



**KARAKTERISASI SMART FLAVOR IKAN LELE (*Clarias sp.*)
DENGAN REAKSI HIDROLISIS ENZIMATIS
MENGUNAKAN PROTEASE BIDURI**

*diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan memperoleh gelar Sarjana pada
program studi Teknologi Hasil Pertanian*

SKRIPSI

Oleh

Dini Indah Kartikosari

171710101106

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET, DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN
JEMBER
2024**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang selalu memberikan limpahan rahmatNya serta kesempurnaan akal pikiran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
2. Nabi Muhammad SAW yang telah membawa kita dari zaman kebodohan menuju zaman penuh akan ilmu pengetahuan;
3. Ibu, Alm. Bapak, kedua adik saya dan keluarga besar saya yang telah memberikan segenap dukungan moril maupun material yang tidak pernah putus sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini;
4. Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P. selaku dosen pembimbing utama yang telah membimbing penulis dan menyelesaikan penelitian hingga selesai;
5. Ibu Lailatul Azkiyah, S.TP., M.P., Ph.D. selaku dosen pembimbing anggota yang tak henti-hentinya membimbing dan mendukung dengan penuh kesabaran;
6. Ibu Nurhayati, S.TP., M.Si. selaku dosen penguji utama yang telah memberikan saran dan masukan untuk perbaikan penelitian saya;
7. Bapak Ardiyan Dwi Masahid, S.TP., M.P. selaku dosen penguji anggota yang telah memberikan saran dan masukan untuk perbaikan penelitian saya;
8. Segenap dosen program studi Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Jember yang telah memberikan ilmu dan bimbingannya;
9. Teman-teman THP A 2017 dan seluruh kawan seperjuangan di Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
10. Almamater Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

MOTTO

”Proses sama pentingnya dibandingkan hasil. Hasilnya nihil tak apa. Yang penting sebuah proses telah dicanangkan dan dilaksanakan.”

(Sujiwo Tejo)

“Jangan kalah dengan rasa takutmu. Hanya ada satu hal yang membuat mimpi tak mungkin diraih : perasaan takut gagal.”

(Paulo Coelho, “The Alkemis”)

“Kamu tidak harus menjadi hebat untuk memulai, tetapi kamu harus mulai untuk menjadi hebat.”

(Zig Ziglar)

“Susah, tapi bismillah”

(Fiersa Besari)

PERNYATAAN ORISINALITAS

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Dini Indah Kartikosari

NIM : 171710101106

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : *Karakterisasi Smart Flavor Ikan Lele (Clarias sp.) dengan Reaksi Hidrolisis Enzimatis Menggunakan Protease Biduri* adalah benar hasil karya sendiri kecuali jika dalam pengutipan disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, Juli 2024

Yang menyatakan,

Dini Indah Kartikosari

171710101106

HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi berjudul *Karakterisasi Smart Flavor Ikan Lele (Clarias sp.) dengan Reaksi Hidrolisis Enzimatis Menggunakan Protease Biduri* telah diuji dan disetujui oleh Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember pada:

Hari :
Tanggal :
Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Pembimbing Tanda Tangan

1. Pembimbing Utama

Nama : Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P. (.....)

NIP : 196912121998021001

2. Pembimbing Anggota

Nama : Lailatul Azkiyah, S.TP., M.P., Ph.D. (.....)

NIP : 198803302015042001

Penguji

1. Penguji Utama

Nama : Dr. Nurhayati, S.TP., M.Si. (.....)

NIP : 197904102003122004

2. Penguji Anggota

Nama : Ardiyan Dwi Masahid, S.TP., M.P. (.....)

NIP : 198503292019031011

ABSTRACT

The umami taste in food comes from MSG (Monosodium glutamate) which is a synthetic additive. MSG is safe for consumption if it is in accordance with the recommended dosage but if it exceeds the limit and continues for a long period of time, it can cause various side effects for health. High protein content in fish can be used as a substitute for MSG smart flavor ingredients. Catfish is a type of high protein fish and the price is relatively cheap. One of the protease enzymes that can hydrolyze fish protein is Protease from biduri plant. Differences in the concentration of enzymes used and hydrolysis time can produce different characteristics of smart flavor. This study aims to determine the effect of biduri protease enzyme concentration and hydrolysis time on smart flavor characteristics of catfish and determine the best treatment combination.

The experimental design used in this study is a randomized Group Design (RAK) with 2 factors. The first factor is the concentration of the enzyme protease biduri (A) as much as 1, 2 and 3%. The second factor is the hydrolysis time (B) for 2, 4 and 6 hours. Parameters tested in this study include color brightness, yield, water content, dissolved protein content, degree of hydrolysis, antioxidant activity and effectiveness test.

The results showed that differences in enzyme concentration (1, 2 and 3%) had a significant effect on color, water content, soluble protein, degree of hydrolysis and antioxidant activity. But hydrolysis time (2, 4 and 6 hours) had a significant effected on color, yield, water content, soluble protein, degree of hydrolysis and antioxidant activity. The increase in enzyme concentration can increase yield value, dissolved protein content, degree of hydrolysis and antioxidant activity. The same is indicated by the increase in the time of its hydrolysis. Smart flavor catfish with the best treatment based on the effectiveness test is found in the sample with the concentration of biduri protease enzyme 3% and hydrolysis time 6 hours with a color brightness value of 90.73%, yield of 78.95%, water content of 8.63%, soluble protein of 1.30 mg/ml, degree of hydrolysis of 58.19% and antioxidant activity of 54.14%.

Keywords : smart flavor, catfish, calotropin enzyme.

RINGKASAN

Karakterisasi *Smart Flavor* Ikan Lele (*Clarias Sp.*) dengan Reaksi Hidrolisis Enzimatis Menggunakan Protease Biduri; Dini Indah Kartikosari, 171710101106; 2024; 52 halaman; Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Cita rasa umami pada makanan berasal dari MSG (Monosodium Glutamat) yang merupakan bahan tambahan sintetis. MSG aman untuk dikonsumsi jika sesuai dengan dosis yang dianjurkan tetapi jika melampaui batas dan terus-menerus dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan berbagai macam efek samping bagi kesehatan. Kandungan protein yang tinggi pada ikan dapat dijadikan sebagai bahan *smart flavor* pengganti MSG. Ikan lele termasuk jenis ikan berprotein tinggi dan harganya relatif murah. Salah satu enzim protease yang dapat menghidrolisis protein ikan adalah protease dari tanaman biduri. Perbedaan konsentrasi enzim yang digunakan serta waktu hidrolisis dapat menghasilkan karakteristik *smart flavor* yang berbeda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi enzim protease biduri dan waktu hidrolisis terhadap karakteristik *smart flavor* ikan lele serta menentukan kombinasi perlakuan terbaiknya.

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor. Faktor pertama yaitu konsentrasi enzim protease biduri (A) sebanyak 1, 2 dan 3%. Faktor kedua yaitu waktu hidrolisis (B) selama 2, 4 dan 6 jam. Parameter yang diuji pada penelitian ini meliputi kecerahan warna, rendemen, kadar air, kadar protein terlarut, derajat hidrolisis, aktivitas antioksidan dan uji efektivitas.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi enzim (1, 2 dan 3%) berpengaruh nyata terhadap kecerahan warna, kadar air, protein terlarut, derajat hidrolisis dan aktivitas antioksidan. Waktu hidrolisis (2, 4 dan 6 jam) berpengaruh nyata terhadap kecerahan warna, rendemen, kadar air, protein terlarut, derajat hidrolisis dan aktivitas antioksidan. Kenaikan konsentrasi enzim mampu meningkatkan nilai rendemen, kadar protein terlarut, derajat hidrolisis dan

aktivitas antioksidan. Hal yang sama ditunjukkan dengan kenaikan waktu hidrolisisnya. *Smart flavor* ikan lele dengan perlakuan terbaik berdasarkan uji efektivitas terdapat pada sampel dengan konsentrasi enzim protease biduri 3% dan waktu hidrolisis 6 jam dengan nilai kecerahan warna sebesar 90,73%, rendemen sebesar 78,95%, kadar air sebesar 8,63%, protein terlarut sebesar 1,30 mg/ml, derajat hidrolisis sebesar 58,19% dan aktivitas antioksidan sebesar 54,14%.



PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT Yang Maha Esa atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penyusunan dalam menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakterisasi *Smart Flavor* Ikan Lele (*Clarias sp.*) dengan Reaksi Hidrolisis Enzimatis Menggunakan Protease Biduri”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari adanya kerjasama, motivasi, dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dr. Ir. Bambang Marhaenanto, M. Eng selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
2. Ibu Dr. Triana Lindriati, S.T., M.P. selaku Koordinator Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
3. Prof. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P. selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Lailatul Azkiyah, S.TP., M.P., Ph.D. selaku dosen pembimbing anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, perhatian untuk membimbing penulis dengan penuh kesabaran;
4. Ibu Nurhayati, S.TP., M.Si. selaku dosen penguji utama dan Bapak Ardiyan Dwi Masahid, S.TP., M.P. selaku dosen penguji anggota atas kecermatan dan ketelitiannya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan lebih sempurna;
5. Bapak Mistar, Mbak Ketut, dan Mbak Shelvy yang telah memberikan petunjuk penggunaan alat selama penelitian sehingga proses penelitian berjalan lebih lancar;
6. Bapak dan Ibu Dosen Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember;
7. Almarhum ayah saya Dwi Lulus Kiswanto dan ibu saya Setyaningsih serta adik kandung saya Wisnu Yusuf Purnomo Aji dan Alysa Dyah Nirmala

Puspita yang selalu mendoakan, mambantu, mendukung, memberikan motivasi kepada penulis untuk selalu optimis dalam menggapai cita-cita dan menjadi sumber semangat penulis dalam melakukan berbagai hal kebaikan;

8. Keluarga besar saya yang selalu mendukung dan membantu saya dalam menggapai cita-cita saya;
9. Teman-teman proyek Teknologi Enzim (Zuida, Ika, Saras, Hanik, Vian, Fika dan Puja) yang telah membantu dalam menyelesaikan skripsi ini;
10. Teman penulis yang telah berbagi suka dan duka selama perkuliahan Elma dan Lala.
11. Teman sedari sekolah Nanda, Amel, dan Iik yang telah memberikan dukungan dan doa pada penulis agar skripsi ini terselesaikan dengan baik;
12. Keluarga besar THP A 2017, FTP 2017, dan Teman-teman UKM-O Sahara yang telah berbagi kebersamaan dan semangat;
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah memberika semangat, dukungan, dan doa selama penyusunan skripsi.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihat demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Juli 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	1
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
PERNYATAAN ORISINALITAS	v
HALAMAN PERSETUJUAN	vi
ABSTRACT	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Karakteristik <i>Smart Flavor</i>	5
2.2 Karakteristik Ikan Lele (<i>Clarias sp.</i>)	6
2.3 Karakteristik Enzim Protease Biduri.....	7
2.4 Hidrolisat Protein Sebagai <i>Smart Flavor</i>	9
2.5 Hidrolisis Protein Ikan	10
2.5.1 Pengaruh Konsentrasi Enzim Terhadap Produk Hidrolisis	11
2.5.2 Pengaruh Waktu Hidrolisis Terhadap Produk Hidrolisis	11
2.6 Kadar Protein Terlarut	12
2.7 Aktivitas Antioksidan	12
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	14

3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan	14
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	14
3.2.1 Alat Penelitian.....	14
3.2.2 Bahan Penelitian	14
3.3 Pelaksanaan Penelitian.....	15
3.3.1 Rancangan Percobaan	15
3.3.2 Pembuatan <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	15
3.4 Parameter Analisa	17
3.5 Analisa Data.....	17
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1 Kecerahan Warna <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	18
4.2 Rendemen <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele.....	19
4.3 Kadar Air <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele.....	21
4.4 Kadar Protein Terlarut <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele.....	23
4.5 Derajat Hidrolisis <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele.....	25
4.6 Aktivitas Antioksidan <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele.....	27
4.7 Nilai Uji Efektivitas	29
BAB 5. PENUTUP.....	31
5.1 Kesimpulan	31
5.2 Saran	31
DAFTAR PUSTAKA.....	32
DAFTAR LAMPIRAN	38

