

JURNAL

**PENGARUH pH TERHADAP HIDROLISIS PROTEIN IKAN
TEMLAKUL (*Periophthalmus minatus*) DENGAN
PENGUNAAN ENZIM ALKALASE**

OLEH

INDAH KHAIRUNNISA



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU
PEKANBARU
2019**

**PENGARUH pH TERHADAP HIDROLISIS PROTEIN IKAN
TEMBAKUL (*Periophthalmus minitus*) DENGAN
PENGUNAAN ENZIM *ALCALASE***

Oleh :
Indah Khairunnisa^{1)*}, Edison²⁾, Rahman Karnila²⁾
**E-mail: Khairunnisaindah23@gmail.com*

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pH terhadap hidrolisis protein ikan tembakul (*Periophthalmus minitus*) dengan penggunaan enzim *alcalase* dan mengetahui pH terbaik terhadap hidrolisis protein ikan tembakul menggunakan enzim *alcalase*. Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial yang terdiri dari 3 taraf perlakuan yaitu P₁ (pH 6,5), P₂ (pH 7,5) dan P₃ (pH 8,5). Parameter yang diamati adalah analisa kadar protein dan kadar air pada tepung ikan tembakul, rendemen tepung ikan tembakul, analisis kadar non protein nitrogen dan analisis protein metode lowry pada hidrolisat protein ikan tembakul. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil analisis kimia tepung ikan tembakul diperoleh jumlah kadar air 8,85% dan kadar protein 86,56% dan rendemen ikan tembakul sebesar 74,6%. Pada perlakuan P₁ (pH 6,5) didapatkan jumlah kadar non protein nitrogen 8,24% dan kadar protein 9,81%, perlakuan P₂ (pH 7,5) didapatkan jumlah kadar non protein nitrogen 11,02% dan kadar protein 8,58%, perlakuan P₃ didapatkan jumlah kadar non protein nitrogen 10,43% dan kadar protein 9,91%.

Kata kunci: Enzim *alcalase*, hidrolisis protein ikan, ikan tembakul

¹⁾Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

²⁾Dosen Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau

THE pH EFFECT AGAINST HYDROLYSIS OF FISH PROTEIN
FROM MUDSKIPPER (*Periophthalmus minitus*)
USING ALCALASE ENZYME

By :
Indah Khairunnisa^{1)*}, Edison²⁾, Rahman Karnila²⁾
*E-mail: Khairunnisaindah23@gmail.com

ABSTRACT

This study was aimed to determine the effect of pH against hydrolysis of fish protein from mudskipper (*Periophthalmus minitus*) using alcalase enzyme and to determine the best pH of mudskipper protein hydrolysis. The used method was an experimental method with A non-factorial Completely Randomized Design (CRD) consisting of 3 levels of treatment namely P₁ (pH 6.5), P₂ (pH 7.5) and P₃ (pH 8.5). The observed parameters were the analysis of protein and moisture on mudskipper flour, the yield of mudskipper flour, the analysis of non-protein nitrogen and protein using lowry method on mudskipper protein hydrolysate. The results showed that the chemical analysis of mudskipper flour obtained 8.85% moisture, 86.56% protein, and the yield of 74.6%. The P₁ treatment (pH 6.5) obtained the non-protein nitrogen of 8.24% and 9.81% protein. The P₂ treatment (pH 7.5) obtained the non-protein nitrogen of 11.02% and 8.58% protein. Furthermore, the P₃ treatment (pH 8.5) obtained the non-protein nitrogen 10.43% and 9.91% protein.

Kata kunci: Enzyme alcalase, hydrolysis of fish, mudskipper

¹⁾Student of the Faculty of Fisheries and Marine, Universitas Riau

²⁾Lecturer of the Faculty of Fisheries and Marine, Universitas Riau

PENDAHULUAN

Ikan tembakul adalah salah satu jenis ikan yang diketahui menempati pantai berlumpur yang ditumbuhi oleh hutan mangrove. Peran ikan tembakul bagi manusia adalah sebagai bahan pangan atau umpan untuk memancing ikan. Daging ikan gelodok memiliki nilai gizi yang tinggi terutama kandungan protein. Berdasarkan penelitian Purwaningsih *et al.*, (2013) menyebutkan bahwa ikan tembakul mempunyai kandungan kadar protein 58,77%. Tingginya kandungan protein pada ikan tembakul sangat berpotensi untuk diolah menjadi hidrolisat protein ikan tembakul. Hidrolisat protein ikan merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein ikan menjadi peptida sederhana dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh enzim, asam atau basa. Hidrolisat protein memiliki beberapa kegunaan pada industri pangan maupun farmasi. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa hidrolisat protein ikan digunakan sebagai fortifikasi dalam bahan pangan. (Wijayanti *et al.*, 2015).

