

**ABSTRAK DAN EXECUTIVE SUMMARY
PENELITIAN STRATEGIS NASIONAL**

TEMA: KETAHANAN DAN KEAMANAN PANGAN



**PRODUKSI FLAVOR ALAMI KOMERSIAL DENGAN MEMANFAATKAN
POTENSI BAHAN BAKU DARI IKAN SUNGAI DAN IKAN AIR TAWAR
SECARA ENZIMATIS MENGGUNAKAN PROTEASE LOKAL
DARI TANAMAN BIDURI**

Penelitian Tahun ke-1 dari 2 Tahun yang direncanakan

Ketua :Dr. Yuli Witono, S.TP.,MP. NIDN: 0012126904
Anggota :Dr. Ir. Iwan Taruna, M.Eng. NIDN: 0005106905
Anggota :Ir. Wiwik Siti Windrati, MP. NIDN: 0021115303

Dibiayai oleh:

Program Hibah Penelitian Kompetitif Nasional sesuai dengan Surat Perjanjian
Penugasan Penelitian Strategis Nasional Tahun Anggaran 2015
Nomor: 219/UN25.3.1/LT/2015 Tanggal 5 Februari 2015

**UNIVERSITAS JEMBER
NOVEMBER, 2015**



Penyusunan Riset Produksi Flavor Alami Komersial dengan Memanfaatkan Potensi Bahan Baku dari Ikan Sungai dan Ikan Air Tawar Secara Enzimatis Menggunakan Protease Lokal Dari Tanaman Biduri.

Peneliti : Yui Witono¹, Iwan Taruna², Wiwik Siti Windrati¹.
Mahasiswa Terlibat : Isnairil Akbariawati¹, Tri Norma S¹, Maria Pierena¹, Diannisa W.A¹.
Sumber Dana : Program Hibah Penelitian Kompetitif Nasional 2015

¹ Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

² Jurusan Keteknikan Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan teknologi produksi *flavor* alami komersial dari protein ikan sungai dan air tawar secara enzimatis menggunakan protease dari sumber asli Indonesia yakni tanaman biduri (*Calotropis gigantea*). Target khusus dari penelitian ini adalah: (1) teknologi produksi *flavor* alami dari protein ikan sungai dan air tawar yang berpotensi paten; (2) *flavor* spesifik dari ikan sungai dan air tawar yang terpublikasi dalam jurnal terakreditasi nasional dan internasional; (3) buku teks tentang *flavor* alami berbahan ikan di Indonesia; dan (4) teknologi produksi penyedap alami dari ikan sungai yang dapat diaplikasikan pada industri mitra.

Penelitian ini fokus mempelajari proses hidrolisis enzimatis menggunakan protease biduri pada substrat ikan hasil perairan sungai dan budidaya air tawar di sekitar wilayah Jawa Timur yang produktivitasnya tinggi dan karakter rasanya sangat khas sehingga dihasilkan protein hidrolisat dan *flavor* yang spesifik. Penelitian ini merujuk dari hasil-hasil penelitian sebelumnya dari pengembangan teknologi enzim protease biduri dalam produksi indigenous *flavor* yang telah dilakukan oleh pengusul.

Penelitian dilaksanakan dalam 2 (dua) tahap yang saling terkait. Tahap pertama (Tahun 2015) terdiri atas: (1) identifikasi ikan-ikan sungai potensial dan teknik preparasinya, (2) penentuan kondisi proses enzimatis yang optimum menggunakan protease biduri pada substrat ikan; dan (3) modifikasi prosesnya sehingga dihasilkan hidrolisat yang berpotensi *flavor* paling tinggi. Identifikasi ikan-ikan potensial dilakukan dengan mengkaji produktivitas beserta profil asam amino prekursor terbentuknya *flavor*. Produktifitas dan potensi asam amino pembentuk *flavor* tertinggi akan dipilih untuk selanjutnya ditelaah kondisi proses enzimatis paling optimal. Penelitian tahap kedua (Tahun 2016) akan dilakukan modifikasi proses hidrolisis dengan mengkombinasikan sinergisme menggunakan enzim sumber lokal lainnya (seperti papain / bromelin) serta penambahan aktivator. Selanjutnya, dilakukan formulasi untuk mendapatkan formula, metode filling dan teknik pengeringan yang tepat sehingga dihasilkan *flavor* alami beserta produk turunannya yang spesifik, multiguna dan berdaya simpan tinggi. Dilanjutkan dengan pengujian *flavor* sebagai ingredien pada makanan, perbandingan profil *flavor* yang dihasilkan dengan *flavor* komersial lainnya, serta scale up produksi *flavor* alami dan analisis teknoekonominya.

Hasil penelitian tahap pertama menunjukkan: (1) tiga jenis ikan sungai dan air tawar di Jawa Timur yang berpotensi dikembangkan sebagai indigenous flavor adalah wader, bader, dan patin yang memiliki kandungan tinggi protein yang didukung oleh hasil uji profil asam amino (menggunakan HPLC) yang menunjukkan bahwa ke-3 jenis ikan ini mengandung minimal 15 jenis asam amino dengan jenis asam amino tertinggi adalah L-Glutamic acid yang mengindikasikan potensinya sebagai flavor enhancer. Hidrolisis fillet dilakukan secara enzimatik menggunakan protease biduri (*Calotropis gigantea*) dengan melakukan modifikasi pada konsentrasi enzim (1, 2, dan 3%) dan lama hidrolisis (0; 1,5 dan 3 jam) untuk mendapatkan perlakuan terbaik.

Perlakuan lama inkubasi 3 jam dan konsentrasi enzim biduri 3% merupakan perlakuan terbaik dalam memproduksi hidrolisat protein ikan wader dengan nilai kelarutan protein sebesar 51,94 mg/ml. Perlakuan lama inkubasi 2 jam dan konsentrasi enzim biduri 2% merupakan perlakuan terbaik dalam memproduksi hidrolisat protein ikan bader dengan nilai kelarutan protein sebesar 47,88 mg/ml. Perlakuan lama inkubasi 1,5 jam dan konsentrasi enzim biduri 3% merupakan perlakuan terbaik dalam memproduksi hidrolisat protein ikan patin dengan nilai kelarutan protein sebesar 48,38 mg/ml. Kandungan asam amino dari perlakuan terbaik hidrolisat ikan wader, patin, dan bader berturut-turut sebesar 69,46; 57,79; dan 56,75% (w/w). Hasil analisa SDS-PAGE juga menguatkan bukti bahwa pada proses hidrolisis protein ikan air sungai dan air tawar menggunakan protease biduri terjadi pemotongan ikatan peptida pada protein sehingga terbentuk peptida-peptida pendek dan atau asam amino. Hal ini yang menyebabkan meningkatnya kandungan protein dan asam amino dari hidrolisat jika dibandingkan dengan fillet ikan pada mulanya.

Luaran yang dihasilkan hingga Laporan Akhir ini dibuat meliputi: **accepted to publish Jurnal Internasional bereputasi (terindeks scopus) "Procedia"**, **draft Artikel Ilmiah pada Jurnal Nasional Terakreditasi, Pembicara Utama (Keynote Speaker) pada International Conference on Food, Agriculture, and Natural Resources (FANRes 2015), Pembicara (oral presentation) pada internatioanal conference (SAFE Network (Asia Pacific Network for Suisnable Agriculture, Food and Energy, Vietnam, November 2015 (LOA) telah meluluskan 4 orang mahasiswa, Joint research for student exchange at Prefectural University of Hiroshima, Japan (telah memberangkatkan 1 orang) dan Undangan sebagai Pembicara Utama pada kuliah Umum Mahasiswa S1 dan Mahasiswa Pasca Sarjana di Prefectural University of Hiroshima, Japan.**

Adapun manfaat yang akan diraih dari hasil penelitian ini adalah: (1) terbukanya peluang usaha baru dalam bidang industri flavor alami yang spesifik dari sumber-sumber lokal di Indonesia; (2) meningkatnya nilai tambah ikan sungai dan air tawar, (3) bertambahnya ketersediaan flavor yang lebih aman dan selama ini masih diperoleh dengan cara impor; dan (4) teraplikasikannya teknologi produksi flavor oleh industri mitra sebagai usaha pengolahan ingredien yang lebih fungsional dan berkualitas.

