

## KARAKTER TEPUNG HIDROLISAT PROTEIN IKAN GALAMA (*Pterotolithus*) HASIL HIDROLISIS ENZIMATIS MENGGUNAKAN ACID PROTEASE POWDER (SQZYME PSP-F)

Mujiyanto<sup>1)</sup>, Marina Revitriani<sup>1)</sup>, Yuli Witono<sup>2)</sup>, Jayus<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Program Studi Teknologi Industri Pertanian, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

<sup>2)</sup> Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Jember

[titian354@gmail.com](mailto:titian354@gmail.com)

### ABSTRACT

*Tujuan utama penelitian ini adalah mengetahui hubungan linieritas antara Produk Maillard dengan Kadar Protein Terlarut, Warna dan Derajat Ketengikan serta karakter tepung hidrolisat protein Ikan Galama (*Pterotolithus*) hasil hidrolisis enzimatis acid protease powder (SQzyme PSP-F). Penelitian dirancang dalam Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 2 (dua) faktor, Acid Protease Powder sebagai faktor pertama dengan 3 (tiga) level masing-masing sebesar 15.000 unit, 30.000 unit dan 45.000 unit, dan Lama Hidrolisis sebagai faktor kedua dengan 3 (tiga) level masing-masing 60 menit, 90 menit dan 120 menit, diulang 3 (tiga) kali ulangan. Konsentrasi Acid Protease Powder dan Lama Hidrolisis berpengaruh tidak nyata terhadap parameter Rendemen Tepung, terdapat hubungan asosiasi linier antara Produk Maillard dengan Kadar Protein Terlarut, Warna (L, a dan b) dan Tingkat Ketengikan yang dirumuskan dalam persamaan  $Y = -2.838 + 0.073 X_1 + 0.872 X_2 - 1.326 X_3 + 0.111 X_4 + 0.593 X_5 - 0.247 X_6$  dimana ( $Y =$  Produk Maillard,  $X_1 =$  Rendemen tepung,  $X_2 =$  Derajat Ketengikan,  $X_3 =$  Kadar Protein terlarut,  $X_4 =$  Warna L,  $X_5 =$  Warna a\* dan  $X_6 =$  Warna b\*)*

**Kata Kunci:** *Asosiasi Linier, Tepung Hidrolisat Protein, Ikan Galama (*Pterotolithus*), Acid Protease Powder, dan Produk Maillard*

### PENDAHULUAN

*Food additive* yang berbasis protein dan flavor bagi kebanyakan Industri pangan di Indonesia masih impor dan harganya juga relatif mahal. Padahal Indonesia sangat kaya akan sumber-sumber pangan maupun food ingredient yang jika dikelola secara tepat akan menghasilkan produk yang tidak kalah dengan kualitas food ingredient impor, bahkan beberapa komponen tersebut bersifat multifungsional.

Teknologi produksi flavor enhancer dapat dikembangkan melalui teknik hidrolisis. Dengan menggunakan teknik hidrolisis ini, akan dihasilkan senyawa asam amino L, nukleotida dan berbagai ragam peptida. Produk hidrolisis ini dapat menjadi sumber dari bahan-bahan pembangkit *umami* (rasa gurih) dan juga sebagai sumber cita rasa makanan (Maga, 1998).

Proses hidrolisis dapat dilakukan secara kimiawi maupun enzimatis. Proses hidrolisis kimiawi, yaitu dengan penambahan asam klorida dapat memperpendek waktu, mempermudah dan mengurangi biaya pembuatan. Namun demikian dengan teknik ini, flavor yang dihasilkan kurang baik dan keamanan bagi kesehatan kurang terjamin (Anonim, 2000), teknik hidrolisis secara

kimiawi akhir-akhir ini mulai dihindari oleh kebanyakan industri food ingredient di Indonesia. Hidrolisis secara enzimatis merupakan pilihan metode paling aman dalam produksi savory flavor.

Alternatif hidrolisis secara enzimatis lebih menguntungkan dibanding secara kimiawi, karena hidrolisis secara enzimatis menghasilkan asam-asam amino bebas dan peptida dengan rantai pendek yang bervariasi. Hal ini akan lebih menguntungkan karena memungkinkan untuk memproduksi hidrolisat dengan flavor yang berbeda. Produk tersebut diharapkan dapat digunakan pada produk industri seperti penggunaan emulsi pada produk-produk daging, mi instant, soup, saus atau makanan ringan.

