



**HIDROLISIS DAGING IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) DENGAN
PROTEASE BIDURI (*Calotropis gigantea*) SEBAGAI BAHAN BAKU
PEMBUATAN *FLAVOR ENHANCER***

SKRIPSI

Oleh

**Maria Pirena
NIM 111710101049**

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



**HIDROLISIS DAGING IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) DENGAN
PROTEASE BIDURI (*Calotropis gigantea*) SEBAGAI BAHAN BAKU
PEMBUATAN *FLAVOR ENHANCER***

SKRIPSI

Oleh

**Maria Pirena
NIM 111710101049**

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

2015



**HIDROLISIS DAGING IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) DENGAN
PROTEASE BIDURI (*Calotropis gigantea*) SEBAGAI BAHAN BAKU
PEMBUATAN *FLAVOR ENHANCER***

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Teknologi Pertanian
dan mencapai gelar Sarjana Teknologi Pertanian

Oleh

Maria Pirena
NIM 111710101049

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

PERSEMBAHAN

Segala puji syukur kupanjatkan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah mengiringi dan membimbing setiap langkahku sehingga dapat terselesaikannya Karya Ilmiah Tertulis ini, yang aku persembahkan untuk:

1. Tuhan Yesus yang senantiasa membimbing dan mencurahkan rahmat-Nya sehingga aku mampu melewati segalanya yang harus kuperjuangkan dengan langkah yang ringan.
2. Orang tuaku Mama Maria Angela Sukatmiyani dan Bapak Yacobus Suparji, serta adikku Immanuel Devino Widagdo yang selalu memberikan dukungan doa, moral dan materiil. Terimakasih telah mendukungku dengan segenap hati. Semoga aku mampu segera memberikan kebahagiaan yang membanggakan keluarga.

MOTTO

“ Kekejaman kita adalah tidak mengerjakan yang harus kita kerjakan sekarang demi masa depan kita yang lebih baik. ”

(Tung Desem Waringin)

“ Tetapi kamu ini, kuatkanlah hatimu, jangan lemah semangatmu, karena ada upah bagi usahamu. ”

(2 Tawarikh 15:7)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Maria Pirena

NIM : 111710101049

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Hidrolisis Daging Ikan Patin (*Pangasius Hypopthalmus*) Dengan Protease Biduri (*Calotropis Gigantea*) Sebagai Bahan Baku Pembuatan *Flavor Enhancer*” adalah benar – benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 16 November 2015

Yang menyatakan,

Maria Pirena

NIM 111710101049

SKRIPSI

**HIDROLISIS DAGING IKAN PATIN (*Pangasius hypopthalmus*) DENGAN
PROTEASE BIDURI (*Calotropis gigantea*) SEBAGAI BAHAN BAKU
PEMBUATAN *FLAVOR ENHANCER***

Oleh

Maria Pirena

NIM 111710101049

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama

: Dr. Yuli Witono, S.Tp., M.P

Dosen Pembimbing Anggota

: Ir. Sukatiningsih M.S.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Hidrolisis Daging Ikan Patin (*Pangasius Hypophthalmus*) Dengan Protease Biduri (*Calotropis Gigantea*) Sebagai Bahan Baku Pembuatan *Flavor Enhancer***” karya Maria Pirena 111710101049 telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember pada:

Hari/Tanggal : Senin. 16 November 2015

Tempat : Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

Tim Penguji:

Ketua

Anggota I

Dr. Triana Lindriati, S.T., M.P
NIP. 196808141998032001

Dr. Bambang Herry Purnomo, S.TP., M.Si
NIP. 197505301999031002

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Teknologi Pertanian

Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P
NIP. 196912121998021001

RINGKASAN

Hidrolisis Daging Ikan Patin (*Pangasius Hypophthalmus*) Dengan Protease Biduri (*Calotropis Gigantea*) Sebagai Bahan Baku Pembuatan *Flavor Enhancer*; Maria Pirena, 111710101049; 2015; 72 halaman; Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.

Flavor enhancer merupakan bahan-bahan yang dapat meningkatkan rasa enak atau menekan rasa yang tidak diinginkan dari suatu bahan makanan (Zuhra, 2006). *Flavor enhancer* yang telah banyak digunakan di Indonesia yaitu berupa MSG (Monosodium glutamat). Namun, MSG pada saat ini banyak menimbulkan polemik karena apabila penggunaannya melebihi ambang batas akan menyebabkan gangguan kesehatan. Untuk itu perlu dikembangkan produk flavour enhancer yang berupa hidrolisat protein dari ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*) yang tidak hanya menghasilkan satu jenis asam amino (asam glutamat) atau hanya berfungsi sebagai penyedap rasa tetapi juga dapat berperan sebagai protein fungsional.

Hidrolisat protein ikan patin adalah produk dasar multi komponen, formula nutrisi yang kompleks. Produk hidrolisat protein ikan patin dihasilkan melalui proses hidrolisis enzimatis menggunakan enzim protease dari getah tanaman biduri. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim protease biduri dan waktu hidrolisis terhadap karakteristik fisik, kimia dan sifat fungsional hidrolisat protein ikan patin dan mendapatkan kombinasi yang tepat antara konsentrasi enzim protease biduri dan waktu hidrolisis sehingga dapat menghasilkan karakteristik dari hidrolisat protein ikan patin yang terbaik.

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan tiga kali pengulangan pada masing – masing perlakuan. Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan analisis sidik ragam, jika terdapat perbedaan maka uji dilanjutkan dengan menggunakan

uji BNT (Beda Nyata Terkecil) dengan taraf uji 5%. Faktor yang berpengaruh pada hidrolisat protein ikan patin adalah konsentrasi enzim protease biduri dan waktu hidrolisis. Konsentrasi enzim protease biduri yang digunakan yaitu 1%; 2%; 3%. Waktu hidrolisis yang digunakan yaitu 0 jam; 1,5 jam; 3 jam. Parameter pengamatan yang digunakan pada penelitian ini yaitu analisis kadar air, kadar abu, kadar lemak, warna, protein terlarut, jumlah produk maillard, tingkat ketengikan, daya buih dan stabilitas buih, daya emulsi dan stabilitas emulsi, total padatan terlarut, dan uji efektivitas untuk menentukan perlakuan terbaik.

Berdasarkan hasil penelitian, pada analisis sifat fisik, kimia, dan fungsional hidrolisat protein ikan patin berpengaruh nyata terhadap: kadar air, kadar abu, kadar lemak, warna, protein terlarut, maillard, total padatan terlarut, daya emulsi, stabilitas emulsi, dan stabilitas buih, perlakuan hidrolisat protein ikan patin terbaik dari uji efektivitas adalah perlakuan A3B3 dengan konsentrasi enzim protease biduri 3% dan waktu hidrolisis 3 jam memiliki nilai : warna 68,18, total padatan terlarut 12,67, kadar air 3,95% , kadar abu 4,23%, kadar lemak 10,94%, protein terlarut 42,29 mg/ml, maillard 1,4, ketengikan 0,41 mmol/kg, daya buih 259,05%, stabilitas buih 12,50 menit, daya emulsi 5,30 m²/g, dan stabilitas emulsi 39,45 menit.

SUMMARY

Hydrolysis of catfish (*Pangasius Hypophthalmus*) Meat With Biduri (*Calotropis gigantean*) Protease As Raw Material of Flavor Enhancer production; Maria pirena, 111710101049; 2015; 72 pages; Department of Agricultural Product Technology, Faculty of Agricultural technology, University of Jember.

Flavor enhancer is a substance that can increase a good flavor or suppress unwanted flavor of a food material (Zuhra, 2006). Flavor enhancer that has been widely used in Indonesia is MSG (Monosodium glutamate). However, MSG at present many polemical because if usage exceeds the threshold will cause health problems. It is necessary to develop a flavor enhancer product in the form of protein hydrolyzate from catfish (*Pangasius hypophthalmus*) which not only produce one type of amino acid (glutamic acid) or only serves as a flavor enhancer but also can act as a functional protein.

Protein hydrolyzate of catfish is the basic product of multicomponent, complex nutritional formula. Protein hydrolyzate of catfish product is produced through enzymatic hydrolysis process using protease enzyme from sap of biduri plant. The purpose of this study is to determine the effect of biduri protease enzyme concentrations and hydrolysis time on the characteristics of the physical, chemical and functional properties of catfish protein hydrolysate and get the right combination between the concentrations of biduri protease enzyme and hydrolysis time, so that can produce the best characteristics of catfish protein hydrolyzate,

The experimental design which used in this research was completely randomized design (CRD) with three repetitions on each treatment. Data were analyzed using variance analysis, if there is a difference, then followed by test using LSD (Least Significant Difference) with test level of 5%. Factors that affected the catfish protein hydrolyzate was biduri protease enzyme concentration and hydrolysis time. Biduri protease enzyme concentration which used were 1%; 2%; 3%. Hydrolysis time which used were 0 hours; 1.5 hours; 3 hours. Observation Parameters which used in this research were the analysis of water content, ash content, fat content, color, soluble protein, the amount of Maillard

products, the level of rancidity, froth power and froth stability, emulsion power and emulsion stability, dissolved solid total, and the effectiveness test to determine the best treatment.

