk) (Carbohydrate Content (%) (db))
DS (FM)	79.74±0.46 <sup>a</sup>	4.75±1.38 <sup>a</sup>	89.75±1.23 <sup>a</sup>	3.26±1.12 <sup>b</sup>	2.23±1.53 <sup>d</sup>
STK (SNC)	78.23±4.61 <sup>ab</sup>	1.02±0.23 <sup>c</sup>	83.06±3.16 <sup>b</sup>	1.81±0.41 <sup>c</sup>	14.11±2.90 <sup>c</sup>
SDK (SWC)	75.32±1.19 <sup>b</sup>	1.49±0.04 <sup>c</sup>	64.36±9.28 <sup>b</sup>	2.08±0.37 <sup>c</sup>	32.13±9.45 <sup>b</sup>
OGM (ODF)	42.90±1.21 <sup>c</sup>	2.56±0.10 <sup>b</sup>	17.21±0.45 <sup>d</sup>	8.85±0.19 <sup>a</sup>	71.64±0.67 <sup>a</sup>
OAF (OAF)	35.31±0.57 <sup>d</sup>	2.67±0.08 <sup>b</sup>	18.93±0.26 <sup>d</sup>	2.38±0.07 <sup>c</sup>	76.01±0.23 <sup>a</sup>

Keterangan: Superskrip dengan beda huruf menunjukkan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ). DS= Daging segar; STK= Surimi tanpa krioprotektan; SDK= Surimi dengan krioprotektan; OGM= Otak-otak goreng minyak; dan OAF= Otak-otak air frying. bk= Berat kering; bb= Berat basah

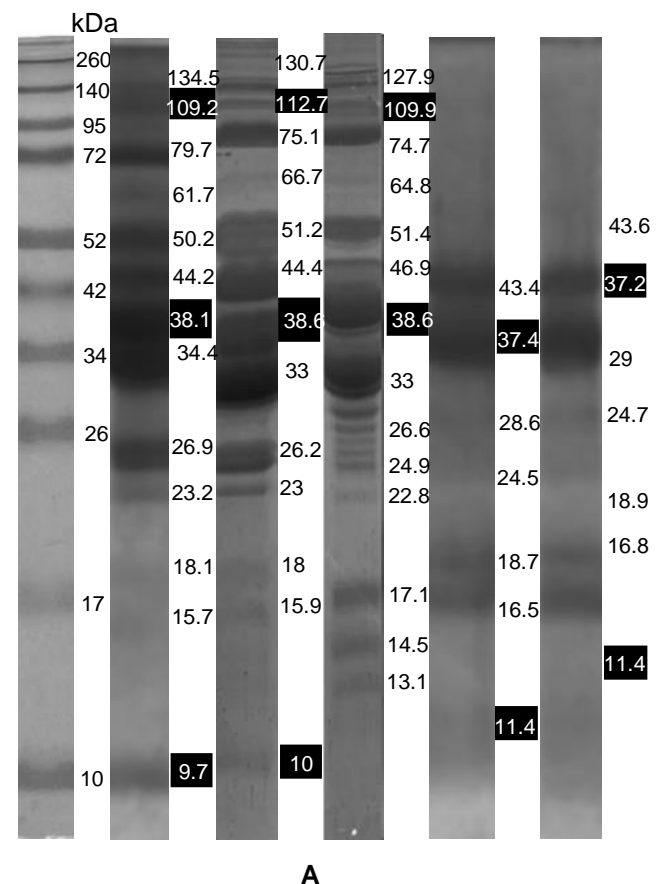
Note: Difference letters in the same column shows significant difference between samples ( $p < 0.05$ ). FM= Fish meat; SNC= Surimi non cryoprotectant; SWC= Surimi with cryoprotectant; ODF= Otak-otak deep frying; OAF= Otak-otak air frying; wb= Wet basis; db= Dry basis

