

TELAAH TEKNOLOGI PEMBUATAN GARAM SEDAP HASIL HIDROLISIS DARI IKAN KUWE BERBASIS TEKNIK HIDROLISIS ENZIMATIS MENGGUNAKAN PROTEASE BIDURI

Yuli Witono¹, Wiwik Siti Windrati¹ dan Iqbal Zamroni²

¹Jurusan Teknologi Hasil Pertanian FTP UNEJ

² Alumni Jurusan Teknologi Hasil Pertanian FTP UNEJ
Jl. Kalimantan I Jember (68121); Email: ylwitono@yahoo.com

ABSTRAK

Teknologi pembuatan garam sedap hasil hidrolisis dari ikan kuwe berbasis teknik hidrolisis enzimatis menggunakan protease biduri telah dipelajari. Tahap penelitian utama dilakukan menggunakan variasi konsentrasi protease biduri 0,10%; 0,15%; dan 0,20% w/w dan waktu inkubasi 60 menit, 90 menit, dan 120 menit, dengan mengamati sifat-sifat utama garam sedap hasil interaksi dengan hidrolisat ikan kuwe yang meliputi: rendemen, warna, kadar protein terlarut, produk maillard dan sifat organoleptik warna, aroma dan rasa serta laju reaksi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi protease biduri berpengaruh terhadap kadar protein terlarut garam sedap dari hidrolisat ikan kuwe. Lama hidrolisis berpengaruh terhadap kadar protein terlarut garam sedap dari hidrolisat ikan kuwe. Konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis berpengaruh terhadap warna (tingkat kecerahan), produk Maillard, dan aroma dari hidrolisat ikan kuwe. Garam sedap dari hidrolisat ikan kuwe dengan sifat-sifat paling baik dan disukai dihasilkan pada perlakuan konsentrasi enzim biduri 0,20% dan lama hidrolisis 120 menit yang mempunyai rendemen garam sedap paling tinggi (95,66%), warna (tingkat kecerahan) 80,35, kadar protein terlarut paling tinggi (25,27 mg/g), produk Maillard paling tinggi (0,53), nilai kesukaan warna 2,92 (tidak suka-agak suka), nilai kesukaan aroma 3,08 (agak suka-suka), nilai kesukaan rasa 3,37 (agak suka-suka), dan kesukaan keseluruhan 3,20 (agak suka-suka). Untuk 1 bagian protease biduri dapat menghidrolisis 124,9 bagian substrat daging ikan kuwe segar dengan laju reaksi awal ($V_{max}/2$) sebesar 0,021 mg/ml/menit.

Kata kunci: garam, hidrolisat, ikan kuwe, dan protease biduri.

PENDAHULUAN

Keamanan dari bahan-bahan sintetik seperti MSG menurut Indriasari dan Syarifah (2006) masih mengawatirkan seperti timbulnya CRS (*chinese restaurant syndrome*), banyak dan kontroversi tentang dampak kesehatan. Oleh karena itu perlu dikembangkan secara terus-menerus proses pembuatan flavor alami yang lebih aman, mudah dalam teknik ekstraksi, murah dan bersifat multi guna.

Ekstraksi dari bahan yang mengandung protein disebut sebagai hidrolisat protein. Hidrolisat protein berpotensi digunakan sebagai bumbu penyedap masakan atau pembangkit rasa. Selama proses hidrolisis, protein akan mengalami perubahan sehingga hidrolisat protein dapat diaplikasikan untuk tujuan tertentu (Cordle, 1994). Komponen-komponen cita rasa

dalam bahan pangan berupa komponen yang mudah menguap. Selama pengolahan, berbagai komponen yang mudah menguap akan rusak, hilang, atau menguap. Akan tetapi beberapa senyawa *precursor*-nya masih utuh dalam bahan tersebut. Senyawa *precursor* ini dapat dihidrolisis secara enzimatik untuk membangkitkan cita rasanya (Winarno, 1995). Proses ini disebut *flavourase*. Menurut Peterson (1981) dan Clegg dan McMilan (1979) dalam Koesoemawardani dan Hadiwiyoto (2001) hidrolisat protein dapat dimanfaatkan untuk memodifikasi karakteristik fungsi protein sekaligus memperbaiki sifat fungsionalnya. Pemanfaatan hidrolisat protein relatif lebih murah daripada campuran asam amino sintesis.

Salah satu alternatif bahan alami sebagai pembangkit rasa adalah berasal dari ikan. Sebagaimana hasil penelitian sebelumnya bahwa hidrolisat ikan bandeng atau *milkfish* dapat digunakan sebagai pembangkit flavor (Witono, 2008). Begitupun pada ikan kuwe, sangat mungkin dapat digali potensinya sebagai sumber pembangkit rasa alami.

Ikan kuwe atau *golden trevally* (Latin: *Gnathanodon speciosus*) merupakan salah satu jenis ikan penting dan spesifik bagi masyarakat di Indonesia. Ikan kuwe disukai banyak orang sebagai lauk pauk karena rasanya gurih, dagingnya padat, khas dan tidak mudah hancur jika dimasak. Daging ikan segar mudah rusak dan daya simpannya rendah. Oleh karena itu perlu dikembangkan teknologi pengolahan dari bahan baku ikan kuwe menjadi produk yang berdaya simpan tinggi dan bersifat multiguna. Salah satunya ialah teknologi proses pembuatan garam sedap dari hidrolisat ikan kuwe.

Pembuatan hidrolisat protein ikan kuwe dengan menggunakan enzim protease biduri antara lain dipengaruhi oleh konsentrasi enzim dan lama hidrolisis, serta cara produksi garam sedap sebagai penyedap rasa alami yang murah dan aman bagi kesehatan untuk industri bahan tambahan makanan. Permasalahannya adalah bagaimana proses produksi garam sedap dengan menggunakan enzim protease biduri baik konsentrasi maupun lama hidrolisisnya yang tepat sehingga dihasilkan hidrolisat protein ikan kuwe yang dapat diproses menjadi garam sedap dengan sifat-sifat baik dan disukai panelis.

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah: (1) mengetahui pengaruh konsentrasi enzim biduri terhadap sifat-sifat garam sedap alami dari hidrolisat protein ikan kuwe; (2) mengetahui pengaruh lama hidrolisis terhadap sifat-sifat garam sedap alami dari hidrolisat protein ikan kuwe; dan (3) menentukan kombinasi yang tepat antara konsentrasi enzim protease biduri dan lama hidrolisis sehingga dihasilkan garam sedap alami dari hidrolisat protein ikan kuwe dengan sifat-sifat baik dan disukai panelis.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah Ikan kuwe atau *golden trevally* (*Gnathanodon speciosus*) yang diperoleh dari Desa Talango, Sumenep, Madura, kemudian dilakukan prasimpan pada suhu $\pm 5^{\circ}\text{C}$, selanjutnya dibawa ke Laboratorium Pengolahan THP UNEJ dengan suhu beku ($\pm -5^{\circ}\text{C}$), enzim protease bersumber dari getah tanaman biduri yang diekstrak dengan amonium sulfat, bahan lain yang digunakan adalah garam, sukrosa, dan aquades. Bahan kimia yang digunakan adalah NaOH 2N, Buffer fosfat pH 8.2, Mix-Lowry (Na_2CO_3 anhidrat, CuSO_4 , NaKtartat), follin ciocalteau, BSA standar, tirosin standar, TCA 15%, reagent TBA (thiobarbituric acid), HCl 37%, isobutanol, dan etanol 97%. Sedangkan peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: blender stainless steel, centrifuge Yenaco model YC-1180 dan tabungnya, spectronic 21 D Melton Roy dan kuvetnya, pH meter Jen Way tipe 3320 (Jerman), magnetik stirer Stuart Scientific dan batu stirernya, vortex Thermolyne type 16700, lemari pendingin, waterbath GFL 1083, neraca analitik Ohaus, pemanas listrik Gerhardt, dan alat-alat lain yang terkait.

