



**FORMULASIDAN KARAKTERISASI GARAM SEDAP HASIL  
HIDROLISIS ENZIMATIK DARI IKAN INFERIOR**

**SKRIPSI**

oleh

**Ria Dewi Nurani  
NIM 101710101083**

**JURUSAN TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN  
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2015**

## PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan sebagai rasa terima kasih yang tidak terkira kepada:

1. Kedua orang tua saya Ibu Hj. Siti Misfaeny dan Bapak H. Drs. Saprawi serta kakak-kakak tercinta Arista Maisyaroh dan Ardiansyah Fabriangga dan seluruh keluarga besar;
2. Sahabat-sahabat saya dan keluarga besar angkatan 2010 Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
3. Guru-guruku sejak TK hingga Perguruan Tinggi;
4. Almamaterku tercinta Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
5. Keluarga besar UKM-KI kosinusteta, UKM Kesenian Dolanan, UKM PELITA, BEM FTP UJ.

**MOTTO**

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan.”

(terjemahan Q.S 94:5)

“Maka nikmat Tuhan yang manakah, yang kamu dustakan”

(terjemahan QS. Ar-Rahman : 55)

“dan sesungguhnya akhir itu lebih baik bagimu dari permulaan”

(terjemahan Q.S 93:4)

“Jadikanlah sabar dan shalat sebagai penolongmu. Dan yang demikian itu sungguh berat kecuali bagi orang-orang yang khusyuk. Yaitu mereka yang yakin bahwa mereka akan menemui Rabbnya dan kembali kepadaNya”

(terjemahan QS. Al - Baqarah : 45-46)

Man Jadda Wa Jadda

(siapa yang bersungguh-sungguh pasti berhasil)

Dimanapun engkau berada, berusahalah menjadi yang terbaik dan berikanlah yang terbaik, dari yang bisa engkau berikan

(Prof. Dr. Ir. B. J. Habibie)

Teruslah untuk bermimpi, karena orang yang tidak mempunyai mimpi adalah orang yang tidak mempunyai tujuan hidup. Kejar mimpi tersebut dengan berusaha keras dan berdoa.

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Ria Dewi Nurani

NIM : 101710101083

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul ” Formulasi dan Karakterisasi Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik dari Ikan Inferior” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 29 Desember 2015

Yang menyatakan,

Ria Dewi Nurani

NIM 101710101083

**SKRIPSI**

**FORMULASI DAN KARAKTERISASI GARAM SEDAP HASIL  
HIDROLISIS ENZIMATIK DARI IKAN INFERIOR**

oleh

**Ria Dewi Nurani**  
**NIM 101710101083**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : **Dr. Yuli Witono S.TP, M.P**

Dosen Pembimbing Anggota : **Ir. Wiwik Siti Windarti, M.P**

**PENGESAHAN**

Skripsi berjudul ” Formulasi dan Karakterisasi Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik dari Ikan Inferior” karya Ria Dewi Nurani NIM. 101710101083 telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Kamis, 29 Desember 2015

tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.

Penguji Utama,

Penguji Anggota,

**Ir. Sukatiningsih M.S..**

NIP. 19501212 198010 2 001

**Ahmad Nafi S.TP., M.P.**

NIP. 19780403 200312 1 003

Mengesahkan,  
Dekan Fakultas Teknologi Pertanian

**Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P.**

NIP. 19691212 199802 1 001

## RINGKASAN

**Formulasi Dan Karakterisasi Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatis Dari Ikan Inferior;** Ria Dewi Nurani, 101710101083; 2015: 65 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Hidrolisat protein ikan merupakan suatu produk hasil hidrolisis yang dapat dilakukan secara enzimatik menggunakan protease. Berdasarkan pola pemecahan substratnya, enzim protease digolongkan dalam dua jenis yakni endopeptidase dan eksopeptidase. Endopeptidase merupakan protease yang memotong ikatan peptida di tengah sedangkan eksopeptidase merupakan protease yang memecah ikatan peptida pada terminal (ujung) dari protein. Hasil dari hidrolisat protein ikan dapat digunakan sebagai *flavor* alami. Salah satu inovasi pembuatan *flavor* alami yaitu garam sedap yang terbuat dari bahan alami ikan inferior. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan formula yang tepat pada pembuatan garam sedap dengan penambahan bahan tambahan dari hasil hidrolisis enzimatis ikan inferior, serta hasil kadar protein terlarut, produk Maillard, tingkat ketengikan, warna, analisa proksimat (protein, abu, air, dan lemak) dan sensoris. Pengujian secara sensoris dilakukan agar peneliti mengetahui bagaimana respon dari konsumen mengenai produk yang telah diteliti.

Rasa pahit merupakan kendala utama terhadap penerimaan protein hidrolisat. Selain rasa pahit yang di timbulkan, aroma dan citarasa dari ikan inferior yang di hasilkan menyebabkan aroma garam gurih berbau menyengat dan citarasanya kurang sedap. Metode penutupan rasa pahit dapat dilakukan dengan penambahan gelatin, karena glisin sebagai produk hidrolisisnya dapat menurunkan rasa pahit dari protein hidrolisat. Metode yang digunakan untuk menutupi aroma ikan yang menyengat yaitu dengan adanya penambahan jeruk nipis yang mempunyai pH asam. Selain itu juga di gunakan penambahan bawang putih dapat membantu memperbaiki aroma dari bahan yang berbau amis atau berbau ikan yang menyengat, serta untuk menambah citarasa dari garam sedap juga di beri tambahan garam, dimana garam berfungsi sebagai bahan penimbul citarasa dan bahan pengawet.

Serangkaian uji coba telah dilakukan dengan menggunakan enzim protease biduri dan papain dengan perbandingan 70% : 30% (Konsentrasi enzim yang digunakan berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu 0,15 %) dari % berat dari daging ikan inferior, sistein sebanyak 0,6% dan gelatin sebanyak 1% (% berat bahan yang sudah dikukus), serta rasio yang berbeda pada penambahan ikan inferior (50, 30, 20, 10, 5 gram) dan bahan tambahan dari persen berat pengurangan ikan (50, 70, 80, 90, 95 gram) yaitu penambahan garam (80%), jeruk nipis (15%), bubuk bawang putih (5%), CMC (0,4%), dan gula (2%). Di antara semua perlakuan, rasio penambahan ikan sebesar 50% dan bahan tambahan 50% menunjukkan perlakuan terbaik berdasarkan tingkat ketengikan, produk maillard, kadar protein terlarut, kadar lemak, dan kadar protein. Sedangkan untuk uji sensoris rasio penambahan ikan 10% dan bahan tambahan 90% merupakan perlakuan paling disukai oleh panelis karena aroma ikan yang tidak terlalu kuat.



## SUMMARY

**Formulation and Characterization of Enzymatic Hydrolysis Inferior Fish as Savory Salt;** Ria Dewi Nurani, 101710101083; 2015: 65 pages; the Agricultural Product Department, the Faculty of Agricultural Technology, Jember University.

Fish protein hydrolyzate is a product of hydrolysis that can be conducted enzymatically using proteases. Based on the pattern of the substrate solution, protease enzymes are classified into two types, there are endopeptidase and eksopeptidase. Endopeptidase is a protease that cuts the peptide bond in the middle of the protein, while eksopeptidase is a protease that cuts the peptide bond at the end of the protein. Results of fish protein hydrolyzate can be used as natural flavor. One innovation is manufacture of natural flavor savory salt made from natural materials inferior fish. The purpose of this study is to determine the right formula in the manufacture of salt savory with the addition of extra material from the enzymatic hydrolysis of fish inferior, and the results of the levels of soluble protein, Maillard products, the level of rancidity, color, proximate analysis (protein, ash, water, and fat) and sensory. Sensory testing is done so researchers know how the response from consumers about products that have been researched.

The bitter taste is the main obstacle to the acceptance of protein hydrolysates. In addition that caused of bitter taste, aroma and flavor of the fish that produced inferior causes salt savory aroma and the flavor is less smelling odor. The method reduces the bitter taste can be done with the addition of gelatin, because glycine as hydrolysis products can reduce the bitter taste of protein hydrolysates. The method used to cover the sting aroma of the fish with the addition of lime which has an acidic pH. It also used the addition of garlic can help improve the aroma of a substance that smells fishy or stinging smell of fish, as well as to add a savory taste of salt also give additional salt, wherein the salt function as material producers have flavors and preservatives.

Treatment trials have been conducted using protease enzyme papain Biduri and with a ratio of 70%: 30% (concentration of enzyme used is based on previous research that is 0.15%) of% by weight of fish flesh inferior, cysteine as much as 0.6% and as much gelatin 1% (% by weight of material that has been steamed), as well as different ratios on the addition of fish inferior (50, 30, 20, 10, 5 grams) and additional material from the weight percent reduction in fish (50, 70, 80, 90, 95 gram ) which is the addition of salt (80%), lime (15%), garlic powder (5%), CMC (0.4%), and sugar (2%). Among all treatments, the addition of fish ratio 50% and 50% additional material showed the best treatment based on the level of rancidity, Maillard products, soluble protein content, fat content and protein content. For the sensory test fish the addition ratio of 10% and 90% additional material is most preferred by the panelists treatment because the smell of fish that are not too strong.

## PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas limpahan rahmat, taufiq dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Formulasi dan Karakterisasi Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik dari Ikan Inferior”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan Strata Satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Dr. Yuli Witono, S.TP., MP., selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
2. Ir. Giyarto, M.Sc., selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian; Universitas Jember;
3. Dr. Bambang Herry P., S.TP., MSi., selaku komisi bimbingan Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember;
4. Dr. Yuli Witono, S.TP., MP., selaku Dosen Pembimbing Utama, dan Ir. Wiwik Siti Windarti, M.P, selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian guna memberikan bimbingan dan pengarahan demi kemajuan dan penyelesaian penelitian dan penulisan skripsi ini;
5. Prof. Tsutomu Morinaga, Ph. D., selaku Ketua International Student dan Tomoyuki Yoshino Ph. D., selaku dosen pembimbing penelitian dari Prefectural University of Hiroshima, Shobara, Japan, yang telah memberikan kesempatan untuk dapat melakukan penelitian bersama selama 3 bulan di laboratorium Prefectural University of Hiroshima, Japan;
6. Ir. Sukatiningsih M.S., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan waktu dan perhatian dalam bentuk nasihat serta teguran selama kegiatan bimbingan akademik;
7. Ir. Sukatiningsih M.S., dan Ahmad Nafi S.TP., M.P., selaku dosen penguji. Terimakasih atas masukan dan kesediaan sebagai penguji;

8. Segenap dosen, teknisi laboratorium, dan karyawan Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember yang telah meluangkan waktu dan membantu penyelesaian skripsi ini;
9. Ibu Hj. Siti Misfaeny dan Bapak H. Drs. Saprawi, kedua orang tuaku tercinta terima kasih atas doa yang selalu menyertaiku, pengorbanan, kasih sayang yang tiada henti kepadaku, dan semangat yang tak pernah putus, serta untuk kakak-kakakku tercinta Arista Maisyaroh dan Ardiansyah Fabriangga yang selalu memberikan semangat, dan bantuan yang tiada henti, dan tidak lupa keluarga besar yang selalu memberikan doa dan semangat untukku;
10. Para sahabat dan temanku tercinta: Septy, Eksi, Hastri, Ayu May, dan Ara yang telah memberikan semangat dan bantuan yang sangat berharga kepadaku serta teman-teman angkatan 2010 yang tak bisa disebutkan satu per satu lagi kalian telah memberikan semangat dan motivasi kepadaku, kalian tidak terlupakan;
11. Septy Handayani sebagai teman seperjuangan yang selalu dan setia menemaniku baik suka dan duka;
12. Afan Bagus Mananda yang selalu memberikan doa dan semangat tiada henti.
13. Dina Mustika dan Lulus Kartika yang telah berjuang bersama melaksanakan penelitian di Prefectural University of Hiroshima, Japan.
14. Rekan tim penelitian di Indonesia Lia, Imel, Citra, Belgies, Nawinda, Intan, Mbak Yuanita yang telah turut serta merasakan jerih payah selama proses penelitian;
15. Semua pihak yang mengenalku dimanapun kalian berada terimakasih atas doa dan dukungannya. Terimakasih.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun demi kesempurnaan skripsi ini sangat penulis harapkan. Akhirnya penulis berharap agar skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan serta pengetahuan bagi pembaca.

**DAFTAR ISI**

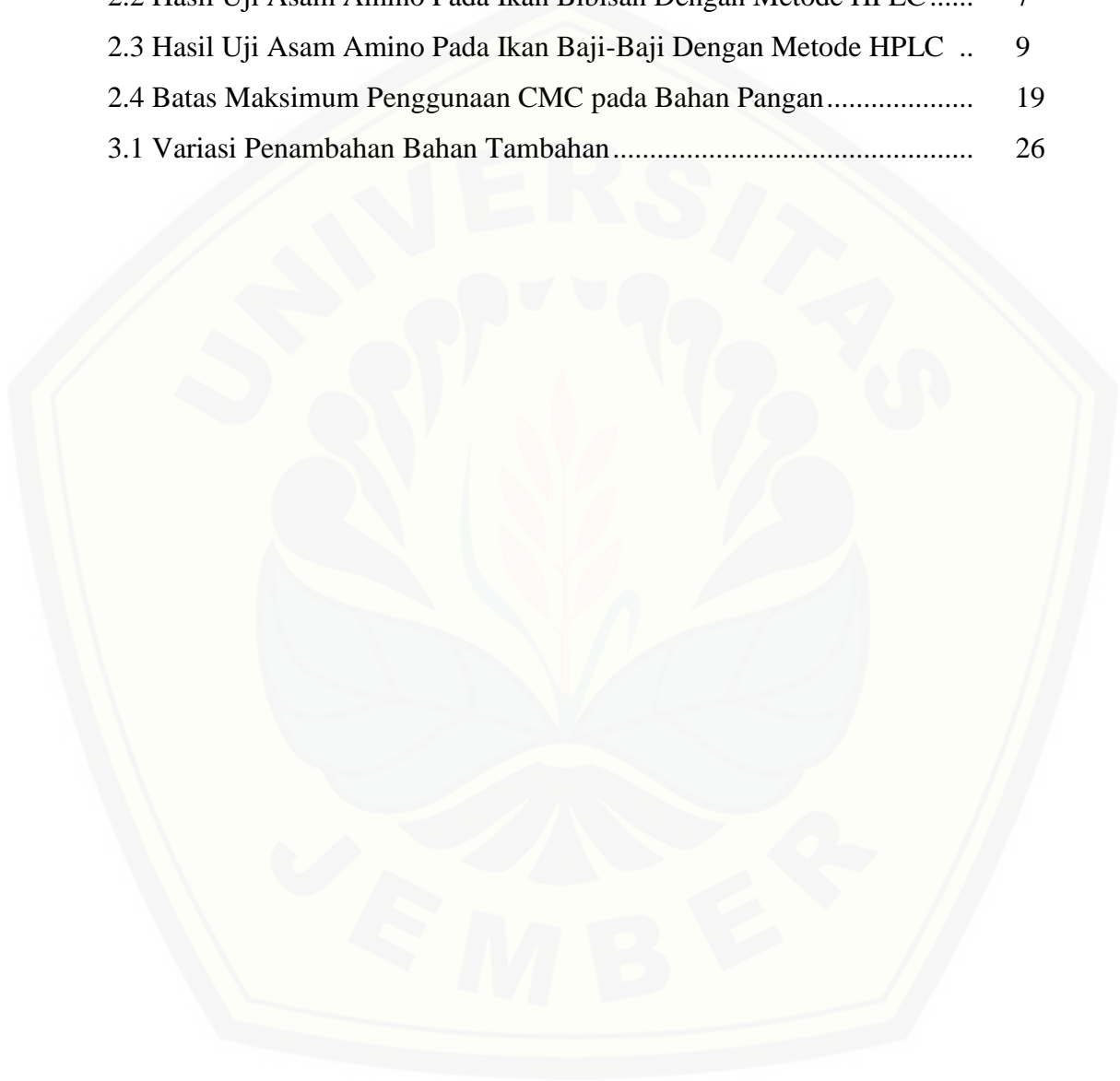
	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	ii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iii
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	iv
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	v
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vi
<b>RINGKASAN</b> .....	vii
<b>SUMMARY</b> .....	ix
<b>PRAKATA</b> .....	xi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xiii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xvi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xvii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xviii
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>1.1 Latar Belakang</b> .....	1
<b>1.2 Rumusan Masalah</b> .....	2
<b>1.3 Tujuan</b> .....	3
<b>1.4 Manfaat</b> .....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>2.1 Ikan Inferior</b> .....	4
2.1.1 Ikan Lidah ( <i>Cynoglossus Lingua</i> ).....	4
2.1.2 Ikan Bibisan ( <i>Apogon Abimaculosus</i> ).....	6
2.1.3 Ikan Baji-baji ( <i>Platycephalidae Cymbacephalus</i> ).....	8
<b>2.2 Hidrolisis Protein</b> .....	9
<b>2.3 Enzim Protease</b> .....	11
2.3.1 Enzim Biduri .....	12
2.3.2 Enzim Papain .....	14
<b>2.4 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Aktifitas Enzim</b> .....	15

2.4.1 Pengaruh Suhu.....	16
2.4.2 Pengaruh pH.....	16
2.4.3 Pengaruh Konsentrasi Enzim.....	17
2.4.4 Pengaruh Konsentrasi Substrat.....	17
2.4.5 Pengaruh Aktifator dan Inhibitor .....	17
<b>2.5 Bahan-bahan yang Digunakan dalam Pembuatan</b>	
<b>Flavor Enhancer</b> .....	17
2.5.1 CMC ( <i>Carboxy Metil Cellulose</i> ) .....	17
2.5.2 Garam Dapur .....	19
2.5.3 Gelatin .....	20
2.5.4 Bawang Putih ( <i>Allium longicuspis</i> ) .....	21
2.5.5 Jeruk Nipis ( <i>Citrus aurantifolis</i> ) .....	22
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	24
<b>3.1 Bahan dan Alat</b> .....	24
3.1.1 Bahan .....	24
3.1.2 Alat .....	24
<b>3.2 Tempat dan Waktu Penelitian</b> .....	25
<b>3.3 Metode Penelitian</b> .....	25
3.3.1 Pelaksanaan Penelitian .....	25
3.3.2 Rancangan Penelitian .....	26
<b>3.4 Parameter Pengamatan</b> .....	28
<b>3.5 Prosedur Analisis</b> .....	28
3.5.1 Kadar Protein Terlarut .....	28
3.5.2 Dproduk Mailard.....	28
3.5.3 Tingkat Ketengikan .....	28
3.5.4 Warna (Tingkat Kecerahan) .....	29
3.5.5 Kadar Air .....	29
3.5.6 Kadar Lemak .....	29
3.5.7 Kadar Abu .....	30
3.5.8 Kadar Protein .....	30
3.5.9 Uji Organoleptik .....	31

<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	33
<b>4.1 Protein Terlarut</b> .....	33
<b>4.2 Produk Maillard</b> .....	34
<b>4.3 Tingkat Ketengikan</b> .....	35
<b>4.4 Warna ( Tingkat Kecerahan)</b> .....	37
<b>4.5 Kadar Air</b> .....	38
<b>4.6 Kadar Lemak</b> .....	39
<b>4.7 Kadar Protein</b> .....	40
<b>4.8 Kadar Abu</b> .....	41
<b>4.9 Organoleptik</b> .....	42
4.9.1 Warna (Tingkat Kecerahan) .....	42
4.9.2 Aroma .....	43
4.9.3 Rasa Gurih .....	44
4.9.4 Kesukaan Keseluruhan .....	45
<b>BAB 5. PENUTUP</b> .....	47
<b>5.1 Kesimpulan</b> .....	47
<b>5.2 Saran</b> .....	47
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	48
<b>LAMPIRAN</b> .....	52

**DAFTAR TABEL**

	Halaman
2.1 Hasil Uji Asam Amino Pada Ikan Lidah Dengan Metode HPLC.....	6
2.2 Hasil Uji Asam Amino Pada Ikan Bibisan Dengan Metode HPLC .....	7
2.3 Hasil Uji Asam Amino Pada Ikan Baji-Baji Dengan Metode HPLC ..	9
2.4 Batas Maksimum Penggunaan CMC pada Bahan Pangan.....	19
3.1 Variasi Penambahan Bahan Tambahan.....	26