Kata kunci: *hidrolisis enzimatik, indigenous flavor, ikan air sungai dan ikan air laut, kelarutan protein dan L-glutamic acid*



CERTIFICATE NO: QMS/173



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
LEMBAGA PENELITIAN

Alamat: Jl. Kalimantan No. 37 Jember Telp. 0331-337818, 339385 Fax. 0331-337818
e-Mail : penelitian.lemlit@unej.ac.id

Penyusunan Riset Produksi Flavor Alami Komersial dengan Memanfaatkan Potensi Bahan Baku dari Ikan Sungai dan Ikan Air Tawar Secara Enzimatis Menggunakan Protease Lokal Dari Tanaman Biduri.

Peneliti : Yui Witono¹, Iwan Taruna², Wiwik Siti Windrati¹.
Mahasiswa Terlibat : Isnairil Akbariawati¹, Tri Norma S¹, Maria Pierena¹, Diannisa W.A¹.
Sumber Dana : Program Hibah Penelitian Kompetitif Nasional 2015

¹Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

²Jurusan Keteknikan Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember

EXECUTIVE SUMMARY

1. Latar Belakang dan Tujuan Penelitian

1.1 Latar Belakang

Salah satu solusi dalam menurunkan ketergantungan terhadap impor *food ingredient* terutama *food flavor* adalah melalui pengembangan teknologi produksi flavor untuk industri pangan berbasis sumber alam lokal. Eksplorasi potensi flavor dari bahan-bahan alam lokal di Indonesia sangat diperlukan. Salah satu bahan lokal yang sangat potensial untuk dikembangkan adalah ikan yang bersumber dari perairan sungai dan air tawar di Indonesia. Kelompok ikan sungai dan hasil budidaya air tawar ini sangat banyak jenisnya, menyehatkan dan belum banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku industri pangan komersial. Witono (2009) menyatakan bahwa karakteristik bahan menjadi batasan terhadap pemanfaatan bahan baku ikan ini. Padahal sudah sejak lama sebagian besar masyarakat pemukiman sekitar sungai memanfaatkan ikan sungai dan air tawar untuk lauk-pauk dan bahkan diyakini dapat meningkatkan kecerdasan anak karena kandungan asam-asam amino esensialnya.

Hasil penelitian sebelumnya (Witono dkk., 2007) menunjukkan bahwa hidrolisis protease biduri pada substrat ikan bandeng menghasilkan produk maillard ('umami') yang sangat tinggi setelah direaksikan dengan gula 15%. Lebih lanjut, Barlamam dkk. (2012) juga melaporkan bahwa ikan meniran, mujair dan tongkol sangat tinggi produktivitasnya, banyak dimanfaatkan untuk lauk pauk dan hasil hidrolisis substrat dari ketiga jenis ikan tersebut memiliki potensi flavor yang khas. Akan tetapi, ikan sungai dan air tawar umumnya memiliki keterbatasan penggunaannya karena berduri rapat, beraroma amis dan berbau tanah serta bersifat *high perishable* (sangat mudah rusak). Oleh karena itu, perlu dikembangkan

teknologi tepat guna yang dapat diaplikasikan untuk mengkonversi ikan-ikan tersebut menjadi flavor komersial yang multi guna dan berdaya simpan tinggi.

Rekayasa teknologi produksi flavor enhancer dapat dikembangkan melalui teknik hidrolisis. Dengan teknik hidrolisis, akan dihasilkan senyawa asam amino L, nukleotida dan berbagai ragam peptida. Produk hidrolisis ini dapat menjadi sumber dari bahan-bahan pembangkit 'umami' (rasa gurih) dan juga sebagai sumber cita rasa (Maga, 1998). Proses hidrolisis dapat dilakukan secara kimiawi maupun enzimatis. Proses hidrolisis kimiawi dapat memperpendek waktu, mempermudah dan mengurangi biaya pembuatan, namun flavor yang dihasilkan kurang baik dan keamanan bagi kesehatan kurang terjamin (Anonim, 2000). Teknik hidrolisis secara kimiawi akhir-akhir ini mulai dihindari oleh kebanyakan industri food ingredient di Indonesia. Hidrolisis enzimatis merupakan pilihan metode paling aman dan lebih menguntungkan dibanding secara kimiawi, karena hidrolisis secara enzimatis dihasilkan asam-asam amino bebas dan peptida dengan rantai pendek yang bervariasi. Produk tersebut mempunyai rentang kegunaan yang lebih luas pada *food industry* (Kunts, 2000).

1.2 Tujuan

Secara umum tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan teknologi produksi flavor alami komersial dari ikan hasil perairan sungai dan budidaya air tawar secara enzimatis menggunakan protease biduri dari sumber asli Indonesia. Secara khusus tujuan penelitian ini adalah untuk:

- (1) Mendapatkan teknik pre-treatment ikan-ikan sungai dan air tawar yang paling aplikatif dan tepat guna sehingga memudahkan proses penggunaannya sebagai bahan hidrolisis untuk flavor;
- (2) Menentukan kondisi proses enzimatis menggunakan protease biduri yang optimal dalam menghidrolisis substrat protein ikan sungai dan air tawar sehingga dihasilkan hidrolisat dengan potensi flavor paling tinggi;
- (3) Modifikasi proses hidrolisis enzimatis sehingga didapat kecepatan reaksi enzimatis yang paling tinggi dan karakteristik bahan flavor paling baik;
- (4) Menentukan formula, cara filling dan pengeringan yang tepat sehingga dihasilkan flavor alami yang spesifik dan berdaya simpan tinggi, scale up produksi dan analisis technoekonominya.

2. Metodologi Penelitian

Guna mencapai tujuan dari penelitian ini, maka disusun beberapa tahapan penelitian selama 2 (dua) tahun (Gambar 1), meliputi pre-treatment, pengujian dan modifikasi proses hidrolisis enzimatis serta pengembangan formula indigenous flavor sebagaimana uraian berikut ini.

Tahun 1: Teknik Pre-Treatment, Uji Hidrolisis Protease Biduri pada Substrat Ikan Sungai dan Air Tawar, Identifikasi Produk Hidrolisat yang dihasilkan serta Modifikasi Proses Hidrolisis Enzimatis

Tahap ini diawali dengan pemilihan jenis-jenis ikan sungai dan air tawar di wilayah perairan Jawa Timur (Bengawan Solo, Brantas, Sampean, Bedadung dan Bondoyudo) yang paling tinggi produktivitasnya, penentuan teknik pretreatment (*deboning*, *defatting* dan *deodorizing*) bahan baku ikan dalam bentuk filet, bubur atau suspensi ikan yang paling aplikatif, tepat guna dan paling mudah untuk diproses hidrolisis lebih lanjut. Diantara treatment-treatment yang akan dikaji adalah treatment kemis, fisik dan enzimatis.

Selanjutnya adalah ekstraksi dan identifikasi komponen dari ikan sungai dan air tawar (seperti ikan wader, lele, sepat, belut, bandeng atau ikan lainnya yang tersedia secara kontinyu dengan produktivitas paling tinggi). Identifikasi profil asam amino (metode HPLC) akan difokuskan pada komposisi asam amino utama yang berpotensi sebagai prekursor flavor. Selanjutnya akan dipelajari pengaruh kondisi hidrolisis protease biduri pada substrat ikan sungai dan air tawar. Kondisi hidrolisis yang dimaksud meliputi rasio protease biduri dengan substrat, pH dan suhu. K_m/V_{max} serta degree of hydrolisis protease biduri terhadap substrat terpilih akan diamati (Adinarayana *et al.*, 2003; Wanasundara *et al.*, 2002).

Protease biduri selanjutnya digunakan untuk memproduksi flavor dari ikan sungai dan air tawar terpilih dengan menelaah konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis. Selanjutnya akan diidentifikasi komponen flavor dan karakteristik flavor yang dihasilkan. Identifikasi flavor diamati menggunakan metode HPLC. Sedangkan parameter hidrolisat yang diamati antara lain: protein terlarut (metode Lowry; Waterborg and Matthews, 1995), tingkat ketengikan (Henick *et al.* dalam Anonim, 2000), produk reaksi Maillard (metode absorbansi; Hofmann *et al.*, 1999), daya antioksidan (metode DPPH; Subagio and Morita, 2001), daya emulsi, dan total padatan terlarut (refractometer) serta uji sensorik (metode deskriptif; Lawless and Heymann, 1998).

