

Kandungan asid amino dan aktiviti antioksidan hidrolisat protein daripada bahan sampingan keropok lekor hasil fermentasi mikrob

(Amino acid composition and antioxidant activities in protein hydrolysate from keropok lekor by-products through microbial fermentation)

Nur Yuhasliza Abd Rashid, Nur Syazwani Abdul Hamid, Musaalbakri Abdul Manan, Fadzlie Wong Faizal Wong dan Aida Hamimi Ibrahim

Kata kunci: bahan sampingan keropok lekor, hidrolisat protein, fermentasi mikrob, asid amino, aktiviti antioksidan

Pengenalan

Protein ikan kini semakin mendapat perhatian pengguna kerana ia merupakan sumber semula jadi yang kaya dengan asid amino perlu (AAP) yang penting untuk kesihatan tubuh. Hidrolisat protein ikan (HPI) yang dihasilkan melalui proses hidrolisis sama ada secara kimia, enzimatik dan menggunakan mikrob mempunyai kualiti yang lebih baik berbanding dengan protein asal. Proses ini bukan sahaja meningkatkan nilai pemakanan, tetapi juga menjadikan protein lebih mudah diserap serta mempunyai bioaktiviti dan kefungsi yang tinggi. Selain itu, peningkatan permintaan terhadap sumber protein berkualiti tinggi dan usaha ke arah pengeluaran yang lebih mampan turut mendorong penyelidikan untuk memanfaatkan serta mengkomersialkan protein daripada sisa atau produk sampingan ikan. Salah satu perusahaan yang menghasilkan produk sampingan ikan di Malaysia adalah perusahaan keropok lekor di mana produk sampingan ikan yang dihasilkan mewakili kira-kira 36% daripada jumlah berat ikan. Produk sampingan ikan daripada perusahaan keropok lekor ini berpotensi digunakan untuk menghasilkan hidrolisat protein ikan.

Hidrolisat protein ikan (HPI) ialah produk terhidrolisis protein ikan yang merangkumi asid amino dan kedua-dua peptida pendek dan panjang. HPI mempunyai spektrum bioaktiviti yang sangat berkhasiat merangkumi sifat antioksidan, antipenuaan, antihipertensi dan antimikrob. Selain itu, HPI juga digunakan sebagai bahan bioaktif dalam pelbagai industri termasuk kosmeseutikal, nutraseutikal, makanan dan farmaseutikal. Ikan dan hasil sampingan telah digunakan untuk membangunkan pelbagai produk berfungsi yang tersedia untuk dimakan di pelbagai negara seperti dalam *Jadual 1*.

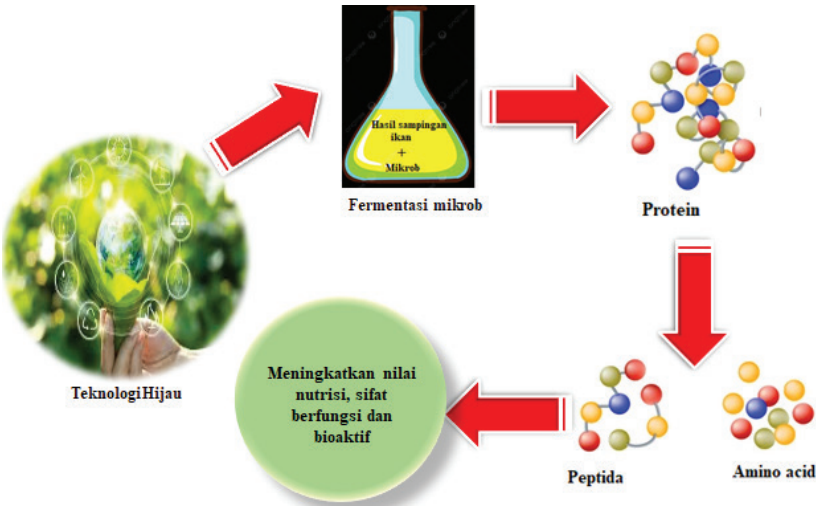
Hidrolisis enzimatik telah menghadapi isu dalam persekitaran komersial kerana kecenderungannya untuk memberikan hasil yang rendah dengan kos yang tinggi. Sementara itu, kaedah hidrolisis kimia mengubah struktur asid amino dan menghasilkan sebatian dengan nilai pemakanan dan kebolehcernaan yang rendah. Transformasi bahan sampingan ikan melalui fermentasi mikrob kepada HPI berkualiti tinggi adalah lebih mesra alam, menjimatkan kos berbanding dengan hidrolisis enzim dan kimia kerana kultur bakteria mempunyai

keperluan pemakanan yang rendah (*Carta alir 1*). Oleh itu, objektif utama kajian ini adalah untuk menghasilkan HPI dengan sifat antioksidan dan protein berkualiti tinggi daripada hasil sampingan keropok lekor dengan menggunakan strain terpilih daripada *Collection of Functional Food Cultures MARDI* (CFFC MARDI).