Metode Penelitian

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan dalam 2 tahap. Tahap pertama adalah produksi hidrolisat terbaik kombinasi dari tiga faktor konsentrasi dan waktu. Daging giling ikan kuwe dengan berat 90 gram dibagi menjadi 9 perlakuan (10 gram) ditambahkan aquades dengan perbandingan 1 : 2 (berat/berat). Kemudian ditambahkan enzim biduri yang dilarutkan dalam 20 mL aquades dengan konsentrasi 0, 10%, 0,15%, dan 0,20%. selanjutnya diinkubasi pada suhu 55°C dengan lama hidrolisis 60, 90 dan 120 menit. Setelah selesai hidrolisis dilakukan pemanasan pada suhu 100°C selama 15 menit untuk menginaktifkan enzim protease, lalu hidrolisat disaring.

Tahap kedua adalah interaksi hidrolisat terbaik kombinasi dari tiga faktor waktu dan konsentrasi dengan garam. 40 gram garam meja dilarutkan dalam aquades dengan perbandingan 1 : 3 (berat/berat). Kemudian dievaporasi pada suhu 100°C . Selanjutnya bubur garam ditambahkan hidrolisat ikan kuwe, dihomogenisasi dengan cara diaduk, dan dioven suhu 60°C dengan tujuan untuk mendapatkan kristal garam. Setelah kristal terbentuk, ditambahkan sukrosa 5% (% berat daging). Selanjutnya kristal garam digiling.

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok Faktorial dengan dua faktor, yaitu faktor A (konsentrasi enzim protease biduri) dan faktor B (lama hidrolisis). Faktor A terdiri dari 3 variasi (0,10, 0,15 dan 0,20% dari berat daging ikan) dan faktor B terdiri dari 3 variasi (60, 90 dan 120 menit), masing-masing kombinasi perlakuan diulang 3 kali. Adapun kombinasi perlakuan di atas adalah sebagai berikut:

A1B1	A2B1	A3B1
A1B2	A2B2	A3B2
A1B3	A2B3	A3B3

Untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan dilakukan uji beda Duncan Multiple Range Test (Gaspersz, 1991).

Parameter Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan meliputi: rendemen, warna (menggunakan *Colour reader*; Hutching, 1994), kadar protein terlarut (Metode Lowry; Waterborg and Matthews, 1996), produk Maillard (Metode Absorbansi; Hofmann *et al.*, 1999), sifat sensoris (Kesukaan; Lawless and Heymann, 1998), uji efektivitas (Galmo *et al.*, 1984), dan penentuan laju reaksi enzim protease biduri pada substrat daging bandeng (Metode Lineweaver-Burk).

Prosedur Analisis

Rendemen Hidrolisat

Analisis rendemen dilakukan dengan cara membandingkan antara berat hidrolisat dengan berat suspensi daging ikan kuwe yang ditambahkan air.

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat hidrolisat}}{\text{Berat daging ikan kuwe} + \text{air}} \times 100\%$$

Warna (Tingkat Kecerahan) (Hutching, 1994)

Colour reader dioperasikan dengan menekan tombol ON. Kemudian tombol target ditekan. Sebagai standar digunakan porselin yang ditempelkan pada lensa lalu tombol pengukur ditekan. Selanjutnya lensa ditempelkan pada permukaan sampel dengan posisi tegak lurus lalu tombol pengukur ditekan. Nilai dL yang muncul pada layar dicatat. Nilai dari L* (Lightness) menunjukkan tingkat kecerahan dengan range 0 = gelap sampai 100 = terang. Nilai L* dapat diperoleh dari perhitungan : $L^* = 94,35 + dL$

Kadar Protein Terlarut (Metode Lowry; Waterborg and Matthews, 1996)

Mengambil 0.01 gram sampel kemudian dilakukan hidrolisis protein untuk mendapatkan protein terlarut menggunakan 0.1 ml NaOH 2N dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit lalu didinginkan. Protein terlarut yang dihasilkan lalu direaksikan dengan 2 ml reagen mix-Lowry dan didiamkan selama 10 menit. Menambahkan 0.25 ml reagen follin dan dibiarkan selama 30 menit. Ditera dengan aquades sampai volume 5 ml. Blanko dibuat dengan cara yang sama tetapi sampel diganti dengan aquadest. Kemudian dibaca absorbannya dengan spektrofotometer pada λ 750 nm. Data absorbansi diplotkan pada kurva standar BSA untuk dihitung kadar proteinnya.

Produk Maillard (Metode Absorbansi; Hofmann et al., 1999)

Sampel sebanyak 0.05 gram disuspensikan kedalam 5 ml aquades, kemudian divortek selama 3 menit. Kemudian sampel disentrifus pada 3000 rpm selama 5 menit. Supernatan ditera absorbannya pada panjang gelombang 420 nm, dan produk reaksi maillard dinyatakan dalam absorban unit (AU).

Uji Organoleptik (Lawless and Heymann, 1998)

Uji organoleptik yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan uji kesukaan, yang meliputi aroma, warna, rasa dan kesukaan keseluruhan. Untuk uji kesukaan rasa diaplikasikan pada sup. Untuk uji kesukaan aroma, setiap panelis cukup dengan mencium aroma garam sedap menggunakan indra pencium. Untuk uji kesukaan warna, setiap panelis cukup melihat kenampakan warna garam sedap dengan indra penglihat. Jenjang skala uji kesukaan terhadap rasa, aroma, warna dan keseluruhan dari masing-masing sampel adalah sebagai berikut :

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

Uji Efektifitas (Galmo et al, 1984)

Prosedur perhitungan hasil uji efektivitas adalah membuat bobot nilai pada setiap parameter dengan angka relatif (0 – 1). Bobot nilai berbeda bergantung dari kepentingan masing-masing parameter yang hasilnya diperoleh sebagai akibat perlakuan. Selanjutnya

mengelompokan setiap parameter yang dianalisa menjadi 2 kelompok, yakni kelompok A terdiri dari parameter yang semakin tinggi reratanya semakin baik dan kelompok B terdiri dari parameter yang semakin rendah reratanya semakin baik. Kemudian mencari bobot normal yaitu nilai bobot parameter dibagi bobot total. Perhitungannya seperti dibawah ini.

$$\begin{aligned} \text{Bobot normal} &= \frac{\text{Nilai bobot parameter}}{\text{Bobot total}} \\ \text{Nilai efektifitas} &= \frac{(\text{Nilai perlakuan} - \text{Nilai terjelek})}{(\text{Nilai terbaik} - \text{Nilai terjelek})} \end{aligned}$$