**DAFTAR GAMBAR**

	Halaman
2.1 Ikan Lidah .....	5
2.2 Ikan Bibisan .....	6
2.3 Ikan Baji-Baji .....	8
2.4 Tanaman Biduri.....	14
2.5 Tanaman Pepaya .....	15
3.1 Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Inferior.....	27
4.1 Kadar Protein Terlarut Garam Sedap Hasil Hidrolisis secara Enzimatis .....	33
4.2 Nilai Produk Mailard Garam Sedap Hasil Hidrolisis secara Enzimatis .....	35
4.3 Tingkat Ketengikan Garam Sedap Hasil Hidrolisis secara Enzimatis .....	36
4.4 Tingkat Kecerahan Garam Sedap Hasil Hidrolisis secara Enzimatis .....	38
4.5 Kadar Air Garam Sedap Hasil Hidrolisis secara Enzimatis.....	39
4.6 Kadar Lemak Garam Sedap Hasil Hidrolisis secara Enzimatis.....	40
4.7 Kadar Protein Garam Sedap Hasil Hidrolisis secara Enzimatis.....	41
4.8 Kadar Abu Garam Sedap Hasil Hidrolisis secara Enzimatis .....	42
4.9 Tingkat Kesukaan Warna Garam Sedap Hasil Hidrolisis secara Enzimatis.. .....	43
4.10 Tingkat Kesukaan Aroma Garam Sedap Hasil Hidrolisis secara Enzimatis. ....	44
4.11 Tingkat Kesukaan Kegurihan Garam Sedap Hasil Hidrolisis secara Enzimatis .....	45
4.12 Tingkat Kesukaan Keseluruhan Kegurihan Garam Sedap Hasil Hidrolisis secara Enzimatis .....	46

**DAFTAR LAMPIRAN**

	Halaman
Lampiran A. Kadar Protein Terlarut Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik Ikan Inferior.....	53
Lampiran B. Produk Maillard Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik Ikan Inferior.....	54
Lampiran C. Tingkat Ketengikan Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik Ikan Inferior.....	55
Lampiran D. Warna (Tingkat Kecerahan) Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik Ikan Inferior.....	56
Lampiran E. Kadar Air Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik Ikan Inferior .....	57
Lampiran F. Kadar Lemak Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik Ikan Inferior .....	58
Lampiran G. Kadar Protein Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik Ikan Inferior.....	59
Lampiran H. Kadar Abu Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik Ikan Inferior.....	60
Lampiran I. Kadar Abu Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik Ikan Inferior.....	61
Lampiran J. Data sensori kesukaan Garam Sedap Hasil Hidrolisis Enzimatik Ikan Inferior.....	62

## BAB I. PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pangan merupakan salah satu kebutuhan pokok yang sangat penting dalam kehidupan manusia. Terdapat dua hal penting yang perlu di pertimbangkan dalam pengolahan pangan, yang pertama adalah untuk mendapatkan bahan pangan yang aman untuk dimakan yang kedua agar bahan pangan tersebut dapat diterima, khususnya diterima secara sensori yang meliputi penampakan (aroma, rasa, mouthfeel, aftertaste) dan tekstur (Apriyantono, 1989). Untuk memenuhi dua hal tersebut maka sudah banyak penelitian yang dilakukan untuk mendapatkan bahan pangan alternatif yang memiliki nilai gizi namun tetap memperhatikan aspek citarasa (*flavor*), salah satu produk yang dapat diaplikasikan yaitu *flavor potentiator*.

Salah satu jenis bahan pembangkit cita rasa yang umum adalah asam amino L atau garamnya yang biasa disebut MSG (*Monosodium glutamat*). Komponen pembangkit rasa tersebut digunakan untuk menimbulkan rasa gurih pada makanan, tetapi keamanan dari bahan-bahan sintetik tersebut masih diragukan seperti halnya kekhawatiran timbulnya *Chinese Restaurant Syndrome (CRS)* (Syarifahdan Indriasari, 2006). Makanan yang mengandung MSG apabila dikonsumsi sering kali dapat mengganggu kesehatan karena MSG ketika dimakan akan terurai menjadi sodium dan glutamat sehingga MSG merupakan sumber natrium yang tinggi. Tahun 1970 FDA menetapkan batas aman konsumsi MSG 120 mg/kg berat badan/hari yang disetarakan dengan konsumsi garam. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa masyarakat dalam mengkonsumsi MSG sebagai penyedap dalam berbagai masakan sering melebihi dosis konsumsi yang aman bagi kesehatan (Maesendan Somaatmadja, 1993).

Untuk mendapatkan bahan penimbul citarasa yang alami diperlukan adanya teknologi pengolahan pangan. Dengan teknologi tersebut nantinya dapat diciptakan inovasi pembuatan flavor alami yang aman dikonsumsi masyarakat. Salah satu inovasi pembuatan tersebut yaitu garam sedap yang terbuat dari bahan

alami ikan inferior. Ekstraksi dari bahan yang mengandung protein menghasilkan hidrolisat protein. Selama proses hidrolisis, protein akan mengalami perubahan sehingga hidrolisat protein dapat diaplikasikan untuk tujuan tertentu (Cordle, 1994).

Hidrolisat protein ikan merupakan suatu produk hasil hidrolisis yang dapat dilakukan secara enzimatik menggunakan protease. Hidrolisis secara enzimatik lebih menguntungkan dibandingkan dengan hidrolisis secara kimia karena tidak mengakibatkan kerusakan asam amino dan waktu yang dibutuhkan relatif lebih singkat (Clemente, 2002). Pemanfaatan hidrolisat protein relatif lebih murah daripada campuran asam amino sintetis. Salah satu teknik hidrolisis yang sering dilakukan adalah secara enzimatik menggunakan protease.

Rasa pahit merupakan kendala utama terhadap penerimaan protein hidrolisat. Selain rasa pahit yang ditimbulkan, aroma dan citarasa dari ikan inferior yang dihasilkan menyebabkan aroma garam gurih berbau menyengat dan citarasanya kurang sedap. Metode penutupan rasa pahit dapat dilakukan dengan penambahan gelatin, karena glisin sebagai produk hidrolisisnya dapat menurunkan rasa pahit dari protein hidrolisat (Prasulistiyowati, 2011).

Metode yang digunakan untuk menutupi aroma ikan yang menyengat yaitu dengan penambahan jeruk nipis yang mempunyai pH asam. Menurut Supirman, dkk (2013), dalam penelitian dengan penambahan jeruk nipis pH 4 dapat menghilangkan bau amis yang ditimbulkan pada alga yaitu sejenis rumput laut yang beraroma amis. Selain itu juga digunakan penambahan bawang putih sebagaimana penelitian Hariyani (2006) menjelaskan bahwa penambahan bawang putih dapat membantu memperbaiki aroma dari bahan yang berbau amis atau berbau ikan yang menyengat. Untuk menambah citarasa dari garam sedap juga ditambahkan garam, yang berfungsi sebagai bahan penimbul citarasa dan pengawet. Oleh karena itu penelitian ini dilakukan untuk mengetahui kombinasi pengaruh penambahan bahan tambahan yaitu jeruk nipis, bawang putih, dan garam pada substrat dalam produksi garam gurih.

## 1.2 Rumusan Masalah

Pembuatan *indegeneus flavor* pada substrat ikan inferior dengan menggunakan enzim protease biduri dapat menghasilkan garam sedap, tetapi terdapat permasalahan didalamnya yaitu belum diketahui jumlah bahan tambahan jeruk nipis, garam, dan bawang putih yang tepat untuk menghasilkan *indegeneus flavor* sehingga dihasilkan garam gurih dengan sifat-sifat baik dan dapat diterima sifat organoleptiknya oleh konsumen.

## 1.3 Tujuan

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Menentukan formula yang tepat pada pembuatan garam sedap hasil hidrolisis enzimatis dari ikan inferior dengan penambahan bahan tambahan dengan sifat-sifat yang baik dan disukai.
2. Mengetahui karakteristik garam sedap hasil hidrolisis enzimatis dari ikan inferior dengan penambahan bahan tambahan.

## 1.4 Manfaat

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah :

1. Menambah alternatif flavor alami sebagai food additives yang lebih aman untuk industri pangan.
2. Mendorong penggalian sumber-sumber flavor alami baru berbasis potensi lokal dari hasil perikanan laut.
3. Meningkatkan nilai guna ikan inferior yang selama ini belum banyak dimanfaatkan untuk produk olahan.

## BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Inferior

Berdasarkan Kamus Besar Bahasa Indonesia (2001), pengertian inferior adalah bermutu rendah. Namun dalam penelitian ini, yang dimaksudkan ikan inferior merupakan ikan yang bermutu rendah secara ekonomis yakni harganya murah, jumlahnya melimpah, dan belum dimanfaatkan secara optimal, tetapi sangat berpotensi untuk dikembangkan menjadi produk yang memiliki nilai ekonomi yang lebih tinggi.

Ikan inferior sangat banyak ditemukan di laut Indonesia, salah satunya terdapat di Pulau Talango, Sumenep, Madura. Masyarakat pulau tersebut biasanya memanfaatkan ikan inferior untuk produk pangan rumahan, karena biasanya jenis ikan inferior tersebut tidak laku di jual di pasaran. Beberapa jenis ikan inferior yaitu di antaranya Ikan Lidah (*Cynoglossus lingua*), Ikan Bibisan (*Apogon albimaculosus*) dan Ikan Baji-Baji (*Platycephalidae cymbacephalus*).

#### 2.1.1 Ikan Lidah(*Cynoglossus lingua*)

Daerah persebaran ikan lidah adalah di seluruh perairan pantai Indonesia terutama Laut Jawa, bagian timur Sumatera, sepanjang Kalimantan, Sulawesi Selatan, Laut Arafuru, Teluk Siam, Teluk Benggala, sepanjang pantai Laut Cina Selatan.

Ikan lidah pasir mempunyai bentuk badan memanjang seperti lidah dan gepeng. Sirip punggung dan dubur menjadisaat dengansiripekor. Keduamatanya beradapadasisikiri (sisi atas), jaraknya berdekatan satu sama lain. Ujung moncong tumpul mendekati bulat (Deptan, 2013).

Ikan ini bukan termasuk jenis komersial seperti Udang, terutama sejak pelarangan alat Pukat harimau (*Trawl*). Alat tangkap yang umum dipakai termasuk *Trawl*, Dogol, Payang dan perangkap tradisional. Gambar Ikan Lidah dapat dilihat pada Gambar 2.1.



**Gambar 2.1** Ikan Lidah

Klasifikasi ikan Lidah dapat dilihat sebagai berikut.

Ordo	: Pleuronectiform
Famili	: Soleidae
Genus	: Achiroides
Spesies	: <i>Cynoglossus arel</i>
Nama Binomial	: <i>Cynoglossus arel</i>

Ikan Lidah umumnya bertelur di daerah lepas pantai dan muara sungai. Dalam sekali reproduksi, betina mampu melepaskan beberapa ratus ribu telur sampai dua juta telur. Telur-telur tersebut akan menjadi larva berukuran 1,5 – 3 mm. Pada saat masih menjadi larva hingga menjadi Ikan Lidah dewasa, tubuh ikan ini semakin berbentuk pipih, sedangkan salah satu matanya bergerak ke arah salah satu sisi tubuhnya. Setelah itu, warna bagian tubuh bawah berubah menjadi putih. Kandungan nutrisi ikan ini cukup tinggi dan rasanya juga enak, daging Ikan Lidah memang tidak terlalu tebal tetapi rasanya sangat gurih. Ikan ini juga dipercaya dapat meningkatkan stamina (Deptan, 2013).