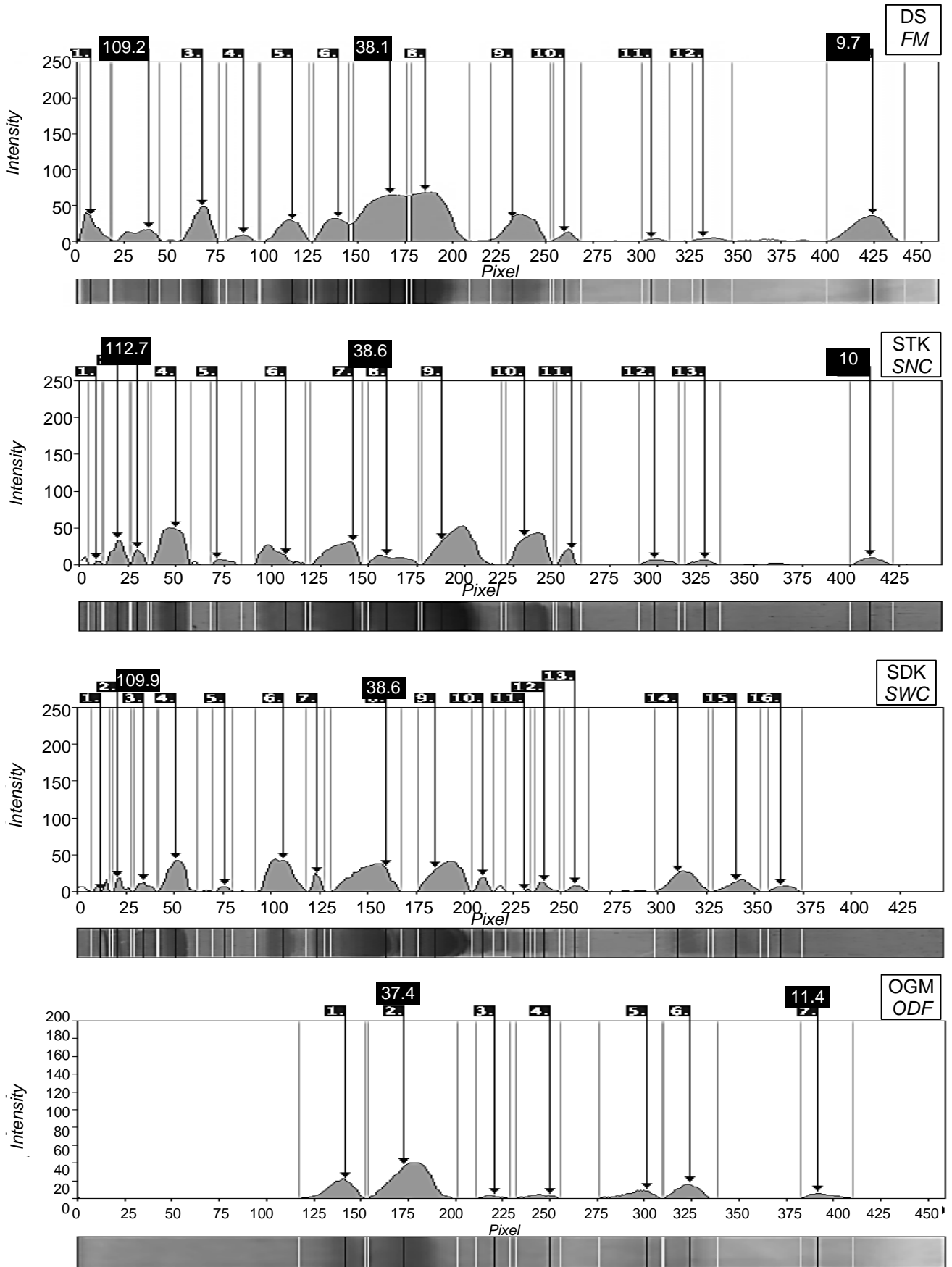
Perubahan intensitas tiga alergen yaitu parvalbumin, tropomiosin, dan kolagen diukur dalam persentase intensitas yang ditampilkan pada Gambar 2A dan 2B. Gambar 2A menunjukkan parvalbumin (10-13 kDa) pada surimi tanpa krioprotektan (STK) dan surimi dengan krioprotektan (SDK) masing-masing mengalami penurunan intensitas hingga 78,08 dan 87,96% dibandingkan daging segar (DS). Turunnya intensitas pita protein STK terjadi karena parvalbumin sebagai protein sarkoplasma bersifat hidrofilik sehingga larut terbuang bersama air pada proses pencucian (Walayat *et al.*, 2022). Penambahan krioprotektan pada surimi mampu mengubah struktur parvalbumin menjadi struktur baru pada BM 14,5 dan BM 13,1 jika dilihat dari Gambar 1A. Selain parvalbumin, intensitas tropomiosin dan kolagen pada SDK dan STK juga menurun akibat pengolahan surimi dibandingkan dengan DS.