Penentuan Laju Reaksi Enzim Protease Biduri pada Substrat Daging Ikan Kuwe

Untuk mengetahui laju reaksi enzim, perlu dilakukan penentuan nilai K_m dan V_{maks} . Penentuan nilai K_m dan V_{maks} dihitung pada beberapa level substrat daging ikan kuwe dengan penambahan 0,003 gram enzim protease biduri dan 3 ml buffer fosfat 0,05 M pH 7 untuk masing-masing level substrat. Reaksi antara enzim dan substrat dilakukan pada suhu 55°C selama 20 menit, dengan variasi konsentrasi substrat yang ditentukan dari data pada penelitian pendahuluan sebagai berikut:

K1 = substrat 2,2 gram

K2 = substrat 2,0 gram

K3 = substrat 1,8 gram

K4 = substrat 1,6 gram

K5 = substrat 1,4 gram

Penentuan harga K_m dan V_{maks} dilakukan dengan cara mengukur aktivitas enzim protease biduri pada berbagai konsentrasi substrat. Dari nilai aktivitas dibuat persamaan regresi linier dimana $X = 1/[S]$ dan $Y = 1/A$ ($A =$ Aktivitas dengan persamaan regresi linier $Y = a + bX$ sehingga diperoleh nilai K_m dan V_{maks}).

$$\text{Intercept} = \frac{1}{V_{maks}} \qquad \text{Slope} = \frac{K_m}{V_{maks}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen Hidrolisat

Rendemen garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe berkisar antara 81,86% hingga 95,66%. Sidik ragam rendemen hidrolisat protein ikan kuwe pada Tabel 1.

Tabel 1. Sidik Ragam Rendemen Hidrolisat Protein Ikan Kuwe

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung		F Tabel	
						0,05	0,01
Blok	2	0.0248	0.0124	0.7803	ns	3.63	6.22
Perlakuan	8	867.2180	108.4023	6834.0245	**	2.59	3.89
Faktor A	2	630.5948	315.2974	19877.3559	**	3.63	6.22
Faktor B	2	103.5551	51.7776	3264.2228	**	3.63	6.22
Interaksi AB	4	133.0681	33.2670	2097.2597	**	3.01	4.77
Galat	16	0.2538	0.0159				
Total	26	867.4966					

ns : berbeda tidak nyata, ** : berbeda sangat nyata, * : berbeda nyata

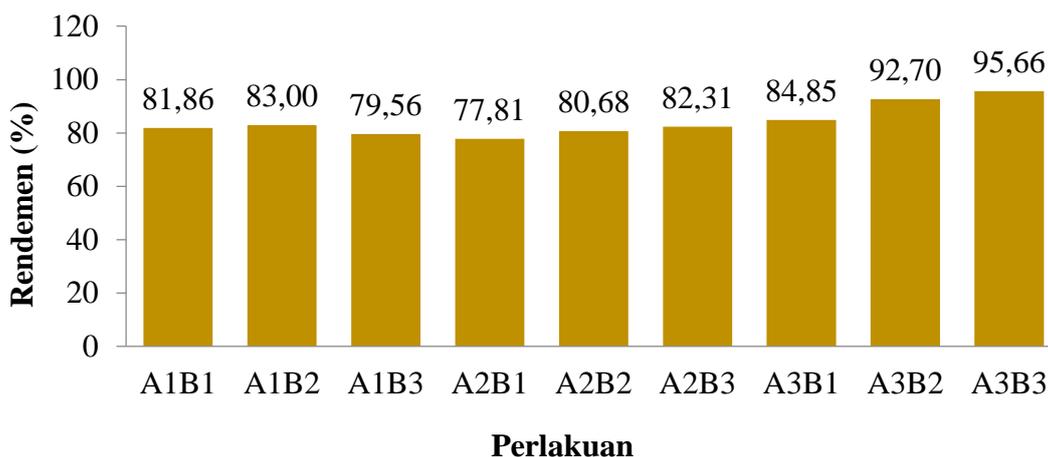
Tabel 1 dapat diketahui bahwa ada perlakuan menonjol diantara perlakuan lainnya, konsentrasi enzim, lama hidrolisis berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen dari hidrolisat protein ikan kuwe, serta ada interaksi antara kedua faktor konsentrasi dan lama hidrolisis. Hasil uji beda rendemen hidrolisat ikan kuwe pada berbagai kombinasi konsentrasi enzim biduri dan lama hidrolisisnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Beda Rendemen Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Lama Hidrolisis

Perlakuan	Rendemen (%)	Notasi
A1B1 (0,10%; 60 menit)	81.86	f
A1B2 (0,10%; 90 menit)	83.00	d
A1B3 (0,10%; 120 menit)	79.56	h
A2B1 (0,15%; 60 menit)	77.81	i
A2B2 (0,15%; 90 menit)	80.68	g
A2B3 (0,15%; 120 menit)	82.31	e
A3B1 (0,20%; 60 menit)	84.85	c
A3B2 (0,20%; 90 menit)	92.70	b
A3B3 (0,20%; 120 menit)	95.66	a

Huruf yang sama pada kolom notasi menunjukkan berbeda tak nyata pada taraf uji 5%

Tabel 2 dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi enzim dan semakin lama hidrolisis maka rendemen hidrolisat ikan kuwe semakin meningkat pula. Hal ini berhubungan dengan peningkatan komponen hasil hidrolisis seperti padatan terlarut, asam amino, dan komponen lainnya. Konsentrasi enzim optimum meningkatkan rendemen hidrolisat pada penambahan 0,20%. Lama hidrolisis 120 menit optimum meningkatkan rendemen hidrolisat. Diagram batang peningkatan rendemen pada berbagai kombinasi konsentrasi enzim dan lama hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Rendemen Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada Berbagai Kombinasi Konsentrasi Enzim Biduri dan Lama Hidrolisisnya

Gambar 1 menunjukkan bahwa rendemen tertinggi (95,66%) dihasilkan dari perlakuan A3B3 (konsentrasi enzim 0,20% dan lama hidrolisis 120 menit) dan nilai terendah dari perlakuan A1B1 (konsentrasi enzim 0,10% dan lama hidrolisis 60 menit) yaitu 81,86%. Tabel 2 menunjukkan perlakuan terbaik adalah perlakuan A3B3 (konsentrasi enzim 0,20% dan lama hidrolisis 120 menit) yakni peningkatan rendemen hidrolisat paling tinggi.

Warna (Tingkat Kecerahan)

Tingkat kecerahan garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe berkisar antara 80,35 sampai 93,32. Nilai warna semakin tinggi menunjukkan warna garam sedap semakin cerah. Sidik ragam warna (tingkat kecerahan) garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe tertera pada Tabel 3.