Ikan lidah memiliki 17 jenis asam amino dari metode uji HPLC. Dari ketujuh belas asam amino tersebut, L-glutamic acid merupakan asam amino tertinggi. L-glutamic acid diketahui sebagai jenis asam amino yang berperan penting dalam penentuan tingkat kegurihan. Adapun ketujuh belas asam amino tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.1.

**Tabel 2.1.** Hasil Uji Asam Amino Pada Ikan Lidah, Ikan Bibisan , dan Ikan Baji-baji Dengan Metode HPLC

Komponen asam amino (%)	Ikan Lidah	Ikan Bibisan	Ikan Baji-baji
L-aspartic acid	1,479	1,915	2,100
L-serine	0,481	0,484	0,504
L-glutamic acid	2,541	3,150	3,218
Glycine	1,122	0,764	0,968
L-histidine	0,554	0,408	0,532
L-agrinine	1,465	1,208	1,449
L-threonine	0,869	0,722	0,890
L-alanine	1,034	1,053	1,224
L-proline	0,719	0,632	0,802
L-cystine	0,050	0,039	0,027
L-tyrosine	0,718	0,548	0,688
L-valine	1,063	1,035	1,175
L-Metheonine	0,770	0,649	0,788
L-lysineHCl	1,820	2,345	2,457
L-isoleucine	0,983	0,975	1,121
L-leucine	1,566	1,560	1,766
L-Phenylalanine	0,991	0,781	1,011

Sumber : Witono dkk., (2013).

### 2.1.2 Ikan Bibisan (*Apogon albimaculosus*)

Ikan dalam famili ini tergolong karnivora. Badannya kecil dan gerakannya cepat. Beberapa jenis apogonidae berwarna terang dan mempunyai pola warna yang menarik berupa garis atau titik. Tubuhnya panjang, agak tinggi, dan pipih. Kepalanya besar dengan mulut yang menonjol. Sisiknyaberukuran kecil sampai besar, sikloid pada kepala dan sikloid atau stenoid pada tubuh. Gurat sisinya sederhana dan kadang-kadang terputus. Pre-operculum bergerigis sedangkan operculum berpenutup dan berduri (Deptan, 2013).





**Gambar 2.2** Ikan Bibisan

Klasifikasi ikan Bibisan adalah sebagai berikut :

Nama Indonesia	: Ikan Bibisan, Ikan Re'ke'
Nama Internasional	: Cardinalfishes
Nama Latin	: <i>Apogon albimaculosus</i>
Filum	: Chordata
Kelas	: Osteichtyes
Famili	: Apogonidae
Genus	: Pterapogon

Umumnya ikan ini hidup di sekitar pantaikarang dan di antararumput-rumput laut. Namun ada juga yang hidup di antara daerah pasang surut yang dangkal dan di perairan yang lebih dalam. Beberapa jenis apogonidae lebih suka hidup di perairan payau atau di perairan tawar yang berjarak beberapa mil dari laut. Mereka banyak tersebar di perairan Maluku, Flores, Lampung, Kepulauan Seribu, Bali dan Banyuwangi (Deptan, 2013).

Sama halnya dengan ikan lidah, ketika diuji dengan metode HPLC ikan bibisan juga memiliki 17 jenis asam amino dengan L-glutamic acid sebagai asam amino tertingginya. Adapun jenis-jenis asam amino yang terdapat pada ikan bibisan dapat dilihat pada Tabel 2.1.

### 2.1.3 Ikan Baji-Baji (*Platycephalidae cymbacephalus*).

Ikan baji-baji merupakan ikan yang mempunyai potensi sebagai alternatif bahan pangan. Ikan ini merupakan salah satu bahan pangan yang cukup penting bagi penduduk Kepulauan Indo-Australia dan Australia (Wheeler, 1975).

Penelitian mengenai ciri morfologi spesies *cymbacephalus* masih sangat jarang dilakukan. Adapun klasifikasi dari ikan Baji-Baji adalah sebagai berikut :

Nama Internasional	: Crocodile Flathead
Nama Ilmiah	: <i>Platycephalidae cymbacephalus</i>
Nama Lokal	: Ikan Bebaji, Baji-baji, Baji Buaya
Kelas	: Actinopterygii
Ordo	: Scorpaeniformes
Famili	: Platycephalidae
Genus	: Grammolites

Ikan-ikan famili *Platycephalidae* hidup pada dasar laut yang dangkal dengan substrat berlumpur, berpasir dan kadang-kadang ditemukan pada daerah estuari. Ikan baji-baji merupakan jenis ikan yang mempunyai rasa enak dan daging yang tebal. Di Australia dan kepulauan Indo-Australia, ikan genus *Platycephalus* merupakan bahan makanan yang cukup penting bagi penduduk (Wheeler, 1975). Nama lain ikan baji-baji adalah *Platycephalus scaber*, *Cotus scaber*, dan *Thysanopris scaber*. Nama lokal ikan baji-baji adalah mutu kerkau (Indonesia), tekeh (Jawa), muntu kerbau (Jawa Barat), co'o poteh, mangada (Madura), baji-baji (Jakarta, Sulawesi Selatan), petok (Jawa Tengah), pahat (Jawa Timur), badukan (Sumatra). Nama umum ikan baji-baji adalah rough flathead.

Ikan ini biasanya ditemukan pada kedalaman 7-85 meter. Penyebarannya meliputi daerah Indo-Pasifik Barat, Srilanka, Utara India sampai Selatan Jepang, Selatan Filipina, Laut Cina Selatan, Thailand, Indonesia, Papua, Laut Arafuru, Australia (Wheeler, 1975). Gambar ikan baji-baji dapat dilihat pada Gambar 2.3.



**Gambar 2.3** Ikan Baji-Baji

Ikan baji-baji memiliki 17 jenis asam amino dari metode uji HPLC. Dari ketujuh belas asam amino tersebut, L-glutamic acid merupakan asam amino

tertinggi. Adapun jenis-jenis asam amino yang terdapat pada ikan bibisan dapat dilihat pada Tabel 2.1.

## 2.2 Hidrolisis Protein

Hidrolisis protein adalah proses pecahnya atau terputusnya ikatan peptida dari protein menjadi molekul yang lebih sederhana. Hidrolisis ikatan peptida menyebabkan beberapa perubahan pada protein, yaitu meningkatkan kelarutan karena bertambahnya kandungan  $\text{NH}_3^+$  dan  $\text{COO}^-$  dan berkurangnya berat molekul protein atau polipeptida, rusaknya struktur globular protein. Dalam proses hidrolisis, protein akan terpecah secara bertahap menjadi satu molekul peptida sederhana dan asam-asam amino. Proses hidrolisis yang sempurna akan menghasilkan asam amino konfigurasi L dari rantai sisi awalnya akan berbeda satu sama lainnya (Nielsen, 1997).

Menurut Winarno (1995), ketika protein terhidrolisis akan terjadi perubahan cita rasa yang disebabkan oleh pembentukan peptida-peptida pendek dan asam-asam amino, serta lepasnya komponen-komponen cita rasa non protein dari bahan baku. Setiap komponen bahan baku mempunyai karakter rasa khas, yang mungkin ditimbulkan dari komponen non protein. Hidrolisis menyebabkan penurunan kemampuan interaksi komponen aroma tersebut. Protein pangan umumnya berperan pada pembentukan rasa gurih, sedangkan peptida yang memiliki berat molekul rendah memiliki rasa pahit. Rasa pahit merupakan masalah utama pada hidrolisat protein.

Ada beberapa cara untuk menghidrolisis protein, yaitu hidrolisis secara kimia (menggunakan asam atau basa) dan secara enzimatik. Dengan menggunakan teknik hidrolisis akan menghasilkan senyawa-senyawa pembangkit rasa seperti asam amino L, nukleotida dan berbagai macam peptida, produk hidrolisis ini dapat menjadi sumber pembangkit cita rasa umami dan juga sebagai sumber cita rasa daging. Pada proses hidrolisis, protein yang

tidak larut diubah menjadi nitrogen terlarut berupa peptide, asam amino, amoniak dan senyawa-senyawa pembentuk cita rasa (Winarno, 1995).

Hidrolisis protein secara sempurna menggunakan asam, alkali, enzim akan menyebabkan asam amino membentuk konfigurasi L dan D. Rantai sisi awalnya akan berbeda satu sama lain. Sebagian besar protein memiliki komponen asam amino yang terdiri dari 20 asam amino yang berbeda. Hidrolisis secara kimia dapat menggunakan asam atau basa. Asam yang dapat digunakan antara lain HCl,  $H_2SO_4$  pekat (4-8 N) dan dipanaskan pada suhu mendidih, dapat dilakukan dengan tekanan atmosfer selama satu jam. Hidrolisis protein menggunakan basa merupakan proses pemecahan polipeptida dengan menggunakan basa atau alkali kuat, seperti NaOH dan KOH pada suhu tinggi selama beberapa jam dengan tekanan atmosfer (Giridra, 1993).

Hidrolisis enzimatis dilakukan dengan menggunakan enzim, dapat digunakan satu jenis enzim saja atau campuran beberapa jenis enzim. Pada hidrolisis enzimatis perlu dilakukan pengaturan kondisi pH dan suhu optimum (Uhlir, 1998). Dibandingkan hidrolisis secara kimia, hidrolisis enzimatis lebih menguntungkan karena tidak mengakibatkan kerusakan asam amino dan asam-asam amino bebas, peptida dengan rantai pendek yang dihasilkan lebih bervariasi, tingkat kehilangan asam amino esensial lebih rendah, biaya produksi relatif lebih murah, menghasilkan komposisi asam amino tertentu terutama peptida rantai pendek (dipeptida dan tripeptida) yang mudah diabsorpsi oleh tubuh (Giyatmi, 2001). Hidrolisis protein secara enzimatis menghasilkan asam-asam amino bebas dan peptide dengan rantai pendek yang bervariasi untuk memproduksi hidrolisat dengan *flavor* yang berbeda serta menghambat kerusakan tirosin dan triptofan khususnya triptofan pembentuk *flavor* (Giyatmi, 2001).

### 2.3 Enzim Protease

Enzim adalah suatu protein yang berfungsi sebagai katalis atau senyawa yang mempercepat proses reaksi tanpa habis bereaksi dalam suatu reaksi kimia (Winarno, 1995). Enzim protease memiliki tingkat spesifitas yang berbeda-beda dalam menghidrolisis ikatan peptida di dalam molekul protein. Enzim protease, sama halnya dengan enzim hidrolase yang lain dapat memecah substrat dengan adanya molekul air.