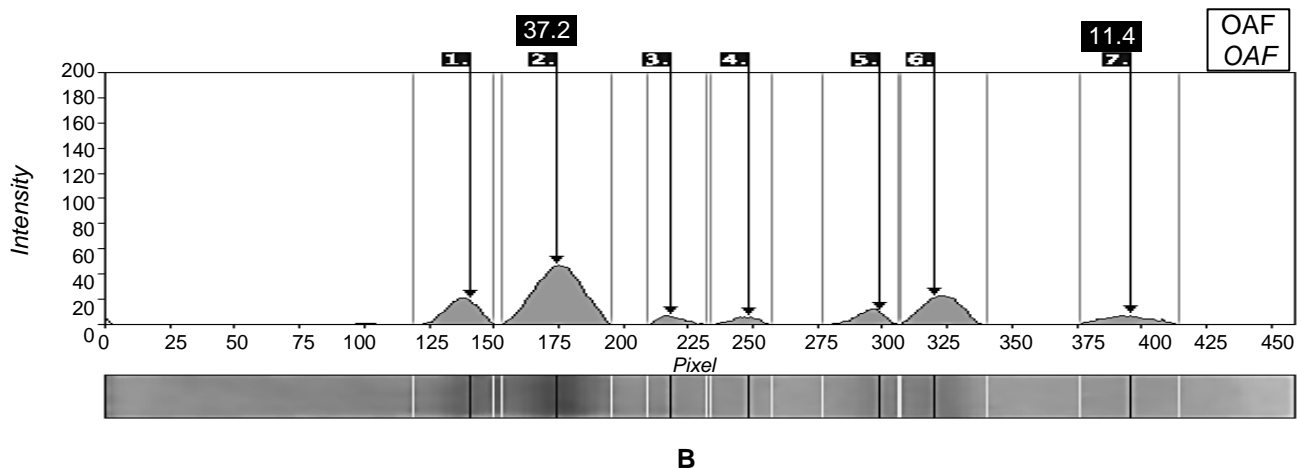
Penurunan intensitas pita protein alergen parvalbumin pada otak-otak goreng minyak (OGM) sebesar 38,43% sedangkan otak-otak air frying (OAF) 54,63% dibandingkan dengan surimi tanpa krioprotektan (STK) (Gambar 2B). Otak-otak digoreng menggunakan minyak pada suhu 120°C selama 5 menit sedangkan air frying 200°C selama 15 menit. Walaupun tahan panas, namun penelitian Kubota *et al.* (2016) mengungkapkan bahwa parvalbumin akan kehilangan solubilitasnya ketika dipanaskan suhu 140°C. Penggorengan otak-otak dengan minyak maupun air frying tidak banyak menurunkan alergen minor tropomiosin sedangkan intensitas pita protein kolagen hilang 100% hilang akibat penggorengan. Hal ini sesuai dengan karakteristik tropomiosin yang tahan suhu tinggi sedangkan kolagen mudah rusak akibat suhu tinggi. Gambar 2B memperlihatkan bahwa penggorengan otak-otak dengan metode air frying lebih baik dibandingkan menggunakan minyak untuk menurunkan alergen parvalbumin dan kolagen.

**Profil protein alergen menggunakan metode immunoblotting**

Hasil immunoblotting (Gambar 3) mendeteksi adanya pita protein alergen BM 10-13 kDa pada daging segar (DS). Hal ini sesuai dengan database alergen bahwa ikan tenggiri memiliki famili yang sama dengan makarel atlantik dan makarel india dengan alergen utama yaitu parvalbumin (WHO/IUIS, 2023). Penelitian Kobayashi *et al.*, (2016b) juga mengungkapkan bahwa parvalbumin terdeteksi pada 22 spesies ikan yang berbeda.