## METODOLOGI

### BAHAN DAN ALAT

Bahan baku utama yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Ikan Galama yang dibeli dari Tempat Pelelangan Ikan Lanudal Juanda di desa Banjar Kemuning, Kecamatan Sedati, kabupaten Sidoarjo, dengan harga beli sebesar Rp 7.000,- /kg, Enzim protease yang dipilih adalah *Acid Protease Powder (SQZYME PSP-F)* yang diproduksi oleh Suntaq International Limited Shenzhen China, produksi tanggal 14 Februari 2014.

Alat-lat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Vacuum oven (Lab-Line duo vac oven), Colour reader (Minolta 100 CR-10), Orbital water bath shaker (Unitronic-OR, Selecta), Spectrofotometer (Prim Secomam, Jerman), Spectrometer (Geaesy 10 UV Scanning, US), Oven (Selecta), Muffle (Nobetherm), Refrigerator, pH meter (Jenway), Orbital mixer, Homogenizer (Armfield FT-9), Vortex mixers (IKA), Rheometer (Rheo tex), Tray drier (Armfield), Mixer (National), Hydraulic press (model #3912-Carver) pemanas listrik (Gerhardt), penangas air (Cimerec 2), Soxhlet extractor (Tecator 1045-1046) dan Kjeltex apparatus (Tecator 1026)

### METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak kelompok (RAK), dengan 2 (dua) faktor dan 3 (tiga) ulangan *acid protease powder* sebagai faktor pertama dengan 3 (tiga) level masing-masing sebesar 15.000 unit, 30.000 unit dan 45.000 unit, dan lama hidrolisis sebagai faktor kedua dengan 3 (tiga) level masing-masing 60 menit, 90 menit dan 120 menit.

#### Penentuan Warna (*Colour Reader*; Subagio dan Morita, 1997)

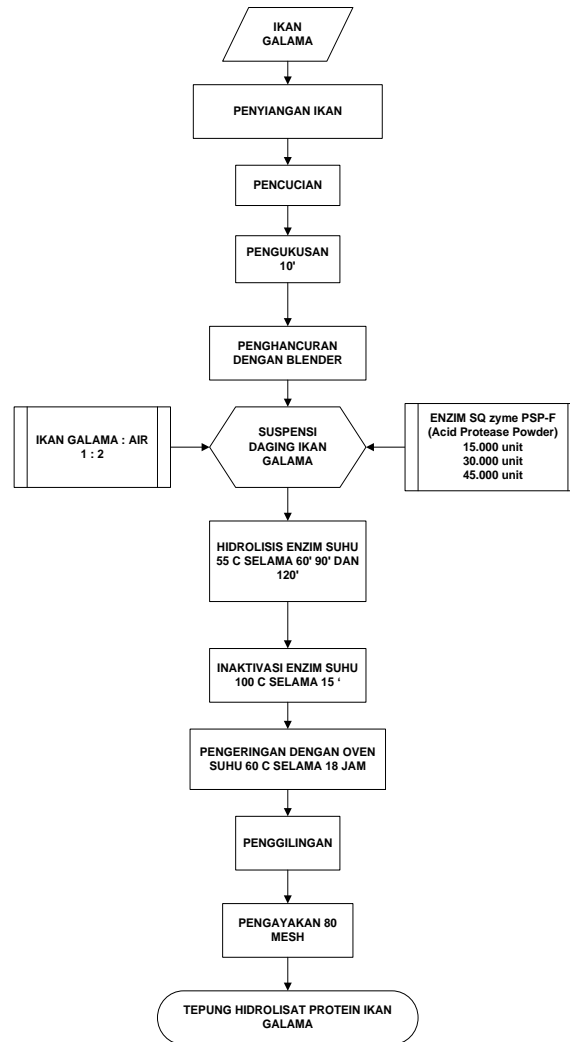
Penentuan warna dilakukan menggunakan sistem  $L^*a^*b^*$  (*CIE Lab. color scale*) dengan menggunakan *Color Reader CR-100* (Minolta, Jepang), dengan minimal tiga kali ulangan tiap sampel. Sebelum digunakan alat ini dikalibrasi dengan menggunakan standar Barium Chloride yang mempunyai nilai  $L^* = 100$ ,  $a^* = 0$  dan  $b^* = 0$ .