Enzim protease merupakan enzim pengurai atau pemecah protein. Reaksi katalisis protease secara umum adalah menghidrolisis ikatan peptida protein. Enzim protease merupakan sekelompok besar enzim yang terdapat secara luas di alam. Enzim protease berbentuk molekul dengan ukuran yang relatif kecil, padat, dan memiliki struktur berbentuk bola yang dapat mengkatalisasi atau memecah ikatan peptida dalam protein. Enzim protease merupakan enzim yang banyak digunakan dalam industri pangan. Saat ini, enzim protease menduduki tempat teratas dalam hal pemenuhan kebutuhan enzim dunia. Sebanyak 70% dari pasar enzim dunia adalah enzim protease (Winarno, 1995).

Enzim protease yang sudah diisolasi dari jaringan baik dari mikroorganisme, jaringan hewan, maupun tumbuh-tumbuhan mempunyai peranan besar dalam berbagai industri. Kemampuan proteolisis dari jenis enzim ini telah banyak diaplikasikan pada industri-industri pembuatan roti, produksi keju, penjernih bir, pengempuk daging dan sebagainya. Enzim protease memiliki peranan yang sangat penting dalam proses biologi makhluk hidup, misalnya dalam aktivitas metabolisme dan penentuan gen, modifikasi enzim, serta hidrolisis protein dari ukuran besar menjadi lebih kecil atau lebih sederhana (Kreative, 2011).

Menurut Winarno (1997) dalam industri pengolahan makanan enzim protease merupakan salah satu enzim terbesar penggunaannya selain amilase, glukamilase dan glukosidase. Berdasarkan letak pemecahannya enzim protease dapat diklasifikasikan menjadi 2 macam yaitu enzim eksopeptidase dan endopeptidase. Enzim eksopeptidase memecah ikatan peptida secara acak dari salah satu ujung protein. Protease eksopeptidase ada 2 macam yaitu karboksi

eksopeptidase dan amino eksopeptidase. Sedangkan enzim protease jenis endopeptidase merupakan enzim yang memecah ikatan peptida secara acak pada bagian tengah (dalam) rantai molekul protein dan menghasilkan unit-unit asam amino.

Enzim protease dapat digunakan untuk menghilangkan kekeruhan pada bir. Kekeruhan ini terjadi karena pengaruh suhu dingin selama penyimpanan maupun presipitasi protein oleh senyawa fenol, kekeruhan yang terjadi pada bir linier dengan jumlah fenol yang ada. Penggunaan enzim protease merupakan salah satu metode yang efisien untuk mencegah terjadinya kekeruhan. Protein pada bir dapat dihidrolisa menjadi peptida-peptida yang lebih kecil, sehingga mencegah terjadinya pengendapan (Kreative, 2011).

### **2.3.1 Enzim Biduri**

Tanaman biduri merupakan tanaman bergetah. Dari seluruh tanaman biduri akan mengalir getah pada tempat yang dilukai atau dipotong. Dalam bidang kedokteran, cairan getah ini mempunyai kegunaan, seperti menstimulir pematangan bisul, untuk menanggalkan gigi geraham, bahkan di beberapa daerah telah digunakan untuk menyembuhkan luka. Getah dari sejenis tanaman biduri yakni *Calotropis procera* telah berhasil digunakan untuk pembuatan keju (Eskin, 1990).

Menurut Kaneda dkk. (1997), berdasarkan pola pemecahan substratnya, enzim protease digolongkan dalam dua jenis yakni: (1) endopeptidase, merupakan protease yang memotong ikatan peptida di tengah; dan (2) eksopeptidase, merupakan protease yang memecah ikatan peptida pada terminal (ujung) dari protein. Hasil hidrolisis dari endopeptidase merupakan fragmen peptida dan peptida, sedangkan hasil hidrolisis dari golongan eksopeptidase berupa fragmen peptida dan asam-asam amino.

Penelitian Witono (2009) menjelaskan bahwa untuk mengetahui enzim biduri sebagai eksopeptidase, dapat dilakukan pola pemecahan substrat dari enzim tersebut dengan metode SDS-PAGE dan TLC. Hasil penelitian tersebut menghasilkan bahwa, dengan metode SDS-PAGE pita-pita yang dihasilkan protease biduri semakin tipis seiring dengan semakin lamanya waktu inkubasi,

sehingga mengindikasikan suatu golongan eksopeptidase. Oleh karena itu, berdasarkan pola pemecahan substratnya, mengindikasikan bahwa enzim protease biduri merupakan enzim eksopeptidase. Jenis eksopeptidase memecah polipeptida pada ujung protein, sehingga dihasilkan peptida rantai panjang dan asam-asam amino. Waktu inkubasi yang semakin lama berakibat peptida rantai panjang akan semakin pendek atau pengujian melalui SDS-PAGE akan menghasilkan pita-pita baru dengan BM yang lebih rendah.

Penelitian Amelia (2013), menyebutkan bahwa enzim biduri memiliki suhu hidrolisis optimal 55°C dan pH optimalnya adalah 7. Witono (2009), menambahkan bahwa protease biduri mampu menghidrolisis berbagai jenis substrat, yaitu *soluble caseine*, isolat protein kedelai, isolat protein koro, miofibril ikan dan gelatin dengan derajat hidrolisis yang bervariasi. Pada konsentrasi dan lama inkubasi yang sama, dihasilkan derajat hidrolisis protease biduri yang berbeda-beda. Perbedaan derajat hidrolisis protease biduri tersebut lebih disebabkan oleh perbedaan jumlah ikatan peptida atau besarnya molekul dari protein substrat.



**Gambar 2.4. Tanaman Biduri**

### **2.3.2 Enzim Papain**

Papain merupakan salah satu enzim protease yang terdapat dalam getah pepaya, baik yang berada di daun, batang maupun buah. Secara praktis getah dari

buah pepaya lebih mudah untuk diproses. Penggunaan papain banyak digunakan untuk pengempuk daging dan bir tahan dingin. Dalam getah pepayan sedikitnya terdapat tiga jenis enzim yaitu papain (10%), khimopapain (45%) dan lisozim (20%) (Suhartono, 1992).

Enzim papain aktivitas optimumnya terjadi pada pH 5 – 7 atau temperatur 50 – 60 C serta akan menurun drastis pada pH dibawah 3 atau diatas pH 11 dan titik isoelektriknya 8,75. Berat molekul enzim ini adalah 23,350 g/mol dan enzim ini terdiri dari 1 polipeptida yang mengandung 212 asam dengan Thio-SH (cys-25) sebagai golongan katalitik.

Menurut Suhartono(1992), papain merupakan salah satu jenis enzim hidrolase yang bersifat proteolitik. Papain oleh Komisi Enzim Internasional diklasifikasikan ke dalam EC 3.4.22,yaitu (3) menunjukkan kelas Hidrolase, (4) menunjukkan sub-kelas amidase, dan (22) menunjukkan sub-sub kelas endopeptidase.Poedjiadi (2006), menambahkan papain tergolong ke dalam endopeptidase, sebab papain dapat memecah protein pada tempat-tempat tertentu dalam molekul protein dan biasanya tidak mempengaruhi gugus yang terletak di ujung molekul.



**Gambar 2.5. Tanaman Pepaya**

#### **2.4 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim**



Enzim adalah protein yang berperan sebagai katalis dalam metabolisme makhluk hidup. Enzim berperan untuk mempercepat reaksi kimia yang terjadi di dalam tubuh makhluk hidup, tetapi enzim itu sendiri tidak ikut bereaksi. Enzim berperan secara lebih spesifik dalam hal menentukan reaksi mana yang akan dipacu dibandingkan dengan katalisator anorganik sehingga ribuan reaksi dapat berlangsung dengan tidak menghasilkan produk sampingan yang beracun. Enzim terdiri dari apoenzim dan gugus prostetik. Apoenzim adalah bagian enzim yang tersusun atas protein. Gugus prostetik adalah bagian enzim yang tidak tersusun atas protein. Gugus prostetik dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu koenzim (tersusun dari bahan organik) dan kofaktor (tersusun dari bahan anorganik). Enzim tak hanya ditemukan dalam sel-sel manusia dan hewan, namun sel-sel tumbuhan juga memiliki enzim sebagai salah satu komponen metabolismenya (Kreative, 2011).

Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim. Menurut Rodwell (1988), faktor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah suhu, pH, konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, dan adanya aktivator dan inhibitor.

#### 2.4.1. Pengaruh suhu

Enzim mempercepat terjadinya reaksi kimia pada suatu sel hidup. Dalam batas-batas suhu tertentu, kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim akan naik bila suhunya naik. Reaksi yang paling cepat terjadi pada suhu optimum (Rodwell, 1988). Oleh karena itu, penentuan suhu optimum aktivitas enzim sangat perlu karena apabila suhu terlalu rendah maka kestabilan enzim tinggi tetapi aktivitasnya rendah, sedangkan pada suhu tinggi aktivitas enzim tinggi tetapi kestabilannya rendah. Namun, kecepatannya akan menurun drastis pada suhu yang lebih tinggi. Hilangnya aktivitas pada suhu tinggi karena terjadinya perubahan konformasi panas (denaturasi) enzim. Kebanyakan enzim aktif pada suhu sekitar 55-60°C. Dalam beberapa keadaan, jika pemanasan dihentikan dan enzim didinginkan kembali aktivitasnya akan pulih. Hal ini disebabkan oleh karena proses denaturasi masih reversible. pH dan zat-zat pelindung dapat mempengaruhi denaturasi pada pemanasan ini (Uhlig, 1998).

#### 2.4.2. Pengaruh pH

Enzim pada umumnya bersifat amfolitik, yang berarti enzim mempunyai konstanta disosiasi pada gugus asam maupun gugus basanya, terutama pada gugus residu terminal karboksil dan gugus terminal aminonya, diperkirakan perubahan kereaktifan enzim akibat perubahan PH lingkungan. Enzim mempunyai aktivitas maksimum pada kisaran pH yang disebut pH optimum. Suasana yang terlalu asam atau alkali akan mengakibatkan denaturasi protein dan hilangnya secara total aktivitas enzim. pH optimum untuk beberapa enzim pada umumnya terletak diantara netral atau asam lemah yaitu 4,5-8. pH optimum sangat penting untuk penentuan karakteristik enzim. Pada substrat yang berbeda, enzim memiliki pH optimum yang berbeda, enzim yang sama sering kali mempunyai pH optimum yang berbeda, tergantung pada asal enzim tersebut. Menurut Syahrul (2008) Pengaruh pH terhadap aktivitas enzim adalah :

- a. Pada pH rendah atau tinggi, enzim akan mengalami denaturasi.
- b. Pada pH rendah atau tinggi, enzim maupun substrat dapat mengalami perubahan muatan listrik dengan akibat perubahan aktivitas enzim.