Proses pembuatan hidrolisat protein di dalam industri menggunakan proses enzimatis, yang dipandang lebih sesuai dan lebih murah. Proses pengolahannya lebih cepat dan memberikan hidrolisat protein tanpa kehilangan banyak asam amino esensial (Wijayanti *et al.*, 2015). Enzim protease yang digunakan dalam hidrolisis protein ikan telah tersedia secara komersial, baik yang berasal dari hewan, tanaman maupun mikroba.

Spesies *Bacillus* sp.
merupakan salah satu
mikroorganisme penghasil enzim

protease yang potensial protease komersial berhasil dimurnikan, misalnya *alcalase*.

Beberapa enzim *alcalase* merupakan salah satu enzim komersial yang berasal dari mikroba dan biasa digunakan untuk memproduksi hidrolisat protein. *Alcalase* bekerja aktif pada pH 6,5–8,5 dan pada suhu 45–65°C, dengan aktivitas maksimum pada suhu 60°C. Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, terutama adalah substrat, suhu, dan pH (tingkat keasaman).

Potensial Hidrogen (pH) merupakan salah satu faktor penting yang harus diperhatikan apabila bekerja dengan enzim, hal ini dikarenakan enzim hanya mampu bekerja pada kondisi pH tertentu saja. Suatu kondisi pH dimana enzim dapat bekerja dengan aktivitas tertinggi yang dapat dilakukannya dinamakan pH optimum.

Semakin aktif suatu enzim tentunya akan semakin baik menghidrolisis substratnya untuk menghasilkan produk. Berdasarkan uraian diatas perlu adanya penelitian tentang pengaruh pH berbeda terhadap hidrolisat protein ikan tembakul dengan penggunaan enzim *alcalase*.

Tujuan dan Manfaat

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan hidrolisat protein ikan tembakul dengan nilai pH yang terbaik menggunakan enzim *alcalase*. Sedangkan tujuan khusus penelitian adalah mendapatkan kandungan gizi (proksimat) tepung ikan tembakul dan rendemen tepung ikan tembakul, mendapatkan hidrolisat protein ikan tembakul serta kadar protein dan

kadar non protein nitrogen dan mendapatkan pH optimum pada hidrolisat protein ikan tembakul.

Adapun manfaat penelitian ini adalah untuk memberikan informasi tentang pembuatan hidrolisat protein ikan tembakul dengan menggunakan enzim *alcalase*, untuk memberikan informasi tentang pengaruh perbedaan pH terhadap hidrolisat protein ikan tembakul dan untuk memberikan wawasan tentang kandungan kadar protein dan kadar non protein nitrogen pada ikan tembakul sehingga dapat dimanfaatkan untuk menciptakan produk yang bernilai ekonomis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini telah dilaksanakan pada bulan Maret 2019 yang bertempat di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Laboratorium Kimia Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Riau.

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan tembakul yang diperoleh dari Rantau Prapat, Sumatera Utara dan enzim *alcalase*. Bahan kimia yang digunakan adalah buffer fosfat, aquades, nessler, H_2SO_4 , NaOH, $CuSO_4$, methyl red, larutan choloroform. Bahan habis pakai yang digunakan, antara lain: tissue, kertas saring, sarung tangan, masker, kertas label.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain adalah *spectrofotometer* waterbath, timbangan analitik, sentrifuse, pH meter, inkubator, mortar, erlenmeyer, cawan porselen, pipet tetes, desikator, penjepit cawan, labu kjedahl, hot plate.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini merupakan metode eksperimen, yaitu melakukan percobaan dengan memberikan perlakuan. Perlakuan yang diberikan adalah pH berbeda yaitu P_1 (pH 6,5), P_2 (pH 7,5) dan P_3 (pH 8,5) pada konsentrasi enzim 1,5% suhu $50^\circ C$, dan waktu 1 jam.

Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan acak lengkap (RAL) non faktorial untuk menganalisis pengaruh penggunaan pH yang berbeda terhadap hidrolisat protein ikan tembakul dengan 3 kali ulangan sehingga jumlah unit percobaan sebanyak 9 unit. Parameter yang diamati adalah analisa kadar protein dan kadar air pada tepung ikan tembakul, rendemen tepung ikan tembakul, analisis kadar non protein nitrogen dan analisis protein dengan metode lowry pada hidrolisat protein ikan tembakul. Model matematis yang diajukan menurut rancangan Gasperz (1991), adalah sebagai berikut:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Keterangan:

Y_{ij} = Nilai pengamatan dari ulangan e-j yang memperoleh perlakuan ke-i

μ = Nilai tengah umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke-i

ε_{ij} = Pengaruh galat ke-j yang memperoleh perlakuan ke-i

Preparasi dan pembuatan tepung

Ikan tembakul yang digunakan diperoleh dari kota Rantau Prapat, Sumatera Utara. Ikan tembakul segar yang digunakan dibersihkan dan dipisahkan antara daging, dan bagian tubuh lainnya (sirip, tulang, kulit dan jeroan) dengan menyayat bagian daging (*fillet*), kemudian daging ikan tembakul ditimbang dan dipotong-

potong kecil. Daging ikan tembakul yang sudah dipotong-potong kecil dimasukkan dalam beaker glass kemudian dikukus menggunakan waterbath dengan suhu 55-60°C selama 20 menit, kemudian dimasukkan kedalam inkubator dengan suhu 50°C sampai ikan kering. Daging ikan kering lalu dihaluskan menggunakan blender dan diayak.

Prosedur pembuatan hidrolisat protein ikan tembakul

Percobaan pembuatan hidrolisat protein dilakukan dengan menggunakan metode Liu dan Chiang (2008). Tepung ikan tembakul yang telah didapat ditimbang sebanyak 1 gram ditambahkan larutan buffer fosfat P₁ (pH 6,5), P₂ (pH 7,5) dan P₃ (pH 8,5) sebanyak 10 ml dengan perbandingan 1: 10 (b/v) dan dilakukan homogenisasi selama 10 menit di magnetik stirer, kemudian penambahan enzim *alcalase* yang di homogenisasi selama 5 menit. Setelah homogen dilakukan proses hidrolisis dengan konsentrasi enzim *alcalase* 1,5%, waktu 1 jam dan suhu 50°C. Selanjutnya dilakukan penginaktivasian enzim pada suhu 85°C selama 15 menit. Setelah proses hidrolisis selesai, dilanjutkan dengan pemisahan supernatan (fasa cair) dari presipitat (residu) menggunakan sentrifugasi (10.000 rpm selama 15 menit). Hidrolisat protein ikan ini kemudian dilakukan analisis kadar protein dan analisis kadar NPN.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Ikan Tembakul

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ikan tembakul yang digunakan dalam penelitian berasal dari family Gobiidae, subfamily Oxudercine, dan genus *Periophthalmus*. Ikan tembakul (*Periophthalmus minutus*) yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari kota Rantau Prapat, Sumatra Utara, dengan berat 6,9 kg yang memiliki ukuran tubuh dengan panjang 20-25 cm dan lebar tubuh 3-5 cm.

Ikan tembakul yang digunakan pada penelitian ini mempunyai bentuk tubuh bulat memanjang dan memiliki kepala yang bulat dengan ujung badan pipih memanjang. Tubuhnya berwarna coklat kehitaman, seluruh tubuhnya ditutupi oleh sisik. Ikan tembakul mampu bertahan di daerah pasang surut karena memiliki kemampuan bernafas melalui kulit tubuhnya dan lapisan selaput lendir di mulut serta kerongkongannya (Al-Behbehani dan Ebrahim, 2010). Adaptasi ikan tembakul untuk hidup di darat yakni memiliki mata besar yang berada di atas kepala dan berbentuk bulat, sementara mulut menghadap ke bawah yang digunakan untuk mencari makan saat berada di permukaan lumpur. Mata yang menonjol ke atas berada di permukaan, sedangkan tubuhnya tetap di bawah air (Al-behbehani, 2010).

Terdapat 2 baris gigi pada bagian atas mulut. Ikan ini memiliki sepasang sirip vektoral. Sirip pektoral digunakan untuk merangkak diatas lumpur (Chen *et al.* 20013. Sirip pectoral dilengkapi oleh sendi siku, sirip ini mendukung tubuh ikan

dan memungkinkan untuk bergerak atau melompat hingga 60 cm ke udara. Sirip punggung ada dua terletak sama persis dengan permulaan sirip dada dan dibelakang sirip perut. Sirip punggung berpisah dengan sirip ekor. Sirip perut jugular, sirip ekor membundar (rounded), tidak bergabung dengan sirip anal.