Jadual 1. Produk komersial yang dihasilkan daripada ikan dan produk sampingan ikan

Jenama	Sumber	Fungsi	Asal
Proper Nutrition	Ikan putih	Makanan tambahan	USA
Pharmaepa complete	Ikan bilis, sardin dan <i>mackerel</i>	Kesihatan jantung, perkembangan otak dan kesihatan mata	UK
The skin	Sisik ikan	Antipenuaan	Singapura
Marine collagen	<i>Alaska Pollock</i>	Menggalakkan kesihatan rambut, kuku dan kulit	USA
Bioorganic fertiliser	Ikan liar	Memperbaiki struktur tanah, tingkatkan hasil dan kualiti, meningkatkan fungsi metabolisme tanaman	China
PeptACE	Sardin	Tekanan darah	Jepun
Nutripeptin	Ikan kod	Mengurangkan berat badan	USA dan UK
Stabilium	<i>Molva dypterygia</i>	Mengurangkan tekanan	Ireland
Amizate	Salmon	Membekalkan nutrisi	Ireland
Seagest	<i>Whitefish</i>	Menyokong sistem penghadaman	USA
Valtyron	Sardin	Menurunkan tekanan darah	Jepun
Seacure	Hake	Gastrointestinal	Kanada
Vasontensin	<i>Skipjack</i> , tuna, <i>mackerel</i>	Menurunkan tekanan darah	USA

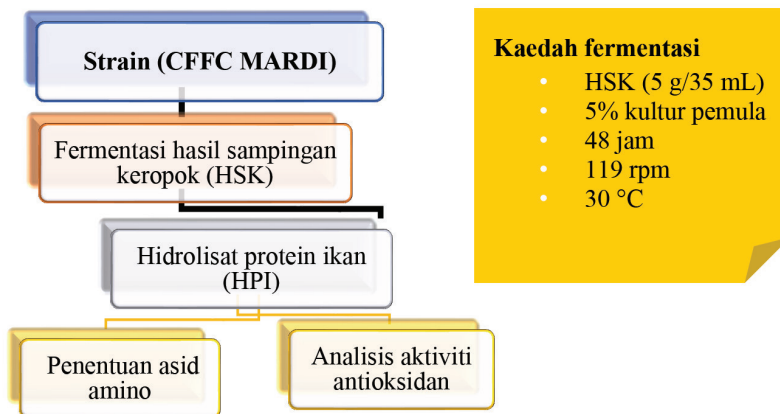
Sumber: Montoya dan Sanchez, 2022



Carta alir 1. Proses asas hidrolisis protein produk sampingan ikan untuk menghasilkan hidrolisat protein ikan (HPI)

Penghasilan HPI melalui kaedah fermentasi mikrob

Carta alir 2 menunjukkan carta alir untuk menghasilkan hidrolisat protein daripada sisa sampingan perusahaan keropok lekor dengan menggunakan kaedah fermentasi mikrob. Sebanyak 5 g sisa ikan dicampur dengan 35 mL air suling dalam tiub emparan bersaiz 50 mL. Seterusnya campuran disteril selama 15 minit pada suhu 121 °C. Kultur pemula yang mengandungi $10^7 - 10^8$ CFU/mL kemudiannya ditambah ke dalam campuran sebanyak 5% (v/v). Fermentasi mikrob dilaksanakan selama 48 jam dan sampel ditapis menggunakan kain muslin. Kemudian sampel diempar dengan kelajuan 8,000 rpm pada suhu 20 °C selama 20 minit untuk menghasilkan supernatan HPI bebas sedimen.