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Ikan Lele Segar (100 g)	7
Tabel 2.2 Komposisi Kimia Hidrolisat Protein Ikan Untuk <i>Smart Flavor</i>	10
Tabel 3.1 Perlakuan Penelitian Pembuatan <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	15

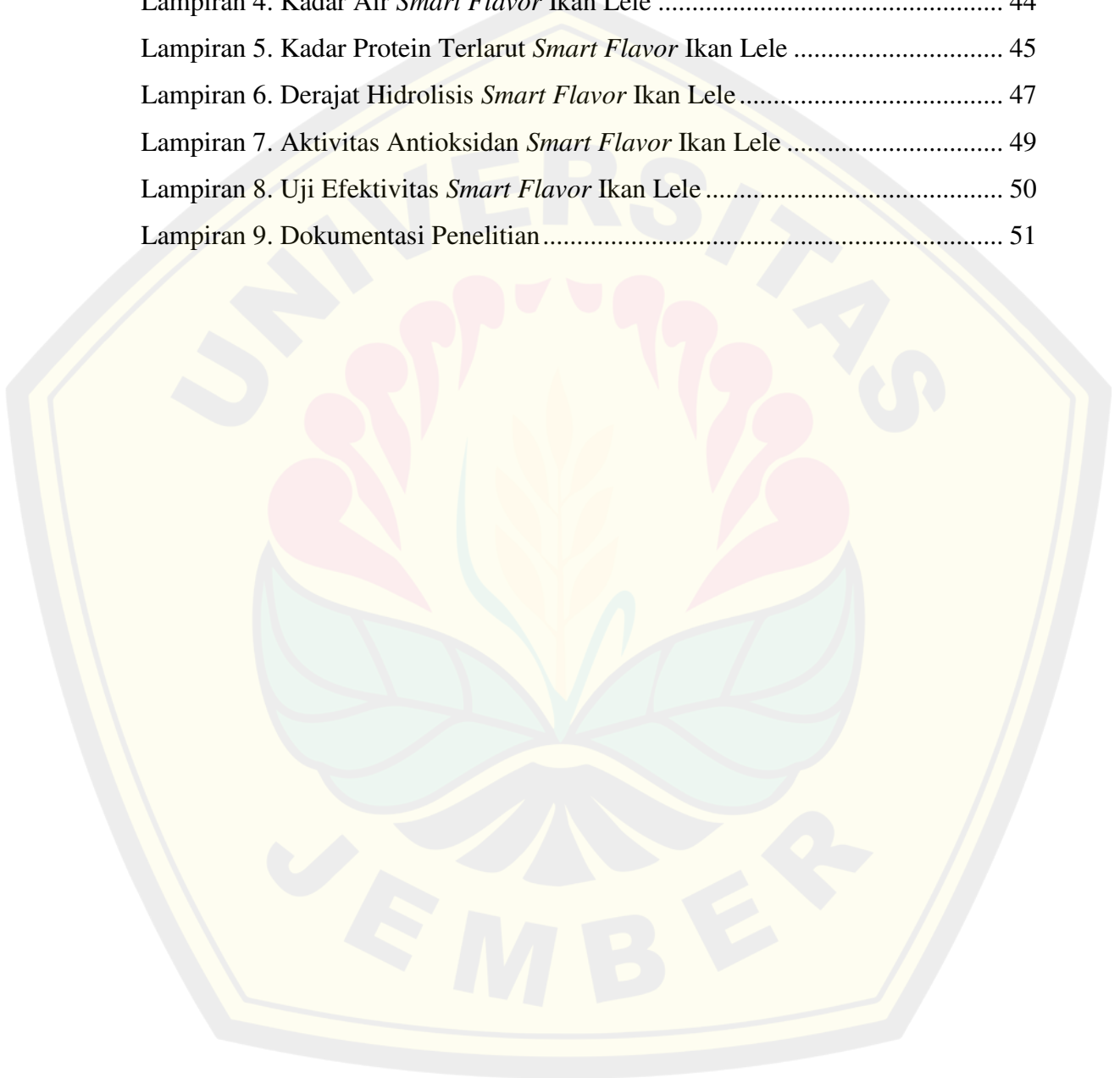


DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Ikan Lele (<i>Clarias sp.</i>)	7
Gambar 2.2 Tanaman Biduri (<i>Calotropis gigantea L.</i>).....	8
Gambar 2.3 Hidrolisis Ikatan Peptida Oleh Enzim Protease	9
Gambar 3.1 Tahapan Penelitian <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	16
Gambar 4.1 Nilai Kecerahan <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	18
Gambar 4.2 Nilai Rendemen <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	20
Gambar 4.3 Nilai Kadar Air <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	22
Gambar 4.4 Nilai Protein Terlarut <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele.....	24
Gambar 4.5 Nilai Derajat Hidrolisis <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele.....	26
Gambar 4.6 Nilai Aktivitas Antioksidan <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	28
Gambar 4.7 Nilai Efektivitas <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele.....	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Analisis	38
Lampiran 2. Kecerahan <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	42
Lampiran 3. Rendemen <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	43
Lampiran 4. Kadar Air <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	44
Lampiran 5. Kadar Protein Terlarut <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	45
Lampiran 6. Derajat Hidrolisis <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	47
Lampiran 7. Aktivitas Antioksidan <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	49
Lampiran 8. Uji Efektivitas <i>Smart Flavor</i> Ikan Lele	50
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian	51



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kehidupan masyarakat semakin berkembang cepat dan persaingan industri pengolahan makanan juga semakin ketat di era modern saat ini. Hal tersebut dapat dilihat dari semakin beragamnya kebutuhan setiap individu khususnya dalam kebutuhan pangan. Masyarakat kini mulai lebih selektif dalam memilih jenis makanan yang dapat mencukupi kebutuhan gizi bagi tubuh. Penambahan bahan tambahan tertentu dapat memberikan *flavor* dan mempertegas rasa dalam suatu makanan. Saat ini permintaan masyarakat akan makanan yang memiliki cita rasa umami semakin tinggi di pasaran. Cita rasa umami pada makanan berasal dari MSG (*Monosodium Glutamat*) yang merupakan bahan tambahan sintetis. Bahan dasar pembuatan monosodium glutamat sintetis adalah *mollasses* (tetes gula) yang difermentasi atau dari hidrolisis gluten jagung dan gandum (Kurtanty *et al.*, 2018). Produsen makanan seringkali menambahkan MSG ke dalam produknya untuk menghasilkan produk makanan yang lebih praktis dan bercita rasa umami.

Monosodium Glutamat (MSG) berbentuk kristal putih yang mengandung garam natrium dan asam glutamat yang digunakan sebagai bahan tambahan pangan untuk memperkuat cita rasa pada makanan (Nurhayati, 2012). Cara kerja MSG yaitu dengan memperkuat rasa alami pada makanan karena kandungan glutamatnya sehingga menghasilkan rasa gurih. Konsumsi MSG di Indonesia mengalami peningkatan dari 1,34 g/hari pada tahun 1998 menjadi 1,53 g/hari pada tahun 2004 (Depkes RI, 2007). Konsumsi MSG berlebih dapat mengakibatkan kesehatan terganggu. Negara industri dan maju telah menetapkan bahwa penggunaan MSG dapat tergolong normal adalah antara 0,3-1 g/hari (Daulay *et al.*, 2014). MSG aman untuk dikonsumsi jika sesuai dengan dosis yang dianjurkan tetapi jika melampaui batas maksimum dan terus-menerus dalam jangka waktu yang lama dapat menimbulkan berbagai macam efek samping bagi kesehatan.

Salah satu solusi untuk meminimalkan efek negatif penggunaan MSG yang berlebihan bagi kesehatan tubuh adalah dengan melakukan inovasi pembuatan *flavor* alami yang bersumber dari bahan alam lokal di Indonesia.

Menurut Winarno (2004) bahan pangan berprotein tinggi seperti daging, ikan, susu, dan tanaman banyak mengandung glutamat yang juga merupakan komponen utama dari MSG. Diantara beberapa bahan pangan tersebut potensi sumber daya ikan di Indonesia sangat besar, namun hingga saat ini ikan belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai bahan baku industri pangan komersial. Kandungan protein yang tinggi pada ikan dapat dijadikan sebagai bahan *smart flavor* pengganti MSG. Protein dapat diubah menjadi asam amino, nukleotida dan berbagai macam peptida pendek melalui proses hidrolisis. Proses hidrolisis dapat dilakukan secara kimia maupun enzimatis. Hidrolisis secara enzimatis lebih aman dan lebih menguntungkan karena akan menghasilkan asam-asam amino bebas dan peptida dengan rantai pendek yang bervariasi sehingga memiliki kegunaan yang lebih luas dalam industri pangan (Shih dan Campbell, 1993). Salah satu enzim protease yang dapat menghidrolisis protein ikan adalah protease dari tanaman biduri (*Calotropis gigantea*). Tanaman biduri merupakan jenis tumbuhan semak yang tumbuh liar di daerah beriklim tropis termasuk Indonesia. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak getah, batang dan daun tanaman biduri sangat berpotensi besar sebagai sumber enzim protease (Witono, 2002a; dan Witono, 2002b). Hasil penelitian Witono (2009) mengindikasikan bahwa enzim calotropin termasuk dalam golongan eksopeptidase berdasarkan pola pemecahan substratnya. Jenis eksopeptidase memecah polipeptida pada ujung protein, sehingga dihasilkan peptida rantai panjang dan asam-asam amino.

Ikan lele termasuk jenis ikan berprotein tinggi yang jumlah produksinya mencapai 1,77 juta ton pada tahun 2017 (Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya, 2017). Meskipun demikian pemanfaatannya masih terbatas pada konsumsi sebagai lauk pauk. Ikan lele memiliki kelebihan diantaranya kaya akan leusin dan lisin jika dibandingkan dengan produk hewani lainnya, rasanya enak dan kandungan gizinya cukup tinggi. Ikan lele juga memiliki harga yang relatif rendah berkisar antara Rp. 20.000,00 sampai Rp. 25.000,00 per kg. Ikan lele memiliki kandungan protein (17,7%) dengan kandungan lemak yang rendah (4,8%) sehingga baik untuk kesehatan (Widjanarko *et al.*, 2012). Kandungan protein yang tinggi pada ikan lele berpotensi untuk digunakan sebagai *smart flavor*.

Perbedaan konsentrasi enzim yang digunakan serta waktu hidrolisis dapat menghasilkan karakteristik *smart flavor* yang berbeda. Berdasarkan penelitian sebelumnya penggunaan enzim biduri 3% pada proses hidrolisis ikan patin mampu memberikan hasil yang optimal (Witono *et al.*, 2016). Sedangkan enzim papain mampu memberikan hasil hidrolisis protein ikan lele dumbo yang optimal pada konsentrasi 5% dengan lama hidrolisis 6 jam (Salamah *et al.*, 2012). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pengaruh konsentrasi protease biduri yang digunakan dan waktu hidrolisis untuk menghasilkan *smart flavor* ikan lele dengan karakteristik terbaik.

1.2 Rumusan Masalah

Konsumsi MSG yang berlebihan (lebih dari 1 g/hari) dapat menyebabkan gangguan kesehatan. Salah satu solusi untuk menghindari bahaya penggunaan MSG bagi kesehatan tubuh yaitu dengan melakukan sebuah inovasi *flavor* alami dengan cara menghidrolisis protein ikan. Ikan lele merupakan salah satu jenis ikan yang berprotein tinggi dan harganya relatif murah namun pemanfaatannya masih terbatas pada konsumsi sebagai lauk pauk. Pembuatan *smart flavor* ikan lele dilakukan dengan menghidrolisis protein ikan lele menggunakan enzim protease yang berasal dari tanaman biduri. Pembuatan *smart flavor* protein ikan lele menggunakan protease tanaman biduri dipengaruhi oleh konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis. Belum diketahui konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis yang optimal agar dihasilkan *smart flavor* yang memiliki karakteristik terbaik.