Persentase bagian tubuh ikan tembakul

Setelah ikan dipreparasi, diperoleh bagian-bagian utama pada ikan seperti kepala, tulang, daging, kulit, jeroan. Pemisahan daging ikan tembakul dilakukan dengan proses fillet daging dan kulit. ikan tembakul merupakan jenis ikan yang mudah dilakukan pemisahan daging dengan kulit.

Berikut perbandingan bagian-bagian tubuh ikan tembakul dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Persentase bagian tubuh ikan tembakul

No	Bagian tubuh ikan	Berat(gr)	Persentase(%)
1	Daging	307	30,7
2	Jeroan	170	17,0
3	Kulit	110	11,0
4	Kepala dan tulang	413	41,3%
Total		1.000	100

Tabel 1 menunjukkan bahwa ikan tembakul terdiri dari daging, tulang, kulit dan jeroan, dan kepala. Proporsi fillet berkurang karena pemisahan kepala, isi perut, tulang dan bagian lainnya yang tidak digunakan dalam penelitian ini.

Pada pengukuran daging diperoleh hasil sebesar 30,7% warna kemerah-merahan pada daging ikan tembakul disebabkan oleh kandungan hemoproteinnya tinggi

yang tersusun atas protein miosin, globin dan struktur heme yang dikenal dengan nama mioglobin dan hemoglobin, merupakan senyawa bersifat peroksidan (Amrullah, 2000). Mioglobin dan hemoglobin merupakan jenis hemoprotein terbanyak dalam daging ikan yaitu sekitar 80%. Pada kulit ikan tembakul berwarna coklat pekat menutupi bagian tubuh ikan tembakul yang persentasenya sekitar 11,0% bersamaan dengan jeroannya. Kulit luar ikan ini memiliki corak kecoklatan yang tipis sehingga mudah dilepaskan dari tubuh. Jeroan ikan tembakul yang persentasenya sekitar 17,0% terdiri dari lambung, usus, hati, kantung empedu, pankreas, gonad, limpa dan ginjal. Ikan tembakul termasuk dalam jenis ikan karnivora yang memakan jenis kepiting, insekta, siput dan bahkan beberapa ikan tembakul lainnya (Whitten *et al.* 2000). Ikan tembakul merupakan ikan yang hanya dapat ditemukan di lingkungan mangrove karena ketersediaan makanan di mangrove yang melimpah dan sesuai dengan kebutuhan nutrisi.

Pada tulang dan kepala ikan tembakul persentasenya 41,3% pengukuran tulang seluruh ruas tulang belakang dari pertemuan tulang kepala sampai tulang ekor, sirip ekor, sirip dada, sirip anal dan sirip punggung. Menurut Beatrice dan Fadilla (2011) tulang mengandung bahan anorganik maupun organik yang memiliki banyak manfaat. Komponen anorganik, yaitu kalsium, fosfor, bikarbonat, sitrat, magnesium, natrium, dan lain-lain, sedangkan komponen organik yang utama adalah protein. Bagian kepala ikan tembakul yang diukur termasuk tulang kepala, bibir dan rahang,

insang, penutup insang, mata, otak, dan sisa daging yang terdapat pada bagian kepala.

Tepung Ikan Tembakul

Tepung ikan adalah produk padat yang dihasilkan dengan jalan mengeluarkan sebagian air dan sebagian lemak atau seluruhnya dalam ikan atau sisa ikan (Fauzan, 2006). Tepung ikan hendaknya mempunyai ukuran partikel yang seragam bebas dari serpihan tulang, mata ikan dan partikel-partikel kasar lainnya yang tertahan oleh saringan 80 mesh. Fraksi lolos 50 mesh masih dianggap terlalu besar untuk tepung ikan yang bermutu baik.

Ilza *et al.*, (2000) dalam penelitiannya menunjukkan bahwa pengolahan tepung ikan dengan cara pengukusan terbukti menghasilkan kualitas tepung ikan yang lebih baik dibandingkan dengan cara perebusan ditinjau dari kadar protein dan organoleptik hingga penyimpanan 60 hari. Berikut komposisi kimia tepung ikan tembakul dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi kimia tepung ikan tembakul