Carta alir 2. Penghasilan hidrolisat protein ikan melalui kaedah fermentasi mikrob

Penentuan kandungan asid amino

Kandungan asid amino perlu (AAP) dalam produk sampingan ikan ditentukan menggunakan teknik kromatografi cecair berprestasi ultra tinggi (UPLC). Sebelum pengesanan menggunakan UPLC dijalankan, asid amino melalui proses derivatisasi praruang (*pre-column derivatisation*) menggunakan reagen *AccQ-Tag-Fluor*. Seterusnya, asid amino dipisahkan pada kadar aliran 0.7 mL/min menggunakan turus pemisah *AccQ-Tag Ultra* (2.1 mm × 100.0 mm, 1.7 µm) dan dikesan menggunakan pengesan UV pada panjang gelombang 260 nm. Suhu turus pemisah ditetapkan pada 55 °C. Pelarut fasa gerak A terdiri daripada campuran asetonitril: asid formik: ammonium (10:6:84 v/v) manakala pelarut B terdiri daripada campuran asetonitril: asid formik (98:2 v/v). Lengkung penentuan yang dijana menggunakan sebatian piawai asid amino digunakan bagi tujuan pengiraan secara kuantitatif. Kandungan asid amino dinyatakan dalam unit gram asid amino bagi setiap 100 g sampel (berat kering).

Penentuan aktiviti antioksidan

Aktiviti perencatan radikal 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

Sebanyak 0.2 mM DPPH dihasilkan dalam 50% etanol bagi menghasilkan larutan radikal DPPH dengan penyerapan 2.0 ± 0.5 pada 517 nm. Isi padu sampel yang dibersihkan sebanyak 200 μL digabungkan dengan 1,000 μL 0.2 mM DPPH. Vitamin C dan air suling masing-masing digunakan sebagai kawalan positif dan negatif. Penyerapan diukur menggunakan spektrofotometer mikroplat pada jarak gelombang 517 nm. Persamaan berikut digunakan untuk mengira peratusan perencatan DPPH:

$$\text{Aktiviti perencatan radikal DPPH (\%)} = \left(\frac{A_{con} - A_{sam}}{A_{con}} \right) \times 100\%$$

A_{con} mewakili penyerapan kawalan negatif dan A_{sam} mewakili penyerapan sampel.

Aktiviti perencatan radikal 2-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfone) (ABTS)

Larutan radikal ABTS disediakan dengan mencampurkan isi padu yang sama bagi larutan kalium persulfat (2.5 mM) dan larutan ABTS (7 mM). Larutan stok ABTS (1.0 – 1.3 mL) ditambah dengan 50 mL air suling untuk menghasilkan larutan radikal ABTS segar dengan penyerapan 0.70 ± 0.05 pada 734 nm. Larutan ABTS (840 μL) dicampur dengan 60 μL sampel dan campuran itu diinkubasi selama 30 minit pada suhu 26 °C dalam keadaan gelap untuk memastikan aktiviti penghapusan radikal ABTS. Formula berikut digunakan untuk menentukan aktiviti perencatan radikal ABTS:

$$\text{Aktiviti perencatan radikal ABTS (\%)} = \left(\frac{A_{con} - A_{sam}}{A_{con}} \right) \times 100\%$$

A_{con} mewakili penyerapan kawalan negatif dan A_{sam} mewakili penyerapan sampel.

Kandungan asid amino dalam hidrolisat protein ikan (HPI)

HPI dihasilkan melalui kaedah fermentasi mikrob menggunakan strain yang berbeza untuk menghasilkan HPI dengan kualiti protein dan aktiviti antioksidan yang tinggi. Asid amino perlu (AAP) dalam HPI mencerminkan kehadiran protein berkualiti tinggi dan memainkan peranan penting dalam mengawal fungsi metabolik untuk mendapatkan kesan yang bermanfaat kepada kesihatan. *Jadual 2* menunjukkan komposisi asid amino dalam hidrolisat protein ikan daripada hasil sampingan keropok lekor yang disediakan melalui fermentasi mikrob dengan strain terpilih. Pemerhatian daripada hasil uji kaji menunjukkan jumlah asid amino (JAA) bagi HPI meningkat (kecuali HPI yang dihasilkan menggunakan *Lactobacillus casei* LC220), dibandingkan dengan hasil sampingan ikan yang asal. Penurunan

kandungan AAP bagi HPI menggunakan LC220 kemungkinan disebabkan oleh degradasi asid amino semasa proses hidrolisis atau pemilihan strain mikrob yang kurang optimum. Setiap strain mikrob atau enzim mempunyai sifat khusus terhadap ikatan peptida tertentu. Jika enzim atau strain yang digunakan tidak sesuai, sesetengah ikatan peptida yang mengandungi asid amino perlu mungkin tidak dihidrolisis secara efisien atau sebaliknya terurai berlebihan hingga menyebabkan kehilangan AAP.