#### 2.4.3. Pengaruh konsentrasi enzim

Kecepatan reaksi dalam reaksi enzimatik sebanding dengan konsentrasienzim. Semakin tinggi konsentrasi enzim maka kecepatan reaksi akan semakin meningkat hingga pada batas konsentrasi tertentu dimana hasil hidrolisis akan konstan dengan naiknya konsentrasi enzim yang disebabkan penambahan enzim sudah tidak efektif lagi.

#### 2.4.4. Pengaruh konsentrasi substrat

Kecepatan reaksi enzimatik pada umumnya tergantung pada konsentrasi substrat. Kecepatan reaksi akan meningkat apabila konsentrasi substrat meningkat. Peningkatan kecepatan reaksi ini akan semakin kecil hingga tercapai suatu titik batas yang pada akhirnya penambahan konsentrasi substrat hanya akan sedikit meningkatkan kecepatan reaksi. Hal ini disebabkan semua molekul enzim telah membentuk ikatan kompleks dengan substrat yang selanjutnya dengan kenaikan konsentrasi substrat tidak berpengaruh terhadap kecepatan reaksinya.

#### 2.4.5. Pengaruh aktivator dan inhibitor

Beberapa enzim memerlukan aktivator dalam reaksi katalisnya. Aktivator adalah senyawa atau ion yang dapat meningkatkan kecepatan reaksi enzimatik. Komponen kimia yang membentuk enzim disebut juga kofaktor. Kofaktor tersebut dapat berupa ion-ion anorganik seperti Zn, Fe, Ca, Mn, Cu, atau Mg atau dapat pula sebagai molekul organik kompleks yang disebut koenzim. Pada umumnya ikatan antara senyawa organik dengan protein enzim itu lemah dan apabila ikatannya kuat disebut gugus prostetik. Selain dipengaruhi oleh adanya aktivator, aktivator enzim juga dipengaruhi oleh adanya inhibitor. Inhibitor adalah senyawa atau ion yang dapat menghambat aktivitas enzim.

## **2.5 Bahan-Bahan yang Digunakan dalam Pembuatan *Flavor Enhancer***

### **2.5.1 CMC (Carboxymethyl Cellulose)**

CMC merupakan koloid hidrofilik. CMC merupakan salah satu jenis hidrokoloid alam yang telah dimodifikasi dan merupakan anionik polielektrolit. CMC dalam bentuk murninya disebut gum selulosa (Winarno, 1997). CMC merupakan turunan selulosa yang berfungsi memperbaiki tekstur, kestabilan suspensi, emulsi, busa dan meningkatkan viskositas (Fardiaz, 1992). CMC berwarna putih atau sedikit kekuningan, hampir tidak berbau dan tidak berasa. Dalam bentuk serbuk bersifat higroskopis. CMC mempunyai sifat dapat larut dalam air panas dan dingin, lapisannya tahan terhadap minyak dan lemak, dan dapat digunakan pada berbagai produk pangan.

Hidrokoloid atau koloid hidrofilik adalah komponen aditif yang penting dalam industri pangan karena kemampuannya dalam mengubah sifat fungsional produk pangan. Hidrokoloid digunakan untuk kestabilan suspensi. Perubahan viskositas yang ditimbulkan dan kemampuan membentuk lapisan tipis diantaranya komponen produk pangan menyebabkan stabilisasi serta mampu memperangkap dan menahan gas yang terbentuk. Untuk setiap jenis hidrokoloid mempunyai kemampuan meningkatkan kestabilan emulsi yang berbeda-beda, tergantung besar dan bentuk polimernya (Ferdiaz, 1997).

Mekanisme CMC sebagai pengental yaitu mula-mula CMC yang berbentuk garam Na terdispersi dalam air, butir-butir CMC yang bersifat hidrofilik menyerap air dan membengkak. Air menjadi tidak dapat bergerak bebas sehingga keadaan larutan menjadi lebih mantap yang ditandai dengan kenaikan viskositasnya (Winarno, 1997). Selain itu mekanisme CMC juga dikatakan sebagai penyelubung butiran yaitu dengan membentuk lapisan tipis yang resisten terhadap terjadinya pengendapan. Jadi peran CMC adalah menyelubungi dan mengikat partikel-partikel tersuspensi misalnya pektin, lemak, dan fosfolipid. Hal ini mengakibatkan partikel-partikel tersuspensi tidak mengendap dan kestabilannya dapat dipertahankan. Pada konsentrasi yang terlalu tinggi maka CMC tidak akan lagi terdispersi didalam larutan, melainkan membentuk gumpalan-gumpalan yang mengapung dipermukaan larutan karena molekul air sudah terikat semuanya. Jumlah penggunaan CMC tergantung pada bahan pangannya seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.4.

**Tabel 2.4** Batas Maksimum Penggunaan CMC pada Bahan Pangan

<b>Jenis Bahan Pangan</b>	<b>Batas Maksimum (%)</b>
Kaldu	0,4
Yoghurt beraroma, dan produk lain yang dipanaskan setelah fermentasi, keju, krim pasteurisasi	0,5
Sediaan Keju olahan	0,8
Sarden dan ikan sejenis sarden kalengan	2

Sumber : Ferdias (1992)

Dalam industri makanan dan minuman konsentrasi CMC yang digunakan sekitar 0,1% – 2%. CMC yang banyak digunakan dalam industri makanan adalah garam Na-Carboxymethyl Cellulose dalam bentuk murninya disebut gum selulosa. CMC mempunyai gugus karboksil, maka viskositas larutan CMC dipengaruhi oleh pH larutan. pH optimumnya adalah 5 dan pada pH (< 3) maka CMC akan mengendap. CMC merupakan garam dari basa kuat dan asam lemah sehingga pH larutannya akan bersifat lebih basa, hal ini terjadi karena CMC terionisasi menghasilkan anion natrium (Winarno, 1997).

### 2.5.2 Garam Dapur

Garam dapur dapat digunakan sebagai zat pemberi citarasa, menutup citarasa yang tidak enak, meningkatkan rasa dan mencegah pertumbuhan mikroba pada produk. Garam juga dapat mencegah terjadinya perubahan warna (Desroisier, 1988). Garam dapat menekan kegiatan pertumbuhan mikroba tertentu, dengan membatasi air yang tersedia, mengeringkan protoplasma dan menyebabkan plasmolisis. Mekanisme garam sebagai pengawet adalah sebagai berikut : garam diionisasikan, setiap ion menarik molekul air di sekitarnya. Proses ini disebut hidrasi ion. Makin tinggi kadar garam, makin banyak air yang ditarik oleh ion hidrat. Jika larutan garam sudah jenuh (larutan natrium klorida 26.5%) bakteri khamir dan jamur tidak tumbuh, hal ini disebabkan oleh tidak adanya air bebas yang tersedia bagi pertumbuhan mikroba.

### 2.5.3 Gelatin

Gelatin adalah suatu jenis protein yang diekstraksi dari jaringan kolagen kulit, tulang atau ligamen (jaringan ikat) hewan. Pembuatan gelatin merupakan upaya untuk mendayagunakan limbah tulang yang umumnya tidak terpakai dan dibuang di rumah pemotongan hewan. Gelatin merupakan bahan pengikat yang mempunyai kekuatan pengikatan yang tinggi, menghasilkan granul yang seragam dengan gaya kompresibilitas dan kompaktilitas yang bagus. Tidak larut dalam air dingin, mengembang dan lunak bila dicelup dalam air, tidak larut dalam etanol, dalam kloroform, dalam eter, dalam minyak/lemak dan dalam minyak menguap. Sebagai bahan pengikat, gelatin biasa digunakan dalam konsentrasi 2 – 10% (Widjanarko, 2008).

Gelatin merupakan hidrokoloid yang mudah membentuk gel yang disebabkan adanya pembentukan jala atau jaringan tiga dimensi oleh molekul primer yang terentang pada seluruh volume gel yang terbentuk dengan memperangkap sejumlah air didalamnya. Mekanisme pembentukan gel berbeda-beda tergantung pada jenis bahan pembentuknya. Diantaranya yang paling berbeda dalam hal jenis dan sifat-sifatnya adalah gel yang dibentuk oleh gelatin, suatu jenis protein dan gel yang dibentuk oleh polisakarida. Apabila bahan

hidrokoloid berinteraksi dengan protein maka gugus hidrofobik dari protein akan terperap dalam jaringan gel (Widjanarko, 2008).

Penggunaan gelatin sangat luas karena gelatin dapat berfungsi sebagai bahan pengisi, pengemulsi (emulsifier), pengikat, pengendap, pemer kaya gizi, sifatnya juga luwes yaitu membentuk lapisan tipis yang elastis, membentuk film yang trasparan dan kuat, kemudian sifat penting lainnya yaitu daya cerna yang tinggi. Maksimal penggunaan gelatin yaitu 10 g/kg bahan. Gelatin kering menngandung kira-kira 84% – 86% protein, 8 – 12% air dan 2 – 4 % mineral. Dari 10 asam amino essensial, yang dibutuhkan tubuh, gelatin mengandung 9 asam amino essensial yang hampir tidak terkandung dalam gelatin yaitu triptofan (Fachruddin, 1998).

Rasa pahit pada hidrolisat protein disebabkan oleh peptida hidrofobik yang dihasilkan selama proses hidrolisis (Uhlig, 1998). Pengurangan rasa pahit pada hidrolisat kasein dapat dilakukan dengan mencampurkan gelatin dan isolat protein kedelai. Keunggulan ingridien yang dihasilkan adalah produk sederhana, biaya murah, dan nilai gizinya yang tinggi.

Fungsi-fungsi gelatin dalam berbagai contoh jenis produk yang biasa menggunakannya antara lain: Gelatin berfungsi sebagai zat pengental, penggumpal, membuat produk menjadi elastis, pengemulsi, penstabil, pembentuk busa, pengikat air, pelapis tipis, pemer kaya gizi. Pada produk daging olahan: berfungsi untuk meningkatkan daya ikat air, konsistensi dan stabilitas produk sosis, kornet, ham. Pada Jenis produk susu olahan: berfungsi untuk memperbaiki tekstur, konsistensi dan stabilitas produk dan menghindari sineresis pada yoghurt, es krim, susu asam, keju cottage. Pada Jenis produk bakery, berfungsi untuk menjaga kelembaban produk, sebagai perekat bahan pengisi pada roti-rotian. Pada Jenis produk minuman: berfungsi sebagai penjernih sari buah (juice), bir dan wine. Pada Jenis produk buah-buahan, berfungsi sebagai pelapis (melapisi pori-pori buah sehingga terhindar dari kekeringan dan kerusakan oleh mikroba) untuk menjaga kesegaran dan keawetan buah. Gelatin juga banyak digunakan oleh Industri farmasi, kosmetik, fotografi, jelly, soft candy, cake, pudding, susu yoghurt, film fotografi, pelapis kertas, tinta inkjet, korek api, gabus, pelapis kayu

untuk interior, karet plastik, semen, kosmetika adalah contoh-contoh produk industri yang menggunakan gelatin(Fachruddin, 1998).