Tabel 3. Sidik Ragam Warna (Tingkat Kecerahan) Garam Sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel		
					0,05	0,01	
Blok	2	0,0674	0,0337	0,0129	ns	3,63	6,22
Perlakuan	8	472,1363	59,0170	22,5979	**	2,59	3,89
Faktor A	2	426,7207	213,3604	81,6965	**	3,63	6,22
Faktor B	2	39,4719	19,7359	7,5570	**	3,63	6,22
Interaksi AB	4	5,9437	1,4859	0,5690	ns	3,01	4,77
Galat	16	41,7859	2,6116				
Total	26	513,9896					

ns : berbeda tidak nyata, ** : berbeda sangat nyata, * : berbeda nyata

Tabel 3 menunjukkan bahwa konsentrasi enzim biduri dan lama hidrolisis berpengaruh sangat nyata terhadap warna garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe, tetapi interaksi antara keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap warna garam sedap. Hasil

uji beda tingkat kecerahan garam sedap dari hidrolisat ikan kuwe pada berbagai konsentrasi enzim biduri dan lama hidrolisis dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Beda Warna (Tingkat Kecerahan) Garam Sedap Alami dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada Berbagai Konsentrasi Enzim Biduri

Konsentrasi Enzim	Tingkat Kecerahan (W)	Notasi
A1 (0,10%)	92,217	a
A2 (0,15%)	88,483	b
A3 (0,20%)	82,561	c

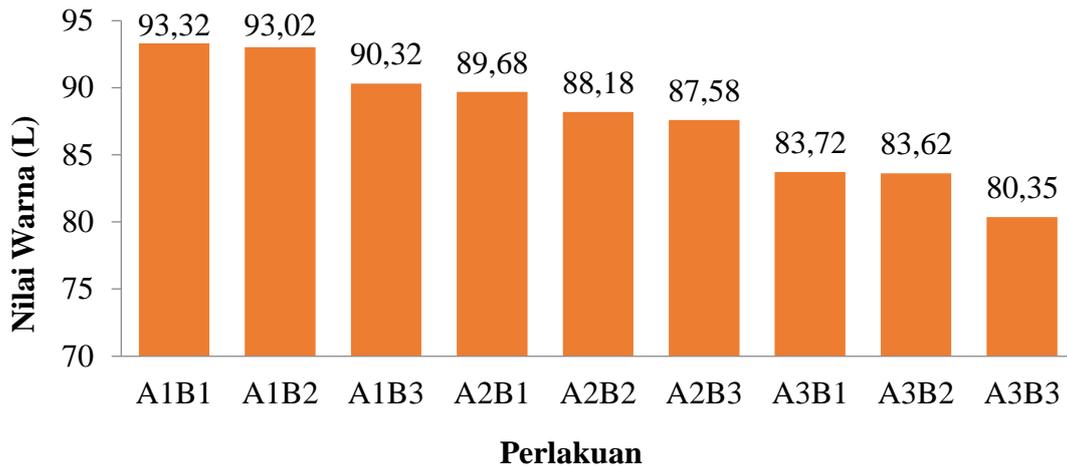
Huruf yang sama pada kolom notasi menunjukkan berbeda tak nyata pada taraf uji 5%

Tabel 5. Hasil Uji Beda Warna (Tingkat Kecerahan) Garam Sedap Alami dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada berbagai Lama Hidrolisis

Konsentrasi Enzim	Tingkat Kecerahan (W)	Notasi
B1 (60 menit)	88,906	a
B2 (90 menit)	88,272	a
B3 (120 menit)	86,083	b

Huruf yang sama pada kolom notasi menunjukkan berbeda tak nyata pada taraf uji 5%

Tabel 4 dan Tabel 5 dapat diketahui bahwa semakin besar konsentrasi enzim dan semakin lama hidrolisis maka tingkat kecerahan garam sedap yang dihasilkan semakin menurun. Hal ini berhubungan dengan produk Maillard yang merupakan reaksi yang memungkinkan terbentuknya citarasa dan warna coklat. Produk Maillard yang dihasilkan akan berkondensasi dengan produk reaksi lain untuk membentuk melanoidin dan mempengaruhi kecerahan garam sedap, yakni semakin tinggi produk Maillard yang dihasilkan akan membentuk senyawa melanoidin yang tinggi pula, sehingga tingkat kecerahan akan semakin menurun. Konsentrasi enzim optimum meningkatkan kecerahan pada penambahan 0,10% dari berat daging ikan kuwe. Lama hidrolisis optimum meningkatkan kecerahan garam sedap pada lama hidrolisis 60 menit. Diagram batang tingkat kecerahan garam sedap pada berbagai konsentrasi enzim dan lama hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Nilai Warna Garam sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Lama Hidrolisis

Gambar 2 menunjukkan bahwa nilai tingkat kecerahan tertinggi pada perlakuan A1B1 (konsentrasi enzim 0,10% dan lama hidrolisis 60 menit) yaitu sebesar 93,32 dan nilai kombinasi terendah pada perlakuan A3B3 (konsentrasi enzim 0,20% dan lama hidrolisis 120 menit) yaitu 80,35. Perlakuan terbaik untuk warna (tingkat kecerahan) adalah kombinasi A1B1 (konsentrasi enzim 0,10% dan lama hidrolisis 60 menit) karena paling tinggi nilai kecerahan garam sedap alami dari hidrolisat protein ikan kuwe.

Kadar Protein Terlarut

Kadar protein terlarut garam sedap alami dari hidrolisat protein ikan kuwe berkisar antara 15,99 mg/g sampai 25,27 mg/g. Sidik ragamnya dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Sidik Ragam Kadar Protein Terlarut Garam sedap Alami dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel		
					0,05	0,01	
Blok	2	8,5760	4,2880	0,3966	ns	3,63	6,22
Perlakuan	8	180,4277	22,5535	2,0859	ns	2,59	3,89
Faktor A	2	86,9903	43,4952	4,0228	*	3,63	6,22
Faktor B	2	84,0198	42,0099	3,8854	*	3,63	6,22
Interaksi AB	4	9,4176	2,3544	0,2178	ns	3,01	4,77
Total	26	361,9989					

ns : berbeda tidak nyata, ** : berbeda sangat nyata, * : berbeda nyata

Tabel 6 menunjukkan bahwa faktor A (konsentrasi enzim) dan faktor B (lama hidrolisis) berpengaruh terhadap kadar protein terlarut garam sedap. Namun interaksi antara

kedua perlakuan tersebut berbeda tidak nyata dan ada perlakuan yang menonjol diantara perlakuan lainnya walau tidak nyata. Hasil uji beda kadar protein terlarut garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe pada berbagai konsentrasi enzim dapat dilihat pada Tabel 7 dan berbagai lama hidrolisis pada Tabel 8.