Jumlah keseluruhan AAP dalam komposisi asid amino menunjukkan tahap kualiti protein dalam HPI. *Jadual 2* menunjukkan jumlah AAP tertinggi dikesan dalam HPI yang dihasilkan melalui fermentasi menggunakan LC216 dan LC217 (masing-masing 43.6%) diikuti BL008 (37.6%), BL009 (36.1%) dan LC219 (32.4%). Hasil sampingan keropok lekor (HSK) pula menunjukkan kandungan AAP sebanyak 30.5%. Tiga jenis AAP tertinggi yang dikesan dalam HPI daripada LC216 dan LC217 ialah leusina (Leu), lisina (Lys) dan valina (Val) di mana masing-masing menunjukkan peningkatan sebanyak 35 – 90%, 49 – 80% dan 45% berbanding dengan HSK. Laporan saintifik menyatakan Leu diperlukan secara meluas untuk merangsang sintesis protein otot, melambatkan degradasi tisu otot dalam badan manusia dan memainkan peranan penting dalam tumbesaran kanak-kanak. Selain itu, Leu, Lys dan Val dilaporkan dapat meningkatkan sistem imun dan mencegah penyakit.

Hasil kajian ini disokong oleh kajian terdahulu yang melaporkan fermentasi menggunakan *Lactobacillus casei* berupaya menghasilkan hidrolisat protein dengan kualiti protein yang tinggi melalui aktiviti enzimatik dan metabolik yang berlaku semasa proses fermentasi. Semasa proses fermentasi mikrob, enzim protease yang dikeluarkan oleh mikrob akan memecahkan protein kompleks kepada peptida dan seterusnya membebaskan asid amino. Proses ini menyebabkan kepekatan asid amino berbeza-beza sepanjang fermentasi kerana aktiviti metabolisme adalah berbeza antara strain yang berpotensi menghasilkan variasi dalam tahap AAP yang terkandung dalam HPI. Proses hidrolisis ini turut memperkayakan profil asid amino, terutamanya asid amino perlu, melalui aktiviti metabolik bakteria yang meningkatkan indeks kualiti protein. Selain itu, proses hidrolisis ini turut menghasilkan peptida bioaktif yang mempunyai pelbagai fungsi fisiologi seperti aktiviti antioksidan, antihipertensi dan antimikrob yang menyumbang kepada peningkatan nilai biologi hidrolisat protein. Keputusan ini konsisten dengan kajian lain yang mendapati bahawa enam strain *L. helveticus* yang digunakan dalam kajian mempunyai pelbagai peringkat aktiviti proteolitik dan corak hidrolisis protein pada agar susu. HPI yang dihasilkan daripada hasil sampingan keropok lekor menggunakan strain terpilih dianggap sebagai sumber pemakanan yang sangat baik dengan sumber asid amino yang tinggi terutamanya AAP.

Jadual 2. Komposisi asid amino dalam hidrolisat protein ikan (HPI) yang disediakan daripada fermentasi hasil sampingan keropok leklor (HSK) dengan strain dari CFFC, MARDI