Keterangan: M= Marker; DS= Daging segar; STK= Surimi tanpa krioprotektan; SDK= Surimi dengan krioprotektan; OGM= Otak-otak goreng minyak; dan OAF= Otak-otak *air frying*. Pita bobot molekul yang ditulis di dalam kotak hitam diduga sebagai alergen

Note: M= Marker; FM= Fish meat; SNC= Surimi non cryoprotectant; SWC= Surimi with cryoprotectant; ODF= Otak-otak deep frying; and OAF= Otak-otak air frying. The molecular weight band marked with black squares is suspected as an allergen

Gambar 1. Profil bobot molekul (A) dengan SDS-PAGE dan intensitas pita (B) dengan *immunoblotting* dari ekstrak protein daging ikan, surimi, dan otak-otak.

Figure 1. Molecular weight profile (A) resulted from SDS-PAGE and band intensity (B) of protein extracts of fish meat, surimi, and otak-otak by *immunoblotting*

Profil protein alergen pada seluruh produk olahan ikan tenggiri secara sempurna hilang dilihat dari tidak adanya protein alergen yang terdeteksi pada membran *immunoblotting*. Hasil *immunoblotting* ini berkorelasi linear dengan penurunan intensitas pita protein parvalbumin produk olahan ikan tenggiri pada hasil SDS-PAGE (Gambar 2A dan 2B). Pengolahan daging ikan tenggiri diantaranya proses pencucian lumatan daging, penambahan krioprotektan surimi, penggorengan otak-otak dengan minyak, maupun penggorengan otak-otak *air frying* mampu menghilangkan kandungan parvalbumin hingga di bawah batas deteksi antibodi pada analisis *immunoblotting*.

**Perubahan alergenitas berdasarkan ELISA**

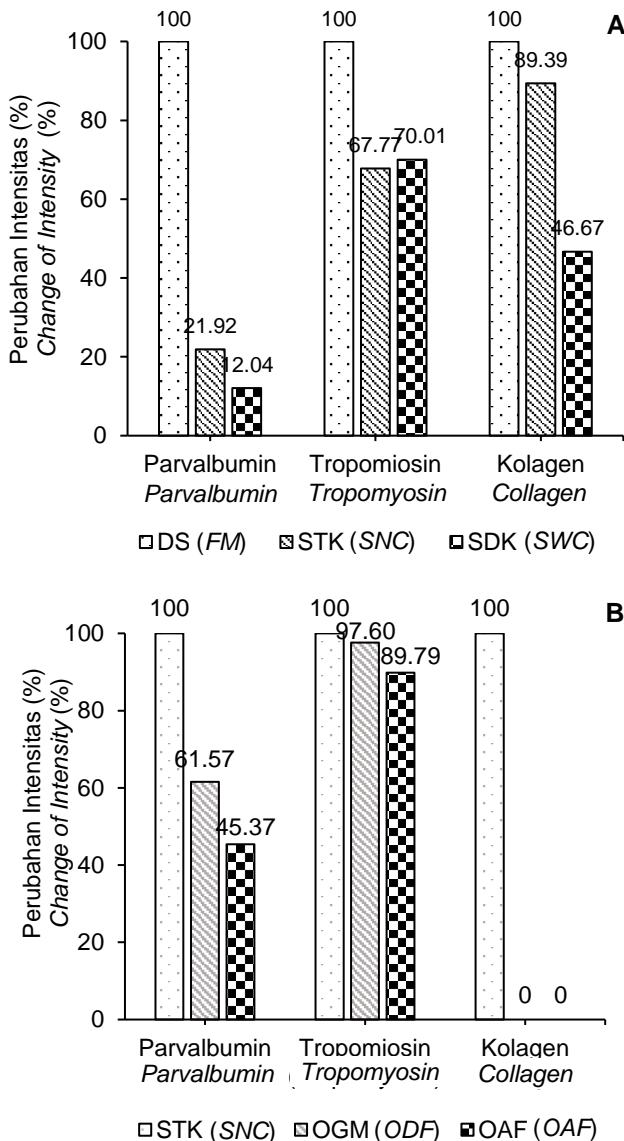
ELISA kit secara komersial digunakan untuk mendeteksi reaktivitas alergen ikan pada produk pangan yang diuji. ELISA secara kuantitatif mendeteksi parvalbumin seperti Gad m 1 pada ikan jenis kod atlantik (Kalic *et al.*, 2021). Pada penelitian ini pengujian ELISA digunakan untuk menentukan tingkat alergenitas ikan tenggiri dan produk olahannya (Gambar 4).