Tabel 7. Hasil Uji Beda Kadar Protein Terlarut Garam Sedap Alami dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada berbagai Konsentrasi Enzim Biduri

Konsentrasi Enzim	Kadar Protein Terlarut (mg/g)	Notasi
A1 (0,10%)	17,908	b
A2 (0,15%)	18,924	ab
A3 (0,20%)	22,121	a

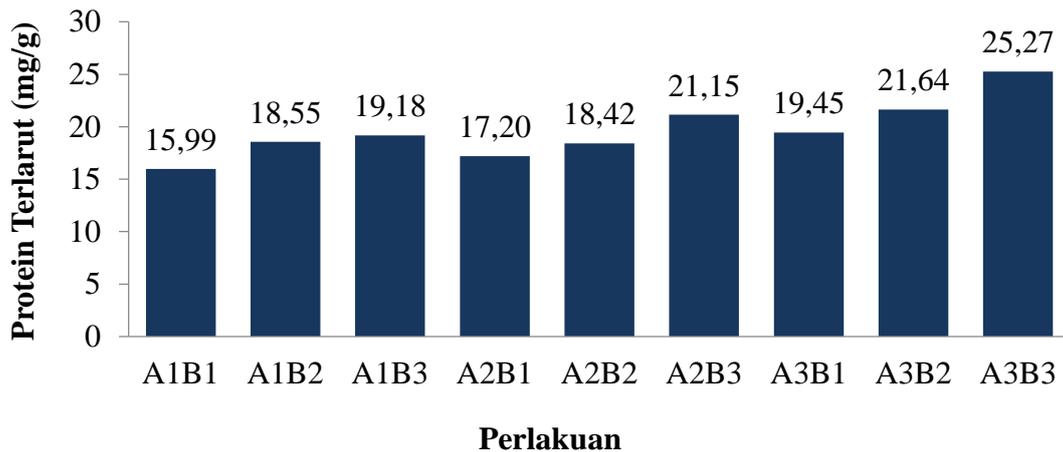
Huruf yang sama pada kolom notasi menunjukkan berbeda tak nyata pada taraf uji 5%

Tabel 8. Hasil Uji Beda Kadar Protein Terlarut Garam Sedap Alami dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada berbagai Lama Hidrolisis

Lama Hidrolisis	Kadar Protein Terlarut (mg/g)	Notasi
B1 (60 menit)	17,550	b
B2 (90 menit)	19,535	ab
B3 (120 menit)	21,867	a

Huruf yang sama pada kolom notasi menunjukkan berbeda tak nyata pada taraf uji 5%

Tabel 7 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi enzim biduri maka kadar protein terlarut garam sedap yang dihasilkan semakin meningkat. Hal ini karena semakin besar konsentrasi enzim maka peluang kontak enzim dengan substrat semakin luas sehingga tingkat hidrolisis molekul protein oleh enzim semakin tinggi dan kadar protein terlarut yang dihasilkan semakin meningkat. Konsentrasi enzim optimum pada penambahan 0,20% berat daging ikan kuwe. Tabel 8 dapat diketahui bahwa semakin lama hidrolisis maka kadar protein terlarut garam sedap yang dihasilkan semakin meningkat. Hal ini karena semakin lama hidrolisis maka kontak enzim dengan substrat semakin lama sehingga tingkat hidrolisis semakin tinggi dan kadar protein terlarut juga semakin meningkat. Lama hidrolisis optimum pada inkubasi 120 menit. Walaupun interaksi enzim dan lama hidrolisis berbeda tidak nyata, namun kombinasi perlakuan A3B3 dapat menghasilkan kadar protein terlarut optimum meningkatkan kadar terlarut garam sedap alami dari daging ikan kuwe. Diagram batang kadar protein terlarut garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe pada berbagai konsentrasi enzim dan lama hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Kadar Protein Terlarut Garam Sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Lama Hidrolisis

Gambar 3 menunjukkan bahwa kadar protein terlarut garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe tertinggi dihasilkan pada perlakuan A3B3 (konsentrasi enzim 0,20% dan lama hidrolisis 120 menit) yaitu sebesar 25,27 mg/g dan terendah pada perlakuan A1B1 (konsentrasi enzim 0,10% dan lama hidrolisis 60 menit) yaitu sebesar 15,99 mg/g.

Produk Maillard

Hasil pengukuran produk Maillard pada garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe berkisar antara 0,4387 sampai 0,5337. Sidik ragam produk Maillard garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe ditunjukkan pada Tabel 9.

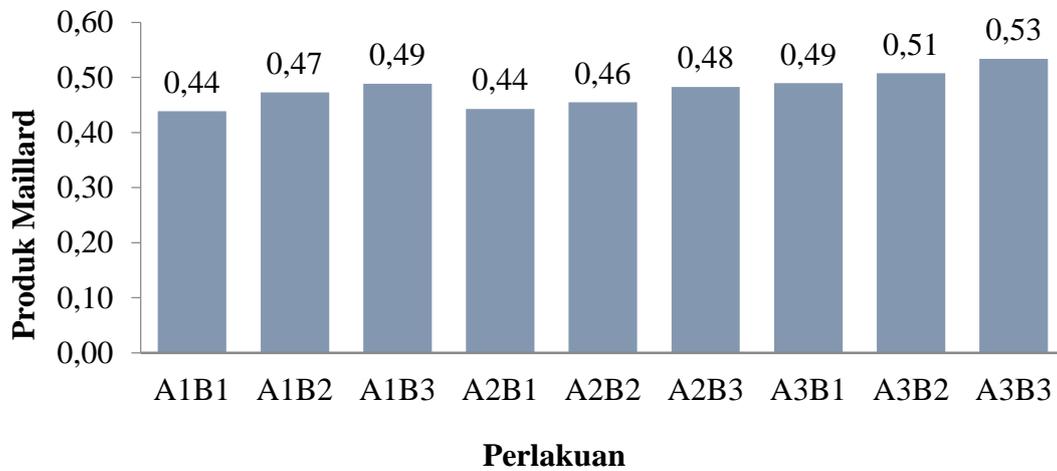
Tabel 9. Sidik Ragam Produk Maillard Garam Sedap Alami dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel		
					0,05	0,01	
Blok	2	0,0184	0,0092	2,2029	ns	3,63	6,22
Perlakuan	8	0,0227	0,0028	0,6774	ns	2,59	3,89
Faktor A	2	0,0133	0,0066	1,5885	ns	3,63	6,22
Faktor B	2	0,0090	0,0045	1,0734	ns	3,63	6,22
Interaksi AB	4	0,0004	0,0001	0,0239	ns	3,01	4,77
Galat	16	0,0669	0,0042				
Total	26	0,1080					

ns : berbeda tidak nyata, ** : berbeda sangat nyata, * : berbeda nyata

Tabel 9 menunjukkan bahwa konsentrasi enzim protease biduri maupun lama hidrolisis tidak berpengaruh nyata terhadap produk Maillard yang dihasilkan oleh garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe. Begitupun pada interaksi antara kedua faktor berpengaruh tidak nyata terhadap perlakuan, serta ada perlakuan yang menonjol diantara

perlakuan lainnya walau berbeda tidak nyata. Diagram batang produk Maillard garam sedap pada berbagai konsentrasi enzim dan lama hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Produk Maillard Garam sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada Berbagai Konsentrasi Enzim dan Lama Hidrolisis

Gambar 4 menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan konsentrasi enzim protease biduri serta semakin lama waktu inkubasi maka produk Maillard yang dihasilkan juga semakin tinggi. Peningkatan produk Maillard ini berkorelasi positif dengan kadar protein terlarut, artinya semakin tinggi kadar protein terlarut maka produk Maillard yang dihasilkan akan semakin meningkat. Pada protein terlarut terdapat gugus-gugus amino bebas seperti asam amino, protein dan amina dimana gugus amino bebas tersebut akan bereaksi dengan gula reduksi pada hidrolisat. Semakin banyak asam amino yang terhidrolisis maka gula reduksi yang bereaksi dengan gugus-gugus asam amino bebas juga akan semakin banyak, artinya produk maillard yang terbentuk semakin meningkat.