Asid amino (%)	HSK	LC216	LC217	LC219	LC220	BL008	BL009
AAP							
His	1.6 ± 0.3 ^c	2.2 ± 0.7 ^{ab}	3.0 ± 0.6 ^a	1.9 ± 0.6 ^{ab}	2.8 ± 1.0 ^a	1.8 ± 0.0 ^b	0.2 ± 0.8 ^c
Thr	2.8 ± 0.4 ^c	3.7 ± 0.1 ^a	3.7 ± 0.8 ^a	2.5 ± 0.5 ^b	3.3 ± 0.7 ^a	3.5 ± 0.5 ^a	2.1 ± 0.2 ^b
Lys	5.9 ± 1.1 ^c	8.8 ± 0.6 ^a	9.0 ± 0.7 ^a	6.3 ± 0.5 ^b	6.9 ± 0.6 ^{ab}	7.6 ± 3.2 ^{ab}	6.0 ± 0.1 ^c
Met	1.2 ± 0.7 ^c	2.7 ± 0.2 ^a	2.5 ± 0.9 ^a	1.6 ± 0.2 ^b	2.1 ± 0.5 ^{ab}	1.5 ± 0.5 ^b	1.1 ± 0.2 ^{bc}
Val	4.0 ± 0.2 ^c	5.4 ± 0.6 ^b	7.6 ± 0.6 ^a	3.7 ± 0.2 ^{bc}	4.3 ± 0.8 ^{bc}	5.1 ± 0.5 ^b	10.3 ± 0.4 ^a
Ile	3.1 ± 0.1 ^b	4.1 ± 0.0 ^a	4.1 ± 0.5 ^a	3.0 ± 0.1 ^a	3.8 ± 0.2 ^a	4.0 ± 0.5 ^a	3.5 ± 0.1 ^{ab}
Leu	6.4 ± 0.2 ^b	9.3 ± 0.3 ^a	8.9 ± 0.6 ^a	6.6 ± 0.7 ^a	8.4 ± 0.8 ^a	8.0 ± 2.6 ^a	8.1 ± 0.8 ^a
Phe	4.4 ± 0.1 ^b	5.8 ± 0.5 ^a	5.8 ± 0.3 ^a	4.3 ± 0.5 ^a	5.8 ± 0.3 ^a	5.1 ± 0.5 ^a	3.9 ± 0.5 ^{ab}
Trp	0.6 ± 0.0 ^a	1.1 ± 0.1 ^a	1.1 ± 0.1 ^a	0.8 ± 0.9 ^b	1.3 ± 0.9 ^a	0.7 ± 0.8 ^a	0.8 ± 0.1 ^b
Jumlah AAP	30.5	43.6	43.6	32.4	25.2	37.6	36.1
NEAA							
Ser	1.4 ± 0.8 ^b	1.2 ± 0.4 ^a	1.98 ± 0.6 ^a	1.38 ± 0.4 ^{ab}	2.4 ± 0.1 ^a	1.5 ± 0.5 ^a	1.6 ± 0.1 ^a
Arg	2.9 ± 0.5 ^b	2.4 ± 0.3 ^b	7.50 ± 0.5 ^a	0.3 ± 0.6 ^b	6.0 ± 0.3 ^a	0.02 ± 0.0 ^b	0.2 ± 0.0 ^b
Gly	3.2 ± 1.5 ^b	3.7 ± 0.9 ^{ab}	4.56 ± 0.7 ^a	2.7 ± 0.0 ^b	3.6 ± 0.6 ^{ab}	4.1 ± 0.8 ^{ab}	6.2 ± 0.1 ^a
Asp	3.3 ± 0.9 ^b	2.1 ± 0.8 ^b	5.58 ± 0.2 ^a	2.4 ± 0.9 ^{ab}	3.0 ± 0.5 ^{ab}	3.9 ± 0.9 ^a	4.7 ± 0.7 ^a
Glu	6.2 ± 1.8 ^c	7.3 ± 0.9 ^b	8.04 ± 0.7 ^b	5.6 ± 0.0 ^{bc}	6.6 ± 0.8 ^{bc}	8.4 ± 0.3 ^{ab}	13.7 ± 0.7 ^a
Ala	5.7 ± 2.1 ^c	7.6 ± 0.2 ^b	7.32 ± 0.9 ^b	5.2 ± 1.1 ^c	6.4 ± 0.5 ^{ab}	7.3 ± 0.6 ^a	14.9 ± 0.3 ^a
Pro	1.3 ± 0.8 ^b	1.8 ± 0.8 ^a	1.44 ± 0.2 ^a	1.6 ± 1.8 ^a	2.2 ± 0.8 ^a	1.6 ± 0.7 ^a	2.1 ± 0.8 ^a
Tyr	4.1 ± 1.1 ^b	5.1 ± 0.0 ^a	6.66 ± 0.8 ^a	4.0 ± 0.7 ^{ab}	5.5 ± 0.2 ^a	5.5 ± 1.1 ^a	4.3 ± 0.6 ^b
Jumlah AABP	28.4	31.5	43.1	23.6	36.0	32.5	46.7
JAA							
JAA	58.6	75.1	89.1	54.7	75.0	70.1	82.9