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis terhadap karakteristik *smart flavor* ikan lele.
2. Menentukan kombinasi perlakuan konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis terbaik dalam proses produksi *smart flavor* ikan lele.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah :

1. Menghasilkan bahan tambahan pangan alami sebagai alternatif flavor yang lebih aman dalam dunia pangan.
2. Meningkatkan potensi ikan lele sebagai sumber *flavor* alami.
3. Mendorong pemanfaatan sumber *flavor* alami baru berbasis potensi lokal di Indonesia.



BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Karakteristik *Smart Flavor*

Smart Flavor merupakan *flavor* yang tidak hanya berfungsi sebagai penguat dan penaik cita rasa gurih pada makanan tetapi juga dapat memenuhi kebutuhan nutrisi karena mengandung zat gizi esensial dan memiliki aktivitas antioksidan (Witono, 2019). Ikan adalah salah satu bahan utama yang dapat dijadikan sebagai *smart flavor*. Namun *smart flavor* yang berbahan baku ikan memiliki rasa yang kurang baik dan diperlukan proses berkelanjutan agar siap dikonsumsi. *Smart flavor* yang berbahan baku ikan kurang siap jika digunakan secara langsung dikarenakan rasa ikan yang masih pahit dan amis.

Rasa ikan yang pahit dan amis pada *smart flavor* dapat dikurangi dengan melakukan penambahan bahan lain seperti gula, garam, bubuk bawang putih, CMC (*carboxymethyl cellulose*) dan STPP (*sodium tripoliphospat*) (Witono, 2019). Selain untuk mengurangi rasa pahit dan amis penambahan bahan-bahan tersebut juga dapat meningkatkan rasa sedap pada *smart flavor* serta dapat memperpanjang masa simpan produk. Penambahan gula dapat meningkatkan produk *maillard* dari protein ikan sehingga dapat membentuk cita rasa umami. Bubuk bawang putih berfungsi untuk meningkatkan aroma produk selama dilakukan penyimpanan. Penambahan bahan alami juga berfungsi untuk memperpanjang umur simpan produk. Lalu penambahan CMC berguna untuk meningkatkan kekentalan yang stabil pada suspensi hidrolisat protein (Kamal, 2010). Sedangkan penambahan STPP berguna untuk mengikat air dalam pembuatan formulasi *smart flavor* (Sarofa *et al.*, 2014).

Salah satu ikan yang dapat digunakan sebagai bahan utama *smart flavor* adalah ikan lele. Keunggulan ikan lele dibandingkan dengan produk hewani lainnya adalah kaya akan lisin dan leusin yang merupakan zat gizi esensial. Lysin merupakan asam amino yang sangat berguna bagi tubuh karena merupakan bahan dasar antibodi darah, dapat memperkuat sistem sirkulasi darah dan dapat menurunkan kadar trigliserida darah yang berlebihan. Sedangkan leusin merupakan asam amino yang mutlak diperlukan dalam perkembangan anak dan

menjaga keseimbangan nitrogen pada orang dewasa, leusin juga berguna untuk perombakan dan pembentukan protein otot (Sundari *et al.*, 2013). Selain itu ikan lele juga mengandung asam glutamat yang merupakan bahan utama pembentuk rasa gurih. *Smart favor* ikan lele dihasilkan melalui proses hidrolisis enzimatis. Hidrolisis secara enzimatis menghasilkan asam–asam amino bebas serta peptida dengan rantai pendek yang lebih bervariasi yang mudah diabsorpsi oleh tubuh (Giyatmi, 2001).

2.2 Karakteristik Ikan Lele (*Clarias sp.*)

Ikan lele (*Clarias sp.*) adalah salah satu komoditas perikanan air tawar yang cukup populer di masyarakat dan umum dikonsumsi khususnya di Jawa. Ikan lele memiliki kulit yang licin berwarna hitam dengan kepala memanjang mencapai seperempat dari panjang tubuhnya (Nasrudin, 2010). Ikan lele termasuk dalam golongan *catfish* atau ikan berkumis. Ikan lele memiliki mulut yang lebar dan terdapat 4 pasang kumis yang berfungsi sebagai alat peraba ketika berenang dan sebagai sensor ketika mencari makan. Ikan lele memiliki patil pada bagian sirip dada yang berguna sebagai pelindung dan alat bantu untuk bergerak (Khairuman dan Amri, 2009).

Ikan lele memiliki organ pernafasan tambahan yaitu *arborescent* (Najiyanti, 1992). Alat pernafasan lele berupa insang berukuran kecil, sehingga lele sering mengambil oksigen di permukaan. *Arborescent* terletak di rongga insang bagian atas. Alat pernafasan ikan lele berwarna kemerahan dan berbentuk seperti tajuk pohon rimbun yang dipenuhi dengan pembuluh kapiler.

Menurut Darseno (2010), ikan lele (*Clarias sp.*) di klasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Animalia</i>
Phyllum	: <i>Chordata</i>
Class	: <i>Pisces</i>
Ordo	: <i>Ostariophysi</i>
Family	: <i>Chlariidae</i>
Genus	: <i>Clarias</i>
Species	: <i>Clarias sp.</i>

Bentuk dan morfologi ikan lele dapat dilihat pada Gambar 2.1



Gambar 2.1 Ikan Lele (*Clarias sp.*)
Sumber : Nasrudin (2010)

Ikan lele memiliki nilai gizi yang cukup tinggi dan mudah disajikan sebagai lauk. Beberapa jenis ikan, termasuk ikan lele mengandung protein lebih banyak jika dibandingkan dengan daging hewani lainnya. Nilai gizi ikan lele meningkat apabila diolah dengan baik. Kandungan gizi ikan lele menurut hasil analisis komposisi bahan makan per 100 g disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan Gizi Ikan Lele Segar (100 g)

Komponen	Nilai Gizi
Air	76,0 g
Protein	17,0 g
Lemak	4,5 g
Karbohidrat	0 g
Kalsium	20 mg
Fosfor	200 mg
Besi	1,0 mg
Vitamin A	150
Vitamin B ₁	0,05

Sumber : Direktorat Bina Gizi Masyarakat dan Puslitbang Depkes RI (1991)

2.3 Karakteristik Enzim Protease Biduri

Enzim protease merupakan enzim proteolitik yang berfungsi untuk mengkatalisis pemutusan ikatan peptida pada protein. Selain berperan dalam proses metabolisme seluler, enzim protease juga dapat digunakan dalam bidang industri pangan seperti dalam pembuatan keju, pengempuk daging dan pembuatan roti. Salah satu sumber enzim protease yang potensial yaitu tanaman biduri. Tanaman biduri adalah tanaman lahan kering yang memiliki ketinggian 0,5 – 3,0

m yang umumnya ditemukan di lahan-lahan kosong dengan periode kering yang lama. Sampai saat ini biduri belum banyak dimanfaatkan, bahkan dianggap sebagai gulma di beberapa daerah (Stenis, 1992). Bentuk tanaman biduri dapat dilihat pada Gambar 2.2.



Gambar 2.2 Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea L.*)

Sumber : [www.warintek.ristek.go.id.commons.wikimedia.org](http://www.warintek.ristek.go.id/commons.wikimedia.org)

Klasifikasi tanaman biduri (*Calotropis gigantea L.*) adalah sebagai berikut

(Yaligar, 2011) :

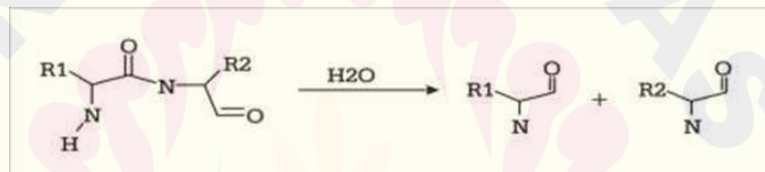
Kingdom	: <i>Plantae</i>
Division	: <i>Magnoliophyta</i>
Class	: <i>Magnoliopsida</i>
Subclass	: <i>Asteridae</i>
Ordo	: <i>Gentianales</i>
Familia	: <i>Asclepiadaceae</i>
Genus	: <i>Calotropis</i>
Species	: <i>Calotropis gigantea L.</i>

Ekstrak tanaman biduri baik pada getah maupun pada batang dan daunnya mempunyai potensi besar untuk dimanfaatkan sebagai sumber enzim protease (Witono, 2002a; dan Witono, 2002b). Tahapan yang dilakukan dalam mengekstraksi enzim protease biduri tidak banyak berbeda dengan proses ekstraksi enzim pada umumnya. Adapun tahapan yang dilakukan untuk ekstraksi enzim dari tanaman biduri adalah penyadapan, penyaringan, pengenceran, ekstraksi, sentrifugasi, dialisis, dan pengeringan (Witono *et al.*, 2013). Purifikasi merupakan tahap lanjutan setelah proses ekstraksi untuk mendapatkan enzim protease biduri yang murni. Hasil karakterisasi enzim protease biduri, berdasarkan spesifikasinya termasuk dalam golongan eksopeptidase (Witono *et al.*, 2004) yang

sesuai untuk aplikasi dalam pembuatan *smart flavor*. Menurut hasil penelitian Susanti (2005), karakteristik enzim protease biduri adalah sebagai berikut :

1. Enzim protease biduri dapat melakukan aktivitas optimal pada suhu 55°C.
2. Aktivitas optimal enzim protease biduri adalah pada pH 7.
3. Enzim protease biduri mempunyai ketahanan panas yang cukup tinggi.
4. Enzim protease biduri dapat dinaktivasi pada suhu di atas 60°C dan protein enzim mengalami denaturasi dengan cepat pada suhu 90°C.

Cara kerja enzim jenis eksopeptidase adalah memotong polipeptida protein pada bagian ujung. Hasil pemotongan ini akan didapat peptida rantai panjang dan asam-asam amino. Secara mekanis, enzim protease biduri mendegradasi polipeptida protein menjadi peptida sederhana dan asam amino. Pemecahan ikatan peptida selama proses hidrolisis berlangsung dapat dilihat pada Gambar 2.3.



Gambar 2.3 Hidrolisis ikatan peptida oleh enzim protease (Witono *et al*, 2013)

2.4 Hidrolisat Protein Sebagai *Smart Flavor*

Hidrolisat protein ikan merupakan protein ikan yang telah terurai menjadi turunan-turunan protein karena adanya proses hidrolisis baik secara kimiawi maupun enzimatik (Haslina *et al*, 2006). Proses hidrolisis sempurna dapat menghasilkan hidrolisat yang terdiri dari campuran 18-20 asam amino. Terdapat beberapa sumber untuk mendapatkan hidrolisat protein salah satunya adalah ikan. Pengolahan ikan menjadi hidrolisat protein bertujuan untuk mengatasi kerusakan pada ikan dan memperoleh bahan pangan yang lebih mudah dicerna oleh tubuh karena protein dipecah menjadi asam amino dan peptida.

Hidrolisat protein ikan memiliki peran penting dalam memperbaiki sifat fungsional dan kualitas pada bahan pangan. Hidrolisat protein ikan memiliki kandungan protein tinggi dan asam amino yang lengkap, daya cerna protein tinggi, dan kelarutan tinggi dalam air (Hall dan Ahmad, 1992). Komposisi kimia hidrolisat protein ikan untuk *smart flavor* dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2 Komposisi Kimia Hidrolisat Protein Ikan Untuk *Smart Flavor*

Parameter	Hidrolisat protein	Hidrolisat protein
	Ikan lele dumbo (%)*	Ikan komersial (%)**
Kadar Air	5,46	3-5
Kadar Abu	5,71	4-7
Kadar Protein	59,29	73-75
Kadar Lemak	1,97	19-22

Keterangan : *Salamah *et al.* (2012); **International Quality Ingredients (2011)

Penggunaan hidrolisat protein dalam pengolahan makanan memiliki beberapa keuntungan yaitu hidrolisat protein umumnya lebih larut, stabil pada suhu tinggi, tidak mudah mengendap oleh adanya berbagai bahan aktif atau ion logam dan berguna untuk pasien dengan gangguan pencernaan. Selain itu hidrolisat protein memiliki sifat fungsional yang penting dalam pengolahan pangan, seperti *flavor enhancer* serta pembentuk tekstur (Hall dan Ahmad, 1992).