Komponen	Persentase(%)
Air	8,85
Protein	86,56

Tepung daging ikan tembakul yang dihasilkan berwarna kuning kecoklatan dikarenakan adanya proses *browning*, Perubahan warna terjadi yang dipicu selama proses pengolahan ikan pada suhu tinggi dalam proses pemasakan untuk mendapatkan bahan tepung ikan. Menurut Kusnandar (2010), fenomena perubahan warna kecoklatan ini disebabkan oleh adanya reaksi kecoklatan non-

enzimatis (reaksi Maillard). Reaksi Maillard dapat dipicu oleh pemanasan pada suhu yang tinggi, seperti proses penyangraian, penggorengan, pemanggangan, dan pemasakan. Menurut Murtidjo (2003), penilaian secara fisik tepung ikan meliputi parameter-parameter seperti warna kuning kecoklatan tergantung jenis ikan, bau produk yang dihasilkan disertai sedikit bau minyak, bentuk hasil tepung harus lolos saringan 98%, sifat tepung bebas dari aroma ketengikan tidak hangus dan tingkat kehalusan homogen.

Berdasarkan Tabel 2. kadar air pada tepung ikan tembakul sebesar 8,85% Menurut Morris *et al.*, (2004), transfer panas dan pergerakan aliran air menyebabkan proses penguapan dan pengeringan pada bahan makanan. Hal ini menurunkan kandungan air sehingga terjadi perubahan yang berhubungan dengan proses dehidrasi seperti penurunan konsentrasi protein pada makanan. Kandungan air tersebut menurun, seiring penurunan kadar air pada tepung ikan tembakul yang telah mengalami proses pengukusan dan penyangraian disebabkan karena adanya proses keluarnya air dari dalam daging. Sebagian cairan tersebut akan mengalami penguapan pada pengolahan. Pada saat proses pengukusan telah terjadi proses penguapan air karena adanya proses pemanasan.

Berdasarkan Tabel 2. menunjukkan bahwa kadar protein tepung ikan tembakul sebesar 85,56%. Pada proses pengolahan tepung ikan tembakul menggunakan metode pengeringan. Proses pengeringan dengan merupakan penerapan panas dalam kondisi terkendali untuk mengeluarkan

sebagian besar air dari dalam bahan pangan melalui proses evaporasi (pengeringan secara umum). Suhu yang digunakan pada proses pembuatan tepung ikan tembakul menggunakan suhu $\pm 70^{\circ}\text{C}$. Dengan proses pengolahan dengan cara evaporasi yang terkontrol, maka kadar protein tepung ikan tembakul akan semakin meningkat. Hal ini disebabkan penguapan air dari dalam bahan semakin besar. Menurut Damayanti (2005), protein tinggi yang dimiliki oleh ikan pada umumnya dikarenakan protein dalam tubuh ikan berfungsi sebagai komponen struktural dan sebagai sumber energi. Komponen protein tergantung pada asam amino dan habitat ikan tersebut. Menurut Sahwan (2002), tepung ikan merupakan bahan baku yang paling penting karena paling baik sebagai sumber protein.

Rendemen Tepung Ikan Tembakul

Rendemen merupakan suatu parameter yang penting untuk mengetahui nilai ekonomis dan efektivitas suatu produk atau bahan. Perhitungan rendemen berdasarkan persentase perbandingan antara berat akhir dengan berat awal proses. Berat awal daging ikan tembakul dalam penelitian ini yaitu 415 gram. Setelah proses penepungan daging ikan tembakul yang diperoleh sebanyak 300 gram, sehingga rendemen tepung daging ikan tembakul adalah 72,2%. Rendemen tepung ikan tembakul yang dihasilkan sangat dipengaruhi oleh proses pengolahan tepung ikan tembakul, seperti pada tahap pengecilan ukuran dan pada tahap pengeringan.

Proses pengeringan yang dilakukan membuat daging ikan mengalami penurunan kadar air yang sangat banyak sehingga berat daging ikan berkurang.

Hidrolisat Protein Ikan Tembakul

Hidrolisat protein ikan merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein ikan menjadi peptida sederhana dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh enzim, asam atau basa. Hidrolisis protein menggunakan enzim merupakan cara yang efisien karena dapat menghasilkan hidrolisat protein yang terhindar dari kerusakan asam amino tertentu, seperti triptofan dan glutamin (Kristinsson, 2007). Enzim yang digunakan untuk menghidrolisis protein ikan tembakul dalam penelitian ini adalah enzim *alcalase*.

Enzim *alcalase* adalah endo-protease dari jenis serin. Ini memiliki kekhususan substrat yang sangat luas. Dengan kata lain, itu dapat menghidrolisis sebagian besar ikatan peptida dalam molekul protein. Peptida dan asam amino terbentuk yang dilarutkan atau didispersikan dalam air pencuci. *Alcalase* aktif antara pH 6,5 dan 8,5. Fungsinya antara 45 dan 65° C dengan aktivitas maksimum sekitar 60° C, di atas itu aktivitasnya turun dengan cepat.