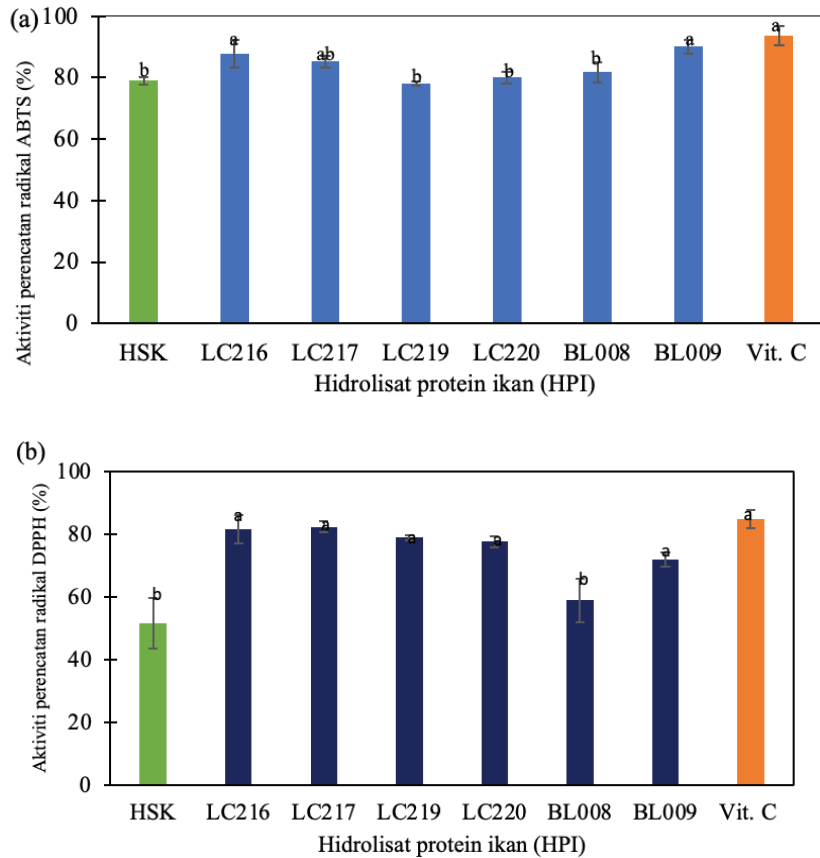
Nota: Data dilaporkan sebagai purata ± sisihan piawai, di mana setiap nilai adalah bacaan daripada tiga replikasi (n = 3). Nilai purata dengan huruf kecil yang sama dalam baris yang sama (melintang) menunjukkan tiada perbezaan signifikan ($p > 0.05$). Strain LC: *Lactobacillus casei*; BL: *Bacillus licheniformis*; His: histidina; Thr: treonina; Lys: lisina; Met: metionina; Val: valina; Ile: isoleusina; Leu: leusina; Phe: fenilalanina; Trp: triptofan; Ser: serina; Arg: arginina; Asp: asid aspartik; Gly: glisina; Glu: asid glutamik; Ala: alanina; Pro: prolina; Tyr: tirosina; AAP: asid amino perlu, AABP: asid amino bukan perlu, JAA: jumlah asid amino

Aktiviti antioksidan hidrolisat protein ikan (HPI)

Perencatan radikal DPPH dan ABTS digunakan untuk menunjukkan kualiti antioksidan. Keupayaan sebatian antioksidan dalam sampel untuk menghalang radikal bebas serta menghentikan penyebaran rantai melalui pendermaan atom hidrogen atau elektron bagi membentuk produk yang lebih stabil telah dinilai menggunakan kaedah asai perencatan radikal DPPH dan ABTS. *Rajah 1* menunjukkan aktiviti perencatan radikal DPPH dan ABTS bagi HPI yang dihasilkan menggunakan strain terpilih dan vitamin C sebagai kawalan positif. Semua HPI yang dihasilkan menunjukkan aktiviti perencatan DPPH yang signifikan ($p < 0.05$) berbanding dengan hasil sampingan ikan tanpa fermentasi (HSK) pada kepekatan akhir 4 mg/mL [*Rajah 1(a)*]. Aktiviti perencatan DPPH tertinggi dikesan pada HPI yang dihasilkan oleh LC217 (82.4%) diikuti oleh LC216 (81.7%). Selain itu, aktiviti perencatan radikal bebas oleh HPI ini adalah setanding dengan kawalan positif, vitamin C (84.8%) pada dos 0.12 mg/mL ($p > 0.05$).

Hasil sampingan ikan (HSK) dan HPI masing-masing mencatatkan aktiviti perencatan radikal ABTS sebanyak 81.7% dan 78.0 – 90.1% pada kepekatan 0.7 mg/mL [*Rajah 1(b)*]. Aktiviti perencatan ABTS tertinggi dikesan pada HPI yang dihasilkan menggunakan strain *Bacillus licheniformis* BL009 (90.1%) diikuti oleh *L. casei* LC216 (87.7%) dan LC217 (85.2%). HPI yang dihasilkan oleh strain BL009, LC216 dan LC217 menunjukkan peningkatan signifikan ($p < 0.05$) berbanding dengan HSK (79.0%) serta setanding dengan kawalan positif, vitamin C (93.7%) pada kepekatan 0.1 mg/mL. Sementara itu, tiada perbezaan signifikan ($p > 0.05$) dicatatkan antara HPI yang dihasilkan oleh *L. casei* LC219 (78.0%), LC220 (80.0%) dan *B. licheniformis* BL008 (81.8%) berbanding dengan HSK.

Penemuan kajian ini menunjukkan bahawa fermentasi mikrob dengan strain terpilih meningkatkan aktiviti antioksidan hasil sampingan ikan di mana HPI yang dihasilkan mencapai perencatan DPPH dan ABTS yang ketara. Tahap aktiviti antioksidan yang dipamerkan berbeza-beza bergantung kepada sebatian antioksidan yang terdapat dalam HPI. Pengaruh utama aktiviti antioksidan HPI berkait rapat dengan struktur protein prekursor dan proses hidrolitik oleh kultur pemula. Kajian ini juga mendapati tahap antioksidan HPI berbeza-beza yang mungkin dijelaskan oleh sebatian antioksidan berbeza yang dihasilkan semasa proses fermentasi strain *B. licheniformis* dan *L. casei*. Oleh itu, kajian lanjutan bagi menentukan profil antioksidan dalam HPI yang dihasilkan adalah dicadangkan bagi mengenal pasti sebatian bioaktif utama yang menyumbang kepada aktiviti tersebut serta mekanisme tindakannya.



Nota: Data dilaporkan sebagai purata $\pm$ sisihan piawai, di mana setiap nilai adalah daripada tiga replikasi ($n = 3$). Nilai purata dengan huruf kecil yang sama menunjukkan tiada perbezaan signifikan ($p > 0.05$).

Rajah 1. Aktiviti perencatan radikal DPPH dan ABTS bagi hidrolisat protein ikan (HPI)

Kesimpulan

Langkah paling penting dalam proses fermentasi mikrob untuk menghasilkan HPI dengan kualiti protein dan antioksidan yang tinggi adalah dengan memilih kultur pemula yang sesuai. Dalam kajian ini, kapasiti proteolitik enam strain CFFC MARDI telah dinilai untuk menghasilkan HPI. Kepekatan AAP yang lebih tinggi meningkatkan kualiti pemakanan HPI yang diperbuat daripada produk sampingan ikan keropok lekor. Berdasarkan kepekatan AAP yang tinggi, HPI yang dihasilkan dengan strain *L. casei* LC216 dan LC217 menunjukkan tahap tertinggi AAP yang memenuhi keperluan asid amino manusia. Selain itu, HPI yang dihasilkan oleh *L. casei* LC216 dan LC217 juga dengan ketara menunjukkan aktiviti perencatan radikal DPPH dan ABTS yang tinggi. Oleh itu, kajian lanjut perlu dijalankan ke atas HPI yang dihasilkan oleh *L. casei* LC216 dan LC217 untuk mengoptimumkan kualiti protein dan aktiviti antioksidan dengan menilai keadaan fermentasi dan medium fermentasi yang optimum.

Penghargaan

Penulis berterima kasih kepada Institut Penyelidikan dan Kemajuan Pertanian Malaysia (MARDI) atas penyediaan substrat dan kultur pemula yang digunakan dalam kajian ini.

Bibliografi

- Cruz-Casas, D. E., Aguilar, C. N., Ascacio-Valdés, J. A., Rodríguez-Herrera, R., Chavez-González, M. L., & Flores-Gallegos, A. C. (2021). Enzymatic hydrolysis and microbial fermentation: The most favorable biotechnological methods for the release of bioactive peptides. *Food Chem. Mol. Sci.*, 3, 100047.
- Danial, A. M, Peng, K. S., & Long K. (2015). Enrichment of mung bean with L-DOPA, GABA, and essential amino acids via controlled bio-fermentation strategy. *Int. J. Biotechnol. Wellness Ind.*, 4, 114–122.
- Jensen, M. P., Vogensen, F. K., & Ardö, Y. (2009). Variation in aminopeptidase and aminotransferase activities of six cheese related *Lactobacillus helveticus* strains. *Int. Dairy J.*, 19, 661–668.
- Montoya, J. E. Z., & Sanchez, A. F. (2022). The hydrolysates from fish by-product, an opportunity increasing. Dalam: *Hydrolases* (Haider, S., & Catala, A. Ed.).
- Rashid, N. Y., Abdul Manan, M., Pa'ee, K. F., Saari, N., & Faizal Wong, F. W. (2022). Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of fish protein hydrolysate produced from Malaysian fish sausage (Keropok Lekor) by-products by indigenous *Lactobacillus casei* fermentation. *J. Clean. Prod.*, 347.
- Venkatesan, J., Anil, S., Kim, S. K., & Shim, M. S. (2017). Marine fish proteins and peptides for cosmeceuticals: A Review. *Mar. Drugs*, 15, 143.
- Zhang, X., C., Hao, J., Ma, D., Li, Z., Li, Y., & Qi, B. (2023). Improving the biological activity, functional properties, and emulsion stability of soybean meal hydrolysate via covalent conjugation with polyphenol. *Food Chem.*, 422, 136255.