Tahun 2: Modifikasi Proses Hidrolisis Enzimatis, Pengembangan Teknik Formulasi Bahan Flavor (Hidrolisat Ikan Inferior) sebagai Flavor Komersial (Bumbu Jadi) dan Orientasi Aplikasinya pada Makanan

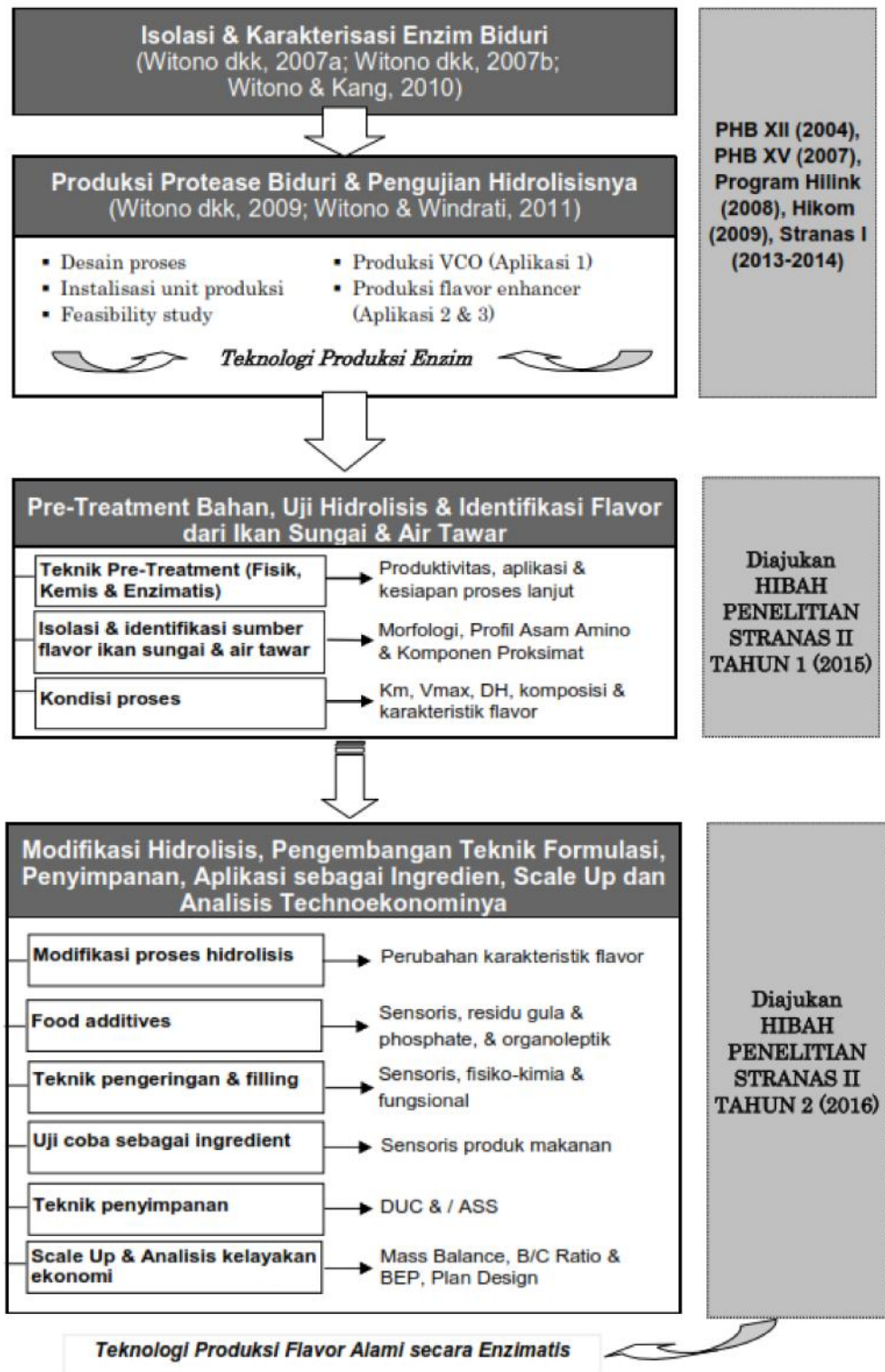
Penelitian tahun kedua akan mempelajari ***Modifikasi Proses Hidrolisis Enzimatis*** substrat ikan sungai dan air tawar, dengan mempertimbangkan dihadapkannya: (1) senyawa aktivator enzim biduri (Adinarayana *et al.*, 2003; Wanasundara, 2002); (2) kombinasi sinergis dengan endopeptidase komersial (misalnya papain / bromelin atau protamexTM; yang merupakan enzim endopeptidase dari mikroba yang umum digunakan dalam pangan) untuk membantu membentuk peptida-peptida yang lebih pendek atau memperbanyak ujung-ujung asam aminonya; dan (3) mencampur substrat dengan gelatin sebelum hidrolisis (Anonim, 2000).

Pengaruh Food Additives; pada percobaan ini efek beberapa bahan tambahan pada pengembangan flavor, seperti HVP (*hydrolyzate vegetable protein*), glukosa, sukrosa, bubuk bawang putih, fosfat dan fermented product dipelajari. Dianalisa sifat sensorisnya (metode deskriptif; Lawless and Heymann, 1998), residu gula reduksi (AOAC, 1995) dan residu fosfat bebas (conductimeter).

Pengaruh Pengeringan dan Filling; pada tahap ini pengaruh lama dan suhu pengeringan terhadap mutu produk flavor yang dihasilkan dipelajari. Pada percobaan ini selain akan dipelajari efek filling agent (CMC dan dekstrin) terhadap mutu produk, juga rasio hidrolisat dan garam sebagai filler utama juga akan dipelajari sehingga diperoleh garam sedap komersial. Adapun parameter yang diamati adalah uji sensorik (metode deskriptif; Lawless and Heymann, 1998), warna (color reader), A_w (metode cawan Conway), TBA value (Henick *et al.* dalam Anonim, 2000), analisis proksimat serta sifat rheologi (AOAC, 1995), dan sifat fungsionalnya (daya larut, *swelling power*, WHC dan OHC) serta karakteristiknya sebagai flavor enhancer alami.

Aplikasi pada Makanan; flavor akhir yang dihasilkan selanjutnya akan diaplikasikan pada makanan, terutama pada produk makanan berkuah (seperti soup, kuah bakso dan soto). Sekaligus akan dibandingkan profil flavor hasil hidrolisis protease biduri pada ikan sungai dan air tawar dengan produk flavor komersial lainnya. Pada tahap ini juga akan dirancang untuk pembuatan produk turunan dari hidrolisat ikan sungai dan air tawar (seperti garam sedap, kecap dan saos).

Membandingkan profil flavor hasil hidrolisis enzimatis dengan profil flavor komersial lainnya. Juga akan dikaji *scale up* produksi, diuji daya simpan flavor yang dilakukan dengan gabungan metode *days until caking (DUC)* dan atau *accelerated sotorage studies (ASS)* (Arpah dkk, 2002). Juga akan dianalisis kelayakannya secara ekonomi terutama parameter: B/C rasio dan BEP-nya.



Gambar 1 Diagram Alir Penelitian Produksi Flavor Alami Komersial dari Ikan Sungai & Air Tawar secara Enzimatis Menggunakan Protease Biduri

3. Pemaparan Hasil

3.1 Hasil Identifikasi Fillet Ikan

3.1.1 Rendemen

Dari hasil analisa didapatkan rendemen fillet tanpa perlakuan pada ikan wader, bader dan patin berturut-turut adalah 38%; 48,5% dan 42,79%. Rendemen fillet dengan perlakuan blanching berturut-turut adalah 43,10%; 36,05% dan 49,07%. Rendemen fillet dengan perlakuan perendaman larutan enzim papain berturut-turut adalah 64,71%; 45,26% dan 57,97%. Rendemen fillet dengan perlakuan perendaman larutan cuka berturut-turut adalah 48,45%; 41,14% dan 51,99%. Perendaman ikan dengan larutan enzim pada berbagai konsentrasi yaitu 0,25%; 0,5%; 0,75% dan 1,0%. Rendemen yang dihasilkan pada ikan wader berturut-turut adalah 57,45%; 64,71%; 45,50% dan 56,79%. Rendemen ikan bader berturut-turut adalah 45,26%; 44,39%; 42,16% dan 44,08%. Rendemen ikan patin berturut-turut adalah 51,25%; 56,18%; 54,33% dan 57,97%.