#### Kadar Protein Terlarut (Metode Lowry; Waterborg dan Matthews, 1995)

Mengambil 0.001 gram kemudian dilakukan hidrolisis protein untuk mendapatkan protein terlarut menggunakan 0.1 ml NaOH 2N 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. kemudian dibaca absorbannya dengan spektrometer pada  $\lambda$  750 nm. Data absorbansi diplotkan pada kurva standar BSA untuk dihitung kadar proteinnya.

**Penentuan Tingkat Ketengikan (Henick *et al.* dalam Annonim, 2000)**

Tingkat ketengikan bahan dianalisa menggunakan *2-thiobarbituric acid* (TBA). Sebelum penentuan ketengikan dilaksanakan terlebih dahulu dibuat reagen TBA sebagai berikut: 15 gram *trichloroacetic acid* dilarutkan dengan aquadest sambil diaduk atau distirer kemudian ditambahkan 0,375 gram TBA dan 25 ml HCl 37%. Selanjutnya ditera hingga 100 ml dengan aquades. Penentuan ketengikan dilakukan dengan cara 0.1 gram sampel dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 ml reagen TBA. Kemudian dipanaskan dalam air mendidih selama  $\pm 15$  menit. Setelah dingin ditambahkan 1 ml isobutanol dan ditera volumenya menjadi 5 ml dengan etanol. Setelah divortek dan disentrifus pada 5000 rpm selama 5 menit, supernatan ditera pada panjang gelombang 535 nm menggunakan spectronic 21D Milton Roy, sedangkan blangko dibuat dengan cara yang sama tetapi tanpa sampel. Nilai TBA yang dinyatakan dengan banyaknya malonaldehyde (MDA) pada bahan dihitung berdasarkan *molar extinction coefficient*  $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .



**Gambar 1. Flowchart Proses Pembuatan Tepung Hidrolisat Protein Ikan Galama**

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

Sampel sebanyak 1 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)

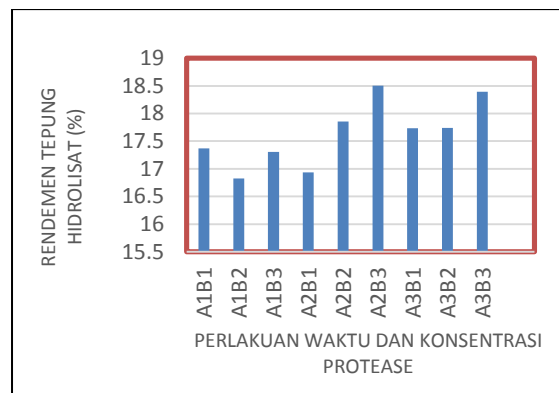
### Prosedur Pembuatan Tepung Hidrolisat Protein Ikan Galama

Alur proses pembuatan tepung hidrolisat protein Ikan Galama dapat dilihat pada gambar 1 di atas. Ikan Galama sebagai bahan baku dibeli dari Tempat Pelelangan Ikan Lanudal Juanda di Desa Banjar Kemuning, Kecamatan Sedati, Kabupaten Sidoarjo dengan harga sebesar Rp 7.000,- per kilogram. Ikan Galama yang sudah difilet selanjutnya dipanaskan dengan uap air selama 10 menit selanjutnya dihancurkan dengan blender setelah membentuk suspensi ikan selanjutnya di treatmen sesuai perlakuan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Rendemen Tepung Hidrolisat Protein Ikan Galama

Berdasarkan hasil analisis varian terhadap rendemen tepung hidrolisat protein ikan menunjukkan tidak berbeda nyata pada sumber keragaman perlakuan yaitu konsentrasi *Acid Protease Powder*, lama hidrolisis dan interaksi antara konsentrasi *Acid Protease Powder* dan lama hidrolisis. Berpengaruh sangat nyata pada sumber keragaman ulangan dan kelompok (blok), hal ini disebabkan karena hidrolisis enzimatis baik lama waktu hidrolisis maupun konsentrasi enzim serta interaksi kedua faktor tersebut tidak menyebabkan perubahan neraca bahan (*material balance*) baik sebelum reaksi maupun sesudah reaksi hidrolisis. Hidrolisis enzimatis mengakibatkan perubahan panjang rantai ikatan protein. Panjang rantai ikatan protein menjadi lebih pendek dibanding sebelum hidrolisis enzimatis.