2.5 Hidrolisis Protein Ikan

Menurut Haslaniza *et al.* (2010), hidrolisis protein adalah protein yang mengalami hidrolisis oleh asam, basa, atau enzim proteolitik sehingga menghasilkan produk berupa asam amino dan peptida. Hidrolisis secara kimia dapat dilakukan menggunakan asam atau alkali. Hidrolisis asam prosesnya sangat keras dan umumnya dilakukan pada suhu yang tinggi. Proses hidrolisis asam akan menghancurkan triptofan sepenuhnya; sistein, serin dan treonin rusak sebagian; asparagin dan glutamin diubah menjadi bentuk asamnya. Selain itu, proses netralisasi dapat menyebabkan terbentuknya garam sehingga menghasilkan produk dengan kandungan garam yang tinggi (BD Biosciences, 2009).

Hidrolisis protein menggunakan enzim dianggap paling aman dan menguntungkan. Hal ini disebabkan oleh kemampuan enzim dalam menghidrolisis protein sehingga menghasilkan produk hidrolisat yang terhindar dari pembusukan atau kerusakan produk (Johnson dan Peterson, 1974 dalam Purbasari, 2008). Keuntungan lain dari hidrolisis secara enzimatik yaitu asam-asam amino bebas serta peptida dengan rantai pendek yang dihasilkan lebih bervariasi, tingkat kehilangan asam amino esensial lebih rendah, biaya produksi

relatif lebih murah dan menghasilkan komposisi asam amino tertentu terutama peptida rantai pendek (dipeptida dan tripeptida) yang mudah diabsorpsi oleh tubuh (Giyatmi, 2001). Hidrolisis protein dipengaruhi konsentrasi bahan-bahan penghidrolisis, suhu, waktu hidrolisis dan tekanan udara. Hasil hidrolisis protein ikan mempunyai sifat fungsional yang lebih tinggi sehingga lebih sering digunakan. Hidrolisat dari protein ikan memiliki komposisi protein yang cukup lengkap sehingga lebih unggul dibandingkan dengan sumber hewani lainnya (Koesoemawardani *et al.*, 2008).

2.5.1 Pengaruh Konsentrasi Enzim Terhadap Produk Hidrolisis

Konsentrasi enzim berbanding lurus dengan kecepatan reaksi enzimatik. Semakin tinggi konsentrasi enzim maka reaksi enzimatik berlangsung semakin cepat hingga mencapai kecepatan yang konstan. Peningkatan konsentrasi enzim menyebabkan derajat hidrolisis semakin meningkat (Hasnaliza *et al.*, 2010). Semakin tinggi konsentrasi enzim, semakin besar pula jumlah hidrolisat protein ikan yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang larut. Enzim mempunyai kondisi optimal dalam proses hidrolisis yang ditandai dengan peningkatan laju hidrolisis. Apabila enzim telah mengalami fase hidrolisis dengan kecepatan yang tinggi diawal, laju hidrolisis akan cenderung menurun memasuki fase diam (stasioner). Sehingga pada kondisi tersebut, peningkatan konsentrasi enzim tidak menaikkan laju hidrolisis karena ikatan peptida yang tersedia untuk degradasi terbatas (Salwanee *et al.*, 2013).

2.5.2 Pengaruh Waktu Hidrolisis Terhadap Produk Hidrolisis

Waktu hidrolisis juga merupakan faktor paling berpengaruh terhadap hasil hidrolisis. Jika waktu hidrolisis terlalu lama maka jumlah peptida dan asam amino akan berkurang dan jumlah padatan non-fungsional akan meningkat. Selain itu, semakin lama waktu hidrolisis maka produk hidrolisat yang dihasilkan akan semakin pahit (Pigot dan Tucker, 1990). Waktu hidrolisis yang lama mengakibatkan interaksi antara substrat dengan enzim semakin lama sehingga semakin meningkatkan jumlah protein sederhana yang sangat mudah untuk larut (Jaya dan Dihnaini, 2014).

2.6 Kadar Protein Terlarut

Kadar protein terlarut atau biasa disebut dengan daya cerna protein merupakan kemampuan suatu protein untuk dihidrolisis menjadi asam amino oleh enzim pencernaan (protease) (Pellet dan Young, 1980). Penentuan kadar protein terlarut dapat menggunakan Metode *Lowry*. Prinsip kerja Metode *Lowry* adalah reaksi protein dengan asam fosfotungstat – fosfomolibdat dalam suasana alkali menghasilkan warna biru yang intensitasnya bergantung pada konsentrasi protein yang ditukur (Nisa *et al.*, 2007).

Kelarutan protein meningkat apabila ditambahkan asam berlebih. Hal ini dikarenakan ion positif pada asam menyebabkan protein yang semula netral atau tidak bermuatan menjadi bermuatan positif yang menyebabkan kelarutannya bertambah. Kelarutan protein mengacu pada jumlah protein total pada suatu bahan yang masuk ke dalam larutan pada kondisi tertentu dan tergantung pada struktur protein, pH, konsentrasi garam, suhu, lama ekstraksi dan banyak faktor lainnya (Zayas, 1997). Semakin banyak protein yang larut di bagian supernatan, maka menunjukkan peningkatan kelarutan protein.

2.7 Aktivitas Antioksidan

Antioksidan merupakan suatu senyawa atau komponen kimia dalam kadar tertentu dapat menghambat atau mengurangi kerusakan yang disebabkan oleh proses oksidasi. Antioksidan sangat berguna dalam bidang pangan. Antioksidan dapat ditemukan pada bahan pangan hewani atau hidrolisat protein yang mengandung senyawa *bioactive peptide* (Samaranayaka dan Li Chan, 2011; Wiriyaphan *et al* 2011). Salah satu produk hidrolisat yang memiliki sifat antioksidan yaitu hidrolisat protein ikan. Antioksidan juga digunakan sebagai pengawet untuk mencegah terjadinya oksidasi lemak pada makanan (Najafian dan Babji, 2014).

Aktivitas antioksidan diukur berdasarkan kemampuan merangkap radikal bebas (*radical scavenging sbility*) DPPH (*1,1-diphenyl- 1-2- picrylhidroksil*). DPPH merupakan radikal bebas yang mengandung nitrogen tidak stabil dengan panjang gelombang 517 nm dan berwarna biru tua (keunguan). Keberadaan

antioksidan akan menetralsir DPPH dengan cara menyumbang elektron sehingga terjadi perubahan warna dari biru pekat menjadi warna biru yang memudar dan mempengaruhi nilai absorbansinya. Menurut Liu *et al* (2010) menyatakan bahwa penghilangan warna akan sebanding dengan jumlah elektron yang diambil oleh DPPH.



BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengendalian Mutu dan Hasil Pertanian, Laboratorium Inovasi Hasil Pertanian dan Kewirausahaan, dan Laboratorium Pangan Fungsional dan Nutraceutical, Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Waktu penelitian dilaksanakan pada bulan September 2021 sampai September 2022.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, labu ukur, pH meter, vortex, *colour reader*, neraca analitik (*Ohaus*), botol timbang, desikator, tabung kjeldhal, buret, destilator, erlenmeyer, kuvet dan spectrophotometer (Spectro UV Vis 2500). Alat yang digunakan dalam proses pengolahan yaitu : pisau, ice box, botol kaca gelap, blender, *bulb* pipet, thermometer, batang pengaduk kaca, spatula besi, ayakan 80 mesh, pemanas listrik, sentrifuge beserta tabung, pipet, *waterbath shaker* (GFL 1083), *beaker glass*, kertas saring, oven, loyang dan gelas ukur.

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan lele yang diperoleh dari pasar Tanjung Jember serta getah tanaman biduri yang diperoleh dari daerah pesisir pantai selatan Jember. Bahan tambahan yang digunakan yaitu bubuk bawang putih, gula, garam, STPP, dan CMC. Sedangkan bahan kimia yang digunakan adalah aquades, NaOH, buffer fosfat 0,5 M pH 7 (Na_2HPO_4 dan NaH_2PO_4), reagen Mix-Lowry (Na_2CO_3 , 50 ml 2%, NaOH 0,1 N, CuSO_4 1%, dan 1% Sodium potassium tatraat dalam aquades), follin ciocalteau, etanol 70%, etanol p.a, DPPH (1,1- diphenyl-1-2-Picrylhydrazil), selenium, H_2SO_4 pekat, NaOH 40% , HCl 0,2 N, asam borat 4%, dan TCA 20% (*trichloroacetic acid*).

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Percobaan

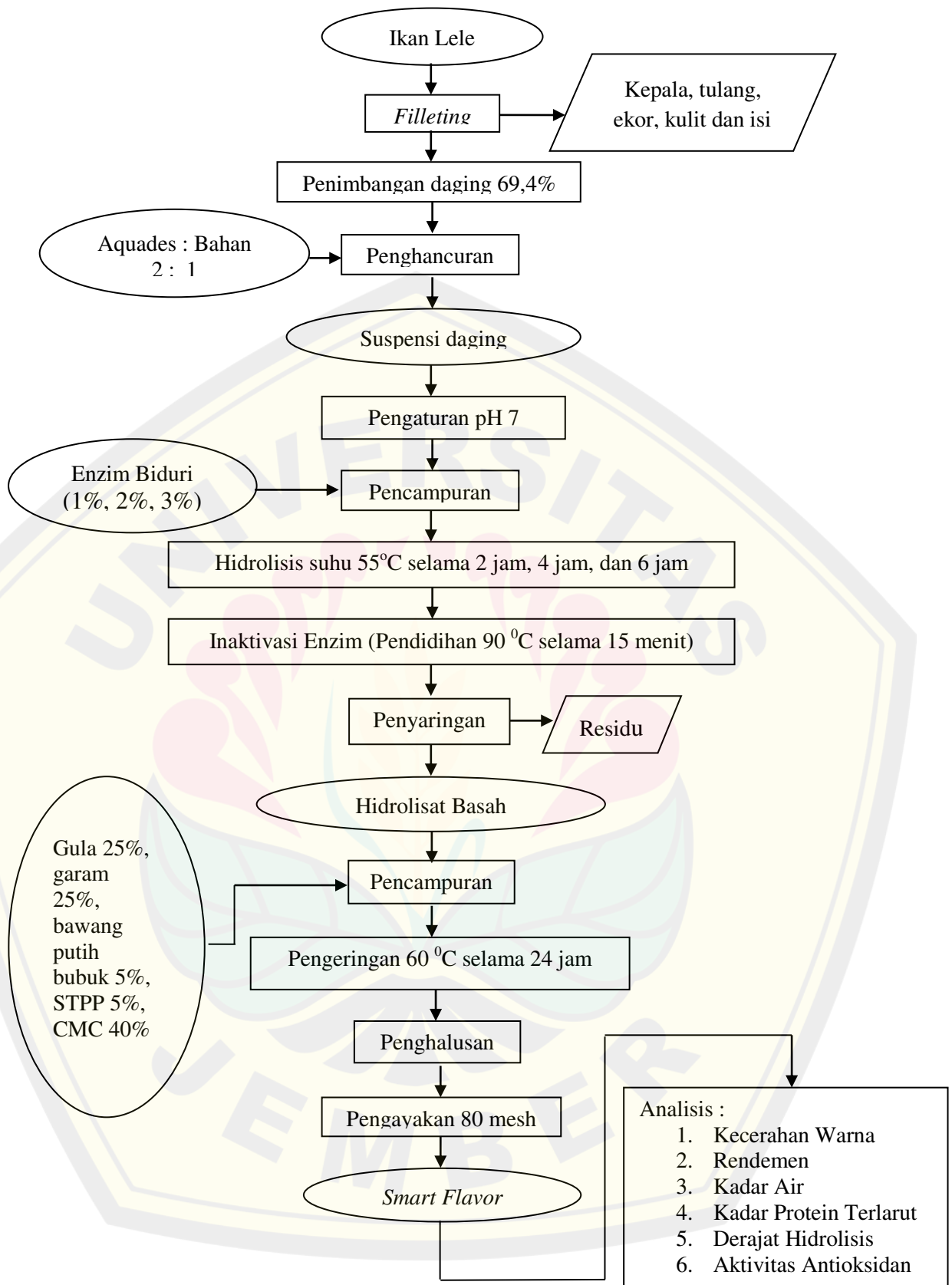
Perlakuan yang dilakukan dalam percobaan ini yaitu, konsentrasi ikan lele dibuat tetap dan konsentrasi protease tanaman biduri serta waktu hidrolisis dibuat bervariasi. Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 faktor dan masing-masing diulang sebanyak 3 kali.