Produk Maillard garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe tertinggi pada perlakuan A3B3 (konsentrasi enzim 0,20% dan lama hidrolisis 120 menit) yaitu sebesar 0,5337 dan terendah pada perlakuan A2B1 (konsentrasi enzim 0,15% dan lama hidrolisis 60 menit) yaitu 0,4427. Berdasarkan korelasi produk maillard dengan kadar protein terlarut, perlakuan A3B3 paling tinggi nilai produk maillard garam sedap alami dari hidrolisat daging ikan kuwe yang dihasilkan.

Sifat Organoleptik

Nilai Kesukaan Warna

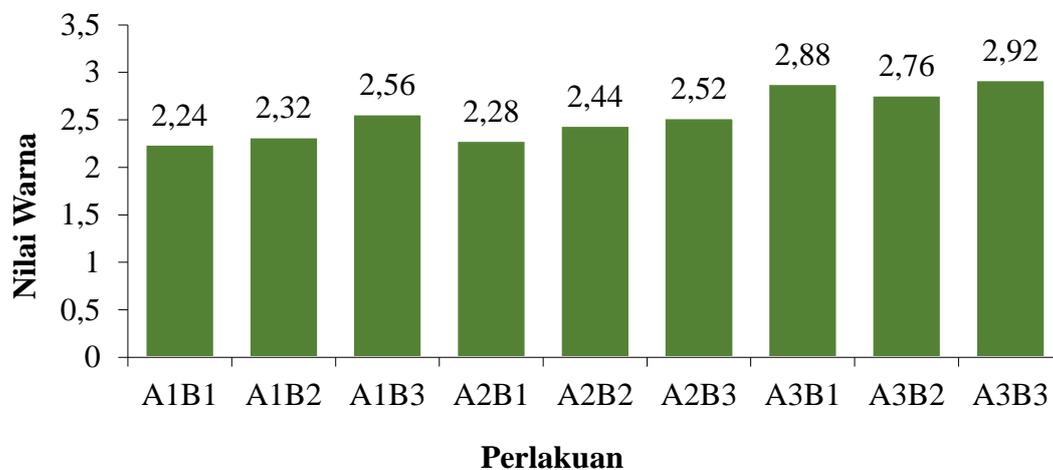
Nilai kesukaan warna garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe berkisar antara 2,24 – 2,92 (tidak suka – agak suka). Adapun sidik ragamnya tertera pada Tabel 10.

Tabel 10. Sidik Ragam Nilai Kesukaan Warna Garam Sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel		
					0,05	0,01	
Panelis	24	91,98	3,833	8,117	**	1,583	1,899
Perlakuan	8	13,120	1,640	3,473	**	1,993	2,613
Galat	192	90,658	0,472				
Jumlah	224	195,760					

ns : berbeda tidak nyata, ** : berbeda sangat nyata, * : berbeda nyata

Tabel 10 menunjukkan bahwa konsentrasi enzim dan lama hidrolisis berpengaruh sangat nyata terhadap nilai kesukaan warna garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe. Diagram batang nilai kesukaan warna garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe pada berbagai konsentrasi enzim dan lama hidrolisis dapat dilihat pada Gambar 5, sedangkan hasil uji bedanya terdapat pada Tabel 11.



Gambar 5. Nilai Kesukaan Warna Garam Sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada Berbagai Konsentrasi Enzim Biduri dan Lama Hidrolisis

Tabel 11. Hasil Uji Beda Nilai Kesukaan Warna Garam Sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada Berbagai Konsentrasi Enzim Biduri dan Lama Hidrolisis

Perlakuan	Nilai Kesukaan Warna	Notasi
A1B1 (0,10%; 60 menit)	2,240	c
A1B2 (0,10%; 90 menit)	2,320	c
A1B3 (0,10%; 120 menit)	2,560	abc
A2B1 (0,15%; 60 menit)	2,280	c
A2B2 (0,15%; 90 menit)	2,440	abc

A2B3 (0,15%; 120 menit)	2,520	abc
A3B1 (0,20%; 60 menit)	2,880	abc
A3B2 (0,20%; 90 menit)	2,760	ab
A3B3 (0,20%; 120 menit)	2,920	a

Huruf yang sama pada kolom notasi menunjukkan berbeda tak nyata pada taraf uji 5%

Gambar 5 dan Tabel 11 menunjukkan bahwa nilai kesukaan warna tertinggi garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe diperoleh pada perlakuan A3B3 (konsentrasi enzim 0,20% dan lama hidrolisis 120 menit) yakni dengan nilai 2,92 (tidak suka – agak suka). Sedangkan nilai kesukaan warna terendah garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe diperoleh pada perlakuan A1B1 (konsentrasi enzim 0,10% dan lama hidrolisis 60 menit) dengan nilai 2,24 (tidak suka – agak suka). Hal ini menunjukkan bahwa warna garam sedap yang disukai adalah agak gelap.

Nilai Kesukaan Aroma

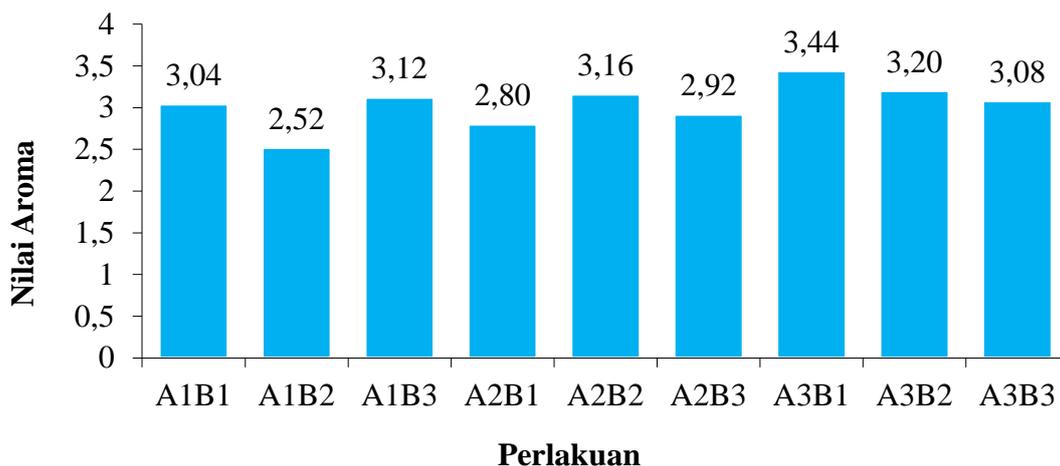
Nilai kesukaan aroma garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe berkisar antara 2,52 – 3,44 (tidak suka – agak suka). Sidik ragam nilai kesukaan aroma tertera pada Tabel 12.

Tabel 12. Sidik Ragam Nilai Kesukaan Aroma Garam Sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel		
					0,05	0,01	
Panelis	24	63,23	2,634	4,606	**	1,583	1,899
Perlakuan	8	13,742	1,718	3,003	**	1,993	2,613
Galat	192	109,813	0,572				
Jumlah	224	186,782					

ns : berbeda tidak nyata, ** : berbeda sangat nyata, * : berbeda nyata

Tabel 12 menunjukkan bahwa konsentrasi enzim biduri dan lama hidrolisis berpengaruh sangat nyata terhadap nilai kesukaan aroma garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe. Diagram batang nilai kesukaan aroma garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe dapat dilihat pada Gambar 6 dan hasil uji bedanya pada Tabel 4.13.