Gambar 2. Pengaruh Lama Inkubasi (B) dan Konsentrasi Enzim (A) Terhadap Parameter Rendemen Tepung.

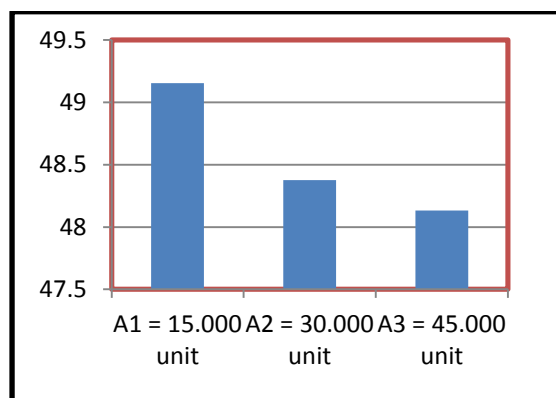
### Protein Terlarut Tepung Hidrolisat Protein Ikan Galama

Protein terlarut yang dianalisa dalam pengamatan ini setara dengan, albumin (*conalbumin*, *lactalbumins* dan *ovalbumins*) yang sudah mengalami koagulasi pada saat perlakuan awal (*pretreatment*) menggunakan uap air pada suhu antara 55°C sampai 75°C. Albumin yang

terkoagulasi derajat kecerahan warnanya meningkat sebanding dengan meningkatnya konsentrasi protein terlarut. Hubungan korelasi antara produk maillard dengan protein terlarut sebesar (-0.303), hasil pengujian terhadap koefisien korelasi menunjukkan berbeda nyata. Berdasarkan persamaan regresi antara produk maillard sebagai variabel tetap dan Protein terlarut sebagai variabel tidak tetap, protein terlarut memberi pengaruh langsung yang paling besar ( $-1.326$ ), artinya semakin besar protein yang terlarut maka nilai produk maillard nya semakin rendah. Reaksi maillard dipengaruhi oleh jenis gula. Pada glukosa, semakin lama sampel dipanaskan maka akan semakin tinggi absorbansinya dan semakin pekat warna coklatnya. Sedangkan pada sukrosa tidak terjadi perubahan. Hal ini dikarenakan glukosa adalah gula pereduksi. Semakin tinggi pH maka reaksi maillard akan semakin intensif, karena reaksi maillard optimum pada kondisi basa. Reaksi hidrolisis ini berlangsung pada pH 5.5.

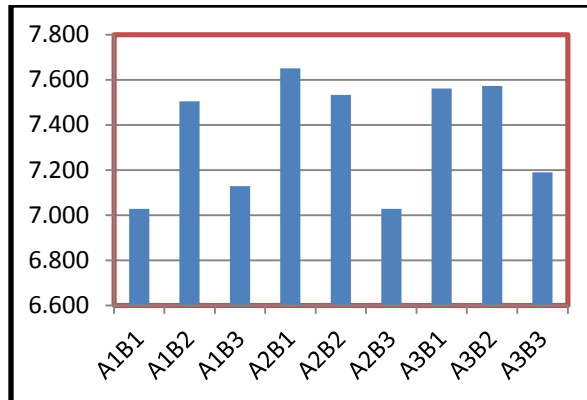
### Warna Tepung Hidrolisat Protein Ikan Galama

Warna L adalah koordinat derajat terang ( $L=0$  hitam dan  $L=100$  putih), warna L berkorelasi dengan produk maillard dengan nilai korelasi sebesar (-0.205), hasil pengamatan warna L menunjukkan bahwa produk maillard bertambah maka derajat warna L semakin gelap. Hasil perhitungan regresi linier antara produk maillard sebagai variabel tetap dan warna L sebagai variabel tidak tetap diperoleh slope sebesar 0.111 yang artinya warna L hanya memberi pengaruh sebesar 11.1% saja terhadap produk maillard. Semakin besar konsentrasi enzim 15.000 unit (warna L= 49.154) , 30.000 unit (warna L= 48.376) dan 45.000 unit (warna L = 48.131), warnanya semakin gelap. Hasil uji beda rata-rata metode Tukey HSD menunjukkan bahwa antara konsentrasi enzim sebesar 15.000 unit (warna L= 49.154) berbeda nyata dengan konsentrasi enzim sebesar 45.000 unit (warna L = 48.131) sedang konsentrasi enzim sebesar 15.000 unit (warna L= 49.154) dan konsentrasi enzim 30.000 unit (warna L= 48.376) menunjukkan tidak berbeda nyata.