Berdasarkan warna, HPI dari ikan tembakul mempunyai warna kekuningan cerah. Menurut Barzana dan Garcia garibay (1994) warna HPI ditentukan oleh pigmen/zat warna yang terdapat pada ikan yang digunakan sebagai bahan bakunya. Beberapa produk HPI pada umumnya berwarna coklat muda, sedangkan HPI cair yang dibuat dari ikan salmon berwarna merah, dan

HPI yang dibuat dari ikan pollack berwarna putih. Disamping pengaruh oleh zat warna dari bahan baku warna HPI juga dipengaruhi oleh reaksi pencoklatan non-enzimatis selama proses. Penggunaan panas selama proses hidrolisis kemungkinan merupakan salah satu sebab terjadinya pencoklatan pada HPI yang dihasilkan.

Analisis kadar non protein nitrogen

Hasil penelitian terhadap kadar NPN hidrolisat protein ikan tembakul dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar non protein nitrogen hidrolisat protein ikan tembakul

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
P1	7,78	8,24	8,70	8,25 ^a
P2	9,96	11,95	11,15	11,02 ^b
P3	10,97	10,57	9,75	10,43 ^a

Keterangan : Angka yang diikuti oleh notasi huruf yang sama berarti perlakuan tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$). Angka yang diikuti oleh notasi huruf yang berbeda, berarti perlakuan berbeda nyata ($\alpha = 0,05$)

Hasil analisis variansi ilai kadar non protein nitrogen hidrolisat ikan tembakul (*Periophthalmus minimus*) memberi pengaruh nyata, dimana $F_{\text{Hitung}} (12,04) > F_{\text{Tabel}} (5,14)$ pada tingkat kepercayaan 95% maka H_0 ditolak. Sehingga dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ).

Hasil uji BNJ menunjukkan bahwa nilai kadar non protein nitrogen hidrolisat ikan tembakul berbeda nyata, dimana perlakuan P_1 berbeda nyata dengan perlakuan P_2 , P_2 berbeda nyata dengan P_3 dan

perlakuan P_1 tidak berbeda nyata dengan perlakuan P_3 pada tingkat kepercayaan 95%.

Berdasarkan Tabel 3. Terlihat bahwa rata-rata kadar non protein nitrogen pada hidrolisat protein ikan tembakul yang terbaik yaitu pada P_2 (7,5), dengan nilai 33,07%. Penggunaan pH 7,5 menghidrolisis protein dengan baik, protein yang terhidrolisis menghasilkan nitrogen yang bukan protein paling banyak diantara penggunaan pH yang lain. Hal ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis yang dilakukan berjalan lebih sempurna. Semakin tinggi nilai a-amino nitrogen bebas produk hidrolisat berarti proses hidrolisis berjalan semakin baik. Proses hidrolisis yang berjalan baik dengan sempurna akan menghasilkan produk hidrolisat yang memiliki flavor dan mutu yang baik (Yokotsuka, 1960).

Salah satu faktor yang mempengaruhi proses hidrolisis adalah pH. Nilai pH optimum dalam proses hidrolisis ini dihubungkan dengan sifat nzim yang digunakan, yaitu enzim *alcalase* yang mempunyai keaktifan pada pH 6,5-8,5. pH berpengaruh terhadap kecepatan aktivitas enzim dalam mengkatalis suatu reaksi. Hal ini disebabkan konsentrasi ion hidrogen mempengaruhi struktur dimensi enzim dan aktivitasnya. Setiap enzim memiliki ph optimum dimana pada pH tersebut struktur tiga dimensinya paling kondusif dalam mengikat substrat. Bila konsentrasi ion hidrogen berubah dari konsentrasi optimal, aktivitas enzim secara progresif hilang sampai pada akhirnya enzim menjadi tidak fungsional.

Hidrolisis yang dilakukan menyebabkan meningkatnya kadar N-amino pada hidrolisat protein ikan.

Hal ini disebabkan karena semakin lama waktu hidrolisis yang diberikan akan menyebabkan daya kerja enzim untuk melakukan proses hidrolisis semakin panjang (Kristantina, 2010). Shahidi *et al.*, (1995) menyatakan bahwa proses hidrolisis protein enzimatis berkaitan dengan mekanisme perombakan protein (proteolitik), melibatkan enzim yang bersifat larut dan substrat dalam bentuk jaringan daging ikan, menjadi senyawa nitrogen yang terlarut.