Gambar 6. Nilai Kesukaan Aroma Garam sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada Berbagai Konsentrasi Enzim Biduri dan Lama Hidrolisis

Tabel 13. Hasil Uji Beda Nilai Kesukaan Aroma Garam Sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada Berbagai Konsentrasi Enzim Biduri dan Lama Hidrolisis

Perlakuan	Nilai Kesukaan Aroma	Notasi
A1B1 (0,05%, 60 menit)	2,91	c
A1B2 (0,05%, 90 menit)	2,84	c
A1B3 (0,05%, 120 menit)	3,07	abc
A2B1 (0,10%, 60 menit)	2,93	bc
A2B2 (0,10%, 90 menit)	3,16	ab
A2B3 (0,10%, 120 menit)	3,21	a
A3B1 (0,15%, 60 menit)	3,09	abc
A3B2 (0,15%, 90 menit)	3,00	abc
A3B3 (0,15%, 120 menit)	2,89	c

Huruf yang sama pada kolom notasi menunjukkan berbeda tak nyata pada taraf uji 5%

Gambar 6 dan Tabel 13 menunjukkan bahwa nilai kesukaan aroma garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe tertinggi dihasilkan pada perlakuan A3B1 (konsentrasi enzim 0,20%, lama hidrolisis 60 menit) dengan nilai 3,44 (agak suka – suka). Sedangkan nilai kesukaan aroma garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe terendah diperoleh pada perlakuan A1B2 (konsentrasi enzim 0,10%, lama hidrolisis 90 menit) dengan nilai 2,52 (tidak suka – agak suka). Hal ini menunjukkan bahwa aroma garam sedap dengan kadar protein terlarut dan produk Maillard cenderung agak tinggi lebih disukai.

Nilai Kesukaan Rasa

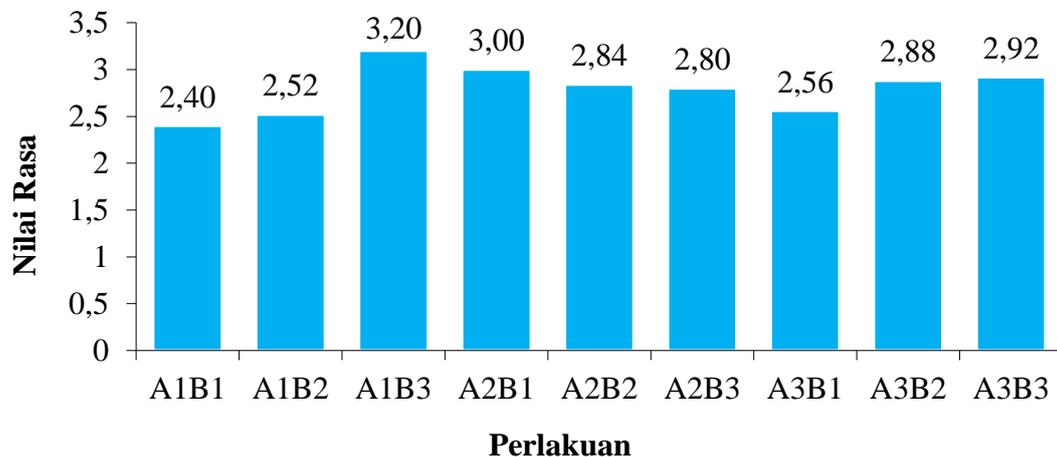
Nilai kesukaan rasa garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe berkisar antara 2,40 – 3,20 (tidak suka – agak suka). Sidik ragam nilai kesukaan rasa tertera pada Tabel 14.

Tabel 14. Sidik Ragam Nilai Kesukaan Rasa Garam Sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F hitung	F Tabel		
					0,05	0,01	
Blok	24	53,63	2,234	4,264	**	1,583	1,899
Perlakuan	8	12,942	1,618	3,087	**	1,993	2,613
Galat	192	100,613	0,524				
Jumlah	224	167,182					

ns : berbeda tidak nyata, ** : berbeda sangat nyata, * : berbeda nyata

Tabel 14 dapat diketahui bahwa konsentrasi enzim biduri dan lama hidrolisis berpengaruh sangat nyata terhadap nilai kesukaan rasa garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe. Diagram batang nilai kesukaan rasa garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe dapat dilihat pada Gambar 7 dan hasil uji bedanya tertera pada Tabel 15.



Gambar 7. Nilai Kesukaan Rasa Garam Sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada Berbagai Konsentrasi Enzim Biduri dan Lama Hidrolisis

Tabel 15. Hasil Uji Beda Nilai Kesukaan Rasa Garam Sedap dari Hidrolisat Protein Ikan Kuwe pada Berbagai Konsentrasi Enzim Biduri dan Lama Hidrolisis

Perlakuan	Nilai Kesukaan Rasa	Notasi
A1B1 (0,05%, 60 menit)	2,400	c
A1B2 (0,05%, 90 menit)	2,520	bc
A1B3 (0,05%, 120 menit)	3,200	a
A2B1 (0,10%, 60 menit)	2,880	ab
A2B2 (0,10%, 90 menit)	2,840	abc
A2B3 (0,10%, 120 menit)	2,800	abc
A3B1 (0,15%, 60 menit)	2,560	bc
A3B2 (0,15%, 90 menit)	2,920	ab
A3B3 (0,15%, 120 menit)	3,000	ab

Huruf yang sama pada kolom notasi menunjukkan berbeda tak nyata pada taraf uji 5%

Gambar 7 menunjukkan bahwa nilai kesukaan rasa garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe tertinggi pada perlakuan A1B3 (konsentrasi enzim 0,10%, lama hidrolisis 120 menit) dengan nilai 3,20 (agak suka – suka). Sedangkan nilai kesukaan rasa garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe terendah pada perlakuan A1B1 (konsentrasi enzim 0,10%, lama hidrolisis 60 menit) dengan nilai 2,40 (tidak suka – agak suka). Tabel 15 nilai kesukaan garam sedap A1B3 adalah tidak berbeda nyata dengan garam sedap A3B2 dan A3B3, artinya garam sedap dengan kadar protein dan produk Maillard tinggi juga disukai. Kesukaan rasa garam sedap juga diduga berkaitan dengan kesukaan aroma. Hal ini menunjukkan bahwa aroma garam sedap dengan kadar protein terlarut dan produk Maillard tidak terlalu tinggi lebih disukai. Garam sedap dengan produk Maillard dan kadar protein terlarut tinggi juga disukai karena rasa dan aroma. Wasserman (1979) berpendapat bahwa reaksi Maillard penting dalam pembentukan senyawa gurih yang diinginkan.