Tabel 3.1 Perlakuan Penelitian Pembuatan *Smart Flavor* Ikan Lele

Konsentrasi Enzim	Waktu hidrolisis		
	2 jam (B1)	4 jam (B2)	6 jam (B3)
1% (A1)	A1B1	A1B2	A1B3
2% (A2)	A2B1	A2B2	A2B3
3% (A3)	A3B1	A3B2	A3B3

3.3.2 Pembuatan *Smart Flavor* Ikan Lele

Pembuatan *smart flavor* ikan lele diawali dengan memfillet ikan lele untuk memisahkan daging, kepala dan tulangnya. Kemudian dicuci menggunakan air untuk menghilangkan kotorannya. Selanjutnya dilakukan penimbangan daging ikan lele sebanyak 50 g. Setelah itu dilakukan penghancuran dengan menambahkan aquades dengan perbandingan aquades dan bahan 2:1. Suspensi ikan lele diatur pada pH 7 dengan cara menambahkan HCl 0,1 N atau NaOH 0,1 N. Lalu ditambahkan enzim biduri dengan berbagai konsentrasi yaitu 1, 2 dan 3%. Kemudian dilakukan hidrolisis pada suhu 55 °C dengan variasi waktu 2, 4 dan 6 jam. Selanjutnya dididihkan dengan suhu 90°C selama 15 menit untuk menginaktifkan enzim. Hidrolisat yang didapatkan kemudian dilakukan penyaringan untuk memisahkan hidrolisat basah dan residu. Hidrolisat basah kemudian dicampur dengan bahan tambahan berupa bubuk bawang putih 5%, gula 25%, garam 25%, CMC 40%, dan STPP 5%. Selanjutnya dilakukan pengeringan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 24 jam. Kemudian dilakukan pengecilan ukuran dengan mortar dan blender, setelah itu dilakukan pengayakan 80 mesh. Diagram alir pembuatan smart flavor ikan lele dapat dilihat pada Gambar 3.1

Gambar 3.1 Tahapan Penelitian *Smart Flavor* Ikan Lele

3.4 Parameter Analisa

Analisis yang dilakukan pada penelitian *smart flavor* ikan lele terdiri dari delapan parameter meliputi parameter tingkat kecerahan warna dengan alat *colour reader*, rendemen, analisis kadar air (AOAC, 2005), kadar protein terlarut (Metode Lowry; Sudarmadji, 1997), derajat hidrolisis (Hasnaliza, 2010), aktivitas antioksidan metode DPPH (Brand *et al.*, 1995) dan uji efektivitas (DeGarmo, 1984). Prosedur analisis tersebut dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.5 Analisa Data

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan ANOVA (*Analysis of Variance Test*) pada taraf 5% untuk mengetahui adanya pengaruh konsentrasi enzim protease biduri dan waktu hidrolisis terhadap karakteristik *smart flavor* ikan lele yang dihasilkan. Apabila ANOVA menunjukkan perbedaan yang nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*). Data diolah menggunakan Excel 2010 dan disajikan dalam bentuk diagram.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Perbedaan konsentrasi enzim (1, 2 dan 3%) berpengaruh nyata terhadap kecerahan warna, kadar air, protein terlarut, derajat hidrolisis dan aktivitas antioksidan. Waktu hidrolisis (2, 4 dan 6 jam) berpengaruh nyata terhadap kecerahan warna, rendemen, kadar air, protein terlarut, derajat hidrolisis dan aktivitas antioksidan. Kenaikan konsentrasi enzim mampu meningkatkan nilai rendemen, kadar protein terlarut, derajat hidrolisis dan aktivitas antioksidan. Hal yang sama ditunjukkan dengan kenaikan waktu hidrolisisnya.
2. Perlakuan terbaik pada *smart flavor* ikan lele berdasarkan uji efektivitas terdapat pada sampel dengan konsentrasi enzim protease biduri 3% dan waktu hidrolisis 6 jam dengan nilai kecerahan warna sebesar 90,73%, rendemen sebesar 78,95%, kadar air sebesar 8,63%, protein terlarut sebesar 1,30 mg/ml, derajat hidrolisis sebesar 58,19% dan aktivitas antioksidan sebesar 54,14%.

5.2 Saran

Saran yang dapat dilakukan untuk pengembangan dari penelitian ini yaitu perlu dilakukan penambahan presentase bahan baku dan perlu dilakukan pengujian organoleptik pada *smart flavor* ikan lele sehingga dapat diketahui tingkat penerimaan konsumen terhadap produk *smart flavor* ikan lele yang dihasilkan. Selain itu diperlukan pula pengujian lebih lanjut tentang pendugaan umur simpan sehingga produk *smart flavor* ikan lele dapat dipasarkan.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 2005. *Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist*. AOAC Inc., Washington.
- BD Biosciences. 2009. *Hydrolysis to Hydrolysate*. <http://bdbiosciences.com> [14 Februari 2011].
- Belitz, Grosch dan Schieberle. 2009. *Food Chemistry* (4th ed.) German :Garching (Chapter 18).
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset C., 1995, Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm. Wiss. u. Technol.* Volume 28: 25-30.
- Cholifah. 2014. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Jeroan Ikan Kakap Putih (*Lates calcarifer*). *Skripsi*. Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Coligan JE, Dunn BM, Speicher DW, Wingfield PT. 2002. *Current Protocols in Protein Science*. New York : John Wiley and Sons, Inc.
- Cucikodana, Y, A. Supriadi dan B. Purwanto. 2012. Pengaruh Perbedaan Suhu Perebusan dan Konsentrasi NaOH Terhadap Kualitas Bubuk Tulang Ikan Gabus (*Channa striata*). *Fishtech Journal*, 1 (1):91-101.
- Darseno. 2010. *Buku Pintar Budidaya dan Bisnis Lele*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Daulay., Sartika. A., dan Trivitasari. E. 2014. Jumlah Konsumsi Maksimal Mie Instan Berdasarkan Penentuan Kadar Monosodium Glutamat (MSG Bumbu Penyedapnya). *Jurnal Ilmiah Kultura* Vol. 16 No. 1 Maret 2015 Issn : 1411-0229 : Jakarta.
- De Garmo, E. P., W.G. Sullivan., dan C.R. Candra. 1984. *Engineering Economi*. 7th Edition. New York : Mc Millan Publ. Co.
- DeMan, J.M. 1999. *Principles of Food Chemistry*, 3 rd Ed. Aspen Pub. Inc. Gaithersbury, Maryland.
- Depkes RI. 2007. *Laporan Riset Kesehatan Dasar 2007*. Jakarta : Badan Penelitian dan Pengembangan Departemen Kesehatan.
- Direktorat Bina Gizi Masyarakat dan Puslitbang Depkes RI. 1991. *Komposisi Kandungan Gizi Ikan Lele*. Jakarta.
- Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. 2017. *Pedoman Pengukuran Indikator Kinerja Utama*. Jakarta. Hal-25.

- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan 1*. Jakarta : PT. Gramedia Puataka Utama.
- Foh MBK, Tamara MT, Amadou I, Foh BM, Wenshui X. 2011. Chemical and physicochemical properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish protein hydrolysate and concentrate. *International Journal Biological Chemistry* 10:1-15.
- Giyatmi. 2001. *Prospek Hidrolisat Protein Ikan sebagai Pemer kaya Nutrisi Makanan*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Hall GM, Ahmad NH. 1992. *Surimi and Fish Minced Product*. In Hall GM (ed). Fish Processing and Technology. New York: Blackie Academic and Professional
- Hasnaliza H, Maskat MY, wan Aida WM, Mamot S. 2010. The Effects of Enzy Me Concentration, Temperature and Incubation Time on Nitrogen Content and Degree of Hydrolysis of Protein Precipitate From Cockle (*Anadara Granosa*) Meat Wash Water. *Int Food Res Journal* 17: 147152
- Haslina, Muis ST, Suyatno. 2006. Nilai Gizi, Daya Cerna Protein dan Daya Terima Patilo Sebagai Makanan Jajanan yang Diperkaya dengan Hidrolisat Protein Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Jurnal Gizi Indonesia*. 1(2): 34-40.
- Hoyle, N. T., dan Merrir, J. H. 1994. Quality of Fish Protein Hydrolysates from Herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science*. Vol. 59 (1) : 76-79.
- International Quality Ingredients. 2011. Fish Protein Hydrolysate. <http://www.eyequye.nl> [4 Juli 2023].
- Jaya, Hardi dan Diharnaini. 2014. Penggunaan Protease dari Getah Biduri dalam Produksi Flavor Udang Windu (*Penaeus monodon*). FMIPA- Universitas Tadulako. *Online Jurnal of Natural Science*. Volume 3(2): 39-49
- Johnson, A.H. dan M.S. Peterson. 1974. *Encyclopedia of Food Technology*, Vol. II. The AVI Publisher Inc., Westport, Connecticut.
- Kamal, N. 2010. Pengaruh Bahan Aditif CMC (*Carboxy Methyl Cellulose*) Terhadap Beberapa Parameter Pada Lrutan Sukrosa. *Jurnal Teknologi* Vol. 1, Edisi 17, (78-84).
- Karnila, R. 2012. Daya Hipoglikemik Hidrolisat, Konsentrat, dan Isolat Protein Teripang Pasir (*Holothuria scabara j.*) pada Tikus Percobaan. *Disertasi*. Bogor : Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Khairuman dan K. Amri. 2009. *Peluang Usaha dan Teknik Budidaya Lele Sangkuriang*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.

- Koesoemawardani D, Nurainy D, Hidayati S. 2008. Proses Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Rucah. *Jurnal Natur Indonesia* 13(3): 256-261.
- Kurniawan S, Lestari, dan Hanggita SRJ. 2012. Hidrolisat Protein Tinta Cumi-Cumi (*Loligo sp.*) dengan Enzim Papain. *Fistech Journal*. 1 (1) :41-54.
- Kurtanty, D., Faqih, D, M., dan Upa, N. P. 2018. *Monosodium Glutamat*. Jakarta : Primer Koperasi Ikatan Dokter Indonesia.
- Kusnandar, F. 2011. *Kimia Pangan :Komponen Makro*. Jakarta : Dian Rakyat.
- Liu, Z., Alexandria, C.M., Oliveira., and Su, Y.C. 2010. Purification and Characterization of Pepsin Solubilized Collagen From Skin and Connective Tissue of Giant Red Sea Cucumber (*Parastichopus Californicus*). *Journal Of Agriculture Food Chemistry*. Volume 58: 1270-1274.
- Murray, R .K., Granner, D. K., Mayes, P. A and Rodwell, V. W. 2003. *Biokimia Harper*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Ed 25, Jakarta.
- Najafian L., Babji A.S. 2014. Production of bioactive peptides using enzymatic hydrolysis and identification antioksidative peptides from patin (*Pangasius sutchi*) sarcoplasmic protein hydrolysate. *Journal of Functional Food*. 9 : 280-289.
- Najiyanti, S. 1992. *Memelihara Lele Dumbo di Kolam Taman*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- Nasrudin. 2010. *Jurus Sukses Beternak Ikan Lele Sangkuriang*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Nisa FZ, Marsono Y, Harmayani E. 2007. *Efek hipokolesterolemik susu kedelai fermentasi steril secara in vitro*. *Berita kedokteran masyarakat* 23(2): 47-51.
- Nurhayati T, Salamah E dan Hidayat T. 2007. *Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan Selar (*Caranx leptolepis*) yang diproses Secara Enzimatis*. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. 10 (1) : 23-24.
- Nurhayati. 2012. *Pengaruh Monosodium Glutamate (MSG) Terhadap Jumlah dan Morfologi Spermatozoa Tikus Jantan Dewasa (*Rattus norvegicus*)*. Palembang : Poltekkes Kemenkes Palembang.
- Pigot, G.M. and Tucker, B.W. 1990. *Utility Fish Flesh Effectively While Maintaining Nutritional Qualities*. *Seafood Effects of Technology on Nutrition*. New York : Marcel Decker, Inc.
- Pellet, P.I. and Young, V.R. 1980. *Nutritional Evaluation of Protein Foods*. The United Nation's University Hunger Programme. Food and Nutrition Bulletin, Suppl. 4, The United University, Tokyo.