Ringkasan

Keropok Lekor ialah makanan ringan berasaskan ikan yang popular di Malaysia. Hasil sampingan ikan daripada pemprosesan keropok lekor mengandungi sejumlah besar protein dengan nilai pemakanan yang tinggi. Walau bagaimanapun, di Malaysia hasil sampingan tersebut dibuang ke dalam saluran air yang boleh menyebabkan pencemaran alam sekitar atau diproses menjadi produk yang mempunyai nilai ekonomi rendah seperti baja dan makanan haiwan. Selaras dengan usaha memanfaatkan hasil sampingan secara optimum, teknologi fermentasi mikrob digunakan untuk menukar hasil sampingan ikan kepada hidrolisat protein ikan (HPI). Objektif utama kajian ini adalah untuk menghasilkan HPI dengan sifat antioksidan dan protein berkualiti tinggi daripada hasil sampingan keropok lekor dengan menggunakan strain terpilih daripada *Collection of Functional Food Cultures* (CFFC) MARDI. Hasil kajian menunjukkan fermentasi menggunakan kultur pemula strain *L. casei* LC216 dan LC217 menghasilkan HPI dengan kandungan asid amino perlu

tertinggi (43.6%) dan aktiviti perencatan radikal DPPH dan ABTS yang tinggi. HPI mempunyai nilai ekonomi yang lebih tinggi kerana potensinya sebagai bahan berfungsi dalam industri makanan dan nutraseutikal. Penghasilan hidrolisat protein ikan daripada hasil sampingan keropok lekor melalui fermentasi mikrob mewakili strategi yang berkesan, mampan alam sekitar dan ekonomik untuk menghasilkan bahan bioaktif yang boleh digunakan dalam pengeluaran makanan berfungsi dan pengawetan makanan.

Summary

Malaysian fish sausage, *keropok lekor*, is a popular fish snack in Malaysia. The fish by-products from *keropok lekor* processing comprise a significant quantity of proteins with high nutritional value. However in Malaysia, the fish by-products from *keropok lekor* are either disposed of into waterways, which may cause environmental pollution, or are processed into products of low economic value, such as fertiliser and animal feed. In line with efforts to optimise the utilisation of by-products, microbial fermentation technology is used to convert fish by-products into fish protein hydrolysate (FPH). The main objective of this study is to produce FPH with antioxidant properties and high-quality protein from the by-product of *keropok lekor* using selected strains from the Collection of Functional Food Cultures (CFFC) MARDI. The study results showed that fermentation using starter cultures of *L. casei* strains LC216 and LC217 produced FPH with the highest essential amino acid content (43.6%) and high DPPH and ABTS radical scavenging activities. FPH has a higher economic value due to its potential as a functional ingredient in the nutraceutical and functional food industries. The microbial fermentative production of bioactive FPHs from the *keropok lekor* processing fish by-product represents an effective, environmentally sustainable and economical strategy for producing bioactive ingredients, which can be used in functional food production and food preservation.

Pengarang

Nur Yuhasliza Abd Rashid (Dr.)

Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor
E-mel: yuhas@mardi.gov.my

Nur Syazwani Abdul Hamid dan Aida Hamimi Ibrahim (Dr.)

Pusat Penyelidikan Sains dan Teknologi Makanan, Ibu Pejabat MARDI,
Persiaran MARDI-UPM, 43400 Serdang, Selangor

Musaalbakri Abdul Manan (Dr.)

MARDI Johor, Kawasan Perindustrian Tampoi,
80350 Johor Bahru, Johor

Fadzlie Wong Faizal Wong (Dr.)

Jabatan Teknologi Bioproses, Fakulti Bioteknologi dan Sains Biomolekul,
Universiti Putra Malaysia, 43400, UPM Serdang, Selangor