Gambar 3. Pengaruh Konsentrasi Enzim (A) Terhadap Derajat Warna L

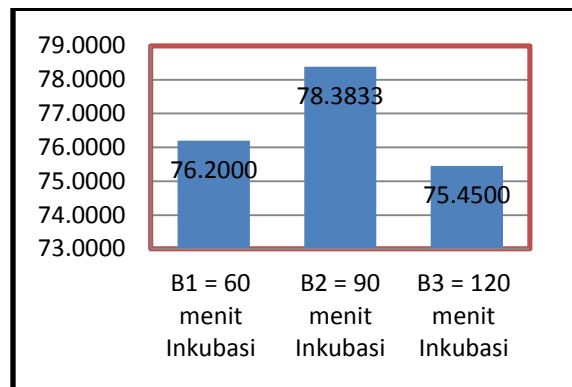
Warna  $a^*$  tepung hidrolisat protein ikan Galama adalah mewakili warna merah dan hijau, karena bernilai positif maka warna tepung hidrolisat protein ikan mendekati ke warna hijau kemerahan.



Gambar 4. Pengaruh Interaksi Konsentrasi Enzim (A) dan lama Inkubasi (B) terhadap Parameter Warna a\*

Warna b\* menyatakan kecenderungan warna biru-kuning dengan kisaran -100 sampai +100. Nilai (-) menyatakan kecenderungan warna biru sedangkan nilai (+) menyatakan kecenderungan warna kuning.

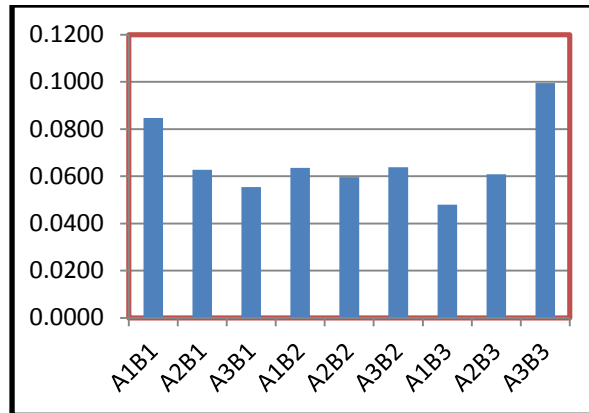
Nilai Warna b\* Paling tinggi 78.3833 berada pada sampel dengan waktu hidrolisis 60 menit, sedangkan nilai terendah 75.4500 pada sampel dengan waktu hidrolisis 120 menit. Nilai ini menunjukkan warna kuning dengan intensitas yang rendah. Peningkatan warna b\* dipengaruhi oleh reaksi maillard, semakin banyak produk maillard yang dihasilkan maka warna kuning b\* akan semakin meningkat. Villota et al. (1996), variasi pH dalam proses pembuatan pasta sayur nilai warna b\* berkisar antara 19.57 – 30.97.



Gambar 5. Pengaruh lama Inkubasi (B) terhadap parameter Warna b\*

**Tingkat Ketengikan Tepung Hidrolisat Protein Ikan Galama**

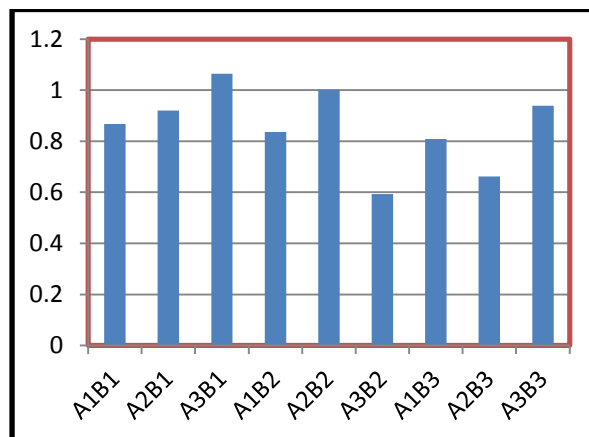
Tingkat ketengikan ditunjukkan oleh nilai TBA seperti pada Gambar 6, Tingkat ketengikan tepung hidrolisat protein ikan Galama disebabkan oleh selubung lemak yang terekstrak dari sampel pada saat proses hidrolisis sehingga dapat menimbulkan oksidasi.



Gambar 6. Pengaruh Interaksi Lama Inkubasi (B) dan Konsentarsi Enzim (A) terhadap Parameter Tingkat Ketengikan

**Produk Maillard Tepung Hidrolisat Protein Ikan Galama**

Nilai intensitas maillard hidrolisat tepung hidrolisat protein Ikan Galama dengan berbagai interaksi lama hidrolisis dan konsentrasi enzim seperti pada Gambar 7



Gambar 7. Pengaruh Interaksi Lama Inkubasi (B) dan Konsentarsi Enzim (A) terhadap Parameter Produk Maillard

Produk Maillard pada tepung hidrolisat protein Ikan Galama berkorelasi negatip dengan protein terlarut, semakin tinggi produk maillard, protein terlarutnya semakin rendah, karena sifat fisik dan kimia protein terlarut pada ikan mendekati sifat fisik dan kimia albumin, dimana pada suhu 55-75 mengalami koagulasi dengan warna putih jernih.

**Hubungan Asosiatif Produk Maillard dengan Protein Terlarut, Warna dan Derajad Ketengikan**

Terdapat hubungan asosiatif linier antara Produk Maillard dengan Protein Terlarut, Warna dan Derajad Ketengikan yang digambarkan dalam persamaan

$$Y = -2.838 + 0.073 X_1 + 0.872 X_2 - 1.326 X_3 + 0.111 X_4 + 0.593 X_5 - 0.247 X_6 \dots\dots\dots(1)$$

Dimana : Y = Produk Maillard,  $X_1$  = Rendemen tepung,  $X_2$  = Derajat Ketengikan,  $X_3$  = Kadar Protein terlarut,  $X_4$  = Warna L,  $X_5$  = Warna a\* dan  $X_6$  = Warna b\*

Dari persamaan tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa Produk Maillard tepung hidrolisat protein Ikan Galama sangat dipengaruhi oleh perlakuan awal (pre treatment), perlakuan awal yang dimaksud adalah pemanasan pada suhu 55 – 75 C yang menyebabkan koagulasi protein terlarut sehingga memberi nilai koefisien persamaan menjadi negatif (-2.838)

### KESIMPULAN

1. Tepung hidrolisat protein Ikan galama yang dihidrolisis dengan enzim acid protease powder (SQZYME PSP-F) mempunyai karakteristik Produk Maillard  $0.854494 \pm 0.1522$ , Rendemen  $17.629 \pm 0.5826$ , Derajat Ketengikan  $0.066444 \pm 0.0158$ , Protein Terlarut  $0.833309 \pm 0.0869$ , Warna L  $48.553 \pm 0.6598$ , Warna a\*  $7.3548 \pm 0.2559$ , Warna b\*  $25.522 \pm 0.5215$ .
2. Hubungan asosiatif Produk Maillard sangat dipengaruhi secara langsung oleh protein terlarut (-1.326), derajat ketengikan (0.872) dan warna a\* (0.593).

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Ditlitabmas Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi Kementrian Pendidikan dan Kebudayaan atas bantuan dana Hibah Pekerti Tahun Anggaran 2014

### DAFTAR PUSTAKA

- AOAC (1995): *Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist*. 14<sup>th</sup> ed. AOAC. Inc. Arlington. Virginia.
- Arpah, M., Syarief, R. dan Daulay, S. (2002): Penerapan Uji DUC (*Days Until Caking*) dalam Penerapan Waktu Kedaluarsa Tepung. *J. Teknologi & Industri Pangan*. 13(3), 217-223.
- Bailey, M. E., (1998): *Maillard Reactions and Meat Flavour Development*, In Shahidi, F. ed. "Flavor of Meat, Meat Products and Seafoods", Blackie Academic & Professional, London, pp: 267-289.
- Choudury, G.S. and Gogoi, B.K. (1996): Protease Inactivation in Fish Muscle by High Moisture Twin Screw Extrusion. *J. Food Sci.*, 61 (6), 1219-1222.
- Daley, L. H., and J. C. Deng (1998): *Determinity The Optimal Ranges of Minced Mulled Sasusages*, Reinhold Pubh. Corp., Tokyo.
- Esaki, H., Onosaki, H., Kawasaki, S. and Oeawa, T. (1996): New Antioxidant Isolated From Tempeh, *J. Agric. Food Chem.*, 44: 696-700.