- Purbasari D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*). *Skripsi*. Bogor (ID) : Institut Pertanian Bogor.
- Purwoko, T., dan Noor, S.H. 2007. Kandungan Protein Kecap Manis Tanpa Fermentasi Moromi Hasil Fermentasi *Rhizopus oryzae* dan *R. oligosporus*. *Biodiversitas*, 8 (92) : 223-227.
- Salamah E, Nurhayati T, dan Widadi IR. 2012. Pembuatan dan Karakterisasi Hidrolisat Protein Dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Menggunakan Enzim Papain. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Volume 15 Nomor 1.
- Salwane WM, Wan Aida, Mamot, MY, Maskat, S Ibrahim. 2013. Effects of Enzyme Concentration, Temperature, pH and Time on the Degree of Hydrolysis of Protein Extract from Viscera of Tuna (*Euthynnus affinis*) by using alcalase, 42:3, 279-287.
- Samaranayaka, A.G.P, and Li-Chan, E.C.Y. 2011. Food-derived Peptidic Antioxidants Are View of Their Production, Assessment and Potential Applications. *Journal of Functional Foods*. Volume 3(4) : 229-254.
- Saraswati, M. M. D dan Hardiansyah. 2012. Pengetahuan dan Perilaku Konsumsi Mahasiswa Putra Tingkat Persiapan Bersama IPB tentang Monosodium Glutamat dan Keamanannya. *Jurnal Gizi dan Pangan*. 7 (2) : 111 – 118.
- Sarofa, U., S. Djajati., dan S.N. Cholifah. 2014. Pembuatan Roti Manis (Kajian Substitusi Tepung Terigu dan Kulit Manggis dengan Penambahan Gluten). *Jurnal Rekapangan* Vol. 8 No. 2. Hal. 171-178.
- Septiana, A. 2019. Karakteristik Peptida Bioaktif Antioksidan dari Hidrolisat Protein Susu Kedelai. *Skripsi*. Jakarta : Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.
- Shahidi, F dan M. Nacz. 1995. *Food Phenolics : Sources, Chemistry, Effects and Applications*. USA : Technomic Publishing Company.
- Shih, F. F. dan Campbell, N. F. 1993. *Enzymatic Modification of Soy Proteins to Improve Their DFunctional Properties for Food Use*. Washington DC : American Chemical Society.
- Silalahi, J. 2006. *Makanan Fungsional*. Yogyakarta : Kanisius.
- Šiližytė, R., Daukšas, E., Falch, E., Storrø, I., and Rustad T. 2005. Characteristics of Protein Fractions Generated from Cod (*Gadus morhua*) By-Products. *Journal Process Biochem*, 40: 2021–2033.
- Steenis T. 1992. *Flora*. Jakarta : Penerbit Pradnya Paramita,
- Sudarmadji, S, Bambang Haryono dan Suhardi. 1997. *Prosedur Analisa Untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta : Liberty.

- Sundari, Zuprizal, Yuwanta T, Martin R. 2013. Metabolizable Energi of Rstion Added With Nanocapsule of Turmeric Extract on Broiler Chicken. *Journal of the Indonesian Tropical Agriculture*, 38 (1) : 41-46.
- Susanti, Soffahmi.2005. Karakterisasi Enzim Protease Dari Getah Tanaman Biduri (*Calotropis Gigantea*) Hasil Ekstraksi Menggunakan Amonium Sulfat. *Skripsi*. Jember : Universitas Jember
- Triyono, Agus. 2010. *Mempelajari Pengaruh Penambahan Beberapa Asam Pada Proses Isolasi Protein Terhadap Tepung Protein Isolat Kacang Hijau (Phaseolus radiatus L)*.Seminar Rekayasa Kimia dan Proses.ISSN:1411-4216.
- Widadi, I. R. 2011. Pembuatan dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Menggunakan Enzim Papain. *Skripsi*. Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Petanian Bogor, Bogor.
- Widjanarko, B.S., E. Zubaidah dan A.M. Kusuma. 2012. Studi Kualitas Fisik-Kimiawi dan Organoleptik Sosis Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Akibat Pengaruh Perebisan, Pengukusan dan Kombinasinya dengan Pengasapan. *Jurnal Teknologi Pertanian* 4(3):193-202.
- Wijayanti, I, Romadhon, dan L. Rianingsih. 2015. Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain Terhadap Kadar Proksimat dan Nilai Rendemen Hidrolisat Protein Ikan Bandeng. *Jurnal Pena Akuatika Volime*, 12 (1) : 13-23.
- Winarno , F.G. 1995. *Enzim Pangan*. Jakarta : PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Winarno F.G. 2004. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Witono Y, Subagio A, Windrati WS, Praptiningsih Y, dan Hartanti S. 2004. Enzim Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*), Prosiding Seminar Nasional - Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI), Jakarta.
- Witono, Y., 2002a. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease dari Getah Tanaman Biduri. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 1(1): 1-14.
- Witono, Y., 2002b. Pemanfaatan Enzim Protease dari Tanaman Biduri untuk Pengolahan Makanan. *Jurnal Sains dan Teknologi*, 1(1): 32-37.
- Witono, Y. 2009. *Spesifitas dan Stabilitas Protese Biduri (Calotropis gigantea)*. Tidak Diterbitkan. Denpasar : Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan (PATPI)
- Witono, Y., Windrati, W.S., dan Zamroni, I. 2013. Telaah Teknologi Pembuatan Garam Sedap Hasil Hidrolisis Dari Ikan Kuwe Berbasis Teknik Hidrolisis Enzimatis Menggunakan Protease Biduri. Prosiding Seminar Nasional -

Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia, Jember, 28-31 Agustus 2013.

Witono, Y. 2014. *Teknologi Flavor Alami Berbasis Proses Hidrolisis Enzimatis*. Surabaya : Pustaka Radja.

Witono, Y., Taruna, I., dan Windrati, W.S. 2016. *Produksi Flavor Alami Komersial dengan Memanfaatkan Potensi Bahan Baku dari Ikan Sungai dan Ikan Air Tawar Secara Enzimatis Menggunakan Protease Lokal Dari Tanaman Biduri*. Jember : Universitas Jember.

Witono, Y. 2019. *Smart Flavor Enzimatis Bersumber Alam Lokal di Indonesia (Gagasan Empirik Solutif Menuju Indonesia Mandiri Food Ingredient)*. Jember : Jember University Press.

Witono, Y., Maryanto, M., Taruna, I., Masahid, A. D., Cahyaningati, K. 2020. Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Wader (*Rasbora jacobsoni*) dari Hidrolisis oleh Enzim Calotropin dan Papain. *Jurnal Agroteknologi*. 14(01), 44-57.

Yaligar, K. 2011. Preliminary Phytochemical Investigation and Screening of Anticonvulsant Activity of Leaves of *Calatropis giganyra* L. *Skripsi*. Karnataka : Rajiv Gandhi University of Health School.

Zayas, J.F. 1997. *Functionally of Protein in Food*. Springer : Germany.

Zhang, Y., Ma, L., dan Wang, X. 2015. Correlation Between Protein Hydrolysates and Color During Fermentation of *Mucor-Type* Douchi. *International Journal of Food Properties*, 18 (12), 2800-2812. <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1013632>.

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Analisis

1.1 Analisa Fisik

a. Warna (Fardiaz, 1992)

Pengukuran warna diawali dengan standarisasi *colour reader* pada porselen putih. Setelah standarisasi, ujung alat ditempelkan pada permukaan bahan yang diamati dengan posisi tegak lurus. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali ulangan pada beberapa daerah yang berbeda – beda kemudian dirata – rata. Nilai dL yang muncul pada layar *colour reader* ditulis dan dilakukan pengolahan data dengan menggunakan rumus berikut:

$$\text{Nilai } L^* \text{ dapat diperoleh dari perhitungan : } L^* = \frac{94,35}{\text{Standart L}} \times L \text{ sampel}$$

Keterangan : standart L = 64,5

b. Rendemen

Rendemen merupakan presentase produk yang diperoleh dari berat akhirnya. Rendemen diperoleh dengan cara menimbang berat akhir bahan yang diperoleh dari proses. Rendemen produk hidrolisat merupakan hasil akhir yang dihitung berdasarkan proses input dan output.

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan : A = berat setelah diproses (produk hidrolisat) (g)
B = berat bahan baku sebelum dihidrolisis (g)

1.2 Analisis Kadar Air (AOAC, 2005)

Analisis kadar air dilakukan dengan penguapan menggunakan oven. Tahap pertama yang dilakukan adalah mengeringkan botol timbang kosong pada suhu 102-105 °C selama 1 jam. Cawan tersebut diletakkan dalam desikator kurang lebih 15 menit hingga dingin kemudian ditimbang. Menimbang sampel sebanyak 2 g, setelah itu menimbang berat botol dan perlakuan tersebut. Kemudian dioven selama 24 jam, lalu didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Perlakuan ini diulangi sampai tercapai berat konstan.

Perhitungan kadar air :

$$\% \text{ kadar air} = \frac{B-C}{B-A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Berat cawan kosong (gram)

B = Berat cawan yang diisi sampel (gram) sebelum dioven

C = Berat cawan dengan sampel (gram) setelah dioven

1.3 Kadar Protein Terlarut (Metode Lowry; Sudarmadji, 1997)

Menimbang sampel sebanyak 0,1 gram. Kemudian dilarutkan dengan aquades 10 ml. Sampel disentrifuse 4000 rpm selama 5 menit, diambil 0,125 ml filtrate direaksikan dengan reagen Mix-Lowry 2,5 ml dan dibiarkan selama 10 menit. Kemudian ditambahkan follin 0,25 ml dan dibiarkan selama 30 menit. Ditambahkan dengan aquades sampai volume 5 ml. Kemudian ditera absorbansinya dengan spectrophotometer pada panjang gelombang 750 nm. Data absorbansi diplotkan pada kurva standar BSA untuk dihitung kadar proteinnya.