3.1.2 Warna

Data ketiga ikan tersebut memasuki kelompok warna 54-90 yang berarti berwarna kuning-merah. Warna kuning-merah ini berasal dari pigmen karotenoid yang terikat pada matriks lemak (Erna, 2005). Warna ketiga ikan ini tidak jauh berbeda dengan ikan air tawar yang lain seperti pada ikan patin jenis *Hibrid Nasutus* memiliki nilai a 3,03 dan b 4,33 sehingga nilai °HUE yang diperoleh sebesar 55,02. Nilai tersebut masih memasuki kelompok warna kuning-merah (Suryaningrum dkk, 2010).

3.1.3 Sifat Kimia Fillet Ikan

Tabel 1. Komposisi Kimia Fillet Ikan Wader, Bader dan Patin

Komponen	Ikan Wader	Ikan Bader	Ikan Patin
Kadar Air (%)	77,39	72,65	76,81
Kadar Abu (%)	0,85	0,96	1,02
Kadar Lemak (%)	9,1	7,6	18,3
Kadar Protein (%)	12,56	15,08	11,38

3.1.4 Daya Buih dan Stabilitas Buih

Data daya buih fillet ikan wader, bader dan patin berturut-turut adalah 211,03%; 235,10% dan 236,26%. Sedangkan stabilitas buih fillet ikan wader, bader dan patin berturut-turut adalah 19,17 menit; 18,38 menit dan 6,39 menit. Data tersebut menunjukkan nilai daya buih dipengaruhi oleh kadar protein ikan. Hal ini sesuai dengan mekanisme pembentukan buih yaitu ikatan-ikatan dalam molekul protein terbuka sehingga rantai protein lebih panjang, kemudian udara masuk diantara molekul dan tertahan sehingga volume meningkat (Winarno dan Koswara, 2002).

3.1.5 Daya dan Stabilitas Emulsi

Daya emulsi pada fillet ikan wader, bader dan patin berturut-turut adalah 2,42 m²/g; 2,37 m²/g dan 2,98 m²/g. Stabilitas emulsi berturut-turut adalah 0,55 menit; 0,93 menit dan 1,14 menit.

3.1.6 Water Absorption Capacity (WAC)

WAC merupakan kemampuan suatu bahan pangan dalam menahan air. Dari hasil perhitungan didapatkan nilai WAC untuk fillet ikan wader, bader dan patin berturut-turut adalah 375,64%; 375,38% dan 368,45%.

3.1.7 Fat Absorption Capacity (FAC)

Dari hasil analisa yang telah dilakukan, terdapat nilai FAC untuk fillet ikan wader, bader dan patin berturut-turut adalah 48,64%; 32,20% dan 67,33%. Data ini berbanding terbalik dengan nilai WAC yang dihasilkan.

3.1.8 Komposisi Asam Amino

Tabel 2. Hasil Uji Asam Amino Pada Ikan Wader, Bader dan Patin Dengan Metode HPLC

No	Parameter	Satuan	Hasil		
			Wader	Bader	Patin
1	Aspartic Acid	%	1.80	1.20	2.13
2	Glutamic Acid	%	3.15	1.99	3.61
3	Serine	%	0.82	0.50	0.89
4	Histidine	%	0.39	0.25	0.40
5	Glycine	%	0.98	1.26	0.99
6	Theorine	%	0.86	0.53	1.02
7	Arginine	%	1.19	0.78	1.36
8	Alanine	%	1.13	0.96	1.19
9	Tyrosine	%	0.62	0.29	0.74
10	Methionine	%	0.59	0.32	0.60
11	Valine	%	0.81	0.53	0.86
12	Phenylalanine	%	0.72	0.48	0.77
13	I-leucine	%	0.75	0.45	0.88
14	Leucine	%	1.49	0.93	1.69
15	Lysine	%	1.80	1.06	1.91

3.2 Karakterisasi Hidrolisat Protein Ikan

3.2.1 Kadar Air

Semakin tinggi konsentrasi enzim protease yang ditambahkan dan lama hidrolisis maka persentase kadar air hidrolisat ikan bader semakin menurun. Hal ini dikarenakan proses hidrolisis yang dilakukan enzim membutuhkan air. Proses hidrolisis dapat mempengaruhi kandungan air dalam suatu bahan, berupa pengikatan antara enzim dengan substrat yang sangat dipengaruhi oleh adanya ikatan hidrogen (Girindra, 1993). Air yang terkandung dalam bahan sebagian akan digunakan untuk proses hidrolisis dan sebagian lagi akan menguap

selama proses hidrolisis yang menggunakan energi panas (Kristantina, 2010). Semakin banyak enzim yang ditambahkan, maka akan semakin banyak pula air yang dibutuhkan untuk proses hidrolisis sehingga kadar air pada hidrolisat ikan bader semakin menurun. Selain itu, semakin lama waktu hidrolisis maka interaksi antara substrat dan enzim semakin tinggi sehingga semakin banyak ikatan peptida dari protein untuk mengikat air semakin kecil (Winarno, 1986).

Tabel 3. Kadar Air Hidrolisat Protei Ikan Wader, Bader dan Patin

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Bader	Hidrolisat Ikan Patin
Enzim Biduri 1%, 0 jam	8,54 ± 0,40	9,49 ± 0,91 ⁱ	11,72 ± 0,19 ⁱ
Enzim Biduri 2%, 0 jam	8,51 ± 0,31	9,14 ± 0,79 ^{fg}	11,16 ± 0,39 ^{gh}
Enzim Biduri 3%, 0 jam	9,24 ± 0,31	10,62 ± 0,99 ^j	8,89 ± 0,63 ^f
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	9,05 ± 0,40	9,48 ± 0,77 ^{gh}	11,56 ± 0,89 ^{hi}
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	9,43 ± 0,27	7,06 ± 0,75 ^d	7,12 ± 0,44 ^e
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	9,86 ± 0,23	8,96 ± 0,36 ^{ef}	6,51 ± 0,73 ^{cd}
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	7,57 ± 0,25	4,92 ± 0,54 ^{ab}	6,98 ± 0,07 ^{de}
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	7,75 ± 0,34	5,01 ± 0,82 ^{bc}	5,25 ± 0,49 ^b
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	8,15 ± 0,27	5,07 ± 0,49 ^c	3,95 ± 0,30 ^a

3.2.2 Kadar Abu

Tabel 4. Kadar Abu Hidrolisat Protein Ikan Wader, Bader dan Patin

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Bader	Hidrolisat Ikan Patin
Enzim Biduri 1%, 0 jam	4,47 ± 0,48 ^a	5,36 ± 0,53 ^{ef}	4,47 ± 0,38
Enzim Biduri 2%, 0 jam	4,45 ± 0,19 ^a	6,25 ± 0,73 ^g	4,97 ± 0,25
Enzim Biduri 3%, 0 jam	6,66 ± 0,43 ^{cd}	6,86 ± 0,59 ⁱ	5,57 ± 0,82
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	4,42 ± 0,18 ^a	5,35 ± 0,87 ^{de}	3,91 ± 0,24
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	5,16 ± 0,13 ^b	5,14 ± 0,02 ^{cd}	4,20 ± 0,21
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	5,84 ± 0,12 ^{de}	6,81 ± 0,12 ^{hi}	4,57 ± 0,56
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	4,29 ± 0,13 ^a	4,65 ± 0,15 ^{ab}	3,50 ± 0,28
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	5,40 ± 0,41 ^{bc}	5,12 ± 0,48 ^{bc}	4,00 ± 0,12
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	4,20 ± 0,06 ^a	5,78 ± 0,40 ^{fg}	4,23 ± 0,60

Semakin lama hidrolisis dan semakin banyak konsentrasi enzim maka kadar abu pada hidrolisat ikan bader terjadi penurunan. Penurunan pada kadar abu ini disebabkan karena semakin lama hidrolisis dan semakin banyak konsentrasi enzim maka pemutusan polipeptida menjadi peptida-peptida pendek oleh enzim protease biduri semakin banyak, sehingga mengakibatkan banyaknya mineral anorganik yang terlepas dari jaringan otot ikan (Novian, 2005). Hal tersebut yang menyebabkan penurunan kadar abu pada hidrolisat ikan bader.