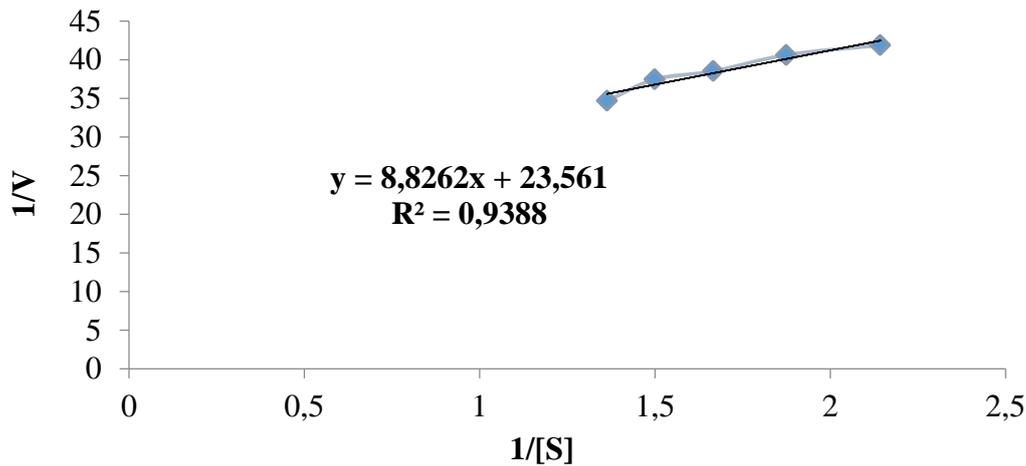
Perlakuan Terbaik

Penentuan perlakuan terbaik menggunakan uji efektifitas. Parameter yang dinilai dalam uji efektifitas adalah kadar protein terlarut, produk Maillard, tingkat ketengikan, rendemen, warna dan sifat organoleptik meliputi warna, rasa, aroma dan keseluruhan. Masing-masing parameter diberi bobot yang berbeda berdasarkan pengaruhnya terhadap produk hidrolisat. Pembobotan berkisar pada nilai 0,1 sampai 1. Parameter yang paling berpengaruh diberi bobot 1 yaitu kadar protein terlarut, rasa, dan kesukaan organoleptik keseluruhan (data tidak ditunjukkan). Bobot 0,9 yaitu warna (tingkat kecerahan), organoleptik warna dan aroma. Bobot 0,8 yaitu produk Maillard dan rendemen hidrolisat.

Berdasarkan uji efektifitas, menunjukkan bahwa garam sedap alami dari hidrolisat protein ikan kuwe terbaik dihasilkan pada perlakuan A3B3 (konsentrasi enzim biduri 0,20% dan lama hidrolisis 120 menit) yang mempunyai kadar protein terlarut 25,27 mg/g, produk Maillard 0,534, warna (tingkat kecerahan) 80,35, tingkat ketengikan 2,61 mmol/g, rendemen 95.66%, nilai kesukaan warna 2,92 (tidak suka – agak suka), nilai kesukaan aroma 3,08 (agak suka – suka), dan nilai kesukaan rasa 3,37 (agak suka – suka).

Laju Reaksi Enzim Protease Biduri pada Substrat Daging Ikan Kuwe

Laju reaksi enzimatik protease biduri pada protein ikan kuwe digambarkan dalam grafik linier hubungan antara konsentrasi substrat dengan kecepatan awal menggunakan metode Lineweaver – Burk ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Hubungan Konsentrasi Substrat dan Kecepatan Awal Reaksi dengan Menggunakan Metode Lineweaver – Burk

Berdasarkan Gambar 8 dapat diketahui bahwa nilai V_{\max} yang diperoleh sebesar 0,042 mg/mL/mnt, sedangkan K_m sebesar 0,375 g/ml air. Untuk memperoleh kecepatan awal sebesar $V_{\max}/2$ atau 0,021 mg/mL/mnt dapat digunakan enzim protease biduri sebanyak 1 gram dan konsentrasi substrat daging ikan kuwe segar dalam air sebesar 124,8703 gram untuk melakukan reaksi enzimatik.

Filianti (2006) menyebutkan bahwa untuk memperoleh kecepatan awal sebesar $V_{\max}/2$ atau 0,67 mg/ml/mnt digunakan enzim protease biduri sebanyak 1 gram dan substrat kedelai kering sebesar 842,18 gram untuk melakukan reaksi enzimatik. Hal ini berarti enzim protease biduri lebih mudah menghidrolisis protein dari bahan nabati dibandingkan dengan protein pada bahan hewani.

KESIMPULAN DAN SARAN

Konsentrasi enzim protease biduri berpengaruh terhadap rendemen, warna, kadar protein terlarut, dan produk Maillard garam sedap dari hidrolisat protein daging ikan kuwe. Lama hidrolisis berpengaruh terhadap rendemen, warna, kadar protein terlarut, dan produk Maillard garam sedap dari hidrolisat protein daging ikan kuwe. Kombinasi konsentrasi enzim protease biduri dan lama hidrolisis berpengaruh terhadap warna (tingkat kecerahan), produk Maillard, dan kesukaan aroma garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe. Garam sedap dari hidrolisat protein ikan kuwe dengan sifat-sifat baik dan disukai dihasilkan pada perlakuan A3B3 (konsentrasi enzim biduri 0,20% dan lama hidrolisis 120 menit) yang mempunyai rendemen hidrolisat 95,66%, warna (tingkat kecerahan) 80,35, kadar protein

terlarut 25,27 mg/g, produk Maillard 0,53, nilai kesukaan warna 2,92 (tidak suka – agak suka), nilai kesukaan aroma 3,08 (agak suka – suka), dan nilai kesukaan rasa 3,37 (agak suka – suka). Berdasarkan perhitungan nilai V_{max} dan K_M dapat diketahui bahwa untuk memperoleh kecepatan awal sebesar $V_{max}/2$ atau 0,021 mg/ml/mnt dapat digunakan enzim protease biduri sebanyak 1 gram dan konsentrasi substrat daging ikan kuwe segar dalam air sebesar 124,8703 g/mL untuk melakukan reaksi enzimatik. Selanjutnya perlu diuji daya simpan dan pengembangan formulasi garam sedap.

DAFTAR PUSTAKA

- Cordle, C.T. 1994. Control of Food Allergies Using Protein Hydrolysates. *Food Technol.* 48 (10): 72-76.
- Gasperz, V. 1991. *Metode Perancangan Percobaan*. Bandung: Armico.
- Hofmann T., Bors W., and 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.
- Hutching, J.B. 1994. *Food Colour and Appearance*. Glasgow: Blackie Academic and Professional.
- Koesoemawardhani, D. Dan Hadiwiyoto, S. 2001. Produksi Hidrolisat Protein Ikan Kembung (*Rastrelliger neglectus*) Menggunakan Enzim Pepsin. *Prosiding Seminar Nasional-Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)*, Semarang.
- Lawless, H.T. and Heymann, H. 1998. *Sensory Evaluation of Food*. Chapman & Hall, New York.
- Galmo, E.P., W.E. Sullivan and C.R Canada. 1984. *Engineering Economy*. Mac. Publishing Company, New York.
- Syarifah, dan Indriasari. 2006. *MSG dan "Chinese Restaurant Syndrome"*, Pikiran Rakyat 24 Maret 2006. Bandung.
- 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.
- Winarno, F.G. 1995. *Enzim pangan*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Witono, Y. 2008. *Preliminary Study For Enzymatic Processing Of Milkfish Hydolysate By Using 'Biduri' Protease*. *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. Sub Tema I: Teknologi Proses Pangan. Jember: Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember.