

JURNAL

**Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain Terhadap Hidrolisat Protein Ikan Kembung
(*Rastrelliger sp.*)**

OLEH

REINHARD NUARY M AMBARITA

NIM : 1504114936



**FAKULTAS PERIKANAN DAN KELAUTAN
UNIVERSITAS RIAU PEKANBARU**

2021

Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain Terhadap Hidrolisat Protein Ikan Kembung (*Rastrelliger sp.*)

Oleh

Reinhard Nuary M Ambarita⁽¹⁾, Edison⁽²⁾, Mery Sukmiwati⁽²⁾

Email: reinhard48funky@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim papain yang berbeda dan konsentrasi terbaik dalam pembuatan hidrolisat protein dari ikan kembung. Metode penelitian yang digunakan yaitu eksperimen menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) non faktorial. Perlakuan yang digunakan adalah konsentrasi enzim papain yang berbeda, yaitu 0% (P₀), 12% (P₁), 14% (P₂), 16% (P₃). Parameter yang diuji terdiri dari komposisi kimia, analisis kadar protein terlarut metode Bradford, dan analisis Non Protein Nitrogen (NPN). Komposisi kimia pada daging ikan kembung yang dihasilkan adalah kadar air 14,53%, kadar protein 55,44%, kadar abu 5,02%, dan kadar lemak 14,85%. Hasil analisis menunjukkan penggunaan konsentrasi enzim papain yang berbeda berpengaruh terhadap hidrolisat protein ikan kembung dan Konsentrasi papain 14% (P₂) merupakan konsentrasi yang terbaik dalam pembuatan hidrolisat protein ikan kembung dengan nilai kadar protein terlarut sebesar 0.7996 mg/ml dan nilai kadar Non Protein Nitrogen (NPN) sebesar 7,2659 mg/ml.

Kata Kunci: Enzim Papain, Hidrolisat Protein Ikan, Ikan Kembung

¹⁾Mahasiswa Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau

²⁾Dosen Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Riau

The Effect of Papain Enzyme Concentration on Protein Hydrolysate of Mackerel fish (*Rastrelliger* sp.)

By:

Reinhard Nuary M Ambarita⁽¹⁾, Edison⁽²⁾, Mery Sukmiwati⁽²⁾

Email: reinhard48funky@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to investigate the effect of different concentrations of papain enzyme and the best concentration to produce protein hydrolysate from mackerel fish. The research methods used were experimental and with non-factorial completely randomized design (CRD). The treatments used were different concentrations of papain enzyme, each 0% (P₀), 12% (P₁), 14% (P₂), 16% (P₃). The parameters tested were consisted of chemical composition, analysis of dissolved protein content using the Bradford method, and analysis of Non Protein Nitrogen (NPN). The chemical composition of mackerel produced is was 14.53% water content, 55.44% protein content, 5.02% ash content, and 14.85% fat content. The results of the analysis showed that the use of different concentrations of papain enzymes affected the protein hydrolyzate of mackerel. The papain concentration of 14% (P₂) was the best concentration to produce protein hydrolysate of mackerel with a dissolved protein content of 0.7996 mg/ml and a value of Non Protein Nitrogen (NPN) of 7.2659 mg/ml.

Keyword: Fish protein hydrolyzate, Mackerel, Papain Enzyme

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

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

PENDAHULUAN

Ikan kembung merupakan salah satu ikan pelagis kecil yang menjadi komoditas utama para nelayan kelas menengah. Ikan kembung memiliki harga yang relatif murah dengan permintaan tinggi bagi pasar tradisional maupun supermarket dan memiliki kandungan protein yang tinggi (Kuncoro dan Wiharto, 2009).

Komposisi gizi ikan kembung cukup tinggi, Omega 3 yang terkandung dalam 100 gr ikan kembung sebesar 2,6 gr sedangkan pada 100 gr ikan salmon hanya terdapat 1,4 gr (Marfuah, 2017). Selain Omega 3 yang tinggi, ikan kembung juga memiliki kadar vitamin A yang lebih tinggi dari ikan Makarel (*Scomber japonicus*) (Dias *et al.*, (2003). Dengan gizi yang tinggi, pemanfaatan ikan kembung hanya sebatas bahan untuk masakan seperti digoreng, dibakar, dan pepes kembung oleh masyarakat Indonesia

Pembuatan hidrolisat protein dari ikan kembung adalah salah satu alternatif dalam memanfaatkan ikan kembung dan diharapkan dapat memberikan nilai tambah (*added value*) pada ikan kembung sekaligus dapat meningkatkan penyediaan bahan pangan berprotein tinggi. Hidrolisat Protein Ikan (HPI) merupakan suatu proses pemutusan ikatan peptida pada struktur protein menjadi ikatan yang lebih sederhana melalui proses hidrolisis baik menggunakan enzim, asam, maupun basa. Reaksi hidrolisis ini akan menghasilkan hidrolisat protein yang berkualitas karena pH, kondisi suhu, dan waktu hidrolisis yang

terkontrol (Kristinsson dan Rasco, 2000). Menurut Clememte (2000) dalam Karti A, *et al.*, (2008) pembuatan hidrolisat protein ikan dengan menggunakan enzimatik lebih menguntungkan dibandingkan pembuatan hidrolisat protein ikan secara kimia. Karena hidrolisis enzimatik tidak mengakibatkan kerusakan asam amino. Enzim papain merupakan salah satu enzim protease yang dapat digunakan dalam pembuatan hidrolisis protein ikan telah tersedia secara komersial.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan konsentrasi enzim papain yang berbeda terhadap pembuatan hidrolisat protein ikan kembung dan untuk mengetahui konsentrasi enzim papain yang optimal dalam pembuatan hidrolisat protein ikan kembung.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan kembung (*Rastrelliger sp.*) yang diperoleh dari pasar tradisional yakni Pasar Pagi Arengka dengan ukuran ikan sekitar 22 cm sebanyak 7 Kg dan enzim papain komersial yang diproduksi oleh Xi'an Lyphar Biotech Co.Ltd. Bahan yang digunakan untuk analisis kimia adalah NaOH, TCA, buffer fosfat, H₂O, larutan asam borat, larutan baku asam, larutan *bromcresol green*, larutan metil merah, alkohol, HCl, pelarut lemak, H₂SO₄, H₃B₃, *Coomassie Brilliant Blue G-250*, larutan standar BSA (*Bovine Serum Albumin*), Larutan Etanol, dan H₃PO₃.

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini antara lain adalah sentrifuse, waterbath, stopwatch, timbangan, spektrofotometer, alat analisis protein (Kjeldahl), baskom, pisau, talenan, incubator, blender, ayakan, *magnetic stirrer*, panci, cawan, oven, desikator, alat destilasi, labu lemak, tabung soxhlet, tabung reaksi, vortex, labu takar, dan botol gelap. Alat habis pakai yang digunakan, antara lain: kertas label, kertas saring, kapas bebas lemak, kertas pH, botol sampel, sarung tangan, tisu dan masker.

Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) non faktorial dengan perlakuan yaitu konsentrasi enzim terdiri dari 4 taraf berdasarkan penelitian terdahulu, yaitu P₀ (Papain 0%), P₁ (Papain 12%), P₃ (Papain 14%), P₄ (Papain 16%) dari berat protein ikan. Tiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali.

Parameter yang diamati meliputi hidrolisat protein ikan kembung dengan analisis protein terlarut metode Bradford dan analisis Non Protein Nitrogen (NPN).

Prosedur Pembuatan Tepung Ikan Kembung

Berikut adalah tahapan pembuatan tepung ikan kembung:

1. Preparasi

Ikan kembung yang digunakan diperoleh dari Pasar Pagi Arengka Pekanbaru. Selanjutnya, ikan kembung dibersihkan dan dipisahkan antara daging, dan bagian tubuh lainnya (sirip,

tulang, kulit dan jeroan) dengan menyayat bagian daging (*fillet*). Kemudian lumatan daging ikan kembung ditimbang.

2. Pembuatan Tepung Ikan

Daging ikan kembung yang sudah menjadi lumatan dimasukkan ke dalam *Beaker glass*. Kemudian dikukus menggunakan waterbath dengan suhu 70°C selama 15 menit. Setelah dikukus daging ikan di keringkan dengan suhu 55°C didalam oven sampai daging ikan kering lalu dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ukuran 60 mesh.

Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Kembung

Berikut pembuatan hidrolisat protein dilakukan dengan menggunakan metode Karnila (2012), yang dimodifikasi sebagai berikut:

1. Tepung ikan kembung ditimbang sebanyak 10 gr setiap sampel dan ditambahkan larutan buffer fosfat dengan perbandingan 1:10 (b/v) dan dilakukan homogenisasi selama 10 menit. Kemudian penambahan enzim papain dengan konsentrasi yang berbeda (0%, 12%, 14% dan 16%).
2. Proses hidrolisis menggunakan *magnetic stirrer* dilakukan pada suhu 55°C dan pH 7 dengan waktu 6 jam.
3. Selanjutnya dilakukan pemanasan pada suhu 85°C selama 15 menit untuk mengaktifkan enzim.
4. Setelah proses hidrolisis selesai, dilanjutkan dengan pemisahan supernatant (fasa cair) dari presipitat (residu) menggunakan

sentrifugasi (5.000 rpm selama 15 menit).

5. Kemudian supernatant (hidrolisat) selanjutnya dievaporasi menggunakan vakum evaporator sampai semua pelarut menguap.

Hidrolisis protein dilakukan uji analisis Kadar Protein (Bradford *Method*) dan Kadar Non Protein Nitrogen (NPN).

Analisis Proksimat

1. Analisis Kadar Air (AOAC, 2005)
Cawan yang akan digunakan di oven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100-105°C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak 2 g dalam cawan yang sudah dikeringkan (B) kemudian dioven pada suhu 100°C selama 6 jam lalu didinginkan dalam desikator selama 30 menit dan ditimbang (C). Tahap ini diulangi hingga dicapai bobot yang konstan. Kadar air dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(B-C)}{(B-A)} \times 100 \%$$

2. Analisis Kadar Protein (AOAC, 2005)
Sampel ditimbang sebanyak 0,1-0,5 g, dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl 100 ml, ditambahkan dengan ¼ buah tablet kjeltab, kemudian didekstruksikan (pemanasan dalam keadaan mendidih) sampai larutan menjadi hijau jernih dan SO₂ hilang larutan dibiarkan dingin dan dipindahkan ke labu 50 ml dan

diencerkan dengan akuades sampai tanda terang, dimasukkan ke dalam alat destilasi, ditambahkan dengan 5-10 ml NaOH 30-33% dan dilakukan destilasi, ditampung dalam larutan 10 ml asam borat 3% dan beberapa tetes indikator (larutan bromcresol green 0,1 dan 29 larutan metil merah 0,1% dalam alkohol 95% secara terpisah dan dicampurkan antara 10 ml bromcresol green dengan 2 ml metil merah) kemudian dititrasikan dengan larutan HCl 0,02 N sampai larutan berubah warnanya menjadi merah muda, kadar protein dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar protein} = \frac{(V_a - V_b) \text{HCl} \times N \text{HCl} \times 14,007 \times 6,25}{W \times 1000} 100\%$$

3. Analisis Kadar Lemak (AOAC, 2005)
Sampel sebanyak 5 g dimasukkan ke dalam kertas saring, kedua ujung kertas saring ditutup dengan tapas bebas lemak kemudian dibungkus lalu dimasukkan dalam selongsong lemak. Sampel yang telah dibungkus dimasukkan dalam labu lemak yang sudah ditimbang dan disambungkan dengan tabung soklet, disiram dengan pelarut lemak, direfluks selama 6 jam. Pelarut lemak yang ada dalam labu lemak didestilasi hingga semua pelarut lemak menguap. Pada saat destilasi, pelarut akan tertampung diruang ekstraktor. Labu lemak

dikeringkan dalam oven pada suhu 105°C, lalu labu didinginkan dalam desikator. Kadar lemak dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Kadar lemak (\%)} = \frac{W_3 - W_2}{W_1} \times 100\%$$

4. Analisis Kadar Abu (AOAC, 2005)

Cawan yang akan digunakan dioven terlebih dahulu selama 30 menit pada suhu 100-105°C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A) sampel ditimbang sebanyak 2 g dalam cawan yang sudah dikeringkan (B) kemudian dibakar diatas nyala pembakar sampai tidak berasap dan dilanjutkan dengan pengabuan di dalam tanur bersuhu 550-600°C sampai pengabuan sempurna. Sampel yang sudah diabukan didinginkan dalam desikator dan ditimbang (C). tahap pembakaran dalam tanur diulangi sampai didapat bobok yang konstan. Kadar abu dihitung dengan rumus:

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

Analisis Kadar Protein (Bradford 1976)

Berikut cara kerja dalam pengujian kadar protein dengan Metode Bradford:

- a. *Comassie brilliant blue G-250* sebanyak 25 mg direaksikan dengan menggunakan 12,5 mL etanol 95% yang bertujuan untuk

membuat Larutan Standar BSA (*Bovine Serum Albumin*).

- b. Masing-masing larutan yang telah dicampurkan pada masing-masing tabung diencerkan dengan menggunakan akuades sebanyak 500 mL dan dilakukan pengukuran absorbansi sampel.
- c. Kemudian larutan standar diencerkan menjadi beberapa larutan dengan berbagai konsentrasi yang lebih rendah yaitu 0,1-1 mg/ml dan dilakukan pengukuran absorbansi dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm.

Pengukuran protein terlarut metode Bradford dilakukan dengan cara mereaksikan 0,2 mL larutan sampel hidrolisat yang sudah dalam bentuk larutan ke dalam tabung reaksi, kemudian menambahkan larutan tersebut dengan 4 mL larutan Bradford. Larutan tersebut diinkubasi selama 15 menit dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Perhitungan jumlah konsentrasi protein yang dicari dapat menggunakan rumus:

$$y = a + bx$$

Analisis Kadar Non Protein Nitrogen (NPN)

Kadar non protein nitrogen hidrolisat protein ikan ditentukan dengan metode makro Kjeldahl menurut prosedur (Loekman dan Bukhari, 1994). Hidrolisat ikan kembung diambil sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan

larutan 2 ml TCA 10% kemudian disentrifus.

Larutan yang telah disentrifus dipisahkan supernatant dan presipitatnya, lalu supernatant dimasukkan ke dalam labu Kjedadahl dan diberi 5 ml H₂SO₄ pekat dan 1g katalis (Cu kompleks) ditambahkan ke dalam labu dan didestruksi dalam lemari asam sampai berwarna bening dan didinginkan selama 30 menit. Larutan selanjutnya diencerkan sampai dengan 30 ml aquades.

Diambil 10ml larutan sampel di encerkan lagi menjadi 20 ml lalu dimasukkan ke dalam labu Kjedadahl dan ditambahkan NaOH 20% sebanyak 1-ml kemudian di destilasi. Hasil destilasi ditampung dalam 20 ml larutan H₃B₃ 20% dan ditambahkan 7 tetes indicator campuran (metil merah-metil biru) sehingga larutan berwarna hijau. Larutan selanjutnya dititrasi dengan HCl 0,05 N sampai berwarna ungu. Setelah itu dilakukan perhitungan dengan menggunakan rumus:

$$\text{Perhitungan NPN} = \frac{(V_4 - V_5) \times N_2 \times 14,007 \times [V_6 + \{0,01 \times M \times W_2\}]}{V_7 \times W_2 \times 10}$$

Analisis Data

Data yang diperoleh terlebih dahulu ditabulasikan ke dalam bentuk tabel, grafik dan dianalisis secara statistik dengan analisis varian (Anava). Kemudian dari perhitungan yang dilakukan akan diperoleh F-hitung yang akan menentukan diterima atau ditolaknya hipotesis yang telah diajukan. Jika F-hitung lebih kecil dari F-tabel pada tingkat kepercayaan 95% maka H₀ diterima. Jika F-hitung lebih

besar dari F-tabel pada tingkat kepercayaan 95% maka H₀ ditolak dan perlu uji BNJ (beda nyata jujur).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Bahan Baku

Ikan Kembung merupakan ikan yang hidup di sekitar dasar perairan dan permukaan perairan laut. Bentuk badan ikan kembung seperti torpedo, tubuh yang ramping memanjang dan pipih. Sisi dorsalnya gelap, berwarna biru kehijauan hingga kecoklatan. Ada satu hingga dua deret bintik gelap membujur di dekat pangkal sirip punggung. Sementara sisik ventralnya berwarna keperakan.

Ikan kembung berukuran 21-23 cm dan berat 115,0-311,0 g. Setiap bagian tubuhnya ditutupi oleh sisik halus dan sokselet tepat di bagian belakang sirip dada dan juga selaput lemak di bagian kelopak mata. Ikan kembung memiliki kulit punggung yang berwarna biru kehijauan, sedangkan bagian perut terlihat berwarna seperti kuning keperakan. Berikut tabel berat rata-rata bagian tubuh ikan kembung dan data rata-rata morfometrik ikan kembung:

Tabel 1. Berat rata-rata (gr) bagian tubuh ikan kembung

No	Bagian tubuh ikan	Persentase (%)
1	Daging	34,09
2	Kepala	28,54
3	Jeroan	9,83
4	Kulit, tulang, dan lainnya	27,54
Total		100

Tabel 2. Data rata-rata nilai morfometrik ikan kembung

Bagian tubuh ikan	Rerata (cm)
Panjang	23,5
Tinggi	5,1
Lebar	2,6

Komposisi Kimia Tepung Ikan Kembung

Hasil komposisi kimia Tepung ikan kembung meliputi protein, air, abu dan lemak dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi kimia tepung ikan kembung

Kandungan	Tepung Ikan kembung
Air (%)	14,53
Protein(%)	55,44
Abu (%)	5,02
Lemak (%)	14,85

Berdasarkan Tabel 3 diatas, terlihat bahwa kadar air pada tepung ikan kembung segar sebesar 14,53%. Kandungan air sangat berpengaruh terhadap mutu bahan pangan dan merupakan salah satu sebab pada pengolahan pangan air dikeluarkan atau dikurangi dengan cara pemanasan. Kandungan air dalam bahan pangan ikut menentukan daya terima, kesegaran dan daya simpan (Purnawingsih, 2013).

Tingginya kadar protein yaitu sebesar 55,54% dikarenakan penggunaan daging tanpa jeroan, kulit dan tulang. Selain itu ikan kembung tergolong ke dalam jenis ikan berlemak

tinggi karena ikan ini kaya akan lemak tak jenuh ganda yang dikenal sebagai rantai panjang omega 3. Protein didalam tubuh ikan berfungsi sebagai zat pembangun, pengatur dan cadangan makanan. protein berupa enzim, membentuk antibodi serta membentuk senyawa kompleks dengan molekul lain (Karnila, 2012). Menurut Stansby (1982) ikan dengan kadar protein 15-20% termasuk kedalam golongan ikan berprotein tinggi.

Kandungan kimia lainnya adalah abu yaitu sebesar 5,02%, Abu adalah zat anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan organik. Kadar abu suatu bahan pangan menunjukkan besarnya jumlah mineral yang terkandung dalam bahan tersebut. Penentuan kadar abu total sangat berguna sebagai parameter nilai gizi suatu bahan makanan (Andarwulan *et al*, 2011). Banyaknya kadar abu dipengaruhi oleh ukuran ikan serta rasio daging dan tulang (Purnawingsih *et al*, 2012).

Lemak merupakan salah satu unsur yang penting dalam pangan yang berfungsi sebagai sumber energi. Produk hidrolisat protein ikan dengan kadar lemak rendah umumnya mempunyai nilai mutu yang lebih stabil dan tahan lama jika dibandingkan dengan produk hidrolisat yang mempunyai kadar lemak yang tinggi. Berdasarkan tabel 3 diatas kandungan lemak yang terkandung sebesar 14,85%.

Analisis Kadar Protein (Bradford 1976)

Hasil analisis kadar protein hidrolisat ikan kembung dengan konsentrasi enzim papain disajikan pada tabel 4.

Tabel 4. Nilai kadar protein hidrolisat ikan kembung dengan metode Bradford

Perlakuan	U1 (mg/ml)	U2 (mg/ml)	U3 (mg/ml)	Rata-rata (mg/ml)
P ₀	0,6489	0,7079	0,6685	0,6751±0,0300 ^a
P ₁	0,7472	0,7669	0,7865	0,7669±0,0197 ^b
P ₂	0,8259	0,7767	0,7964	0,7996±0,0247 ^d
P ₃	0,7865	0,8062	0,7669	0,7865±0,0197 ^c

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 (Lampiran 4), menunjukkan bahwa adanya perbedaan nilai protein terlarut pada ikan kembung pada setiap perlakuan konsentrasi enzim yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi enzim berpengaruh nyata terhadap nilai kadar protein hidrolisat ikan kembung, dimana F_{hitung} (15,8333) > F_{tabel} (4,07) pada tingkat kepercayaan 95%, maka H_0 ditolak. Sehingga dilakukan uji beda nyata jujur (BNJ). Hasil uji beda nyata jujur (BNJ) (Lampiran 4) menunjukkan bahwa kadar protein hidrolisat ikan kembung berbeda nyata, dimana perlakuan tanpa konsentrasi enzim P₀ (0%) berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi enzim P₁ (12%), berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi enzim P₂ (14%), dan berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi enzim P₃ (16%) pada tingkat kepercayaan 95%.

Berdasarkan tabel 4, diketahui bahwa hasil rata-rata nilai kadar protein hidrolisat ikan kembung dengan konsentrasi enzim yang berbeda (12%, 14%, dan 16%) berkisar antara 0,6751-0,7996 mg/ml. Rata-rata nilai tertinggi dimiliki oleh perlakuan P₂ dengan konsentrasi enzim 14%.

Kadar protein meningkat seiring bertambahnya konsentrasi enzim papain yang ditambahkan, hal ini ditunjukkan pada hidrolisat ikan kembung tanpa enzim/konsentrasi enzim 0% (P₀) yang memiliki nilai rata-rata kadar protein terendah sebesar 0,6751 mg/ml, lalu meningkat sebesar 0,0918 mg/ml pada konsentrasi enzim 12% (P₁) yang memiliki nilai rata-rata kadar protein sebesar 0,7669 mg/ml, dan meningkat lagi sebesar 0,0327 mg/ml pada konsentrasi enzim 14% (P₂) yang memiliki nilai rata-rata kadar protein sebesar 0,7996 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi enzim, maka kecepatan reaksi hidrolisis semakin meningkat. Namun, pada batas tertentu, penambahan enzim yang berlebihan akan berakibat pada jumlah hidrolisat yang konstan karena penambahan enzim sudah tidak aktif lagi yang menyebabkan daya kerja enzim untuk mengkatalis menjadi lebih lama dan tentunya akan menyebabkan hasil katalisa yang lebih banyak yang bergantung pada konsentrasi substrat yang ada (Iskandar dan Widyasrini, 2009). Hal ini ditunjukkan adanya penurunan kadar protein sebesar 0,0131 mg/ml saat penambahan

konsentrasi enzim sebesar 16% (P₃) yang memiliki nilai rata-rata kadar protein sebesar 0,7865 mg/ml.

Berdasarkan pada pembahasan di atas, maka dapat disimpulkan bahwa konsentrasi enzim 14% (P₂) merupakan konsentrasi enzim yang

optimal dalam pembuatan hidrolisat protein ikan kembung dengan metode Bradford. Dimana P₂ merupakan perlakuan yang memiliki nilai rata-rata kadar protein tertinggi.

Analisis Kadar Non Protein Nitrogen (NPN)

Hasil penelitian terhadap kadar NPN hidrolisat protein ikan kembung dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Nilai Kadar Non Protein Nitrogen Hidrolisat Protein Ikan Kembung

Perlakuan	U1 (mg/ml)	U2 (mg/ml)	U3 (mg/ml)	Rata-rata (mg/ml)
P ₀	5,4324	5,1978	5,0690	5,2331±0,1842 ^a
P ₁	5,9072	5,5885	5,6120	5,7025±0,1776 ^b
P ₂	7,9873	6,9197	6,8909	7,2659±0,6248 ^d
P ₃	6,4440	5,6465	5,8754	5,9886±0,4106 ^c

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 (Lampiran 5), menunjukkan bahwa adanya perbedaan nilai kadar NPN hidrolisat ikan kembung pada setiap perlakuan konsentrasi enzim yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi enzim berpengaruh nyata terhadap nilai kadar Non Protein Nitrogen (NPN), dimana F_{hitung} (14,5396) > F_{tabel} (4,07) pada tingkat kepercayaan 95% maka H_0 ditolak. Sehingga dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ). Hasil uji Beda Nyata Jujur (BNJ) (Lampiran 5) menunjukkan bahwa nilai kadar non protein nitrogen hidrolisat ikan kembung berbeda nyata, dimana perlakuan tanpa konsentrasi enzim P₀ (0%) berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi enzim P₁ (12%), berbeda nyata dengan perlakuan

konsentrasi enzim P₂ (14%), dan berbeda nyata dengan perlakuan konsentrasi enzim P₃ (16%) pada tingkat kepercayaan 95%. Nilai NPN terbesar berada pada perlakuan P₂ yaitu 7,9873 mg/ml, sedangkan nilai terkecil berada pada perlakuan P₀ yaitu 5,6090 mg/ml.

Berdasarkan tabel 6, terlihat bahwa rata-rata kadar Non Protein Nitrogen pada hidrolisat protein ikan kembung yang terbaik yaitu pada konsentrasi enzim 14% (P₂) dengan rata-rata nilai kadar Non Protein Nitrogen 7,2659 mg/ml. Non protein nitrogen yaitu untuk mengetahui unsur-unsur nitrogen yang bukan berasal dari protein. Menurut Haslaniza (2010), penambahan konsentrasi enzim yang semakin

meningkat dalam proses hidrolisis, menyebabkan terjadinya peningkatan kandungan nitrogen terlarut dalam hidrolisat protein ikan. Namun, apabila melebihi konsentrasi optimal, maka akan terbentuk inhibitor atau zat yang memperlambat reaksi kimia yang dihasilkan sehingga kadar NPN yang dihasilkan juga akan semakin kecil.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi enzim papain yang berbeda berpengaruh nyata pada tingkat kepercayaan 95% dimana nilai F_{hitung} (16,6009) > F_{tabel} (4,07). Nilai kadar protein terlarut yang dihasilkan oleh masing-masing tingkat konsentrasi adalah P_0 (0%) sebesar 0,6751 mg/ml, P_1 (12%) sebesar 0,7669 mg/ml, P_2 (14%) sebesar 0,7996 mg/ml, dan P_3 (16%) sebesar 0,7865 mg/ml. Hal ini menunjukkan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi enzim, maka kecepatan reaksi hidrolisis semakin meningkat. Analisis Non Protein Nitrogen menunjukkan bahwa konsentrasi enzim papain yang berbeda berpengaruh nyata pada tingkat kepercayaan 95% dimana nilai F_{hitung} (14,5396) > F_{tabel} (4,07) pada tingkat kepercayaan 95%. Tingkat konsentrasi enzim yang optimal ditunjukkan oleh tingkat P_2 (14%) dimana menghasilkan nilai kadar protein terlarut tertinggi sebesar 0,7996 mg/ml dan nilai rata-rata NPN sebesar 7,2659 mg/ml.

Saran

Saran dari penelitian ini yang dapat diberikan adalah perlu dilakukan

penelitian lainnya dengan menggunakan parameter lain dalam membuat hidrolisat yang optimal seperti pH, suhu, lama waktu hidrolisis yang berbeda.

Daftar Pustaka

- A., Karti, *et al*, 2008. *Pemanfaatan Ikan Mijair dalam Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan dengan Menggunakan Crude Bromelin*, Neptunus, Vol. 14 No. 2, 143-151
- Andarwulan, N., Kusnandar, F., Hermawati, D, 2011. *Analisis Pangan*, Dian Rakyat, Jakarta
- Association of Official Analytical Chemist [AOAC]. 2005. *Official Methods of Analysis* (18 Edn). Association of Official Analytical Chemist Inc. Mayland. USA.
- Bradford, MM., 1976. *A Rapid and Sensitive Method for Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-dye Binding*, *Analytical Biochemistry* 72, 248-254
- Dias, M.G., M.V. Sanchez, H. Bartolo, L. Oliveira. 2003. *Vitamin content of fish and fish products consumed in portugal*. *EEAFChE*, 2(4): 510-513.
- Hasnaliza, H.Maskat,M. Y.Wan,A. W. M.Mamot,S. 2010. *The effect ofenzyme concentration, temperatureand incubation time*

- on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (Anadara granosa) meat wash water. International Food Research Journal* 17:147-152.
- Iskandar Taufik dan Widyasrini Arena Desi, 2009. *Pengaruh Enzim Bromelin dan Waktu Inkubasi Pada Proses Hidrolisis Ikan Lemuru Menjadi Kecap*, Buana Sains, Vol 9 No.2, 183-189
- Karnila R., 2012. *Daya Hipoglikemik, Konsentrat dan Isolat Protein Teripang Pasir (Holothuria scabra) pada Tikus Percobaan*, Thesis, Institut Teknologi Bandung
- Kristinsson HG, Rasco BA., 2000. *Biochemical and Functional Properties of Atlantic salmon (Salmo salar) Muscle Proteins Hydrolyzed with Various Alkaline Proteases*, Journal of Agrifood Chemistry 48, 657–666
- Kuncoro, Eko Budi dan F., E., Ardi Wiharto, 2009. *Ensiklopedia Populer Ikan Air Laut*, Yogyakarta, Penerbit ANDI
- Loekman S., dan Bukhari, D., 1994. *Penuntun Praktikum Analisis Kimia*, Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Universitas Riau, Pekanbaru
- Marfuah Nurul, 2017. *Ikan Kembung Lebih Unggul Daripada Ikan Salmon*, Media Berbagai Solusi, Solutif.com
- Purwaningsih, S., Salamah, E., dan Sari, T., Y., 2012. *Kandungan Gizi Keong Ipong-ipong (Fasciolaria salmo) Akibat Metode Pengolahan*, JPHPI, Vol 15 No. 2, 101-109
- Purwaningsih, S., et al, 2013. *Profil Protein dan Asam Amino Keong Ipong-Ipong (Fasciolaria salmo) Pada Pengolahan yang Berbeda*, Jurnal Gizi dan Pangan, Vol 8 No. 1, 77-82
- Stansby ME. 1982. Properties of fish oils and their application to handling of fish and to nutritional and industrial use. Di dalam: Martin RE (ed.). *Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products*. Westport Connecticut : The AVI Publishing Company