Pengolahan ikan tenggiri secara signifikan menurunkan tingkat alergenitasnya (Gambar 4). Alergenitas surimi tanpa krioprotektan (STK) dan surimi dengan krioprotektan (SDK) masing-masing turun 90,78 dan 95,10% dibandingkan dengan daging segar (DS).

Proses pencucian dan penambahan krioprotektan pada pembuatan surimi terbukti menurunkan protein penyebab alergi sesuai dengan penurunan intensitas pita protein alergen dari hasil SDS-PAGE (Gambar 3). Diketahui bahwa proses pencucian pada pembuatan surimi dapat menghilangkan protein parvalbumin hingga 95% (Walayat *et al.*, 2022). Hal ini menunjukkan bahwa protein penyebab alergi terbuang pada proses pencucian pengolahan surimi. Selain itu, krioprotektan diduga dapat mengubah struktur epitop protein parvalbumin sehingga menurunkan reaktivitas alergi. Fosfat pada krioprotektan berfungsi sebagai koagulan sehingga dapat membentuk struktur protein yang baru (Yang *et al.*, 2020).

Otak-otak goreng minyak (OGM) maupun otak-otak *air frying* (OAF) keduanya sama-sama memiliki penurunan alergenitas hingga 98,70% dibandingkan dengan daging segar. Pengolahan suhu tinggi menyebabkan hilangnya pengikatan antibodi akibat perubahan struktur sekunder dan tersier alergen protein (Dasanayaka *et al.*, 2022). Selain karena rusaknya epitop pada sisi protein yang bersifat sensitif terhadap panas sehingga proses pengikatan IgE menurun (Palupi *et al.*, 2021). Otak-otak sebagai produk siap santap juga mengalami reaksi Maillard. Reaksi Maillard dapat menyebabkan konformasi protein sehingga mengakibatkan tertutupnya epitop pengikat antibodi (Teodorowicz *et al.*, 2017).



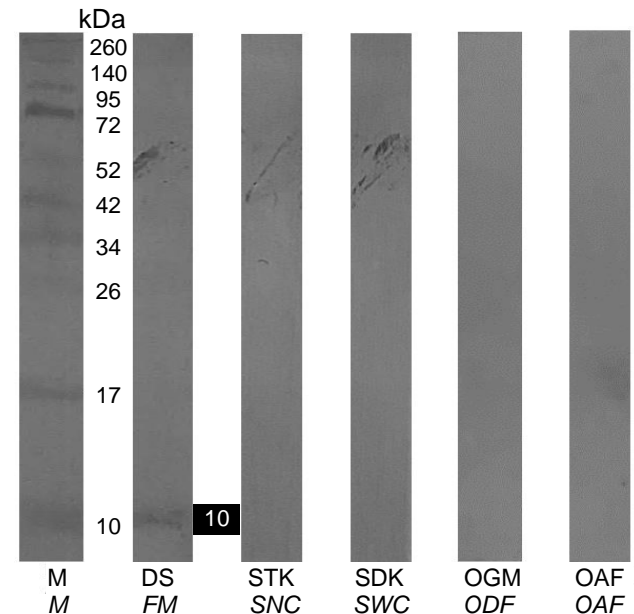


Keterangan: A= Surimi tanpa krioprotektan (STK) dan surimi dengan krioprotektan (SDK) dibandingkan dengan daging segar (DS); B= Otak-otak goreng minyak (OGM) dan otak-otak air frying (OAF) dibandingkan dengan surimi tanpa krioprotektan (STK)  
 Note: A= Surimi non cryoprotectant and surimi with cryoprotectant compared to fish meat (FM); B= Otak-otak deep frying (ODF) and otak-otak air frying (OAF) compared to surimi non cryoprotectant (SNC)

Gambar 2. Perubahan intensitas pita alergen (%) pada ekstrak protein hasil SDS-PAGE  
 Figure 2. Changes in the intensity of allergen bands (%) of protein extracts, obtained through SDS PAGE

Pengolahan pangan mampu menurunkan dan menghilangkan alergi pada pangan dengan merusak epitop alergen dan menurunkan reaktivitas antibodi IgE (Vanga *et al.*, 2017). Selain itu, penggorengan suhu tinggi dapat menurunkan reaktivitas IgE hingga

100% (Saptarshi *et al.*, 2014). Tahapan proses pengolahan surimi, yaitu pencucian dan penambahan krioprotektan, serta metode penggorengan pada pembuatan otak-otak dapat mengubah kandungan dan struktur (konformasi dan agregasi) protein alergen sehingga menghilangkan sifat alergenitas protein ikan.



Keterangan: M= Protein marker; DS= Daging segar; STK= Surimi tanpa krioprotektan; SDK= Surimi dengan krioprotektan; OGM= otak-otak goreng minyak; OAF= Otak-otak air frying. Pita bobot molekul yang ditulis di dalam kotak hitam diduga sebagai alergen  
 Note: M= Marker; FM= Fish meat; SNC= Surimi non cryoprotectant; SWC= Surimi with cryoprotectant; ODF= Otak-otak deep frying; OAF= Otak-otak air frying. The molecular weight band is suspected as an allergen

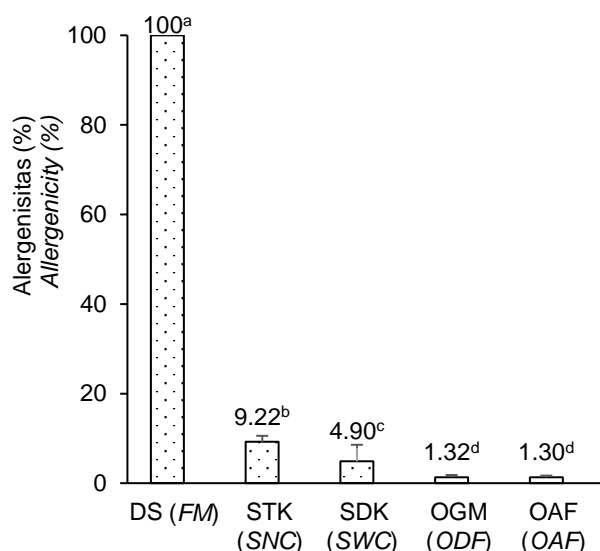
Gambar 3. Profil immunoblotting alergen BM 10-13 kDa pada ikan tenggiri dan produk olahannya  
 Figure 3. Immunoblotting profile (10-13 kDa) of tenggiri fish and its processed products

### KESIMPULAN

Pengolahan ikan tenggiri menjadi surimi dan otak-otak mengubah nilai gizi dan profil protein ikan tenggiri. Intensitas pita protein parvalbumin memudar akibat pencucian dan penambahan krioprotektan pada pembuatan surimi jika dibandingkan ikan segar. Selain itu, penggorengan suhu tinggi menghilangkan pita protein kolagen. Protein alergen hanya muncul pada ikan segar sedangkan pada produk olahannya tidak ada. Proses pencucian dan penambahan krioprotektan pada pembuatan surimi secara efektif menurunkan alergenitas sebanyak 90,78 dan 95,10% dibandingkan daging segar. Alegenitas



otak-otak goreng minyak dan *air frying* masing-masing menurun hingga 98,68 dan 98,70% dibandingkan daging segar. Nilai gizi dan alergenitas otak-otak dengan metode penggorengan *air frying* lebih baik dibandingkan penggorengan dengan minyak. Pengolahan ikan tenggiri dengan penambahan krioprotektan pada pengolahan surimi dan metode penggorengan otak-otak dengan *air frying* dapat digunakan sebagai alternatif pengolahan untuk pembuatan pangan ikan hipoalergenik.



Keterangan: DS= Daging segar; STK= Surimi tanpa krioprotektan; SDK= Surimi dengan krioprotektan; OGM= Otak-otak penggorengan minyak; OAF= Otak-otak penggorengan *air frying*. Superskrip dengan huruf berbeda menunjukkan berbeda nyata ( $p < 0,05$ ;  $n=2$ )

Note: FM= Fish meat; SNC= Surimi non cryoprotectant; SWC= Surimi with cryoprotectant; ODF= Otak-otak deep frying; OAF= Otak-otak air frying. Difference letters shows significant difference between samples ( $p < 0.05$ ;  $n=2$ )

Gambar 4. Alergenitas ikan tenggiri dan produk olahannya dengan ELISA

Figure 4. Allergenicity of tenggiri fish and its processed products, obtained through ELISA

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari proyek yang didanai oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Riset dan Teknologi, Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi dengan nomor kontrak 18814/IT3.D10/PT.01.03/P/B/2023.

### DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemistry. 2012. Official Methods of Analysis. Washington, DC (US): AOAC Inc.
- Arwani A, Palupi NS, Giriwono PE. 2022. Effects of different heat processing on molecular weight and allergenicity profile of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and mud crab (*Scylla serrata*) from Indonesian waters. Squalen Bull Mar Fish Postharvest Biotechnol 17: 13–22. <https://doi.org/10.15578/squalen.629>
- Bradford MM. 1976. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 72: 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2013. Badan Standarisasi Indonesia (SNI) 2694:2013. Surimi. Jakarta (ID): Dewan Standarisasi Nasional.
- Chatterjee U, Mondal G, Chakraborti P, Patra HK, Chatterjee BP. 2006. Changes in the allergenicity during different preparations of pomfret, hilsa, bhetki and mackerel fish as illustrated by enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblotting. Int Arch Allergy Immunol 141: 1–10. <https://doi.org/10.1159/000094176>
- Dasanayaka BP, Wang H, Li Z, Yu M, Ahmed AMM, Zhang Z, Lin H, Wang X. 2022. Evaluating the effects of processing on antigenicity and immunochemical detectability of fish proteins by ELISA. J Food Compos Anal 112: 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104690>
- Gajewski KG, Hsieh YHP. 2009. Monoclonal antibody specific to a major fish allergen: Parvalbumin. J Food Prot 72: 818–825. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-72.4.818>
- Kalic T, Radauer C, Lopata AL, Breiteneder H, Hafner C. 2021. Fish allergy around the world—precise diagnosis to facilitate patient management. Front Allergy 2: 1–16. <https://doi.org/10.3389/falgy.2021.732178>
- Kubota H, Kobayashi A, Kobayashi Y, Shiomi K, Hamada-Sato N. 2016. Reduction in IgE reactivity of Pacific mackerel parvalbumin by heat treatment. Food Chem 206: 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.043>
- Kobayashi Y, Kuriyama T, Nakagawara R, Aihara M, Hamada-Sato N. 2016a. Allergy to fish collagen: Thermostability of collagen and IgE reactivity of patients' sera with extracts of 11 species of bony and cartilaginous fish. Allergol Int 65: 450–458. <https://doi.org/10.1016/j.alit.2016.04.012>