Protein metode lowry

Hasil penelitian terhadap kadar protein metode lowry hidrolisat protein ikan tembakul dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Kadar protein metode lowry hidrolisat protein ikan tembakul

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
P1	9,54	9,94	9,94	9,81 ^b
P2	8,41	8,65	8,65	8,58 ^a
P3	9,79	10,03	9,91	9,91 ^b

Keterangan : Angka yang diikuti oleh notasi huruf yang sama berarti perlakuan tidak berbeda nyata ($\alpha = 0,05$). Angka yang diikuti oleh notasi huruf yang berbeda, berarti perlakuan berbeda nyata ($\alpha = 0,05$)

Berdasarkan Tabel 4 terlihat bahwa rata-rata kadar protein metode lowry hidrolisat protein ikan tembakul yaitu P₁ (9,81%), P₂ (8,58%) dan P₃ (9,91%). Berdasarkan hasil analisis variansi diperoleh nilai F_{hitung} (12,91) > F_{tabel} (5,14) pada tingkat kepercayaan 95%, maka H_0 ditolak. Hal ini menjelaskan bahwa hidrolisat protein ikan tembakul berpengaruh terhadap nilai kadar protein hidrolisat ikan tembakul.

Hasil uji lanjut BNJ menunjukkan bahwa kadar protein metode lowry pada perlakuan P₁ berbeda nyata dengan P₂, P₂ berbeda nyata dengan P₃ dan P₁ tidak berbeda nyata dengan P₃ pada tingkat kepercayaan 95%.

Berdasarkan Tabel 4, terlihat bahwa proses hidrolisis menggunakan pH yang berbeda P₂ (8,58%) menghasilkan hidrolisat yang memiliki sisa protein bebas yang sedikit dan menghasilkan asam amino yang tinggi. Hal ini disebabkan tidak semua protein dalam suatu bahan merupakan protein yang mudah larut /dicerna. Protein kasar tidak hanya mengandung protein saja tetapi juga mengandung nitrogen yang bukan berasal dari protein (non protein nitrogen) dan karna optimalnya kerja enzim yang di tambahkan menghidrolisis protein menjadi ikatan asam amino dan peptida.

Hidrolisis protein yang terjadi dapat menyebabkan protein yang awalnya tidak terlarut menjadi protein terlarut yang kemudian dihidrolisis oleh enzim menjadi ikatan asam amino dan peptida, sehingga semakin banyak ikatan peptida yang terhidrolisis maka jumlah ikatan peptida yang terhitung sebagai protein terlarut akan semakin rendah (Amalia dan Refdinal, 2010).

Hidrolisis yang dilakukan menyebabkan meningkatnya kadar N-amino pada hidrolisat protein ikan. Hidrolisis pada protein akan menguraikan protein menjadi asam amino penyusunnya. Semakin lama waktu hidrolisis akan memberikan kesempatan enzim melakukan hidrolisis protein semakin lama sehingga akan semakin banyak protein yang terhidrolisis menjadi asam amino. Nitrogen amino akan

meningkat karena semakin tingginya protein yang terlarut dan tidak terhambatnya aktivitas proteolitik. Selanjutnya protein terlarut akan semakin menurun karena terhidrolisa menjadi asam amino bebas dan akan semakin meningkatkan kadar N-amino.

Protein yang dikandung oleh produk hidrolisat ini adalah protein terlarut, sedangkan protein tidak terlarut sudah terbuang pada saat sentrifuse. Menurut Purbasari (2008), peningkatan kandungan protein dalam produk hidrolisat disebabkan selama proses hidrolisis terjadi konversi protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut, selanjutnya terurai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida dan asam amino sehingga mudah diserap oleh tubuh.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian pengaruh pH terhadap hidrolisis protein ikan tembakul (*Periophthalmus minutus*) dengan penggunaan enzim *alcalase*, dapat disimpulkan bahwa:

1. Tepung ikan tembakul yang dihasilkan berwarna kuning kecoklatan dari hasil analisis kimia diperoleh jumlah kadar air 8,85% dan kadar protein 86,56%.
2. Karakteristik hidrolisat protein ikan tembakul yang dihasilkan berupa hidrolisat cair berwarna kekuningan cerah.
3. Hasil penggunaan pH berbeda yang terbaik terdapat pada pH 7,5 pada penggunaan enzim ini hasil dari analisis kimia hidrolisat protein ikan tembakul di dapatkan jumlah kadar non protein nitrogen 11,02%, dan kadar protein 8,58%.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan penulis menyarankan agar dilakukan penelitian lanjutan dengan penambahan analisis asam amino bebas, dan antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, A. dan Refdinal, N. 2010. Amobilisasi Bromelin dengan Mengguakan Kitosan sebagai Matriks Pendukung. Prosiding Kimia FMIPA. Institus Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Amrullah. 2000. Penggunaan Imunostimulan *Spirulina platensis* Untuk Meningkatkan Ketahanan Tubuh Ikan Koi (*Cyprinus carpio*) Terhadap Virus Herpes [Tesis]. Bogor: Program Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Al-Behbehani B.E dan Ebrahim H.M.A. 2010. Enviromental Studies On The Mudskippers In The Intertidal Zone Of Kuwait Bay. Nature and Science, 8:79-89.
- Beatricx, L.T.M dan Fadilla, H.U. 2011. Pengaruh pH dan Kecepatan Pengadukan Pada Ekstraksi {Protein Dari Tulang Ayam dengan Solvent Larutan NaOH. Technical Report. Universitas Diponegoro.Semarang.
- Barzana, E dan Garcia, G.N. 1994. Production of fish protein concentrate. Martin, A.M. (ed). Fisherles Processing Biotechnology Applications,

- London Chapman & Hall: 207-222.
- Chen, L.L., Tooley, I., dan Wang, S.Q. 2013. Chapter 11: Nanotechnology in Photoprotection dalam Nasir et al., Nanotechnology in Dermatology, New York: Springer.
- Damayanti A. 2005. Kajian pemanfaatan beberapa ikan laut dalam perairan barat sumatera sebagai sumber pangan dan obat-obatan. (Skripsi). Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Fauzan L. 2006. Karakteristik Sifat Fisik Tepung Ikan serta Tepung Daging dan Tulang. <http://repository.ipb.ac.id/bitstream/handle/123456789/32665/D06fla.pdf?sequence=1>, akses 20 Juni 2019.
- Gasperz, V. 1991. Metode Perancangan percobaan untuk ilmu-ilmu pertanian, ilmu-ilmu teknik, biologi. Armico. Bandung.
- Ilza, M., Leksono, T., dan Syahrul. 2000. Studi Pengaruh Cara Pemasakan Terhadap Mutu Tepung Ikan. Jurnal Peternakan dan Lingkungan Vol 6 : 22. hlm 43-49.
- Kristinsson, HG. 2007. Aquatic Food Protein Hydrolysates. Di dalam: Shahidi F, editor. Maximising the Value of Marine By-Product. Boca Raton: CRC Press.
- Kusnandar, F. 2010. Kimia pangan. Komponen Pangan. PT. Dian Rakyat. Jakarta.
- Liu, B.L. dan Chiang, P.S. 2008. Production of Hydrolysate with Antioxidative Activity and Functional Properties by Enzymatic Hydrolysis of Defatted Sesame (*Sesamum indicum* L.). International Journal of Applied Science and Engineering, 6 (2) : 73-83.
- Morris A, Barnett A, dan Burrows O. 2004. Effect of processing on nutrient content of foods. Articles continued. 37(3): 160-164.
- Murtidjo, B. A. 2001. Beberapa Metode Pengolahan Tepung Ikan. Kanisius. Yogyakarta.
- Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*). [Skripsi]. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB.
- Purwaningsih, S., Salamah, E, & Riaviani. 2013. Perubahan Komposisi Kimia, Asam Amino, Dan Kandungan Taurin Ikan Glodok *Periophthalmodon schlosseri*. Jurnal Pengolahan Hasil Pangan. 16 (1): 12-21.
- Sahwan, M. F. 2002. Pakan Ikan dan Udang. Penebar Swadaya. Jakarta. 95 hal
- Shahidi, F. and Naczki, M., 1995, Food Phenolics. Technomic pub.Co. Inc., Lancaster-Basel.
- Wijayanti I, Romadhon, Rianingsih L. 2015. Pengaruh Konsentrasi

Enzim Papain Terhadap Kadar Proksimat Dan Nilai Rendeman Hidrolisat Protein ikan Bandeng. Jurnal PENA Akuatik 12(1) : 13-14

Whitten T, Damanik S, Anwar J, Hisyam N. 2000. The Ecology of Sumatra. Periplus Edition. Singapura

Yokotsuka, T. 1960. Soy Sauce Biochemistry. Adv food. Res. (30): 195-329