#### 2.5.4. Bawang putih(*Allium longicuspis*)

Bawang putih (*Allium longicuspis*) telah dikenal sebagai bumbu maupun obat-obatan. Bawang putih berfungsi sebagai penambah aroma dan untuk meningkatkan citarasa produk yang dihasilkan. Bawang putih merupakan bahan alami yang biasanya ditambahkan ke dalam makanan. Bau khas bawang putih berasal dari minyak volatil yang mengandung komponen sulfur. Karakteristik bawang putih akan muncul apabila terjadi pemotongan atau pengrusakan jaringan (Palungkun dan Budiarti, 1992).

Allicin adalah komponen utama yang berperan memberi aroma bawang putih dan merupakan salah satu zat aktif yang diduga dapat membunuh kuman-kuman penyakit (bersifat anti bakteri). Allicin berperan ganda membunuh bakteri, yaitu bakteri gram positif maupun bakteri gram negatif karena mempunyai gugus asam amino pada amino benzoat (Palungkun dan Budiarti 1992).

Bawang putih bermanfaat bagi kesehatan karena mengandung unsur-unsur aktif, memiliki daya bunuh terhadap bakteri, sebagai bahan antibiotik, merangsang pertumbuhan sel tubuh, dan sebagai sumber vitamin B1. Selain itu, bawang putih mempunyai nilai gizi yang cukup tinggi, dan mengandung sejumlah komponen kimia yang diperlukan untuk hidup manusia. Dewasa ini, bawang putih dimanfaatkan sebagai penghambat perkembangan penyakit kanker karena mengandung komponen aktif, yaitu selenium dan germanium (Palungkun dan Budiarti, 1992).

#### 2.5.5. Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Tanaman jeruk nipis merupakan pohon yang berukuran kecil. Buahnya berbentuk agak bulat dengan ujungnya sedikit menguncup dan berdiameter 3-6 cm dengan kulit yang cukup tebal. Saat masih muda, buah berwarna kuning. Semakin tua, warna buah semakin hijau muda atau kekuningan. Rasa buahnya asam segar. Bijinya berbentuk bulat telur, pipih, dan berwarna putih kehijauan.

Akar tunggangnya berbentuk bulat dan berwarna putih kekuningan. (Astarini *et al*, 2010)

Buah jeruk nipis memiliki rasa pahit, asam, dan bersifat sedikit dingin. Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam jeruk nipis di antaranya adalah asam sitrat sebanyak 7-7,6%, damar lemak, mineral, vitamin B1, *sitral limonene*, *fellandren*, lemon kamfer, geranil asetat, cadinen, linalin asetat. Selain itu, jeruk nipis juga mengandung vitamin C sebanyak 27mg/100 g jeruk, Ca sebanyak 40mg/100 g jeruk, dan P sebanyak 22 mg. (Hariana, 2006)

Tanaman genus *Citrus* merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri yang merupakan suatu substansi alami yang telah dikesnal memiliki efek sebagai antibakteri. Minyak atsiri yang dihasilkan oleh tanaman yang berasal dari genus *Citrus* sebagian besar mengandung terpen, siskuitergen alifatik, turunan hidrokarbon teroksigenasi, dan hidrokarbon aromatik (Astarini *et al*, 2010).

Komposisi senyawa minyak atsiri dalam jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah limonen (33,33%), -pinen (15,85%), sitral (10,54%), neral (7,94%), -terpinen (6,80%), -farnesen (4,14%), -bergamoten (3,38%), -bisabolen (3,05%), -terpineol (2,98%), linalol (2,45%), sabinen (1,81%), -elemen (1,74%), nerol (1,52%), -pinen (1,25%), geranil asetat (1,23%), 4-terpineol (1,17%), neril asetat (0,56%) dan *trans*- -osimen (0,26%). (Astarini *et al*, 2010). Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat dijadikan obat tradisional yang berkhasiat mengurangi demam, batuk, infeksi saluran kemih, ketombe, menambah stamina, mengurangi jerawat serta sebagai anti-inflamasi dan antimikroba (Astarini *et al*, 2010).



## BAB 3. METODE PENELITIAN

### 3.1 Bahan dan Alat Penelitian

#### 3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah 3 jenis Ikan Inferior yaitu Ikan Lidah, Ikan Bibisan dan Ikan Baji-Baji. Ikan-ikan tersebut diperoleh dari Pulau Talango, Sumenep, Madura. Dalam perlakuan pengiriman ke Kabupaten Jember dilakukan prasimpan pada suhu  $\pm 5^{\circ}\text{C}$ , kemudian dibawa ke Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember dan di simpan di dalam refrigrator dengan suhu beku ( $\pm -5^{\circ}\text{C}$ ).

Selain ikan terdapat bahan baku lain yang digunakan dalam penelitian ini antara lain enzim protease biduri dari getah tanaman biduri dan enzim papain dari getah buah pepaya muda, cystein, garam, gula halus, bubuk bawang putih, CMC dan gelatin. Bahan kimia yang digunakan adalah aquades, selenium,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , asam borat, n-heksan, NaOH 2N, Buffer fosfat pH 7, Mix-Lowry ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$  anhidrat,  $\text{CuSO}_4$ ) follin, tirosin standart, BSA standart, TCA 15%, reagent TBA (thiobarbituric acid), HCl 37%, isobutanol dan etanol 97%.

#### 3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini blender *stainless steel* (GMC), *sentrifuse* (Yenaco model YC-1180) dan tabungnya, gelas ukur 1000 ml (*pyrek*), peralatan gelas (*beaker glass* 500 ml (*pyrek*), tabung reaksi (*pyrek*), labu ukur (*pyrek*), kuvet, pipet tetes, pipet volum, soklet, labu kjeldahl) mortar, pipet mikro 100  $\mu\text{l}$  (Biohit Proline) dan 1000  $\mu\text{l}$  (Surepette), *ball* pipet, pH meter (Jen Way tipe 3320 Jerman), *aluminium foil*, termometer, magnetik stirer dan batustirernya, neraca analitik (Ohaus), pemanas listrik (Gerhardt), spatula, oven, botol semprot, vortex, lemari pendingin, waterbath (GFL 1083), *color reader* merek Minolta, tanur pengabuan (Nabertherm), desikator, kurspor selen.

### 3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, Laboratorium Rekayasa dan Hasil Pertanian, dan Laboratorium Analisa Terpadu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember pada bulan April 2014 hingga selesai (Penelitian pendahuluan dan penelitian utama).

### 3.3 Metode Penelitian

#### 3.3.1 Pelaksanaan Penelitian

Dalam pelaksanaan penelitian kali ini yang pertama yaitu menentukan formulasi bahan tambahan garam sedap dari hidrolisat ikan inferior (ikan lidah, ikan bibisan, dan ikan baji-baji), kemudian akan dilakukan analisis mengenai karakteristik garam sedap hasil hidrolisis ikan inferior.

Tahap pertama yaitu diawali dengan memfillet 3 jenis ikan inferior, daging ikan inferior yang digunakan dari masing-masing jenis sebanyak 30 gram. Setelah masing-masing ditimbang sebanyak 30 gram kemudian ditambahkan sebanyak 15% jeruk nipis (% berat dari daging ikan inferior). Kemudian didiamkan selama sekitar 10 menit, lalu dihancurkan menggunakan blender dengan perbandingan air dan bahan 2:1 (berat/berat). Suspensi ikan inferior yang dihasilkan kemudian diatur pH sampai mencapai pH 7 dengan menambahkan NaOH 0,1%, kemudian ditambahkan campuran enzim protease biduri dan papain dengan perbandingan 70% : 30% (Konsentrasi enzim yang digunakan berdasarkan penelitian sebelumnya yaitu 0,15 %) dari % berat dari daging ikan inferior. Setelah itu ditambahkan sistein sebanyak 0,6% dan gelatin sebanyak 1% (% berat bahan yang sudah dikukus). Kemudian suspensi ikan dihidrolisis dalam water bath suhu 55 °C selama 90 menit. Kemudian dididihkan selama 10 menit untuk menginaktifkan enzim. Setelah dilakukan pendidihan kemudian hidrolisat basah ditambahkan dengan bahan tambahan diantaranya 80% garam, 5% bubuk bawang putih 0,4% CMC, dan 2% gula. Adapun rancangan acak lengkap perbandingan konsentrasi hidrolisat dan bahan tambahan adalah sebagai berikut:

Perlakuan	Ikan (g)	Garam (g)	Bawang Putih (g)	Jeruk Nipis (ml)
A ( 50 : 50 )	50	40	2,5	7,5
B ( 30 : 70 )	30	56	3,5	10,5
C ( 20 : 80 )	20	64	4	12
D ( 10 : 90 )	10	72	4,5	13,5
E ( 5 : 95 )	5	76	4,75	14,25

Keterangan : A = Rasio 3 jenis ikan inferoir dengan bahan tambahan makanan (50:50)

B = Rasio 3 jenis ikan inferoir dengan bahan tambahan makanan (30:70)

C = Rasio 3 jenis ikan inferoir dengan bahan tambahan makanan (20:80)

D = Rasio 3 jenis ikan inferoir dengan bahan tambahan makanan (10:90)

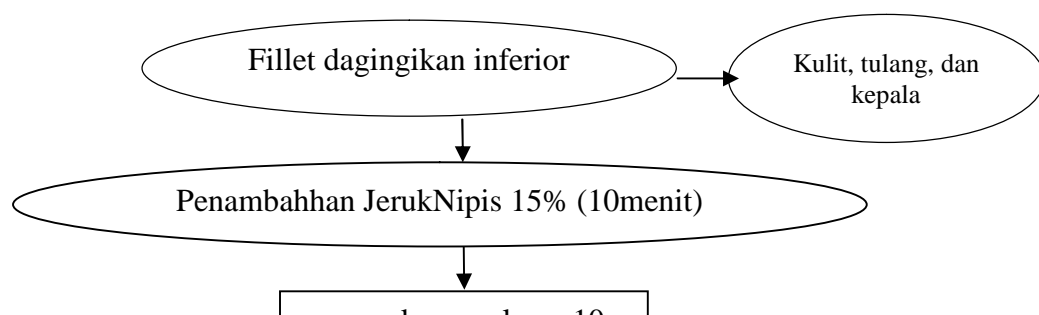
E = Rasio 3 jenis ikan inferoir dengan bahan tambahan makanan (5:95)

**Tabel 3.1. Variasi Penambahan Bahan Tambahan**

Hidrolisat yang dihasilkan dikeringkandalam oven dengansuhu  $60\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 18$  jam. Setelahkeringdilakukan penumbukan denganmenggunakanmortarsampai halus. Proses selanjutnya yaitudianalisis warna, kadar protein terlarut, produk mailard, tingkat ketengikan, kadar air, kadar abu, kadar lemak, kadar protein dan uji sensoris.