3.2.3 Kadar Lemak

Tabel 5. Kadar Lemak Hidrolisat Protein Ikan Wader, Bader dan Patin

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Bader	Hidrolisat Ikan Patin
Enzim Biduri 1%, 0 jam	19,18 ± 0,82 ^c	21,06 ± 0,99 ^h	37,18 ± 0,73 ^h
Enzim Biduri 2%, 0 jam	21,29 ± 0,94 ^{fg}	22,71 ± 0,97 ⁱ	33,26 ± 0,82 ^g
Enzim Biduri 3%, 0 jam	20,86 ± 0,50 ^{ef}	19,58 ± 0,91 ^g	24,42 ± 0,58 ^f
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	15,90 ± 0,63 ^b	9,64 ± 0,61 ^{de}	24,21 ± 0,77 ^f
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	20,43 ± 0,33 ^{de}	13,78 ± 0,91 ^f	20,82 ± 0,38 ^d
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	19,24 ± 0,83 ^c	10,27 ± 0,83 ^e	21,75 ± 0,69 ^e
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	20,35 ± 0,90 ^d	5,90 ± 0,79 ^a	17,84 ± 0,97 ^e
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	12,64 ± 0,48 ^a	8,66 ± 0,41 ^c	16,84 ± 0,96 ^b
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	13,10 ± 0,36 ^a	7,04 ± 0,99 ^b	10,29 ± 0,77 ^a

Semakin besar konsentrasi enzim yang ditambahkan dan semakin lama waktu hidrolisis maka kadar lemak yang dihasilkan akan semakin rendah. Hal ini dikarenakan selama proses hidrolisa matriks protein banyak yang terbuka yaitu rantai peptida terpotong menjadi lebih pendek sehingga lemak mudah terekstrak dan terurai menjadi senyawa penyusunnya, sehingga kadar lemaknya turun (Novian, 2005). Selain itu, penurunan kadar lemak terjadi karena pada saat proses hidrolisis enzimatis terjadi perubahan struktur jaringan ikan yang sangat cepat. Pengamatan dengan mikroskop elektron terhadap bagian tipis dari otot ikan memperlihatkan bahwa protein miofibril banyak berkurang selama proses hidrolisis, sedangkan sistem membran sel otot terlihat relatif resisten dari kerusakan. Pada saat proses hidrolisis, membran ini cenderung berkumpul dan membentuk gelembung yang tak larut, yang dapat mengakibatkan hilangnya membran lipid (Shahidi dkk, 1994).

3.2.4 Kadar Protein

Tabel 6. Kadar Protein Hidrolisat Protein Ikan Wader, Bader dan Patin

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Bader	Hidrolisat Ikan Patin
Enzim Biduri 1%, 0 jam	55,19 ± 4,63	31,32	40,09±0,04 ^a
Enzim Biduri 2%, 0 jam	55,42 ± 5,15	32,53	40,48±0,13 ^b
Enzim Biduri 3%, 0 jam	55,62 ± 5,94	34,54	42,13±0,04 ^c
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	55,88 ± 6,70	46,98	45,11±0,52 ^d
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	55,46 ± 9,89	48,28	53,99±0,14 ^e
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	58,79 ± 5,49	56,58	63,29±0,30 ^f
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	59,74 ± 5,47	69,46	59,06±0,05 ^g
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	60,25 ± 5,96	83,30	61,44±0,33 ^h
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	60,47 ± 5,80	84,75	65,80±0,12 ⁱ

Kadar protein pada masing-masing hidrolisat semakin meningkat dengan meningkatnya penambahan enzim protease biduri dan lama hidrolisis. Hal ini karena selama proses hidrolisis, protein yang terpecah menjadi peptida-peptida pendek semakin banyak yang menyebabkan perubahan dalam protein yaitu semakin meningkatnya gugus NH₃⁺ dan COO⁻ sehingga kelarutan proteinnya semakin meningkat pula, akibatnya kadar protein

semakin meningkat (Nielsen, 1997). Menurut Haslaniza *et al* (2010), semakin meningkatnya konsentrasi enzim proteolitik akan menyebabkan peningkatan kandungan nitrogen terlarut dalam hidrolisat protein ikan. Nitrogen terlarut dalam hidrolisat protein ikan berupa peptide, asam amino, amoniak dan senyawa-senyawa pembentuk cita rasa (Maga, 1998).

3.2.5 Kadar Protein Terlarut

Tabel 7. Kadar Protein terlarut hidrolisat protein ikan wader, bader dan patin

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Bader	Hidrolisat Ikan Patin
Enzim Biduri 1%, 0 jam	44,78 ± 0,73 ^a	42,49 ± 0,59 ^f	32,01 ± 0,95 ^a
Enzim Biduri 2%, 0 jam	44,81 ± 1,55 ^a	39,57 ± 1,20 ^e	36,92 ± 0,53 ^e
Enzim Biduri 3%, 0 jam	50,42 ± 1,14 ^b	44,22 ± 0,79 ^{gh}	37,89 ± 0,50 ^f
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	55,33 ± 2,14 ^{cd}	38,21 ± 1,81 ^{de}	34,73 ± 0,66 ^b
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	54,12 ± 1,90 ^c	47,88 ± 1,88 ⁱ	46,30 ± 0,66 ^h
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	57,68 ± 0,59 ^f	45,14 ± 1,28 ^h	48,21 ± 0,96 ⁱ
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	55,82 ± 0,48 ^{de}	32,47 ± 0,13 ^a	35,45 ± 0,70 ^{cd}
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	59,30 ± 1,12 ^g	37,16 ± 0,73 ^{bc}	35,85 ± 0,73 ^d
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	65,90 ± 0,81 ^h	37,32 ± 1,33 ^{cd}	42,29 ± 0,17 ^g

Penambahan konsentrasi enzim biduri berbanding lurus dengan perubahan kadar protein terlarut hidrolisat ikan yang dihasilkan, yaitu semakin tinggi konsentrasi enzim yang ditambahkan maka kadar protein terlarutnya semakin meningkat. Hal ini dikarenakan enzim protease biduri memecah protein menjadi peptida pendek dan asam amino yang mudah larut.

Lama hidrolisis juga berpengaruh terhadap kadar protein terlarut hidrolisat ikan yang dihasilkan. Hasil penelitian menunjukkan adanya peningkatan kadar protein terlarut dengan adanya peningkatan lama waktu hidrolisis. Meningkatnya kadar protein terlarut tersebut terjadi karena semakin lama waktu hidrolisis maka kontak antara enzim protease biduri dan substrat protein ikan wader semakin lama sehingga peptida pendek dan asam amino yang dihasilkan semakin banyak. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Haslaniza *et al* (2010), bahwa semakin lama waktu hidrolisis, aktivitas proteolisis meningkatkan pemecahan protein semakin luas dan dihasilkan derajat hidrolisis yang lebih tinggi sehingga kadar protein terlarutnya semakin tinggi pula. Namun pada hidrolisat protein ikan bader dan patin, nilai kadar protein terlarut menurun pada perlakuan hidrolisis 3 jam.

3.2.6 Nilai Produk Maillard

Tabel 8. Nilai Produk Maillard Hidrolisat Protein Ikan Wader, Bader dan Patin

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Bader	Hidrolisat Ikan Patin
Enzim Biduri 1%, 0 jam	0,91 ± 0,07 ^a	0,83 ± 0,01	1,16 ± 0,13 ^a
Enzim Biduri 2%, 0 jam	0,86 ± 0,04 ^a	0,91 ± 0,08	1,17 ± 0,02 ^b

Enzim Biduri 3%, 0 jam	1,09 ± 0,05 ^{bc}	0,99 ± 0,11	1,45 ± 0,03 ^c
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	1,05 ± 0,05 ^b	1,22 ± 0,14	1,20 ± 0,44 ^d
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	1,12 ± 0,01 ^{cd}	1,55 ± 0,08	1,15 ± 0,15 ^e
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	1,34 ± 0,04 ^g	1,70 ± 0,06	1,74 ± 0,23 ^f
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	1,13 ± 0,02 ^{de}	1,81 ± 0,05	1,92 ± 0,18 ^g
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	1,26 ± 0,05 ^f	2,04 ± 0,07	2,07 ± 0,08 ^{hi}
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	1,64 ± 0,09 ^h	2,34 ± 0,11	1,99 ± 0,32 ⁱ

Semakin tinggi konsentrasi enzim yang ditambahkan nilai produk maillardnya semakin meningkat. Hal ini terjadi karena semakin tinggi konsentrasi enzim maka asam amino yang dihasilkan dari proses hidrolisis semakin banyak. Produk maillard erat kaitannya dengan kadar protein terlarut. Produk maillard dapat terjadi akibat adanya reaksi antara asam amino dan aldehid. Proses hidrolisis akan menghasilkan gugus amina yang merupakan bahan pereaksi maillard, dimana pada keadaan ini gugus amina protein berikatan dengan gugus aldehid atau keton dari gula pereduksi sehingga terbentuk polimer nitrogenous berwarna coklat atau yang disebut melanoidin (DeMan, 1999 dalam Witono *et al.*, 2014) yang berakibat semakin meningkatnya nilai produk maillard pada hidrolisat protein ikan wader yang dihasilkan.