1.4 Derajat Hidrolisis (Hasnaliza, 2010)

Analisis gugus amino bebas digunakan dalam penentuan besarnya derajat hidrolisis (DH) dengan menggunakan metode Hoyle dan Merrit yang telah dimodifikasi. Pengujian diawali dengan hidrolisat basah sebanyak 3 ml ditambahkan dengan TCA 20% sebanyak 3 ml. Pencampuran ini dilakukan di dalam tabung reaksi dan didiamkan selama 30 menit. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 7800 rpm selama 15 menit untuk diambil supernatannya. Selanjutnya dilakukan pengujian kadar protein menggunakan metode Kjeldhal. Hidrolisat basah sebelum dan sesudah penambahan TCA masing masing dimasukkan kedalam tabung Kjeldhal sebanyak 5 ml. kemudian dilakukan penambahan 0,9 g selenium dan 2 ml H₂SO₄. Selanjutnya dilakukan destruksi dengan merapatkan penutup kjeldhal dan tabung ditempatkan pada penyangga. Selanjutnya dilakukan pemanasan dengan menaikkan skala pemanas secara bertahap. Destruksi dilakukan selama 1 jam 40 menit. Kemudian dilakukan pendinginan selama 1 jam. Selanjutnya dilakukan destilasi dengan menyiapkan campuran larutan asam borat 4% sebanyak 15 ml dengan 2 tetes metil merahmetil biru (MMMB) dalam Erlenmeyer. Kemudian tabung kjeldhal berisi hidrolisat basah yang telah didestruksi dimasukkan ke dalam alat destilasi. Proses destilasi

dilakukan dengan menggunakan akuades dan NaOH 40%. Selama proses destilasi akan terjadi perubahan warna pada campuran larutan asam borat dan MMB dalam Erlenmeyer. Kemudian dilakukan proses titrasi menggunakan buret yang telah berisi HCl 0,1 N. Proses titrasi dilakukan sampai larutan dalam Erlenmeyer berubah warna, kemudian dilakukan pembacaan jumlah HCl yang dibutuhkan untuk titrasi. Hal yang sama dilakukan pada blanko dimana hidrolisat basah diganti dengan akuades. Perhitungan derajat hidrolisis menggunakan rumus:

$$N(\%) = \frac{(\text{ml HCL sampel} - \text{ml HCL blanko}) \times N \text{ HCL} \times 14,008}{\text{gr sampel} \times 1000} \times 100\%$$

$$\text{Kadar Protein} (\%) = \%N \times 6,25$$

$$\text{DH} (\%) = \frac{\text{kadar protein (sampel+TCA)}}{\text{kadar protein}} \times 100\%$$

1.5 Aktivitas Antioksidan Metode DPPH (Brand *et al.*, 1995)

Uji ini diawali dengan menyiapkan larutan DPPH 0,1 mM dengan cara mengencerkan 0,00195 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) kedalam 50 ml etanol p.a. Selanjutnya sampel *smart flavor* ikan lele diencerkan hingga 1000 ppm. Pengenceran tersebut dilakukan dengan cara melarutkan 0,01 gram sampel *smart flavor* ikan lele ke dalam 10 ml etanol 70%. Setelah itu dilakukan pencampuran 1,5 ml larutan sampel *smart flavor* ikan lele dengan 1,5 ml larutan DPPH dan divortex. Campuran tersebut kemudian didiamkan selama 30 menit pada suhu 37°C dalam keadaan gelap. Selanjutnya larutan tersebut diabsorbansi pada panjang gelombang 515 nm untuk mengukur reduksi radikal DPPH. Perlakuan yang sama juga dilakukan pada sampel blanko dengan menggunakan aquades sebagai pengganti *smart flavor* ikan lele. Selama proses pengujian akan terjadi interaksi antara sampel *smart flavor* ikan lele dengan radikal bebas DPPH. Sampel *smart flavor* ikan lele yang memiliki sifat antioksidatif akan mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas sehingga manjadikanya lebih stabil. Reaksi ini ditandai dengan terjadinya perubahan warna ungu yang memudar menjadi warna kuning. Berikut adalah persamaan dalam menghitung aktivitas antioksidan DPPH.

$$\text{DPPH\% penghambatan} = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ sampel}}{A \text{ blanko}} \times 100\%$$

Ablanko = Absorbansi pada DPPH tanpa sampel

Asampel = Absorbansi pada DPPH setelah ditambah sampel

1.6 Uji Efektivitas (DeGarmo, 1984)

Uji efektivitas digunakan untuk menentukan formulasi terbaik untuk semua parameter yang dianalisis. Untuk mengetahui kombinasi perlakuan terbaik dilakukan uji efektivitas berdasarkan metode indeks efektivitas. Prosedur uji efektivitas sebagai berikut:

1. Membuat bobot nilai pada masing – masing variable dengan angka relative sebesar 0-1. Bobot nilai yang diberikan tergantung pada kontribusi masing-masing variabel terhadap sifat mutu produk.
2. Menentukan nilai terbaik dan nilai terjelek dari pengamatan.
3. Menentukan bobot normal variabel yaitu bobot variabel dibagi dengan bobot total.
4. Menghitung nilai efektivitas dengan rumus:
$$\text{Nilai efektivitas} = \frac{\text{nilai perlakuan} - \text{nilai terjelek}}{\text{nilai terbaik} - \text{nilai terjelek}}$$
5. Menghitung nilai Hasil (NH) semua parameter dengan rumus: Nilai Hasil (NH) = Nilai Efektivitas (NE) x Bobot Normal Parameter (BNP).
6. Menjumlahkan nilai hasil dari semua variabel dengan kombinasi perlakuan terbaik dipilih dari kombinasi perlakuan dengan nilai total tertinggi.

Lampiran 2. Kecerahan *Smart Flavor* Ikan Lele2.1 Data Hasil Pengamatan dan Perhitungan Kecerahan *Smart Flavor* Ikan Lele

Sampel	L Sampel			L Standar	Rata-rata	SD
	U1	U2	U3			
A1B1	91,67	91,72	92,06	94.35	91,81	0,21
A2B1	91,72	91,72	91,91	94.35	91,78	0,11
A3B1	91,77	91,72	91,62	94.35	91,70	0,07
A1B2	91,62	91,42	91,57	94.35	91,54	0,10
A2B2	91,77	91,52	91,23	94.35	91,51	0,27
A3B2	91,72	91,33	91,42	94.35	91,49	0,20
A1B3	91,62	91,18	91,23	94.35	91,34	0,24
A2B3	91,23	91,42	91,33	94.35	91,33	0,10
A3B3	90,64	90,64	90,89	94.35	90,73	0,14

2.2 Hasil Uji Anova

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
konsentrasienzim	.368	2	.184	5.996	.010
waktuhidrolisis	1.847	2	.923	30.072	.000
konsentrasi *	.404	4	.101	3.290	.034
waktu hidrolisis					

2.3 Hasil Uji Duncan

Perlakuan	N	Subset			Notasi
		1	2	3	
A1B1	3			91.8167	c
A2B1	3			91.7833	c
A3B1	3			91.7033	c
A1B2	3		91.5367	91.5367	bc
A2B2	3		91.5067	91.5067	bc
A3B2	3		91.4900	91.4900	bc
A1B3	3		91.3433		b
A2B3	3		91.3267		b
A3B3	3	90.7233			a
Sig.		1.000	.201	.056	

Lampiran 3. Rendemen *Smart Flavor* Ikan Lele**3.1 Data Hasil Pengamatan dan Perhitungan Rendemen *Smart Flavor* Ikan Lele**

Sampel	Rendemen			Rata-rata	SD
	U1	U2	U3		
A1B1	77,24	77,96	75,84	77,01	1,08
A2B1	76,36	77,78	77,38	77,17	0,73
A3B1	76,58	76,84	78,38	77,27	0,97
A1B2	77,64	77,94	77,86	77,81	0,16
A2B2	77,94	77,64	78,72	78,10	0,56
A3B2	78,12	77,84	78,56	78,17	0,20
A1B3	77,68	79,16	77,90	78,25	0,80
A2B3	79,58	77,96	78,14	78,56	0,89
A3B3	78,62	78,98	79,24	78,95	0,31

3.2 Hasil Uji Anova

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
konsentrasienzim	.870	2	.435	.844	.446
Waktuhidrolisis	9.401	2	4.700	9.128	.002
konsentrasi * waktu hidrolisis	.184	4	.046	.089	.985

3.3 Hasil Uji Duncan

Perlakuan	N	Subset			Notasi
		1	2	3	
A1B1	3	77.0133			a
A2B1	3	77.1733	77.1733		ab
A3B1	3	77.2667	77.2667		ab
A1B2	3	77.8133	77.8133	77.8133	abc
A2B2	3	78.1000	78.1000	78.1000	abc
A3B2	3	78.1733	78.1733	78.1733	abc
A1B3	3	78.2467	78.2467	78.2467	abc
A2B3	3		78.5600	78.5600	bc
A3B3	3			78.9467	c
Sig.		.091	.060	.115	

Lampiran 4. Kadar Air *Smart Flavor* Ikan Lele4.1 Data Hasil Pengamatan dan Perhitungan Kadar Air *Smart Flavor* Ikan Lele

Sampel	Kadar Air (%)			Rata-rata	SD
	U1	U2	U3		
A1B1	10,300	10,050	10,850	10,400	0,409
A2B1	10,450	10,450	10,250	10,383	0,115
A3B1	9,750	10,300	9,950	10,000	0,278
A1B2	9,850	10,250	9,850	9,983	0,231
A2B2	9,050	10,250	8,750	9,350	0,794
A3B2	9,150	9,250	9,100	9,167	0,076
A1B3	9,150	9,100	9,200	9,150	0,050
A2B3	8,350	9,200	8,450	8,667	0,465
A3B3	8,400	8,900	8,600	8,633	0,252

4.2 Hasil Uji Anova

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Konsentrasienzim	1.550	2	.775	5.673	.012
Waktuhidrolisis	9.398	2	4.699	34.406	.000
konsentrasi * waktu hidrolisis	.361	4	.090	.661	.627

4.3 Hasil Uji Duncan

Perlakuan	N	Subset			Notasi
		1	2	3	
A1B1	3			10.4000	c
A2B1	3			10.3833	c
A3B1	3			10.0000	c
A1B2	3			9.9833	c
A2B2	3		9.3500		b
A3B2	3	9.1667	9.1667		ab
A1B3	3	9.1500	9.1500		ab
A2B3	3	8.6667			a
A3B3	3	8.6333			a
Sig.		.088	.495	.176	

Lampiran 5. Kadar Protein Terlarut *Smart Flavor* Ikan Lele

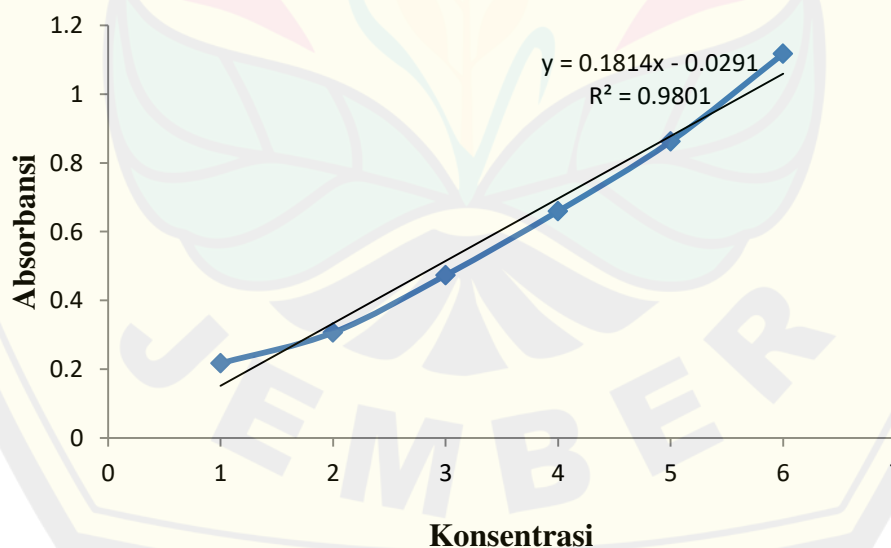
5.1 Data Hasil Pengamatan Kadar Protein Terlarut *Smart Flavor* Ikan Lele

Sampel	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
A1B1	0.135	0.143	0.118	0.132
A2B1	0.152	0.152	0.159	0.154
A3B1	0.175	0.148	0.154	0.159
A1B2	0.182	0.195	0.185	0.187
A2B2	0.166	0.171	0.190	0.176
A3B2	0.177	0.177	0.191	0.182
A1B3	0.198	0.186	0.177	0.187
A2B3	0.190	0.198	0.189	0.192
A3B3	0.205	0.213	0.204	0.207

5.2 Kurva Standar BSA

Konsentrasi BSA	Absorbansi			Rata-rata
	U1	U2	U3	
0,1	0,218	0,219	0,215	0,217
0,2	0,305	0,315	0,300	0,307
0,4	0,484	0,488	0,448	0,473
0,6	0,625	0,683	0,670	0,659
0,8	0,860	0,881	0,845	0,862
1	1,121	1,119	1,111	1,117

Kurva Standar Protein Terlarut



5.3 Hasil Perhitungan Kadar Protein Terlarut *Smart Flavor* Ikan Lele

Sampel	Ketentuan A	Ketentuan B	Kelarutan (mg/ml)			Rata- rata	SD
			U1	U2	U3		
A1B1	0.1814	0.0291	0.905	0.949	0.811	0.888	0.070
A2B1	0.1814	0.0291	0.998	0.998	1.037	1.011	0.022
A3B1	0.1814	0.0291	1.125	0.976	1.009	1.037	0.078
A1B2	0.1814	0.0291	1.164	1.235	1.180	1.193	0.038
A2B2	0.1814	0.0291	1.076	1.103	1.208	1.129	0.070
A3B2	0.1814	0.0291	1.136	1.136	1.213	1.162	0.045
A1B3	0.1814	0.0291	1.252	1.186	1.136	1.191	0.058
A2B3	0.1814	0.0291	1.208	1.252	1.202	1.221	0.027
A3B3	0.1814	0.0291	1.291	1.335	1.285	1.303	0.027