- Kobayashi Y, Yang T, Yu C-T, Ume C, Kubota H, Shimakura K, Shiomi K, Hamada-Sato N. 2016b. Quantification of major allergen parvalbumin in 22 species of fish by SDS-PAGE. *Food Chem* 194: 345–353. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.037>
- Kurata K, Itoh M, Matsumiya M, Dobashi A, Itagaki Y, Shiomi K. 2017. Preparation of hypoallergenic kamaboko: removal of parvalbumin and collagen from fish meat by water-bleaching, mechanical grinding and extraction with potassium chloride. *J Cook Sci Japan* 50: 141–150.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680–685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Lestari N, Yuniarti, Purwanti T. 2018. Aplikasi penggunaan surimi berbahan ikan kurisi (*Nemipterus sp*) untuk pembuatan aneka produk olahan ikan. *Warta IHP/J Agro-based Ind* 33: 9–16.
- Mukherjee S, Horka P, Zdenkova K, Cermakova E. 2023. Parvalbumin: A major fish allergen and a forensically relevant marker. *Genes (Basel)* 14: 1–20. <https://doi.org/10.3390/genes14010223>
- Mokolensang JF, Manu L, Gunawan W Ben, Simatupang MF, Yudisthira D, Farradisya S, Al Mahira MFN, Samtiya M, Tsopmo A, Nurkolis F. 2023. Incorporation of macroalgae to fish feed lowers allergenic properties in fish: An opinion study. *J Agric Food Res* 14: 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2023.100777>
- Nugraha R, Pamungkas ID, Pertiwi RM, Nurhayati T. 2020. Penurunan kandungan protein penyebab alergi pada proses pembuatan surimi ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *J Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 23: 558–565. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i3.33639>
- Palupi NS, Indrastuti NA, Wulandari N. 2021. Indonesian traditional salted fish: the alteration its allergenicity during processing. *J Aquat Food Prod Technol* 30: 353–363. <https://doi.org/10.1080/10498850.2021.1882632>
- Parvathy U, George S. 2014. Influence of cryoprotectant levels on storage stability of surimi from *Nemipterus japonicus* and quality of surimi-based products. *J Food Sci Technol* 51: 982–987. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0590-y>
- Pérez-Tavarez R, Moreno HM, Borderias J, Loli-Ausejo D, Pedrosa M, Hurtado JL, Rodriguez-Pérez R, Gasset M. 2021. Fish muscle processing into seafood products reduces  $\beta$ -parvalbumin allergenicity. *Food Chem* 364: 130308. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130308>
- Rifat MA, Wahab MA, Rahman MA, Nahiduzzaman M, Al Mamun A. 2023. Nutritional value of the marine fish in Bangladesh and their potential to address malnutrition: A review. *Heliyon* 9: e13385. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13385>
- Ruethers T, Taki AC, Johnston EB, Nugraha R, Le TTK, Kalic T, McLean TR, Kamath SD, Lopata AL. 2018. Seafood allergy: A comprehensive review of fish and shellfish allergens. *Mol Immunol* 100: 28–57. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2018.04.008>
- Saptarshi SR, Sharp MF, Kamath SD, Lopata AL. 2014. Antibody reactivity to the major fish allergen parvalbumin is determined by isoforms and impact of thermal processing. *Food Chem* 148: 321–328. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.035>
- Stephen JN, Sharp MF, Ruethers T, Taki A, Campbell DE, Lopata AL. 2017. Allergenicity of bony and cartilaginous fish – molecular and immunological properties. *Clin Exp Allergy* 47: 300–312. <https://doi.org/10.1111/cea.12892>
- Teodorowicz M, Van Neerven J, Savelkoul H. 2017. Food processing: The influence of the maillard reaction on immunogenicity and allergenicity of food proteins. *Nutrients* 9: 835. <https://doi.org/10.3390/nu9080835>
- Tsai C-L, Perng K, Hou Y-C, Shen C-J, Chen I-N, Chen YT. 2023. Effect of species, muscle location, food processing and refrigerated storage on the fish allergens, tropomyosin and parvalbumin. *Food Chem* 402: 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134479>
- Vanga SK, Singh A, Raghavan V. 2017. Review of conventional and novel food processing methods on food allergens. *Crit Rev Food Sci Nutr* 57: 2077–2094. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1045965>
- Walayat N, Xiong H, Xiong Z, Moreno HM, Nawaz A, Niaz N, Randhawa MA. 2022. Role of cryoprotectants in surimi and factors affecting surimi gel properties: a review. *Food Rev Int* 38: 1103–1122. <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1768403>
- [WHO/IUIS] World Health Organization/International Union of Immunological Societies (IUIS) Allergen Nomenclature Home Page. 2023. Animalia Chordata. <http://www.allergen.org/search.php?allergenname=&allergensource=&TaxSource=Animalia+Chordata&TaxOrder=Scombriformes&foodallerg=all&bioname=> [06 Oktober 2023].

- Wijaya H, Chalid Y, Thaharah A, Nugroho AF. 2019. Pengaruh proses pengolahan terhadap karakteristik protein alergen belalang sawah (*Oxya chinensis*) effect of processing on characteristic of protein allergen of grasshopper (*Oxya chinensis*). Warta IHP/J Agro-based Ind 36: 11–21.
- Wijayanti I, Singh A, Benjakul S, Sookchoo P. 2021. Textural, sensory, and chemical characteristic of threadfin bream (*Nemipterus sp.*) surimi gel fortified with bio-calcium from bone of Asian sea bass (*Lateolabrax chinensis*). Foods 10: 1–18. <https://doi.org/10.3390/foods10050976>
- Yang S, Tu Z cai, Wang H, Hu Y ming. 2020. Effects of coagulant promoter on the physical properties and microstructure of the mixed system of ultrafine fishbone and surimi. LWT 131: 109792. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109792>
- Yu X, Li L, Xue J, Wang J, Song G, Zhang Y, Shen Q. 2020. Effect of air-frying conditions on the quality attributes and lipidomic characteristics of surimi during processing. Innov Food Sci Emerg Technol 60: 102305. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102305>
- Zhu Y, Hsieh YHP. 2021. Effect of storage and processing on the immunodetectability of fish proteins using pooled monoclonal antibodies in ELISA and dot blot. Food Control 125: 107976. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107976>