3.2.7 Tingkat Ketengikan

Tabel 9. Tingkat Ketengikan Hidrolisat Protei Ikan Wader, Bader dan Patin

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Patin	Hidrolisat Ikan Bader
Enzim Biduri 1%, 0 jam	0,09± 0,001 de	0,20± 0,13	0,02± 0,001a
Enzim Biduri 2%, 0 jam	0,07± 0,005 c	0,23± 0,11	0,02± 0,001a
Enzim Biduri 3%, 0 jam	0,05± 0,002 a	0,19± 0,09	0,04± 0,005de
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	0,11± 0,002 f	0,30± 0,08	0,04± 0,0005bc
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	0,10± 0,006 e	0,35± 0,18	0,05± 0,002g
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	0,06± 0,002 b	0,36± 0,21	0,04± 0,004e
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	0,15± 0,007 h	0,43± 0,16	0,04± 0,002c
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	0,13± 0,010 g	0,40± 0,09	0,06± 0,005h
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	0,09± 0,007 d	0,41± 0,09	0,05± 0,002f

Semakin besar konsentrasi enzim protease biduri yang digunakan maka tingkat ketengikan (nilai TBA) hidrolisat protein ikan wader semakin menurun. Hal ini diduga karena enzim protease biduri yang digunakan masih dalam bentuk *crude* (kasar). Menurut Witono *et al* (2006), enzim protease yang diekstrak secara langsung dari tumbuhan biduri masih mengandung klorofil. Suatu protease kasar masih mengandung bahan aktif seperti saponin, flavonoid, polifenol, tannin dan kalsium oksalat. Polifenol dan flavonoid merupakan antioksidan, sehingga semakin banyak enzim yang digunakan maka kandungan polifenol dan flavonoidnya semakin banyak yang berakibat tingkat ketengikan pada hidrolisat protein ikan wader menurun (Dalimartha, 2003). Antioksidan yang terkandung dalam enzim protease

biduri dapat menghambat ketengikan karena antioksidan lebih reaktif bereaksi dengan oksigen daripada bereaksi dengan lemak. Molekul aktif dari antioksidan menggagalkan terbentuknya peroksida dengan mengikat oksigen penyebab ketengikan sehingga ketengikan pada sampel dapat dihambat (Witono *et al.*, 2014).

3.2.8 Warna

Tabel 10. Warna Hidrolisat Protei Ikan Wader, Bader dan Patin

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Patin	Hidrolisat Ikan Bader
Enzim Biduri 1%, 0 jam	74,56± 0,42	73,36± 0,56g	73,82± 0,48 hi
Enzim Biduri 2%, 0 jam	74,42± 0,39	72,75± 0,18f	73,93± 0,64 i
Enzim Biduri 3%, 0 jam	73,37± 0,53	71,69± 0,74e	73,81± 0,51 gh
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	73,94± 0,15	71,60± 0,16de	73,81± 0,25 fg
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	73,73± 0,40	70,92± 0,22c	73,54± 0,33 ef
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	73,05± 0,12	69,09± 0,27b	73,06± 0,69 de
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	74,23± 0,19	68,42± 0,85a	71,28± 0,09 bc
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	73,71± 0,75	68,41± 0,21a	71,49± 0,76 c
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	74,01± 0,32	68,18± 0,83a	70,54± 0,44 a

Semakin banyak penambahan enzim protease biduri dan lama hidrolisis menghasilkan warna yang lebih gelap. Hal ini dikarenakan pada saat proses hidrolisis terjadi pemutusan ikatan peptida oleh enzim protease menghasilkan gugus amina yang merupakan bahan pereaksi maillard dimana pada keadaan ini gugus amina protein berikatan dengan gugus aldehid atau keton dari gula pereduksi, sehingga terbentuk polimer nitrogenous berwarna coklat atau yang disebut melanoidin (DeMan, 1999). Hal ini sama dengan hasil penelitian Witono *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa perlakuan konsentrasi enzim protease biduri dan waktu hidrolisis tidak mempengaruhi warna dari hidrolisat ikan inferior yang dihasilkan.

3.2.9 Total Padatan Terlarut

Semakin tinggi konsentrasi enzim protease biduri dan lama waktu hidrolisis yang digunakan, nilai total padatan terlarut pada hidrolisat protein ikan wader, bader dan patin semakin meningkat. Hal ini sesuai dengan pernyataan Nielsen (1997) yang menyatakan bahwa kenaikan protein dan total padatan terlarut ini disebabkan karena proses hidrolisis akan mengurangi berat molekul protein dan memperbanyak jumlah dari gugusan polar. Total padatan terlarut juga berasal dari peruraian protein menjadi molekul sederhana yang larut dalam air seperti asam amino dan pepton.

Tabel 11. Total Padatan Terlarut Hidrolisat Protein Ikan Wader, Bader dan Patin

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Patin	Hidrolisat Ikan Bader
-----------	-----------------------	-----------------------	-----------------------

Enzim Biduri 1%, 0 jam	5,00± 0,00 a	5,33± 0,58 a	6,00± 0,00 d
Enzim Biduri 2%, 0 jam	6,67± 1,53 b	7,33± 1,15 c	5,00± 1,00 b
Enzim Biduri 3%, 0 jam	10,00± 1,00c	8,33± 0,58 f	3,67± 0,58 a
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	8,33± 0,58 c	9,00± 1,00 b	8,33± 0,58 fg
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	8,00± 0,00 c	9,67± 0,58 e	6,33± 1,15 de
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	8,33± 0,58 c	9,67± 1,15 h	6,67± 0,58 e
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	10,00± 1,00 d	10,00± 0,00 d	8,67± 0,58 h
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	10,67± 0,58 d	10,33± 0,58 g	8,33± 0,58 gh
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	12,00± 1,00 e	12,67± 0,58 i	10,33± 0,58 i

2.2.10 Daya Buih

Tabel 12. Daya Buih Hidrolisat Protein Ikan Wader, Bader dan Patin

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Bader	Hidrolisat Ikan Patin
Enzim Biduri 1%, 0 jam	258,96 ± 0,45	258,19 ± 0,26	258,97 ± 0,90
Enzim Biduri 2%, 0 jam	259,05 ± 0,15	258,88 ± 0,15	259,14 ± 0,83
Enzim Biduri 3%, 0 jam	258,79 ± 0,65	258,71 ± 0,77	259,14 ± 0,83
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	259,22 ± 0,44	259,31 ± 0,40	258,88 ± 0,54
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	258,19 ± 0,51	258,79 ± 0,65	258,88 ± 0,39
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	258,79 ± 0,74	259,22 ± 0,26	259,22 ± 0,45
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	258,37 ± 0,97	258,79 ± 0,30	258,79 ± 0,79
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	258,28 ± 0,65	259,22 ± 0,52	258,96 ± 0,26
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	258,02 ± 0,39	258,71 ± 0,26	259,05 ± 0,30

Daya buihnya semakin menurun dengan semakin tinggi konsentrasi enzim yang ditambahkan dan lama waktu hidrolisis. Hal ini diduga karena peptida hidrofobik yang terbentuk selama proses hidrolisis jumlahnya sama sehingga daya buihnya sama. Selama proses hidrolisis terbentuk peptida hidrofobik yang dapat memerangkap udara dan air. Semakin lama hidrolisis dimungkinkan peptida hidropobiknya semakin berkurang sehingga daya buih menurun dengan semakin lamanya waktu hidrolisis.

3.2.11 Stabilitas Buih

Tabel 13. Stabilitas Buih Hidrolisat Protein Ikan Wader, Bader dan Patin

Semakin tinggi konsentrasi enzim protease biduri yang ditambahkan stabilitas buih dari ketiga hidrolisat protein ikan wader mengalami peningkatan. Hal ini dikarenakan enzim merupakan kelompok protein, semakin tinggi konsentrasi enzim yang ditambahkan maka akan meningkatkan kandungan protein yang terdapat pada sampel. Semakin tinggi protein maka stabilitas buihnya dapat bertambah. Buih yang terbentuk bersifat padat dan stabil (Kinsella dan Damodaran, 1981 dalam Nurhayati *et al.*, 2013).

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Bader	Hidrolisat Ikan Patin
-----------	-----------------------	-----------------------	-----------------------

Enzim Biduri 1%, 0 jam	15,03 ± 0,75 ^a	11,13 ± 0,62	13,68 ± 7,59 ^e
Enzim Biduri 2%, 0 jam	15,79 ± 0 ^{ab}	12,87 ± 1,97	16,20 ± 4,66 ^f
Enzim Biduri 3%, 0 jam	15,53 ± 0,46 ^a	10,72 ± 0,34	18,15 ± 11,63 ^g
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	16,70 ± 0,93 ^{cd}	10,76 ± 0,91	9,44 ± 4,35 ^b
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	15,53 ± 0,46 ^a	11,13 ± 0,62	18,22 ± 2,10 ^g
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	16,08 ± 0,51 ^{bc}	11,38 ± 1,01	24,10 ± 7,58 ^h
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	19,27 ± 0,65 ^f	11,13 ± 0,62	7,54 ± 3,13 ^a
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	16,86 ± 0,92 ^{de}	11,60 ± 0,10	12,38 ± 10,93 ^c
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	24,02 ± 0,85 ^g	11,79 ± 0,69	12,50 ± 6,25 ^d

3.2.12 Daya Emulsi

Tabel 14. Daya Emulsi Hidrolisat Protein Ikan Wader, Bader dan Patin

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Bader	Hidrolisat Ikan Patin
Enzim Biduri 1%, 0 jam	4,85 ± 0,20 ^e	6,15 ± 0,15 ^a	4,26 ± 0,09 ^{bc}
Enzim Biduri 2%, 0 jam	3,47 ± 0,13 ^d	7,48 ± 0,38 ^{de}	4,37 ± 0,29 ^{cd}
Enzim Biduri 3%, 0 jam	3,06 ± 0,04 ^c	6,90 ± 0,63 ^{bc}	4,70 ± 0,18 ^{de}
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	3,16 ± 0,30 ^c	7,23 ± 0,17 ^{cd}	6,45 ± 0,75 ^g
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	3,63 ± 0,37 ^d	7,72 ± 0,08 ^{fg}	3,83 ± 0,82 ^a
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	3,65 ± 0,28 ^d	7,54 ± 0,46 ^{ef}	7,16 ± 0,46 ^h
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	1,44 ± 0,12 ^a	7,83 ± 0,96 ^{gh}	4,90 ± 0,55 ^{ef}
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	2,11 ± 0,10 ^b	7,94 ± 0,76 ^{hi}	4,13 ± 0,12 ^{ab}
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	3,67 ± 0,09 ^d	8,15 ± 0,4 ⁱ	5,30 ± 0,64 ^{fg}

Semakin tinggi konsentrasi enzim yang ditambahkan maka daya emulsi ketiga hidrolisat protein ikan semakin meningkat. Hal ini dikarenakan enzim merupakan kelompok protein, semakin tinggi konsentrasi enzim yang ditambahkan maka akan meningkatkan kandungan protein yang terdapat pada sampel. Meningkatnya konsentrasi protein dapat meningkatkan kapasitas dan stabilitas emulsi (Zayas, 1997 dalam Suwarno, 2003).

3.2.13 Stabilitas Emulsi

Tabel 15. Stabilitas Emulsi Hidrolisat Protein Ikan Wader, Bader dan Patin

Perlakuan	Hidrolisat Ikan Wader	Hidrolisat Ikan Bader	Hidrolisat Ikan Patin
Enzim Biduri 1%, 0 jam	153,33 ± 6,10 ^d	11,14 ± 0,81 ^{bc}	163,38 ± 0,89 ⁱ
Enzim Biduri 2%, 0 jam	179,22 ± 6,88 ^f	12,41 ± 0,51 ^{hi}	154,93 ± 0,64 ^h
Enzim Biduri 3%, 0 jam	177,21 ± 6,37 ^f	10,22 ± 0,20 ^a	54,32 ± 1,08 ^e
Enzim Biduri 1% ; 1,5 jam	111,49 ± 4,27 ^c	12,34 ± 0,20 ^{gh}	76,14 ± 0,96 ^f
Enzim Biduri 2% ; 1,5 jam	157,46 ± 1,93 ^d	12,32 ± 0,67 ^{fg}	43,21 ± 0,58 ^d
Enzim Biduri 3% ; 1,5 jam	211,40 ± 2,71 ^g	12,29 ± 0,58 ^{cd}	96,97 ± 0,77 ^g
Enzim Biduri 1% ; 3 jam	58,81 ± 4,52 ^a	12,30 ± 0,58 ^{ef}	42,17 ± 0,70 ^c
Enzim Biduri 2% ; 3 jam	113,81 ± 5,26 ^b	11,74 ± 0,82 ^{de}	40,46 ± 0,31 ^b
Enzim Biduri 3% ; 3 jam	163,49 ± 1,98 ^e	12,99 ± 0,97 ⁱ	39,45 ± 0,92 ^a

Semakin tinggi konsentrasi enzim yang ditambahkan maka stabilitas emulsi hidrolisat protein ikan wader dan bader semakin meningkat. Peningkatan tersebut diduga karena enzim merupakan suatu kelompok protein, sehingga semakin tinggi konsentrasi enzim maka dapat

meningkatkan konsentrasi protein pada sampel. Meningkatnya konsentrasi protein dapat meningkatkan kapasitas dan stabilitas emulsi (Zayas, 1997 dalam Suwarno, 2003). Namun stabilitas emulsi hidrolisat protein ikan wader dan bader semakin menurun dengan semakin lama hidrolisis. Penurunan tersebut disebabkan karena semakin lama hidrolisis, protein yang terpecah menjadi peptida sederhana akan semakin banyak sehingga sulit untuk terserap dalam minyak.

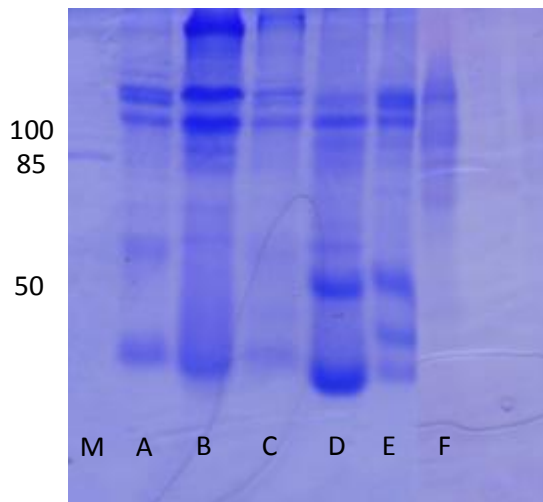
3.2.14 Asam Amino Hidrolisat Protein Ikan Air Tawar dan Sungai

Tabel 16. Asam Amino Hidrolisat Ikan Wader, Bader dan Patin (% unit)

No	Parameter	Unit	Result		
			Wader	Bader	Patin
	Protein	% w/w	76.80	71.77	68.03
	Amino Acid				
1	Aspartic acid	% w/w	7.66	6.70	6.37
2	Glutamic acid	% w/w	12.72	9.53	8.85
3	Serine	% w/w	3.27	2.60	2.35
4	Histidine	% w/w	1.41	1.57	1.50
5	Glycine	% w/w	3.62	3.41	3.04
6	Theorine	% w/w	3.71	2.94	3.42
7	Arginine	% w/w	4.88	3.51	3.39
8	Alanine	% w/w	4.21	3.29	3.11
9	Tyrosine	% w/w	2.88	2.94	2.88
10	Methionine	% w/w	2.50	2.22	1.56
11	Valine	% w/w	3.37	2.97	3.38
12	Phenylalanine	% w/w	3.06	2.65	2.35
13	l-Leucine	% w/w	3.18	2.87	3.12
14	Leucine	% w/w	6.17	4.63	5.07
15	Lysine	% w/w	6.80	5.96	6.36
	Amino Acid Total	% w/w	69.46	57.79	56.75

3.2.15 SDS-PAGE Protein Ikan dan Hidrolisat Protein Ikan

Gambar 2 menunjukkan hasil analisa SDS-PAGE protein ikan dan hidrolisatnya berdasarkan berat molekulnya. Hasil ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis dapat mengubah berat protein ikan yang awalnya besar menjadi lebih kecil. Secara keseluruhan, pita-pita protein hidrolisat mengindikasikan suatu pita protein terlarut, walaupun kadar protein terlarut tersebut tidak dapat merepresentasikan jumlah maupun berat molekul pita-pita protein hidrolisat.



Gambar 2 Hasil Analisa SDS-PAGE Fillet (A: wader, B: patin, C: bader) dan Hidrolisat

4. Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian tahun pertama dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Perlakuan filleting dengan rendemen tertinggi yang pada ikan wader, bader, dan patin berturut-turut adalah: enzim papain 0,50% (64,71 gr); enzim papain 0,25% (45.26%); dan enzim papain 1,0% (57,97 gr).
2. Kadar protein ikan wader, bader dan patin cukup potensial dimanfaatkan sebagai bahan baku flavor enhancer berturut-turut sebesar 12,56%; 14,17%; dan 11,38%.
3. Perlakuan lama inkubasi 3 jam dan konsentrasi enzim biduri 3% merupakan perlakuan terbaik dalam memproduksi hidrolisat protein ikan wader dengan nilai kelarutan protein sebesar 51,94 mg/ml.
4. Perlakuan lama inkubasi 2 jam dan konsentrasi enzim biduri 2% merupakan perlakuan terbaik dalam memproduksi hidrolisat protein ikan bader dengan nilai kelarutan protein sebesar 47,88 mg/ml.
5. Perlakuan lama inkubasi 1,5 jam dan konsentrasi enzim biduri 3% merupakan perlakuan terbaik dalam memproduksi hidrolisat protein ikan patin dengan nilai kelarutan protein sebesar 48,38 mg/ml.
6. Kandungan asam amino dari hidrolisat ikan wader, patin, dan bader berturut-turut sebesar 69,46; 57,79; dan 56,75% (w/w).
7. Jenis asam amino tertinggi pada hidrolisat ikan wader, patin, dan bader adalah asam glutamat dengan besar berturut-turut 12,72; 9,53; dan 8,85% (w/w) yang juga mengindikasikan potensinya untuk dapat diaplikasikan sebagai flavor enhancer.

Kata kunci: *hidrolisis enzimatis, indigenous flavor, ikan air sungai dan ikan air laut, kelarutan protein dan L-glutamic acid*

Referensi

- Adinarayana, K., Ellaiah, P. and Prasad, D.S., 2003, Purification and Partial Characterization of Thermostable Serine Alkaline Protease from a Newly Isolated *Bacillus subtilis* PE-11, *AAPS PharmSciTech*, 4 (4), 1-9.
- Anonim, 2000, *Pembuatan Flavor Hewani yang Murah, Multiguna dan Berdaya Simpan Tinggi*, Laporan Penelitian, Tim FTP Unej - PT. Sentra Food Indonusa, Jember.
- Arpah, M., Syarief, R. dan Daulay, S., 2002, Penerapan Uji DUC (*Days Until Caking*) dalam Penerapan Waktu Kedaluarsa Tepung. *J. Teknologi & Industri Pangan*. 13(3), 217-223.
- AOAC, 1995, *Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist*. 14th ed. AOAC. Inc. Arlington. Virginia.
- Barlaman, M.B.F., Hadi, D.K. dan Subayri, A., 2012, *Rekayasa Teknologi Produksi Flavor Flavor dari Ikan Sungai secara Enzimatis*, Laporan PKM, FTP-UNEJ.
- Dalimartha, S. 2003. *Biduri (Calotropisgigatea [Wild.]Dryand.exW.T.Ait)*. Jakarta: Pdpersi: <http://www.pdpersi.co.id>
- DeMan, 1999 dalam Witonoet al., 2014. Hidrolisis Ikan Bernilai Ekonomi Rendah Secara Enzimatis Menggunakan Protease Biduri. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol.25 No.2 Th. 2014. *Food Chem* 53: 285-293.
- Girindra, A. 1993. *Biokimia 2*. Jakarta: PT GramediaPustaka.
- Haslaniza H., Maskat M.Y., wan Aida W.M., Mamot S. 2010. The effects of enzyme concentration, temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cokle (*Anadaragranosa*) meat wash water. *J* 17: 147152.
- Hofmann, T., Bors, W., dan Stettmaier, K., 1999, Studies on Radical Intermediates in The Early Stage of The Nonenzymatic Browning Reaction of Carbohydrates and Amino Acids, *J. Agric. Food Chem*. 47:379-390.
- Kristantina, M. 2010. Karakteristik Fisik Kimia Hidrolisat Protein Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) Menggunakan Enzim Papain. *Skripsi*. Universitas Brawijaya. Malang.
- Kunst A., 2000, Enzymatic Modification of Soy Proteins to Improve Their Functional Properties, *Magazine of Industrial Protein*, 8 (3): 9-11.
- Kusuma, Prawiro. 1997. *Ilmu Makanan Ternak Dasar*. Yogyakarta: UGM.
- Lawless, H.T. and Heymann, H., 1998, *Sensory Evaluation of Food*. Chapman & Hall, New York.
- Maga, J. A., 1998, *Umami Flavor of Meat*, In Shahidi, F. ed. "Flavor of Meat, Meat Products and Seafoods", Blackie Academic & Professional, London, pp: 197-215.
- Maga, J.A. and Tu, A.T., 1995, *Food Additive Toxicology*, Marcel Dekker, New York.
- Nielsen, P.M. 1997. *Food Proteins and Their Applications*. New York: Marcel Dekker, Inc.

- Novian, U. 2005. Karakteristik Myofibril Kering Ikan Kuniran (*Upeneus* Sp) Diekstrak Menggunakan Enzim Papain dengan Metode Press Panas. *Skripsi*. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.
- Nurhayati, T., Nurjanah, Casti, H.S. 2013. Karakterisasi Hidrolisat Protein Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *JPHPI*, Vol. 16 No. 3.
- Shahidi, F., Han, Xiao-Qing and Synowiecki, J. 1995. Production and Characteristics of Protein Hydrolysates from Capelin (*Mallotus villosus*).
- Subagio, A., and Morita, N., 2001, No Effect of Esterification with Fatty Acid on Antioxidant Activity of Lutein. *Food Res. Int.*, 34:315-320.
- Suryaningrum, Theresia Dwi. Ijah Mujanah dan Evi Tahapari. 2010. *Profil Sensori dan Nilai Gizi Beberapa Jenis Ikan Patin dan Hibrid Nasutus*. *Jurnal Pasca panen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan* Vol. 5 No. 2, Desember 2010. Sukamandi.
- Wanasundara, P.K.J.P.D., Amarowicz, R., Pegg, R.B. and Shand, P.J., 2002, Preparation and Characterization of Hydrolyzed Proteins from Defibrinated Bovine Plasma, *J. Food Sci.*, 62 (2): 623-630)
- Waterborg, J. H. dan Matthews, H. R., 1996, *The Lowry Method for Protein Quantitation*. Di dalam *The Protein Proteocols Handbook*. J. M. Walker. Humana Press Inc. Totowa. pp:7-9.
- Witono, Y., Taruna, I. and Windrati, W.S., 2014, Amino Acids Profiles and Chemical Properties of Four Inferior Sea Fishes in Madura, Indonesia, *International Journal of ChemTech Research*, 6 (1), 311-315.
- Witono, Y. dan Windrati, W.S., 2009, Hidrolisis Enzimatis dari Protease Biduri pada Substrat Ayam Kampung sebagai Flavor Enhancer Alami, *Prosiding Seminar Nasional - Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)*, Jakarta.
- Witono, Y., Aulanni'am, Subagio, A. dan Widjanarko, S.B., 2007, Telaah Teknologi Produksi Protease secara Langsung dari Tanaman Biduri, *Agroteknologi*, 1(1).
- Witono, Y., Subagio A., Susanto T., Widjanarko SB. 2006. Membandingkan Kinerja Protease Biduri Dengan Protease Komersial. [Prosiding]. Seminar Nasional – Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI), Yogyakarta 2-3 Agustus 2006.
- Zayas, 1997 dalam Suwarno, 2003. Suwarno, M. 2003. Potensi Kacang Komak (*Lablab purpureus* (L) sweet) Sebagai Bahan Baku Isolat Protein. *Skripsi*. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