### 3.3.2 Rancangan Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode analisis secara deskriptif dari rata-rata ulangan setiap parameter pengamatan. Setiap perlakuan dilakukan tiga kali ulangan. Untuk memudahkan intrepretasi, data yang dihasilkan selanjutnya akan diploting dalam bentuk grafik.





**Gambar 3.1** Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Inferior

### **3.4 Parameter Pengamatan**

Pengamatan yang dilakukan meliputi :

1. Kadar protein terlarut (Metode Lowry; Sudarmadji, 1997),
2. Produk Maillard (Metode Absorbansi; Manzocco *et al*,1999),
3. Tingkat ketengikan (Metode TBA; Sudarmadji, 1997)
4. Warna (Metode *Colour reader*; Fardiaz, 1992),
5. Kadar air (Cara Pemanasan; Sudarmadji, 1997),
6. Kadar Lemak (Metode sokhlet; AOAC, 2005),
7. Kadar Abu (Metode Pemanasan; AOAC, 2005),
8. Kadar Protein (Metode Kjeldahl; Sulaeman,*et. al.*, 1995),
9. Uji sensoris (UjiKesukaan; Mabesa, 1986).

### 3.5 Prosedur Analisis

#### 3.5.1 Kadar Protein Terlarut (Metode Lowry; Sudarmadji, 1997)

Menimbang sampel sebanyak 0,1 gram. Kemudian dilarutkan dengan aquades 10 ml. Sampel disentrifugeselama 5 menit, diambil 0,125 ml filtrat 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 diteraabsorbannya dengan spektrometer pada panjang gelombang 750 nm. Data absorbansi diplotkan pada kurva standar BSA untuk dihitung kadar proteinnya.

#### 3.5.2 Produk Maillard (Metode Absorbansi; Manzocco *et al*,1999)

Sampel ditimbang sebanyak 0,1 gram dan dilarutkan ke dalam 10 ml aquades kemudian divortex selama 3 menit.

Kemudian diteraabsorbansinya pada panjang gelombang 420 nm.

#### 3.5.3 Tingkat Ketengikan (Metode TBA; Sudarmadji, 1997)

Penentuan ketengikan dilakukan dengan cara 0.05 gram sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml reagen TBA. Kemudian dipanaskan dalam air mendidih selama  $\pm$  15 menit. Setelah dingin ditambahkan 1 ml isobutanol dan ditera volumenya menjadi 5 ml dengan etanol. Setelah divortek

dan disentrifus pada 5000 rpm selama 5 menit, supernatan ditera pada panjang gelombang 535 nm, sedangkan blangko dibuat dengan cara yang sama tetapi tanpa sampel. Nilai TBA yang dinyatakan dengan banyaknya malonaldehyde (MDA) pada bahan dihitung berdasarkan *molar extinction coefficient*  $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

#### 3.5.4 Warna (Fardiaz, 1992)

Penentuan warna dilakukan menggunakan alat colour reader. Pengukuran warna dibaca pada parameter  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  di titik yang berbeda.  $L^*$  menunjukkan derajat kecerahan dari hitam (0) hingga putih (100).  $a^*$  mendeskripsikan warna merah-hijau dengan nilai  $a^*$  positif mengindikasikan kemerahan dan  $a^*$  negatif mengindikasikan kehijauan. Sedangkan  $b^*$  mendeskripsikan warna kuning-biru dengan nilai  $b^*$  positif mengidentifikasi kekuningan dan  $b^*$  negatif mengindikasikan kebiruan. Ujung lensa colour reader ditempelkan pada permukaan sampel yang akan dianalisa.

Tabel 3.1 Deskripsi warna berdasarkan  $^{\circ}$ Hue (Hutching, 1999)

$^{\circ}$ Hue [arc tan (b/a)]	Deskripsi Warna
18 – 54	Red (R)
54 – 90	Yellow Red (YR)
90 – 126	Yellow (Y)
126 – 162	Yellow Green (YG)
162 – 198	Green (G)
198 – 234	Blue Green (BG)
234 – 270	Blue (B)
270 – 306	Blue Purple (BP)
306 – 342	Purple (P)
342 - 18	Red Purple (RP)

#### 3.5.5 Kadar Air (Cara Pemanasan; Sudarmadji, 1997)

Menimbang botol timbang kosong yang telah diovenselama 2 jam dan diletakkan dalam eksikator, kemudian ditimbang sebagai (a) gram. Menimbang sampel  $\pm 1$  gram, setelah itu menimbang berat botol dan sampel tersebut (b) gram. Kemudian diovenselama 24 jam, lalu didinginkan dalam eksikator dan ditimbang. Perlakuan ini diulang sampai tercapai

erat konstan (c) atau selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 mg.

Perhitungan :

$$Ka = \frac{b-c}{b-a} \times 100\%$$

### 3.5.6 Kadar Lemak (Metode sokhlet; AOAC, 2005)

Analisis kadar lemak dilakukan dengan metode sokhlet. Prinsipnya adalah lemak yang terdapat dalam sampel diekstrak dengan menggunakan pelarut lemak non polar. Prosedur analisis kadar lemak sebagai berikut: kertas saring yang akan digunakan dioven selama 30 menit pada suhu 100–105 °C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak 2 gram (B) lalu dibungkus dengan kertas saring. Pelarut heksan atau pelarut lemak lain dituangkan ke labu ekstraksi sampai hampir penuh dan dilakukan refluks atau ekstraksi lemak selama 5–6 jam atau sampai pelarut lemak yang turun ke labu lemak berwarna jernih. Pelarut lemak yang telah digunakan, disuling dan ditampung setelah itu ekstrak lemak yang ada dalam kertas saring dikeringkan dalam oven bersuhu 100–105 °C selama 1 jam, lalu kertas saring didinginkan dalam desikator dan ditimbang (C). Tahap pengeringan labu lemak diulangi sampai diperoleh bobot yang konstan. Kadar lemak dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar lemak} = \frac{c-a}{b} \times 100\%$$

### 3.5.7 Kadar Abu (Metode Pemanasan; AOAC, 2005)

Analisis kadar abu dilakukan dengan menggunakan metode oven. Prinsipnya adalah pembakaran atau pengabuan bahan-bahan organik yang diuraikan menjadi air (H<sub>2</sub>O) dan karbondioksida (CO<sub>2</sub>) tetapi zat anorganik tidak terbakar. Zat anorganik ini disebut abu.

Prosedur analisis kadar abu sebagai berikut: cawan yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100–105 °C, kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak 2 gram dalam cawan yang sudah

dikeringkan (B), kemudian dibakar di atas nyala pembakar sampai tidak berasap dan dilanjutkan dengan pengabuan di dalam tanur bersuhu 550–600 °C sampai pengabuan sempurna. Sampel yang sudah diabukan didinginkan dalam desikator dan ditimbang (C). Tahap pembakaran dalam tanur diulangi sampai didapat bobot yang konstan. Kadar abu dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar abu} = \frac{c-a}{b-a} \times 100\%$$

### 3.5.8 Kadar Protein (Metode Kjeldahl; Sulaeman, et. al., 1995)

Analisis kadar protein dilakukan dengan metode kjeldahl. Prinsipnya adalah oksidasi bahan-bahan berkarbon dan konversi nitrogen menjadi amonia oleh asam sulfat, selanjutnya amonia bereaksi dengan kelebihan asam membentuk amonium sulfat. Amonium sulfat yang terbentuk diuraikan dan larutan dijadikan basa dengan NaOH. Amonia yang diuapkan akan diikat dengan asam borat. Nitrogen yang terkandung dalam larutan ditentukan jumlahnya dengan titrasi menggunakan larutan baku asam.

Sampel ditimbang sebanyak 0,1 gram kemudian dimasukkan ke dalam labu kjeldahl. Ditambahkan 2,5–5 gram atau 0,5 – 1 selenium mix dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat sebanyak 7 ml. Dipanaskan mula-mula dengan api kecil, kemudian dibesarkan sampai terjadi larutan yang berwarna jernih kehijauan dengan uap SO<sub>2</sub> hilang. Kemudian dipindahkan ke dalam labu destilasi dan ditambahkan 10 ml NaOH 10% atau lebih, kemudian disulingkan. Destilat ditampung dalam 20 ml larutan asam borat 3%. Larutan asam borat dititrasi dengan HCl standar dengan menggunakan metal merah sebagai indicator. Blanko diperoleh dengan cara yang sama namun tanpa menggunakan sampel kadar protein sampel dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar nitrogen} = \frac{(mlHCl\text{sampel} - ml\text{blanko})}{gsampel \times 1000} \times N\ HCl \times 100\% \times 14,008$$

$$\text{Kadar protein} = \text{kadar nitrogen} \times FK$$

$$FK = 6,25$$

### 3.5.9 Uji Organoleptik (Uji Kesukaan; Mabesa, 1986)



Uji organoleptik yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan uji kesukaan yang meliputi aroma, warna, rasa dan kesukaan keseluruhan dengan menggunakan minimal 20 orang panelis. Cara pengujian ini dilakukan secara acak dengan menggunakan sampel yang telah terlebih dahulu diberi kode. Konsentrasi garam sedap yang ditambahkan 3 gram/100 gram bahan. Panelis diminta untuk menentukan tingkat kesukaan mereka terhadap hidrolisat inferior. Untuk uji kesukaan rasa diaplikasikan pada sup. Untuk uji kesukaan aroma, setiap panelis cukup dengan mencium aroma garam gurih menggunakan indra pencium. Untuk uji kesukaan warna, setiap panelis cukup melihat kenampakan warna garam gurih dengan indra penglihat. Jenjang skala uji kesukaan terhadap rasa, aroma, warna dan keseluruhan dari masing-masing sampel adalah sebagai berikut :

Skala Hedonik	Skala Numerik
1. Sangat tidak suka	1
2. Tidak suka	2
3. Agak suka	3
4. Suka	4
5. Sangat Suka	5