5.4 Hasil Uji Anova

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Konsentrasienzim	.027	2	.013	4.877	.020
Waktuhidrolisis	.321	2	.160	58.392	.000
konsentrasi * waktu hidrolisis	.037	4	.009	3.411	.030

5.5 Hasil Uji Duncan

Perlakuan	N	Subset					Notasi
		1	2	3	4	5	
A1B1	3	.8883					a
A2B1	3		1.0110				b
A3B1	3		1.0367	1.0367			bc
A1B2	3				1.1930		d
A2B2	3			1.1290	1.1290		cd
A3B2	3				1.1617		d
A1B3	3				1.1913		d
A2B3	3				1.2207	1.2207	de
A3B3	3					1.3037	e
Sig.		1.000	.578	.058	.084	.085	

Lampiran 6. Derajat Hidrolisis *Smart Flavor* Ikan Lele6.1 Data Hasil Pengamatan Derajat Hidrolisis *Smart Flavor* Ikan Lele

Sampel	Kadar protein + TCA (%)			Kadar protein (%)		
	U1	U2	U3	U1	U2	U3
A1B1	0,963	0,946	0,981	2,084	2,049	2,066
A2B1	1,033	1,051	1,068	2,189	2,171	2,206
A3B1	1,121	1,138	1,173	2,241	2,294	2,311
A1B2	1,261	1,296	1,313	2,346	2,399	2,416
A2B2	1,348	1,348	1,383	2,539	2,574	2,627
A3B2	1,401	1,418	1,453	2,697	2,714	2,749
A1B3	1,576	1,558	1,523	2,837	2,802	2,819
A2B3	1,488	1,488	1,453	2,802	2,767	2,749
A3B3	1,698	1,681	1,663	2,872	2,889	2,907

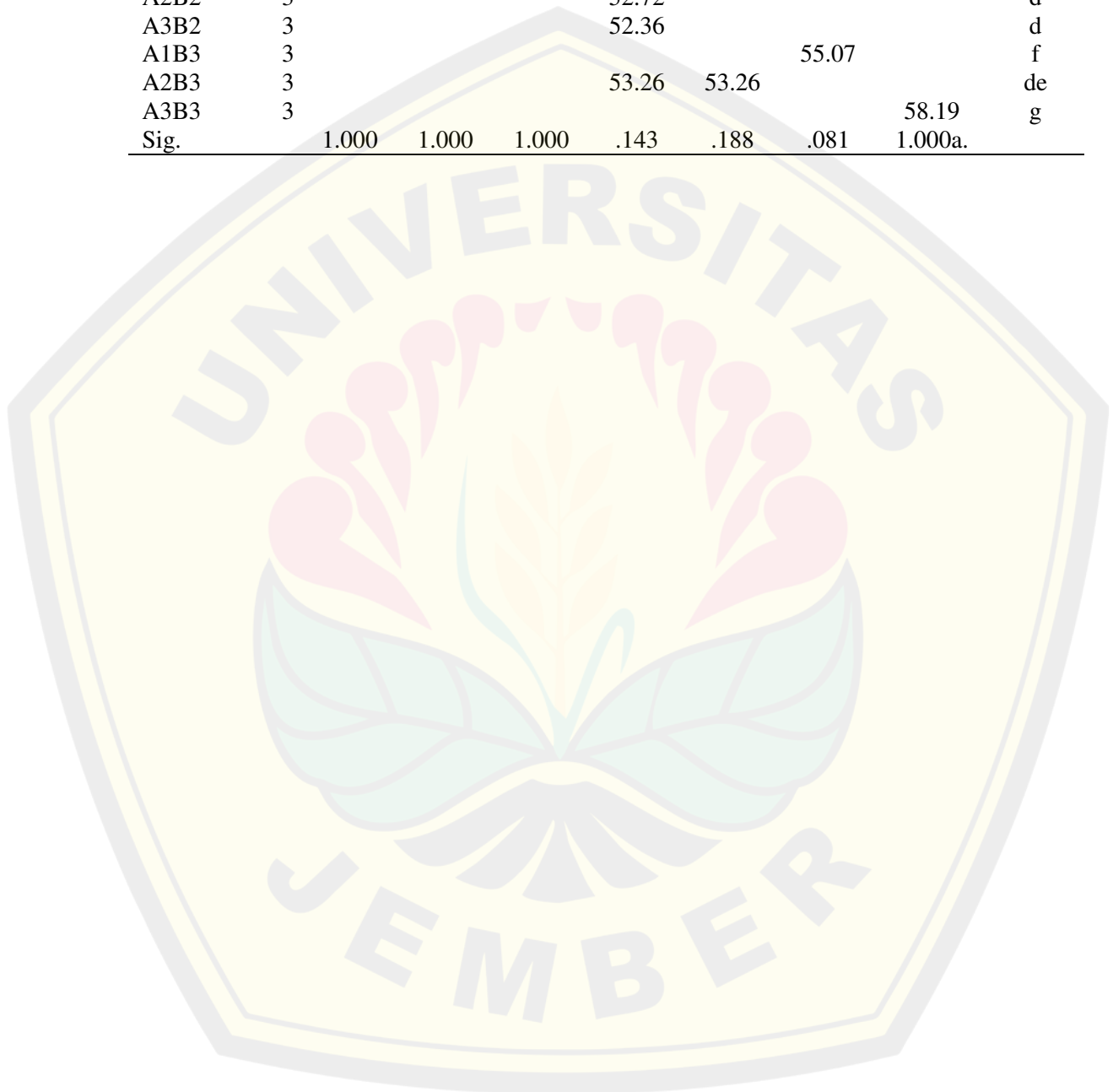
Sampel	Derajat hidrolisis (%)			Rata-rata	SD
	U1	U2	U3		
A1B1	46,218	46,154	47,458	46,61	0,73
A2B1	47,200	48,387	48,413	48,00	0,69
A3B1	50,000	49,618	50,758	50,13	0,58
A1B2	53,731	54,015	54,348	54,03	0,31
A2B2	53,103	52,381	52,667	52,72	0,36
A3B2	51,948	52,258	52,866	52,36	0,47
A1B3	55,556	55,625	54,037	55,07	0,90
A2B3	53,125	53,797	52,866	53,26	0,48
A3B3	59,146	58,182	57,229	58,19	0,96

6.2 Hasil Uji Anova

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Konsentrasienzim	24.097	2	12.049	28.854	.000
Waktuhidrolisis	245.370	2	122.685	293.806	.000
konsentrasi * waktu hidrolisis	36.571	4	9.143	21.895	.000

6.3 Hasil Uji Duncan

Perlakuan	N	Substet							Notasi
		1	2	3	4	5	6	7	
A1B1	3	46.61							a
A2B1	3		48.00						b
A3B1	3			50.13					c
A1B2	3					54.03	54.03		ef
A2B2	3				52.72				d
A3B2	3				52.36				d
A1B3	3						55.07		f
A2B3	3				53.26	53.26			de
A3B3	3							58.19	g
Sig.		1.000	1.000	1.000	.143	.188	.081	1.000a.	



Lampiran 7. Aktivitas Antioksidan *Smart Flavor* Ikan Lele7.1 Data Hasil Pengamatan Aktivitas Antioksidan *Smart Flavor* Ikan Lele

Sampel	Penghambatan (%)			Rata-rata	SD
	U1	U2	U3		
A1B1	42,04	43,14	41,36	42,18	0,90
A2B1	42,97	41,95	41,78	42,24	0,64
A3B1	43,74	42,48	44,84	44,02	0,72
A1B2	42,55	41,78	43,65	42,66	0,94
A2B2	44,50	44,08	43,57	44,05	0,47
A3B2	44,50	45,01	46,12	45,21	0,83
A1B3	53,09	53,43	54,19	53,57	0,57
A2B3	54,19	54,79	53,09	54,02	0,86
A3B3	54,36	54,11	53,94	54,14	0,21

7.2 Hasil Uji Anova

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Konsentrasienzim	12.511	2	6.255	12.130	.000
Waktuhidrolisis	669.460	2	334.730	649.078	.000
konsentrasi * waktu hidrolisis	4.378	4	1.095	2.122	.120

7.3 Hasil Uji Duncan

Perlakuan	N	Subset			Notasi
		1	2	3	
A1B1	3	42.1813			a
A2B1	3	42.2383			a
A3B1	3		44.0223		b
A1B2	3	42.6630			a
A2B2	3		44.0507		b
A3B2	3		45.2123		b
A1B3	3			53.5697	c
A2B3	3			54.0230	c
A3B3	3			54.1363	c
Sig.		.473	.087	.400	

Lampiran 8. Uji Efektivitas *Smart Flavor* Ikan Lele

7.1 Data hasil uji efektivitas smart flavor ikan lele

Parameter	NB	NJ	B V	Bnp	A1B1		A2B1		A3B1		A1B2		A2B2		A3B2		A1B3		A2B3		A3B3	
					NE	NH	NE	NH	NE	NH	NE	NH	NE	NH	NE	NH	NE	NH	NE	NH	NE	NH
Warna	91,81	90,73	0,8	0,15	1,00	0,15	0,97	0,15	0,90	0,13	0,75	0,11	0,72	0,11	0,70	0,11	0,56	0,08	0,56	0,08	0,00	0,00
Rendemen	78,95	77,01	0,8	0,15	0,00	0,00	0,08	0,01	0,13	0,02	0,93	0,14	0,56	0,08	0,60	0,09	0,64	0,10	0,80	0,12	1,00	0,15
Kadar Air	8,63	10,40	0,9	0,16	0,00	0,00	0,01	0,00	0,23	0,04	0,24	0,04	0,59	0,09	0,69	0,11	0,71	0,11	0,98	0,16	1,00	0,16
Protein	1,30	0,89	1	0,18	0,00	0,00	0,29	0,05	0,37	0,07	0,73	0,13	0,59	0,11	0,66	0,12	0,73	0,13	0,80	0,14	1,00	0,18
Terlarut																						
Derajat Hidrolisis	58,19	46,61	1	0,18	0,00	0,00	0,12	0,02	0,30	0,05	0,64	0,12	0,53	0,09	0,50	0,09	0,73	0,13	0,57	0,10	1,00	0,18
Antioksidan	54,14	41,18	1	0,18	0,00	0,00	0,08	0,01	0,22	0,04	0,11	0,02	0,22	0,04	0,31	0,06	0,96	0,17	0,99	0,18	1,00	0,18
Total			5,5	1,00		0,15		0,25		0,35		0,56		0,53		0,57		0,73		0,79		0,85

Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian



Ikan lele segar



Penghalusan ikan lele fillet



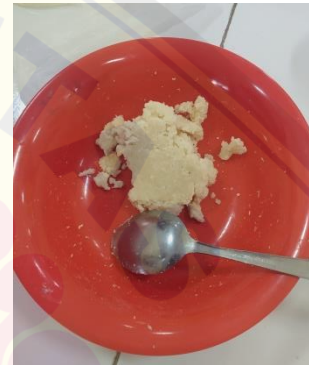
Hidrolisis



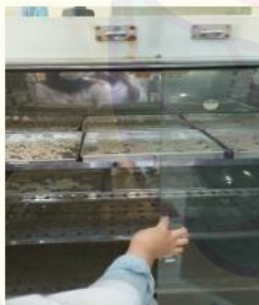
Hidrolisat basah



Pemisahan hidrolisat basah



Pencampuran bahan tambahan



Pengeringan



Pengayakan hidrolisat kering



Smart flavor ikan lele



Pengujian warna



Pengujian rendemen



Pengujian kadar air



Pengujian kadar protein terlarut



Pengujian derajat hidrolisis



Pengujian aktivitas antioksidan



Proses Pengujian



Proses Pengujian



Proses Pengujian