Based on the research results, the analysis of physical, chemical, and functional of catfish protein hydrolyzate significant effected on water content, ash content, fat content, color, soluble protein, Maillard, dissolved solid total, emulsion power, emulsion stability, and froth stability ,the best treatment of catfish protein hydrolyzate on the effectiveness test was A3B3 treatment with 3% biduri protease enzyme concentration and 3 hours hydrolysis time had values: color 68.18, dissolved solid total 12,67, water content 3.95%, ash content 4,23%, fat content 10.94%, soluble protein 42.29 mg / ml, Maillard 1.4, rancidity 0.41 mmol / kg, froth power 259.05%, froth stability 12.50 minutes, emulsion power 5,30 m2/g, and emulsion stability 39.45 minutes.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang senantiasa melimpahkan karunia dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah yang berjudul Hidrolisis Daging Ikan Patin (*Pangasius Hypophtalmus*) Dengan Protease Biduri (*Calotropis Gigantea*) Sebagai Bahan Baku Pembuatan *Flavor Enhancer*. karya tulis ilmiah ini disusun guna memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Universitas Jember.

Penyusunan karya tulis ilmiah ini tidak terlepas dari dukungan, bantuan, dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Almamaterku “Fakultas Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Jember” ;
2. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P. selaku Dekan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
3. Ir. Giyarto M.Sc selaku Ketua Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember;
4. Dr. Yuli Witono, S.TP., M.P. dan Ir. Sukatiningsih M.S.selaku dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu dan pikiran guna memberikan bimbingan serta pengarahan demi kemajuan serta penyelesaian penelitian dan penulisan karya tulis ilmiah ini;
5. Lailatul Adzkiya S.TP., M.P yang telah membimbing dan menjadi guru motivasi kami selama penyelesaian skripsi;
6. Seluruh karyawan serta teknisi laboratorium, terimakasih telah memberikan bimbingan sehingga penelitian dapat berjalan dengan lancar;
7. Keluarga besar 155 (Sari, Chyaning, Qory, Nucky, Indry, dan Feby) yang selalu memberikan kebahagiaan luar biasa selama tinggal di wisma. Saya

sangat bersyukur memiliki kalian 😊. Serta Gabriel terimakasih atas doa dan dukungannya.

8. Tim FIS (Isnairil, Dianisa Wildan, Tri Norma, dan Hamidah) yang selalu kompak, terimakasih atas kerjasamanya, selalu membantu saya ketika menghadapi kesulitan selama penelitian dan kawan karib Siti Ita Puji Lestari, terimakasih sudah banyak membantu selama saya tinggal di Jember.
9. Sahabatku Bella Cita dan Meliana terimakasih atas supportnya. Mari kita semangat untuk raih masa depan sesuai dengan yang kita cita – citakan menjadi wanita mandiri yang sukses.
10. Brotherhood THP 2011 terimakasih selalu memberikan dukungan penuh.
11. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih atas segala bentuk dukungan semoga Tuhan memberkati semua.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan tugas akhir ini terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, setiap kritik dan saran yang berguna bagi penyempurnaan laporan ini akan penulis terima dengan hati terbuka dengan harapan dapat bermanfaat bagi semua pihak.

Jember, November 2015

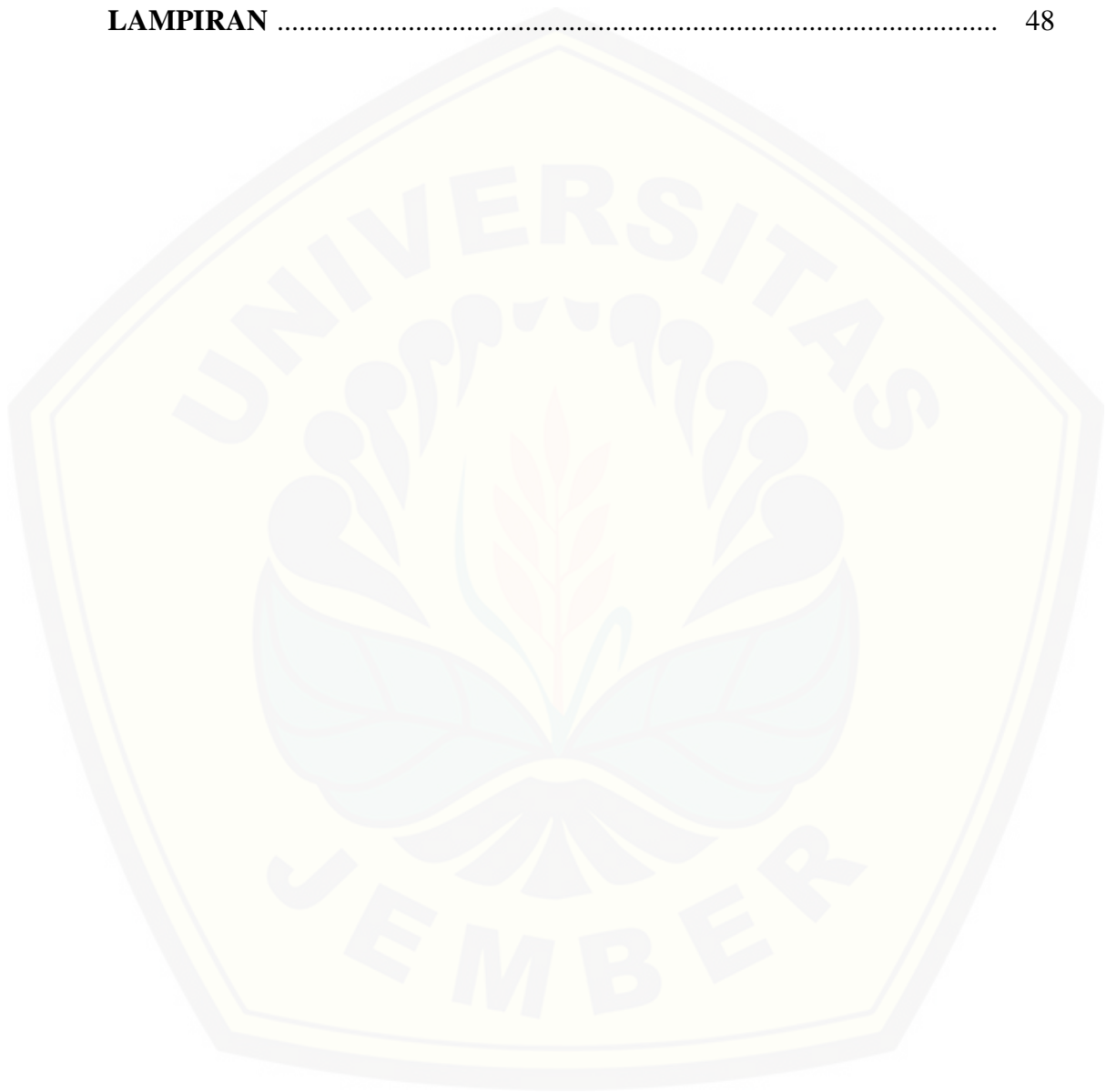
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	x
DAFTAR ISI	xiv
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR TABEL	xviii
DAFTAR LAMPIRAN	xxi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Manfaat Penelitian	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTKA	4
2.1 Ikan Patin (<i>Pangasius hypophthalmus</i>)	4
2.2 Enzim Protease Biduri	5
2.3 Hidrolisis Protein	6
2.4 Hidrolisat Protein	8
2.4.1 Kadar Protein Terlarut	9
2.4.2 Produk Maillard	10
2.4.3 Tingkat Ketengikan	11
2.4.4 Daya buih dan Stabilitas Buih	11
2.4.5 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi	13
2.4.6 Total Padatan Terlarut	14

2.5 Hipotesis	15
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	16
3.1 Bahan dan Alat Penelitian	16
3.1.1 Bahan Penelitian	16
3.1.2 Alat Penelitian	16
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	16
3.3 Metode Penelitian	16
3.3.1 Pelaksanaan Penelitian	16
3.3.2 Rancangan Penelitian	17
3.4 Parameter Pengamatan	20
3.5 Prosedur Analisa	20
3.5.1 Analisa Fisik	20
3.5.2 Analisa Kimia	21
3.5.3 Analisa Sifat Fungsional	24
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Warna	27
4.2 Total Padatan Terlarut	28
4.3 Kadar Air	29
4.4 Kadar Abu	30
4.5 Kadar Lemak	31
4.6 Protein Terlarut	32
4.7 Produk Maillard	33
4.8 Tingkat Ketengikan	34
4.9 Daya dan Stabilitas Buih	36
4.10 Daya dan Stabilitas Emulsi	38
4.11 Uji Efektivitas	40

BAB 5. PENUTUP	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	48



DAFTAR GAMBAR

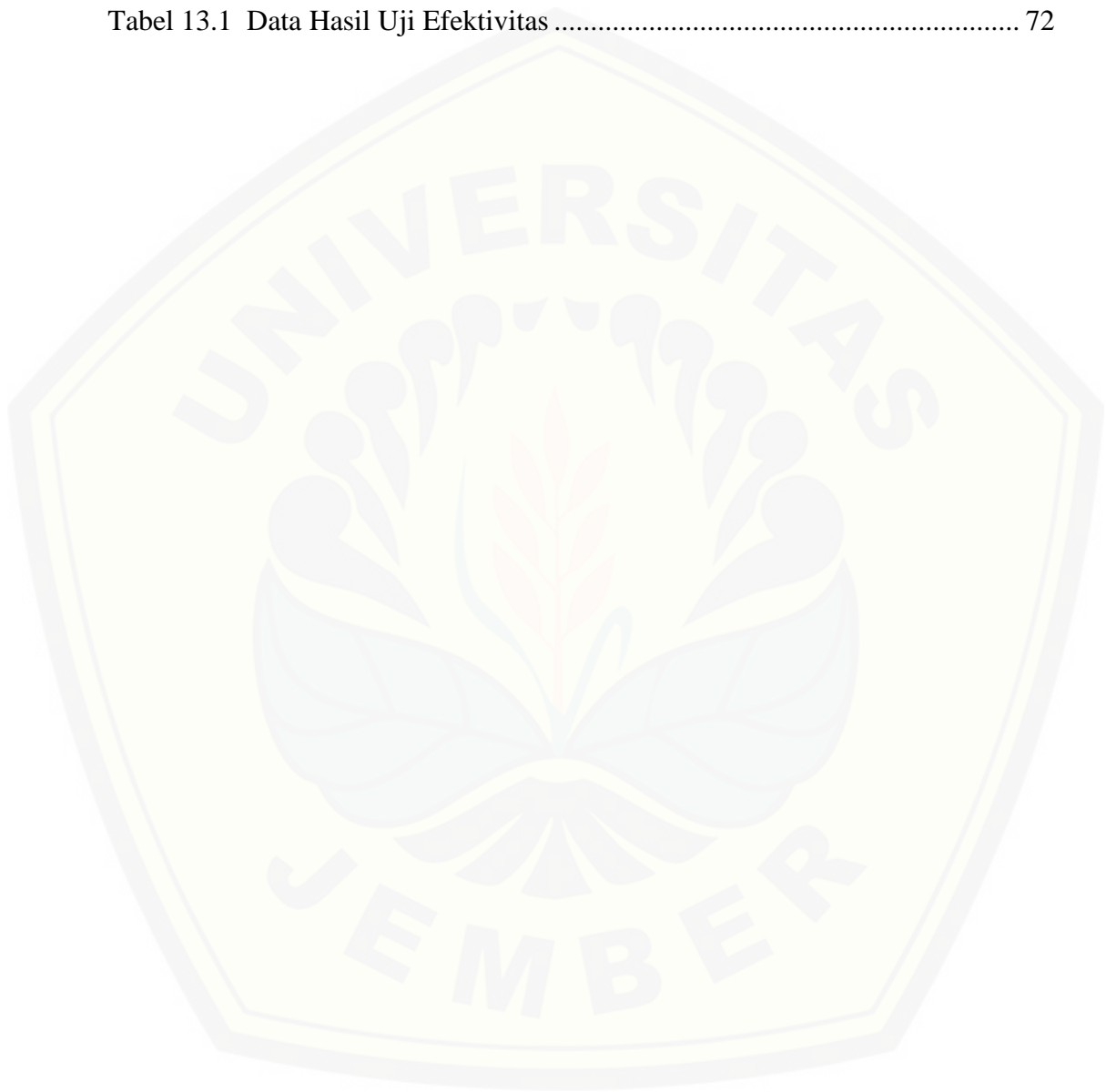
	Halaman
2.1. Ikan Patin (<i>Pangasius hypophthalmus</i>)	4
3.1 Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Kering Ikan Patin	19
4.1 Warna Hidrolisat Protein Ikan Patin Pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis	27
4.2 Total Padatan Terlarut Hidrolisat Protein Ikan Patin Pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis	28
4.3 Kadar Air Hidrolisat Protein Ikan Patin Pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis	29
4.4 Kadar Abu Hidrolisat Protein Ikan Patin Berdasarkan Faktor A (Konsentrasi Enzim) (a) dan Faktor B (Waktu Hidrolisis) (b).....	30
4.5 Kadar Lemak Hidrolisat Protein Ikan Patin Pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis	31
4.6 Kadar Protein Terlarut Hidrolisat Protein Ikan Patin Pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis	32
4.7 Nilai Produk Maillard Hidrolisat Protein Ikan Patin Berdasarkan Faktor B (Waktu Hidrolisis)	34
4.8 Tingkat Ketengikan Hidrolisat Protein Ikan Patin Berdasarkan Faktor B (Waktu Hidrolisis).....	35
4.9 Daya Buih Hidrolisat Protein Ikan Patin Pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis.....	36
4.10 Stabilitas Buih Hidrolisat Protein Ikan Patin Pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis	37
4.11 Daya Emulsi Hidrolisat Protein Ikan Patin Pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis	38
4.12 Stabilitas Emulsi Hidrolisat Protein Ikan Patin Pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis	40

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Kandungan Asam Amino Pada Ikan Air Tawar	5
Tabel 4.1 Data Hasil Uji Efektivitas Hidrolisat Protein Ikan Patin	46
Tabel 1.1 Data Analisa Warna Hidrolisat Protein Ikan Patin	48
Tabel 1.2. Tabel dua arah Analisa Warna Faktor A x B	49
Table 1.3 Data Hasil Sidik Ragam Analisis Warna Hidrolisat Protein Ikan Patin	49
Tabel 1.4 Uji Beda Analisis Warna Hidrolisat Protein Ikan Patin	49
Tabel 2.1 Data Analisa Total Padatan Terlarut Hidrolisat Protein Ikan Patin	51
Tabel 2.2 Tabel dua arah Analisa Total Padatan Terlarut Faktor A x B.....	51
Tabel 2.3 Data Hasil Sidik Ragam Total Padatan Terlarut Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	51
Tabel 2.4 Uji Beda Analisis Total Padatan Terlarut Hidrolisat Protein Ikan Patin	52
Tabel 3.1 Data Analisa Kadar Air Hidrolisat Protein Ikan Patin	53
Tabel 3.2 Tabel dua arah Analisa Kadar Air Faktor AXB.....	53
Tabel 3.3 Data Hasil Sidik Ragam Analisa Kadar Air Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	53
Tabel 3.4 Uji Beda Analisis Kadar Air Hidrolisat Protein Ikan Patin	54
Tabel 4.1 Data Analisa Kadar Abu Hidrolisat Protein Ikan Patin	55
Tabel 4.2 Tabel dua arah Analisa Kadar Abu Faktor AXB	55
Tabel 4.3 Data Hasil Sidik Ragam Analisa Kadar Abu Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	55
Tabel 4.4 Uji Beda Analisis Kadar Abu HIDrolisat Protein Ikan Patin	56
Tabel 5.1. Data Analisa Kadar Lemak Hidrolisat Protein Ikan Patin	57
Tabel 5.2. Tabel dua arah Lemak Analisa KadarFaktor AXB	57
Tabel 5.3. Data Hasil Sidik Ragam Analisa Kadar Lemak Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	57

Tabel 5.4. Uji Beda Analisis Kadar Lemak Hidrolisat Protein Ikan Patin	58
Tabel 6.2. Data Analisa Kadar Protein Terlarut Hidrolisat Protein Ikan Patin...	59
Tabel 6.3. Tabel dua arah Analisa Kadar Protein Terlarut Faktor AXB.....	60
Tabel 6.4. Data Hasil Sidik Ragam Analisa Protein Terlarut Hidrolisat Protein Ikan Patin	60
Tabel 6.5. Uji Beda Analisis Protein Terlarut Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	60
Tabel 7.1. Data Analisa Produk Maillard Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	62
Tabel 7.2. Tabel dua arah Analisa Produk Maillard Faktor AXB	62
Tabel 7.3. Data Hasil Sidik Ragam Produk Maillard Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	62
Tabel 7.4. Uji Beda Analisis Produk Maillard Hidrolisat Protein Ikan Patin	63
Tabel 8.1. Data Analisa Tingkat Ketengikan Hidrolisat Protein Ikan Patin	64
Tabel 8.2. Tabel dua arah Analisa Tingkat Ketengikan Faktor AXB.....	64
Tabel 8.3. Data Hasil Sidik Ragam Tingkat Ketengikan Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	64
Tabel 8.4. Uji Beda Analisis Tingkat Ketengikan Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	65
Tabel 9.1. Data Analisa Daya Buih Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	66
Tabel 9.2. Tabel dua arah Daya Buih Faktor AXB.....	66
Tabel 9.3. Data Hasil Sidik Ragam Daya Buih Hidrolisat Protein Ikan Patin....	66
Tabel 10.1. Data Analisa Stabilitas Buih Hidrolisat Protein Ikan Patin	67
Tabel 10.2. Tabel dua arah Analisa Stabilitas Buih Faktor AXB	67
Tabel 10.3. Data Hasil Sidik Ragam Stabilitas Buih Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	67
Tabel 11.1. Data Analisa Daya Emulsi Hidrolisat Protein Ikan Patin	68
Tabel 11.2. Tabel dua arah Analisa Daya Emulsi Faktor AXB	68
Tabel 11.3. Data Hasil Sidik Ragam Daya Emulsi Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	68
Tabel 11.4. Uji Beda Analisis Daya Emulsi Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	69
Tabel 12.1. Data Analisa Stabilitas Emulsi Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	70

Tabel 12.2. Tabel dua arah Analisa Stabilitas Emulsi Faktor AXB.....	70
Tabel 12.3. Data Hasil Sidik Ragam Stabilitas Emulsi Hidrolisat Protein Ikan Patin.....	70
Tabel 12.4. Uji Beda Analisis Stabilitas Emulsi Hidrolisat Protein Ikan Patin ..	71
Tabel 13.1 Data Hasil Uji Efektivitas	72



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Data Hasil Analisa Warna Hidrolisat Protein Ikan Patin	48
Lampiran 2. Data Hasil Analisa Total Padatan Terlarut Hidrolisat Protein	
Ikan Patin	51
Lampiran 3. Data Hasil Analisa Kadar Air Hidrolisat Protein	
Ikan Patin	53
Lampiran 4. Data Hasil Analisa Kadar Abu Hidrolisat Protein	
Ikan Patin	55
Lampiran 5. Data Hasil Analisa Kadar Lemak Hidrolisat Protein	
Ikan Patin	57
Lampiran 6. Data Hasil Analisa Kadar Protein Terlarut Hidrolisat Protein	
Ikan Patin	59
6.1 Kurva Standart BSA (Kurva Lowry)	59
Lampiran 7. Data Hasil Analisa Produk Maillard Hidrolisat Protein	
Ikan Patin	62
Lampiran 8. Data Hasil Analisa Tingkat Ketengikan Hidrolisat Protein	
Ikan Patin	64
Lampiran 9. Data Hasil Analisa Daya Buih Hidrolisat Protein	
Ikan Patin	66
Lampiran 10. Data Hasil Analisa Stabilitas Buih Hidrolisat Protein	
Ikan Patin	67
Lampiran 11. Data Hasil Analisa Daya Emulsi Hidrolisat Protein	
Ikan Patin.....	68
Lampiran 12. Data Hasil Analisa Stabilitas Emulsi Hidrolisat Protein	
Ikan Patin	70
Lampiran 13. Data Hasil Uji Efektivitas.....	72

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pada kehidupan modern sekarang ini, kehidupan masyarakat semakin berkembang. Hal ini tampak dengan adanya kebutuhan setiap individu yang semakin kompleks. Kebutuhan – kebutuhan tersebut juga meliputi kebutuhan pangan. Makanan yang memiliki rasa enak dan lezatlah yang banyak diminati oleh konsumen. Hal ini membuat para produsen makanan seringkali menggunakan produk penyedap rasa atau lebih dikenal dengan produk vetsin yaitu MSG (Monosodium Glutamat) dengan harapan dapat menciptakan suatu produk pangan lezat dan praktis dalam pembuatannya.

Monosodium Glutamat (MSG) merupakan bubuk kristal putih yang mengandung garam natrium asam glutamat. Adanya garam natrium glutamat tersebut maka MSG memiliki fungsi sebagai penguat rasa bila ditambahkan kedalam makanan. Dewasa ini penggunaan MSG menjadi tidak terkendali atau berlebihan. Hal ini ditunjukkan dengan adanya hasil survei Yayasan Lembaga Konsumen Indonesia (YLKI) pada tahun 2014 yang menyatakan bahwa para pedagang mie bakso, mie pangsit, dan mie rebus di Jakarta menggunakan MSG sebanyak 1840-3400 mg/mangkok (Setiawati, 2008). Penggunaan MSG pada makanan memang diperkenankan tetapi penggunaan MSG yang berlebihan akan mengakibatkan berbagai gangguan kesehatan seperti rasa panas dan kaku diwajah diikuti nyeri dada, sakit kepala, mual, jantung berdebar kadang disertai muntah. Gejala ini disebut *MSG complex syndrome*. Adanya berbagai gangguan kesehatan yang diakibatkan oleh penggunaan MSG menuntut ahli pangan untuk mampu melakukan inovasi produk yang dapat menggantikan peran MSG sebagai bahan penguat dan penyedap rasa pada makanan. Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa bahan makanan yang mengandung protein seperti daging, ikan, susu, dan tanaman banyak mengandung glutamat yang merupakan salah satu komposisi MSG yang paling besar yaitu 78% (Winarno, 2004).

Penelitian Witono (2014) menyebutkan bahwa *flavor enhancer* dari hidrolisat protein ikan air laut menggunakan metode hidrolisis enzimatis protease terbukti mampu meningkatkan cita rasa masakan. Salah satu enzim protease yang dapat digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein ikan adalah protease dari tanaman biduri (*Calotropis gigantea*). Ekstrak dari tanaman biduri baik dari bagian getah, batang maupun daun potensial sebagai sumber enzim protease (Witono *et al.* 2007). Hasil karakterisasi enzim protease dari tanaman biduri, berdasarkan spesifikasinya, mengindikasikan secara kuat termasuk dalam golongan eksopeptidase (Witono dan Kang 2010) yang sesuai untuk aplikasi dalam pembuatan hidrolisat protein *flavor enhancer*. Teknik hidrolisis ini sangat potensial dikembangkan di Indonesia mengingat kekayaan alam perikanan yang melimpah baik ikan air laut maupun ikan air tawar dan impor akan *flavor enhancer* yang masih tinggi.

Ikan patin merupakan salah satu spesies ikan budidaya air tawar. Jenis ikan ini biasanya dimanfaatkan sebagai ikan konsumsi. Oleh karena itu, banyak pengusaha yang membudidaya ikan patin. Warta Pasar Ikan edisi Mei 2011 menuliskan bahwa pada tahun 2000 hingga 2008 perikanan tangkap tumbuh hanya sekitar 25%, pada periode yang sama produksi perikanan budidaya telah melonjak hampir mencapai 400%. Jumlah produksi ikan yang melimpah menyebabkan ikan tidak dapat tertangani secara optimal oleh karena itu dapat dimanfaatkan sebagai protein fungsional dalam bentuk hidrolisat protein ikan patin. Hidrolisis enzimatis protein ikan potensial sebagai sumber komponen bioaktif peptida yang belum banyak dikembangkan. Hidrolisat protein ikan (HPI) telah terbukti memiliki efek hipokolesterolemik (Wergedhal *et al.* 2004), antioksidan (Je *et al.* 2008), dan anti-inflamasi (Marchbank *et al.* 2009).

Ikan patin memiliki kandungan protein sebesar 14,53% (Maghfiroh, 2000), yang berpotensi digunakan sebagai bahan baku pembuatan *flavor enhancer*. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai pembuatan *flavor enhancer* dari hidrolisat protein dari ikan air tawar yaitu ikan patin secara enzimatis menggunakan enzim protease dari tanaman biduri.

1.2 Rumusan Masalah

Proses pembuatan hidrolisat protein ikan patin yang dilakukan secara enzimatis dengan menggunakan enzim protease dari tanaman biduri dipengaruhi oleh konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis. Permasalahan yang muncul yaitu belum diketahui konsentrasi enzim protease dan waktu yang tepat pada pembuatan hidrolisat protein ikan patin agar dihasilkan hidrolisat protein yang memiliki karakteristik yang tepat sebagai bahan baku *flavor enhancer*.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi enzim protease biduri dan waktu hidrolisis terhadap karakteristik fisik, kimia dan sifat fungsional hidrolisat protein ikan patin.
2. Mendapatkan kombinasi yang tepat antara konsentrasi enzim protease biduri dan waktu hidrolisis sehingga dapat menghasilkan karakteristik dari hidrolisat protein ikan patin yang terbaik.

1.4 Manfaat

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah :

1. Menambah alternatif *flavor* alami sebagai bahan tambahan pangan yang lebih aman untuk industri pangan.
2. Mendorong penggalan sumber-sumber *flavor* alami baru berbasis potensi ikan sungai dan air tawar di Indonesia.
3. Manambah nilai guna dan ekonomi ikan patin dalam dunia pangan.
4. Mengurangi impor *food flavor* di Indonesia.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Patin (*Pangasius hypopthalmus*)

Ikan patin merupakan ikan asli perairan Indonesia. Ikan patin mempunyai bentuk tubuh memanjang, berwarna putih perak dengan punggung berwarna kebiruan. Ikan patin tidak memiliki sisik, kepala ikan patin relative kecil dengan mulut terletak diujung kepala agak ke bawah. Hal ini merupakan cirri khas golongan *cat fish*. Pada pembudidayaan dalam usia enam bulan ikan patin bisa mencapai panjang 35 – 40 cm. sudut mulutnya terdapat dua pasang kumis pendek yang berfungsi sebagai peraba. Sirip punggung memiliki sebuah jari jari keras yang berubah menjadi patil yang besar dan bergerigi di belakangnya, sedangkan jari – jari lunak pada sirip punggungnya terdapat 6 -7 buah (Kordi, 2005). Gambar dari ikan patin dapat dilihat pada **Gambar 2.1**.



Sumber: Kordi, 2005

Gambar 2.1. Ikan Patin (*Pangasius hypopthalmus*)

Menurut Kordi (2005), taksonomi ikan patin (*Pangasius hypopthalmus*)

Adalah sebagai berikut:

Ordo	:	Ostariophysi
Sub-ordo	:	Siluroidea
Famili	:	Pangasidae
Genus	:	<i>Pangasius</i>
Spesies	:	<i>Pangasius hypopthalmus</i>

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Maghfiroh (2000), komposisi daging ikan patin terdiri dari 14,53 % protein, 1,09 % lemak, 0,74 % abu, dan 82,22% air. Tingginya kadar protein yang terkandung dalam daging ikan patin tersebut dapat dimanfaatkan sebagai asupan protein bagi manusia, yang mana kebutuhan protein orang dewasa per hari sekitar 0,54 - 0,57 g/kg berat badan (Winarno, 2004).

Ikan patin dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku pembuatan *flavor enhancer* karena memiliki kandungan asam glutamat yang lebih tinggi dibandingkan jenis ikan air tawar lainnya. Komposisi asam amino ikan patin dan jenis ikan air tawar lainnya dapat dilihat pada **Tabel 2.1**.

Tabel 2.1 Kandungan Asam Amino Pada Ikan Air Tawar

Asam Amino	Jenis Ikan Air Tawar		
	Ikan Patin (%)	Ikan Gabus (%)	Ikan Bader (%)
Metionin	25,32	0,81	25,72
Triptofan	-	-	27,31
Histidin	28,75	4,16	32,42
Treonin	30,05	8,34	36,34
Isoleusin / leusin	21,07	8,34/14,98	23,25
Fenilalanin	39,56	7,5	25,24
Lisin	22,95	17,02	29,40
Arginin	30,60	-	28,31
Valin	13,98	8,66	22,30
Tirosin	15,21	7,49	42,50
Serin	-	11,02	-
Glisin	-	6,99	-
Sistein	-	0,16	-
Alanin	-	10,07	-
Asam aspartat	-	17,02	-
Asparagin	53,50	-	46,50
Asam glutamat	59,07	30,93	40,92
Glutamin	20,77	-	33,36
Prolin	41,34	5,19	13,99

Sumber: Hermiastuti, 2013

2.2 Enzim Protease Biduri

Enzim protease merupakan enzim yang banyak digunakan dalam industri pangan seperti dalam pembuatan keju, penjernih bir, pengempuk daging dan

pembuatan roti. Pemakaian enzim protease dinilai efektif karena enzim ini memiliki beberapa keuntungan yaitu proses lebih efisien, mengurangi material kasar, meningkatkan kualitas produk, pengganti *food additive* dan menghindari kemungkinan berbahaya pada makanan (Rastall, 2007). Adanya berbagai manfaat dari enzim protease maka penggunaan enzim tersebut setiap tahunnya mengalami peningkatan tetapi hal ini tidak diimbangi dengan ketersediaan enzim protease yang mencukupi kebutuhan sehingga perlu dicari sumber – sumber enzim protease yang lain. Salah satu sumber enzim protease yang sangat potensial yaitu tanaman biduri. Tanaman biduri merupakan tanaman lahan kering dengan ketinggian 0,5 – 3,0 m yang banyak ditemukan pada lahan – lahan kosong dengan periode kering yang lama. Biduri sampai saat ini belum banyak dimanfaatkan, bahkan pada beberapa daerah dianggap sebagai gulma (Stenis, 1992). Enzim protease biduri dapat diperoleh dari getah tanaman biduri (*Calotropis gigantean*).

Menurut Susanti (2005) enzim protease dari biduri merupakan enzim protease jenis eksoprotease yaitu enzim protease yang memotong ikatan peptide pada bagian luar atau ujung sehingga didapatkan peptida pendek dan asam – asam amino. Enzim protease biduri merupakan enzim protease sulfidril. Karakteristik enzim protease biduri dapat dijabarkan sebagai berikut:

1. Suhu optimum enzim protease biduri yaitu 55 °C
2. Aktivitas optimal pada pH 7
3. Enzim protease dari getah biduri dapat diinaktivasi pada suhu di atas 60 °C
4. Protein enzim terdenaturasi dengan cepat pada suhu 90 °C.

2.3 Hidrolisis Protein

Hidrolisis merupakan pemecahan banyak ikatan menjadi ikatan lebih kecil dan sederhana. Hidrolisis protein adalah proses pecahnya atau terputusnya ikatan peptida dari protein menjadi molekul yang lebih sederhana. Hidrolisis protein dapat dilakukan secara kimia dan enzimatis. Menurut Sediaoetama (2000), ada tiga cara yang dapat ditempuh untuk menghidrolisis protein yaitu dengan cara hidrolisis menggunakan asam, basa dan enzim.

Hidrolisis asam dilakukan menggunakan asam anorganik kuat, seperti HCl atau H₂SO₄ pekat dan dipanaskan pada suhu mendidih, dengan tekanan diatas 1 atm. Hidrolisis asam memiliki beberapa kelemahan antara lain produk yang dihasilkan menjadi sangat asam, sehingga perlu dinetralkan dengan alkali sampai pH 7. Tahap ini menyebabkan hidrolisat protein mengandung sejumlah garam. Selain itu, komponen triptofan, glutamin, dan sejumlah asam amino lainnya dapat hancur sehingga produk yang dihasilkan kehilangan zat gizi. Hidrolisis asam juga dapat mengakibatkan terbentuknya humin atau bahan-bahan lain serupa humin yang secara kompleks memisahkan asam amino dan hidrolisat (Johnson dan Peterson, 1974).

Hidrolisis protein menggunakan basa merupakan proses pemecahan polipeptida dengan menggunakan basa / alkali kuat, seperti NaOH dan KOH pada suhu tinggi, selama beberapa jam dengan tekanan diatas 1 atm. Proses hidrolisis menggunakan basa menurut Girindra (1993) akan merusak serin dan threonin.

Hidrolisis protein menggunakan enzim dilakukan dengan menambahkan enzim yang memperhatikan kondisi pH dan suhu optimum enzim. Secara teoritis metode hidrolisis protein yang paling efisien adalah menggunakan enzim, karena enzim menghasilkan peptida – peptida yang kurang kompleks dan mudah dipecah. Disamping itu hidrolisis enzim dapat menghasilkan produk hidrolisat yang terhindar dari perubahan dan kerusakan produk yang bersifat non hidrolitik (Johnson dan Peterson, 1974). Keuntungan yang 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 relative lebih murah dan menghasilkan komposisi asam amino tertentu terutama peptide 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. Peningkatan konsentrasi enzim ternyata akan meningkatkan volume hidrolisat protein ikan yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut. Kecepatan katalisis enzim meningkat pada konsentrasi enzim yang lebih besar, tetapi bila konsentrasi enzim

berlebih, maka proses tersebut tidak efisien. Untuk meningkatkan aktivitas hidrolisis, maka dapat digunakan enzim-enzim proteolitik komersial (Syahrizal, 1991).

2.4 Hidrolisat Protein

Pada saat ini hidrolisat protein banyak digunakan sebagai peningkatan gizi, zat pemberi citarasa dan makanan diet. Hidrolisat protein didefinisikan sebagai hasil dari protein yang mengalami hidrolisis baik secara kimiawi, fermentasi dan enzimatik dengan hasil akhir berupa senyawa protein yang lebih sederhana. Hidrolisis dapat dilakukan dengan asam atau enzim yang berfungsi sebagai katalisator. Produk akhir hidrolisat protein dapat berbentuk cair, pasta, atau bubuk yang bersifat higroskopis (Muljanah, 1991).

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 peptida, asam amino, amoniak dan senyawa-senyawa pembentuk cita rasa (Maga, 1998).

Pada pembuatan hidrolisat protein, terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi produk yaitu suhu, waktu hidrolisis dan konsentrasi enzim yang ditambahkan. Waktu hidrolisis yang berlebihan menyebabkan jumlah peptida dan asam amino menurun dan jumlah padatan tidak fungsional meningkat, disamping itu semakin lama waktu hidrolisis maka akan menghasilkan produk hidrolisat yang pahit (Pigott dan Tucker, 1990).

Proses produksi hidrolisat protein ikan menggunakan enzim proteolitik merupakan proses yang cukup sederhana. Langkah awal yang dilakukan adalah pencampuran bahan baku (raw material) dengan air, kemudian diikuti dengan penyesuaian suhu dan pH optimal, penambahan enzim dan reaksi hidrolisis enzimatik pada waktu tertentu, selanjutnya penginaktivasian enzim, langkah terakhir adalah pengeringan atau pemekatan (Kristinsson, 2007).

Penggunaan hidrolisat protein pada olahan pangan memiliki beberapa keuntungan yaitu hidrolisat protein umumnya mudah larut, stabil pada pemanasan tinggi, tidak mudah mengendap oleh adanya berbagai agensia atau keadaan seperti adanya ion – ion logam dan bermanfaat bagi pasien yang mempunyai kelemahan pencernaan (Rachmawati, 2009). Selain itu hidrolisat protein memiliki sifat fungsional yang penting dalam pengolahan pangan, seperti Flavour enhancer serta pembentuk tekstur (Hall dan Ahmad, 1992).

2.4.1 Kadar Protein Terlarut

Kadar protein terlarut atau biasa disebut daya cerna protein merupakan kemampuan suatu protein untuk dihidrolisis menjadi asam amino oleh enzim-enzim pencernaan (protease) (Pellet dan Young, 1980). Penentuan kadar protein terlarut dapat menggunakan Metode Lowry. Prinsip kerja dari Metode Lowry adalah adanya reaksi antara protein dengan asam fosfotungstat – fosfomolibdat pada suasana alkali akan memberikan warna biru yang intensitasnya tergantung pada konsentrasi protein yang ditera (Nisa, dkk., 2007).

Kelarutan protein akan meningkat jika diberi perlakuan asam yang berlebih, hal ini terjadi karena ion positif pada asam yang menyebabkan protein yang semula bermuatan netral atau nol menjadi bermuatan positif yang menyebabkan kelarutannya bertambah. Semakin jauh derajat keasaman larutan protein dari titik isoelektrisnya, maka kelarutannya akan semakin bertambah (Triyono, 2010). Sebaliknya, kelarutan protein akan berkurang apabila ditambahkan garam, akibatnya protein akan terpisah sebagai endapan. Peristiwa pemisahan protein ini disebut *salting out* (Winarno, 2004).

Mathew dan Van Holde (2000) dalam Handayani dkk (2007), mengemukakan bahwa kelarutan suatu protein sangat dipengaruhi oleh keberadaan garam berkonsentrasi tertentu dalam larutannya atau adanya peningkatan hidrasi molekul. Penurunan derajat hidrasi akan terjadi apabila terdapat induksi garam-garam seperti NaCl, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, Na_2SO_4 , maupun MgCl_2 . Pengaruh garam-garam tersebut pada kelarutan suatu protein sangat bervariasi. Hal ini didukung pula oleh beberapa faktor yang mempengaruhi kelarutan protein

tersebut misalnya temperatur, pH, karakteristik protein, karakteristik garam yang digunakan, dan konsentrasi protein.

2.4.2 Produk Maillard

Reaksi maillard adalah reaksi antara gugus karbonil dan gugus amina primer. Gugus karbonil dalam makanan banyak berasal dari gula – gula pereduksi, sementara gugus amina primer berasal dari asam amino atau protein (Heath dan Reineccius, 1986).

Reaksi maillard penting dalam pembentukan senyawa gurih yang diinginkan. Pengaruh reaksi maillard terhadap bahan pangan tergantung dari jenis pengolahan dan karakteristik dari bahan pangan tersebut. Pada bahan pangan tertentu adanya reaksi maillard sangat diinginkan sementara dalam produk lain adanya reaksi maillard dihindari karena dianggap menurunkan mutu produk (Wasserman, 1979). Reaksi maillard dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya yaitu suhu, waktu, kadar air, pH, konsentrasi dan sifat reaktan. Pencegahan terjadinya reaksi maillard dapat dilakukan dengan mengurangi gula dan senyawa amino yang tidak dibutuhkan. Suhu yang tinggi menyebabkan karamelisasi gula dan pirolisis protein.

Menurut Susanto dan Saneto (1994) reaksi maillard berlangsung melalui tahap – tahap berikut:

1. Reaksi kondensasi antara gugus α amina primer dari asam amino ($R-NH_2$) atau protein dengan gugus karbonil ($-C=O$) dari gula reduksi menghasilkan basa Schiff. Kemudian basa ini mengalami siklisasi menjadi N-substituted glikosilamine.
2. Reaksi selanjutnya terjadi suatu seri perubahan (*rearrangement*) menurut reaksi amadori dan melibatkan perubahan gula dari bentuk aldosa menjadi ketosa.
3. Dehidrasi dari hasil reaksi amadori membentuk turunan – turunan furfuraldehida, misalnya dari heksosa diperoleh hidroksimetil furfural.
4. Proses dehidrasi selanjutnya menghasilkan hasil antara metil α -dikarbonil yang diikuti penguraian menghasilkan reduktor – reduktor dan α -dikarboksil seperti metilglioksal, asetol dan diasetil.

5. Aldehida – aldehida aktif dari 3 dan 4 terpolimerisasi tanpa mengikutsertakan gugus amino hal ini disebut kondensasi aldol atau dengan gugus amino membentuk senyawa berwarna coklat yang disebut melanoidin.

2.4.3 Tingkat Ketengikan

Ketengikan (*rancidity*) terjadi karena asam lemak diubah karena hidrolisis. Bau yang kurang sedap muncul akibat campuran dari berbagai komponen. Hal ini disebabkan oleh otooksidasi radikal asam lemak tidak jenuh dalam lemak. Otooksidasi dimulai dengan pembentukan radikal – radikal bebas yang disebabkan oleh faktor – faktor yang dapat mempercepat reaksi seperti panas, cahaya, peroksida lemak atau hidroperoksida. Molekul – molekul lemak yang mengandung radikal asam lemak tidak jenuh mengalami oksidasi dan menjadi tengik. Bau tengik yang tidak sedap tersebut disebabkan oleh pembentukan senyawa – senyawa hasil pemecahan hidroperoksida (Winarno, 1995).

Radikal bebas dengan O_2 membentuk peroksida aktif yang dapat membentuk hidroperoksida yang bersifat sangat tidak stabil dan mudah pecah menjadi senyawa dengan rantai karbon yang lebih pendek oleh radiasi energy tinggi, energy panas, katalis logam atau enzim. Senyawa – senyawa dengan rantai C lebih pendek ini adalah asam – asam lemak, aldehida – aldehida dan keton yang bersifat volatile dan menimbulkan bau tengik pada lemak (Winarno, 1995).

Ketengikan merupakan indikator dari kerusakan lemak dan minyak. Uji TBA merupakan metode untuk mengetahui tingkat ketengikan lemak yang berada dalam bahan pangan. Batas maksimum kadar TBA untuk hasil pengujian yaitu 1 – 2 molonaldehyde/g (Trilaksani, 2003).

2.4.4 Daya buih dan Stabilitas Buih

Buih dapat didefinisikan sebagai sistem dua fase yang mengandung udara dan dipisahkan dengan lapisan kontinyu yang tipis yang disebut fase lamellar. Mekanisme terbentuknya buih diawali dengan terbukanya ikatan – ikatan dalam molekul protein sehingga rantainya menjadi lebih panjang. Tahap selanjutnya adalah proses asorpsi yaitu pembentukan monolayer atau film dari protein yang

terdenaturasi. Udara ditangkap dan dikelilingi oleh film dan membentuk gelembung. Pembentukan lapisan monolayer kedua dilanjutkan di sekitar gelembung untuk mengganti bagian film yang terkoagulasi. Film protein dari gelembung yang berdekatan akan berhubungan dan mencegah keluarnya cairan. Terjadinya peningkatan kekuatan interaksi antara polipeptida akan menyebabkan agregasi protein dan melemahnya permukaan film dan diikuti dengan pecahnya gelembung buih (Cherry dan Mc Waters, 1981).

Kestabilan buih merupakan ukuran kemampuan struktur buih untuk bertahan kokoh atau tidak mencair selama waktu tertentu. Indikator kestabilan buih adalah besarnya tirsan buih selama waktu tertentu dan dinyatakan dalam bobot, volume atau derajat pencairan pencairan buih (Stadelman, 1995).

Faktor-faktor yang mempengaruhi daya buih protein adalah sebagai berikut:

1. Nilai pH. Pada titik isoelektrik atraksi elektrostatik maksimum, viskositas dan rigiditas meningkat dan buih yang stabil terbentuk.
2. Konsentrasi protein. Buih yang dibentuk pada konsentrasi protein yang tinggi lebih tebal dan stabil karena adanya peningkatan ketebalan film interfisial.
3. Whipping aids. Whipping aids dapat ditambahkan pada protein untuk meningkatkan kapasitas buih menurunkan kerusakan protein akibat pengeringan dan pemanasan. Whipping aids komersial yang biasa digunakan adalah trietil sitrat dan gliseril triasetat. Etanol banyak digunakan sebagai whipping aids pada Industri bir. Sukrosa dengan konsentrasi 20% digunakan untuk melindungi putih telur selama pasteurisasi dan pengeringan. Penambahan NaCl mempengaruhi kapasitas buih protein karena garam mempengaruhi kelarutan, viskositas, unfolding, dan agregasi protein.
4. Inhibitor buih. Inhibitor buih merupakan substansi yang tidak larut air dan dapat menyebabkan rusaknya film protein. Lemak dalam jumlah yang rendah (0,1%) dapat menyebabkan rusaknya daya buih protein.

2.4.5 Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi

Aktivitas emulsi protein adalah kemampuan protein mengambil bagian dalam pembentukan emulsi dan dalam menstabilkan emulsi yang baru terbentuk. Kapasitas emulsi adalah kemampuan larutan atau suspensi protein untuk mengemulsikan minyak. Sedangkan stabilitas emulsi adalah kemampuan droplet emulsi untuk tetap terdispersi tanpa mengalami koalesens, flokulasi, dan creaming.

Emulsi pangan dapat berupa *oil in water* (O/W) atau *water in oil* (W/O). Protein merupakan surface active agents yang efektif karena memiliki kemampuan untuk menurunkan tegangan interfasial antara komponen hidrofobik dan hidrofilik pada bahan pangan (Ansel, 1989). Untuk memproduksi emulsi yang stabil, harus dipilih protein yang larut, memiliki grup bermuatan, dan memiliki kemampuan untuk membentuk film kohesif yang kuat. Berdasarkan mekanisme hidrofobitas, protein ampifilik yang memiliki hidrofobitas permukaan yang tinggi diadsorpsi pada permukaan minyak/air. Protein yang diadsorpsi ini menurunkan tegangan interfasial yang membantu terbentuknya emulsi. Protein dengan kandungan asam amino non polar yang tinggi (lebih dari 30% dari total asam amino) menunjukkan aktivitas emulsi dan daya buih yang tinggi, namun memiliki daya gel yang rendah.

Beberapa faktor yang mempengaruhi sifat emulsi protein, yaitu:

1. Konsentrasi protein: Stabilitas emulsi dipengaruhi oleh jumlah protein dalam preparasi
2. Nilai pH: Beberapa protein memiliki daya emulsi yang optimal pada titik isoelektriknya seperti putih telur dan gelatin, sementara beberapa memiliki daya emulsi yang optimal pada pH yang jauh dari titik isoelektrik seperti protein kacang dan kedelai.
3. Kekuatan ion: Adanya garam menurunkan potensial repulsi elektrostatis dan dapat menurunkan stabilitas emulsi.
4. Perlakuan panas: Suhu merupakan faktor kritis dalam pembentukan emulsi. Pemanasan menyebabkan peningkatan penampakan viskositas pada beberapa protein, yang mempengaruhi sifat emulsi dari protein ini.

Beberapa proses dapat menyebabkan ketidakstabilan emulsi. Ketidakstabilan emulsi ini disebabkan oleh agregasi, koalesens, flokulasi, dan creaming. Koalesen menyebabkan terjadinya peningkatan ukuran droplet dan volume fase serta perubahan viskositas. Flokulasi dan koagulasi disebabkan oleh fenomena ukuran droplet lemak. Interaksi antara droplet lemak ini menyebabkan terjadinya flokulasi. Creaming disebabkan karena adanya perbedaan densitas antara fase minyak dan air. Droplet dengan ukuran lebih kecil dari 0,5 mm tidak menyebabkan creaming, karena itu reduksi ukuran droplet dapat menurunkan kemungkinan terjadinya creaming.

Fungsi-fungsi pengemulsi pangan dapat dikelompokkan menjadi tiga golongan utama yaitu:

- a. Untuk mengurangi tegangan permukaan pada permukaan minyak dan air, yang mendorong pembentukan emulsi dan pembentukan kesetimbangan fase antara minyak, air dan pengemulsi pada permukaan yang memantapkan antara emulsi.
- b. Untuk sedikit mengubah sifat-sifat tekstur, awetan dan sifat-sifat reologi produk pangan, dengan pembentukan senyawa kompleks dengan komponen-komponen pati dan protein.
- c. Untuk memperbaiki tekstur produk pangan yang bahan utamanya lemak dengan mengendalikan keadaan polimorf lemak.

2.4.6 Total Padatan Terlarut

TDS (*Total Dissolve Solid*) atau total padatan terlarut yaitu ukuran zat terlarut baik itu zat organik maupun anorganik yang terdapat pada sebuah larutan. Total padatan terlarut (*Total Dissolved Solid*) adalah bahan-bahan terlarut (diameter $< 10^{-6}$ mm) dan koloid (diameter $< 10^{-6}$ mm - $< 10^{-3}$ mm) yang berupa senyawa kimia dan bahan-bahan lain yang tidak tersaring pada kertas saring berdiameter 0,45 μ m (Ansel, 1989).

2.5 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Konsentrasi enzim biduri berpengaruh terhadap hidrolisat protein ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*)
2. Waktu hidrolisis berpengaruh terhadap hidrolisat protein ikan patin (*Pangasius hypophthalmus*)



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Bahan dan Alat Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan baku yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan patin, getah tanaman biduri yang diperoleh dari pantai watu ulo kabupaten Jember. Bahan kimia yang digunakan adalah aquades, reagen Mix-Lowry (Na_2CO_3 anhidrat, CuSO_4), follin, reagen TBA, isobutanol, etanol, NaOH 0,1 N atau HCl 0,1 N dan *Trichloroacetic acid* (TCA).

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi blender *stainless steel* merek GMC, pipet mikro (Surepette), sentrifuse, pipet, tabung reaksi pyrex, labu ukur, pH meter, magnetic stirrer, vortex (Thermolyne type 16700), waterbath GFL 1083, colour reader CR 100, neraca analitik Ohaus, pemanas listrik, oven, soxhlet P Selecta Det Gras N, labu kjeldahl, tanur pengabuan (Nabertherm), desikator, spectrophotometer.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia dan Biokimia Hasil Pertanian, laboratorium Rekayasa Proses dan Hasil Pertanian serta laboratorium Analisa Terpadu Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember, pada bulan Maret – Juli 2015 (penelitian pendahuluan dan utama).

3.3 Metode Penelitian

3.3.1 Pelaksanaan Penelitian

Tahap awal pembuatan enzim biduri dilakukan dengan cara mengambil getah biduri dari batang tanaman biduri yang selanjutnya ditambahkan buffer fosfat 0,5 M pH 7 dengan perbandingan 1 bagian getah dan 1 bagian buffer

phosphate. Pemisahan supernatant dan endapan (sebagian besar mengandung gum dan komponen selain protein) dilakukan dengan sentrifus dingin suhu 4°C pada kecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Supernatant cair ini selanjutnya digunakan untuk hidrolisis. Sebelum digunakan supernatant cair tersebut dilakukan uji aktivitas enzim guna mengetahui enzim tersebut memiliki aktivitas yang tinggi atau tidak sehingga apabila digunakan enzim tersebut diharapkan dapat bekerja dengan baik.

Penelitian pendahuluan dilakukan pengujian kadar protein pada ikan patin untuk mengetahui kandungan protein dan menentukan jumlah daging ikan yang digunakan pada pembuatan hidrolisat protein. Pembuatan hidrolisat kering ikan patin tahap pertama dilakukan dengan memfillet ikan patin untuk memisahkan daging dengan kepala dan tulangnya. Daging yang didapat kemudian dilakukan pengukusan selama 10 menit. Setelah itu dilakukan penghancuran dengan menambahkan air dengan perbandingan air dan bahan 2:1 (berat/berat). Suspensi ikan patin diatur pada pH 7 dengan cara menambahkan HCl 0,1 N atau NaOH 0,1 N. Suspensi ikan patin dengan pH 7 ditambahkan enzim biduri dengan berbagai konsentrasi yaitu 1%, 2% dan 3%. Kemudian dilakukan hidrolisis pada suhu 55°C dengan variasi waktu (0 jam, 1,5 jam dan 3 jam). Selanjutnya dididihkan dengan suhu 100°C selama 10 menit untuk menginaktifkan enzim. Hidrolisat yang dihasilkan dikeringkan dalam oven selama kurang lebih 18 jam pada suhu 60 °C. Setelah kering hidrolisat ikan patin dilakukan penumbukan untuk menghaluskan dengan menggunakan mortar. Diagram alir pembuatan hidrolisat kering ikan patin dapat dilihat pada Gambar 3.1.

3.3.2 Rancangan Penelitian

Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 2 faktor dan masing-masing diulang sebanyak 3 kali.

a. Faktor pertama yaitu konsentrasi enzim protease biduri (A) yang terdiri dari :

A1: 1%

A2: 2%

A3: 3%

b. Faktor kedua yaitu waktu hidrolisis (B) yang terdiri dari :

B1: 0 jam

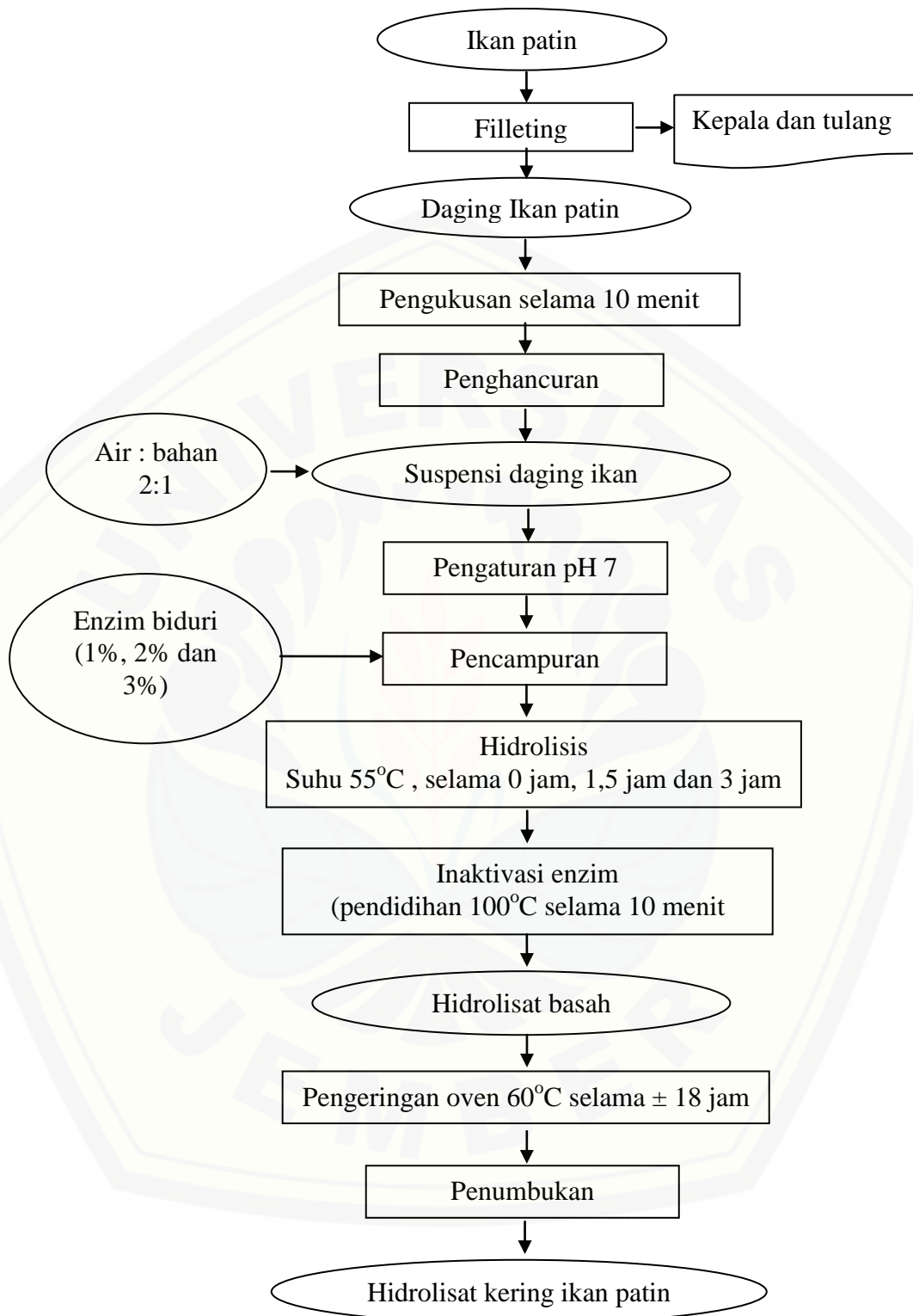
B2: 1,5 jam

B3: 3 jam

Dari kedua faktor tersebut akan diperoleh 9 kombinasi perlakuan. Adapun kombinasi perlakuan tersebut adalah sebagai berikut :

A1B1	A1B2	A1B3
A2B1	A2B2	A2B3
A3B1	A3B2	A3B3

Analisa data dilakukan secara statistik dengan ANOVA (*Analysis of Varians*). Apabila ANOVA menunjukkan perbedaan yang nyata maka dilakukan uji lanjut BNT (Beda Nyata Terkecil) pada taraf 5%.



Gambar 3.1 Diagram Alir Pembuatan Hidrolisat Kering Ikan Patin

3.4 Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati dalam penelitian ini meliputi :

1. Analisa Fisik
 - a. Warna
 - b. Total Padatan Terlarut (Sudarmadji *et al.*, 1997)
2. Analisa Kimia
 - a. Analisis Kadar Air (AOAC, 2005)
 - b. Analisis Kadar Abu (AOAC, 2005)
 - c. Analisis Kadar lemak (AOAC, 2005)
 - d. Kadar Protein Terlarut (Metode Lowry; Sudarmadji, 1997)
 - e. Jumlah Produk Maillard (Manzocco dkk., 1999)
 - f. Tingkat Ketengikan (Sudarmadji, 1997)
3. Analisa Sifat Fungsional
 - a. Daya buih dan Stabilitas Buih (Subagio, dkk., 2003)
 - b. Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi (Parkington *et al.*, 2000)
4. Uji Efektifitas

3.5 Prosedur Analisa

3.5.1 Analisa Fisik

a. Warna

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

$$L^* = 94,35 + dL$$

$$a^* = -5,75 + da$$

$$b^* = 6,51 + db$$

$$H = \tan^{-1}$$

Parameter yang diamati:

H = Hue, sudut warna (0° = warna netral, 90° = kuning, 180° = hijau, 270° = biru).

Adapun deskripsi warna berdasarkan Hue dapat dilihat pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1 . Deskripsi penentuan warna berdasarkan Hue

No	Kriteria warna Kisaran	$^\circ$ Hue
1	Red Purple (RP)	342° - 18°
2	Red (R)	18° - 54°
3	Yellow Red (YR)	54° - 90°
4	Yellow (Y)	90° - 126°
5	Yellow Green (YG)	126° - 162°
6	Green (G)	162° - 198°
7	Blue Green (BG)	198° - 234°
8	Blue (B)	234° - 270°
9	Blue Purple (BP)	270° - 306°
10	Purple (P)	306° - 342°

Sumber : (Winarno, 2004)

b. Total Padatan Terlarut (Sudarmadji *et al.*, 1997)

Diambil bahan dengan menggunakan pipet tetes, substansi diteteskan di atas kaca handrefractometer lalu dilihat titik terang dan gelapnya. Angka yang tertera tersebut merupakan total padatan terlarut atau total soluble solid ($^\circ$ Brix).

3.5.2 Analisa Kimia

a. Analisis kadar air (AOAC, 2005)

Analisis kadar air dilakukan dengan penguapan menggunakan oven. Tahap pertama yang dilakukan adalah mengeringkan cawan porselen pada suhu 102 - 105°C selama 1 jam. Cawan tersebut diletakkan dalam desikator kurang lebih 15 menit hingga dingin kemudian ditimbang. Cawan dimasukkan sampel sebanyak 5 gram kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 102 - 105°C selama 6 jam. Setelah 6 jam cawan tersebut dimasukkan ke dalam desikator hingga dingin kemudian ditimbang bobotnya.

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

b. Analisis Kadar Abu (AOAC, 2005)

Analisis kadar abu dilakukan dengan mengabukan sampel di dalam tanur. Tahap pertama cawan abu porselen dikeringkan di dalam oven selama 1 jam pada suhu 105°C, lalu didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Sampel ditimbang sebanyak 5 gram dan dimasukkan ke dalam cawan pengabuan yang akan dipijarkan di atas nyala api bunsen hingga tidak berasap lagi. Setelah itu dimasukkan ke dalam tanur pengabuan dengan suhu 600 °C selama 6 jam, kemudian ditimbang hingga didapatkan berat yang konstan. Proses pengabuan dilakukan sampai abu berwarna putih. Setelah itu cawan didinginkan dalam desikator selama 30 menit, kemudian ditimbang bobotnya.

Perhitungan kadar abu :

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

Keterangan :

A = Berat cawan kosong (gram)

B = Berat cawan yang diisi sampel (gram) sebelum di tanur

C = Berat cawan dengan sampel (gram) setelah ditanur

c. Analisis Kadar lemak (AOAC, 2005)

Sampel seberat 2 gram (W_1) disebar di atas kapas yang beralaskan kertas saring dan digulung membentuk *thimble*. Sampel yang telah dibungkus dimasukkan ke dalam labu lemak yang sudah ditimbang berat tetapnya (W_2) dan disambungkan dengan tabung Soxhlet. Selongsong lemak dimasukkan ke dalam ruang ekstraktor tabung Soxhlet dan disiram dengan pelarut lemak (n-heksana). Kemudian dilakukan refluks selama 6 jam. Pelarut lemak yang ada dalam labu lemak didestilasi hingga semua pelarut lemak menguap. Pelarut akan tertampung di ruang ekstraktor, pelarut dikeluarkan sehingga tidak kembali ke dalam labu lemak, selanjutnya labu lemak dikeringkan dalam oven pada suhu 105 °C, setelah

itu labu dimasukkan dalam desikator sampai beratnya konstan (W_3). Kadar lemak ditentukan dengan rumus:

$$\% \text{kadar lemak} = \frac{W_3 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

Keterangan :

W_1 = Berat sampel (gram)

W_2 = Berat labu lemak tanpa lemak (gram)

W_3 = Berat labu lemak dengan lemak (gram)

d. Kadar Protein Terlarut (Metode Lowry; Sudarmadji, 1997)

Menimbang sampel sebanyak 0,1 gram. Kemudian dilarutkan dengan aquades 10 ml. sampel disentrifuge 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.

e. Jumlah Produk Maillard (Manzocco dkk., 1999)

Sampel ditimbang sebanyak 0,1 gram dan dilarutkan ke dalam 10 ml aquadest kemudian divortex selama 3 menit. Kemudian ditera absorbansinya pada panjang gelombang 420 nm.

f. Tingkat Ketengikan (Sudarmadji, 1997)

Penentuan ketengikan dilakukan dengan cara 0,05 gram sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 1 ml reagen TBA. Kemudian dipanaskan dalam air mendidih selama ± 15 menit. Setelah dingin ditambahkan 1 ml isobutanol dan ditera volumenya menjadi 5 ml dengan etanol. Setelah divortex dan disentrifuge pada 5000 rpm selama 5 menit, supernatant ditera pada panjang gelombang 535 nm menggunakan spectronic Genesys 10 UV Scanning, sedangkan blanko dibuat dengan cara yang sama tetapi tanpa sampel. Nilai TBA yang dinyatakan dengan banyaknya malonaldehide (MDA) pada bahan dihitung

berdasarkan *molar extinction coefficient* $1,56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Perhitungan nilai TBA adalah sebagai berikut :

$$\text{Mmol/kgMDA} = \frac{A \text{cm}^{-1}(\text{sampel} - \text{blanko}) \cdot 1000 \text{m M/M} \cdot \text{ml sampel} \cdot 1000 \text{g/kg}}{1,56 \times 10^5 \text{M}^{-1} \text{cm}^{-1} \cdot \text{g bahan} \cdot 100 \text{ ml/liter}}$$

Keterangan : MDA = Malonaldehyde
A = Absorbansi

3.5.3 Analisa Sifat Fungsional

a. Daya buih dan Stabilitas Buih (Subagio, dkk., 2003)

Penentuan daya buih dan stabilitas buih ditentukan dengan cara menimbang sampel sebanyak 0,1 gram dan ditambahkan 25 ml *buffer phosphate* 0,05 M pH 7. Kemudian dimasukkan ke dalam gelas ukur 100 ml. Pada saat memasukkan ke dalam gelas ukur, catat volume yang terdapat pada gelas ukur sebagai volume awal sampel, kemudian letakkan aerator selama 1 menit sebagai pembentuk buih dan catat volume buih selama 1 menit. setelah volume diketahui, hentikan aerator dan tunggu selama 2 menit dan catat volume akhir sampel tersebut.

$$\text{Daya buih} = \frac{\text{vol. setelah aerasi} - \text{volume awal}}{\text{berat sampel}}$$

$$\text{Stabilitas buih} = \frac{\text{vol. sisa buih}}{\text{vol awal}} \times 100\%$$

Keterangan :

Vol. sisa buih = vol. setelah 2 menit – vol. awal 0 menit

Vol. awal = vol. setelah 1 menit – vol. awal 0 menit

b. Daya Emulsi dan Stabilitas Emulsi (Parkington *et al.*, 2000)

Pengukuran daya emulsi dilakukan dengan menimbang sampel sebanyak 0,1 gram dan ditambahkan 100 ml buffer fosfat 0,05M pH 7. Setelah itu dilakukan pengadukan menggunakan stirrer selama 15 menit. Kemudian ditambahkan 25 ml minyak goreng dan dilakukan pencampuran menggunakan blender selama 3 menit. Untuk pengukuran daya emulsi, setelah dicampurkan

menggunakan blender langsung diambil 1 ml, sedangkan pengukuran stabilitas emulsi dilakukan dengan pengambilan 1 ml setelah 10 menit kemudian. Masing-masing ditambahkan 5 ml SDS 0,1 % dan dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah itu dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 500 nm. Selanjutnya dilakukan perhitungan daya dan stabilitas emulsi dengan rumus sebagai berikut.

$$EAI (m^2/g) = \frac{2 \times 2,303}{c \times (1-\phi) \times 10^4} \times abs \times dilution$$

Keterangan:

- c = konsentrasi protein (g/ ml)
 ϕ = fraksi volume minyak (ml/ml) dari emulsi
 abs = absorbansi
 dilution = fraksi larutan (SDS + emulsi)
 EAI = *Emulsifying Activity Index* (indeks aktivitas emulsi)

$$ESI (jam) = \frac{(T \times \Delta t)}{\Delta T}$$

Keterangan:

- T = absorbansi pada waktu 0 jam
 Δt = selisih waktu yang akan dihitung
 ΔT = selisih absorbansi pada waktu 0 jam dengan absorpsi pada waktu yang akan dihitung
 ESI = *Emulsifying Stability Index*

3.5.4 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:

$$\text{Nilai Hasil (NH)} = \text{Nilai Efektivitas (NE)} \times \text{Bobot Normal Parameter (BNP)}.$$

6. Menjumlahkan nilai hasil dari semua variabel dengan kombinasi perlakuan terbaik dipilih dari kombinasi perlakuan dengan nilai total tertinggi.

