MEMPELAJARI HIDROLISA ENZIM PAPAIN DAN FERMENTASI OLEH *Lactobacillus plantarum* IKAN LAYANG (*Decapterus ruselli*) TERHADAP PROTEIN DAN ASAM AMINO HIDROLISATNYA

Oleh

LISNA AHMAD
G 611 95 031



2 Maret 2001
Fak. pertanian
Hadiah
0102020559.
No. Klas 4238

FAKULTAS PERTANIAN DAN KEHUTANAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR

2000

Judul	:	**MEMPELAJARI HIDROLISA ENZIM PAPAIN DAN FERMENTASI *Lactobacillus plantarum* IKAN LAYANG *(Decapterus ruselli)* TERHADAP PROTEIN DAN ASAM AMINO HIDROLISATNYA**
Nama	:	**LISNA AHMAD**
NIM	:	**G 611 95 031**
Program Studi	:	**TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**
Jurusan	:	**TEKNOLOGI PERTANIAN**

Disetujui :

1. Tim Pembimbing

DR.Ir. MARIYATI BILANG, DEA
Pembimbing I

DR.Ir. META MAHENDRADATTA
Pembimbing II

2. Ketua Panitia Ujian Sarjana
Jurusan Teknologi Pertanian

Ir. AMRULLAH BOSTAN
Nip : 130 288 847

3. Ketua Jurusan
Teknologi Pertanian

DR.Ir. MURSALIM
Nip : 131 657 135

Tanggal Ujian : 12 Februari 2001

LISNA AHMAD (G 611 95 031). Mempelajari Hidrolisa Enzim Papain dan Fermentasi *Lactobacillus Plantarum* Ikan Layang (*Decapterus ruselli*) Terhadap Protein dan Asam Amino Hidrolisatnya Dibawah Bimbingan **DR.Ir.MARIYATI BILANG, DEA** dan **DR.Ir. META MAHENDRADATTA**

RINGKASAN

Protein dalam daging ikan mengandung asam-asam amino esensial yang lengkap, banyaknya senyawa asam amino dalam protein tersebut dapat diketahui dengan cara hidrolisis. Untuk menghidrolisa protein tersebut biasa digunakan enzim protease dan mikroba yang bersifat proteolitik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perlakuan hidrolisa ikan layang *(Decapterus ruselli)* oleh enzim papain dan fermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* terhadap kelarutan protein dan asam aminonya.

Perlakuan yang diterapkan dalam penelitian ini ada 2 yaitu hidrolisa ikan layang *(Decapterus ruselli)* oleh enzim papain dengan perbandingan konsentrasi substrat (ikan : air) 1 : 3 dan 1 : 4 dengan waktu hidrolisa selama 30 jam dan interval waktu pengamatan setiap 30 menit, kemudian fermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* dengan perbandingan konsentrasi 1 : 3, 1 : 4 dan 1 : 5 dan waktu fermentasi 0 hari, sampai dengan 5 hari. Parameter yang diamati adalah jumlah protein dan asam amino bebas yang terlarut, berat kering endapan, berat kering filtrat dan pH.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa secara umum konsentrasi substrat dan waktu hidrolisa / fermentasi berpengaruh nyata terhadap hasil hidrolisa. Jumlah protein dan asam amino bebas hasil hidrolisa enzim yang tertinggi terdapat pada konsentrasi substrat 1 : 4, sedangkan untuk jumlah protein terlarut hasil fermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* yang tertinggi diperoleh pada konsentrasi substrat 1 : 3 dengan waktu fermentasi 2 hari. Sedangkan asam amino bebas terlarut hasil tertinggi yang diperoleh pada konsentrasi substrat 1 : 4 dan terendah pada konsentrasi substrat 1 : 3. Berat kering endapan hasil hidrolisa tertinggi terdapat pada konsentrasi substrat 1 : 3 dan untuk berat kering endapan hasil fermentasi tertinggi pada konsentrasi substrat 1 : 5. Hasil tertinggi yang diperoleh untuk berat kering filtrat hasil hidrolisa terdapat pada konsentrasi subsrat 1 : 4 dan untuk hasil fermentasi tertinggi diperoleh pada konsentrasi substrat 1 : 3. pH meningkat dengan bertambahnya waktu hidrolisa baik yang dihidrolisa oleh enzim papain maupun difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum*.

"Tidak semua impian bisa menjadi kenyataan,
Dan tak ada impian yang bisa terwujud
tanpa usaha dan do'a"

Kupersembahkan kepada :

- *Papa Yunus Ahmad (Alm) dan Mama Salma Nusi yang tersayang atas segala do'a dan nasihat yang diberikan dengan tulus dan penuh kasih sayang*
- *Kakak-kakakku tersayang : Yusna, Maspa, Nunu, Mulhia dan adikku Vivin atas segala pengorbanan dan motivasi yang diberikan*

RIWAYAT HIDUP

LISNA AHMAD dilahirkan di Gorontalo Kecamatan Tapa Kabupaten Gorontalo Propinsi Gorontalo, pada tanggal 29 Desember 1977 dari Bapak Yunus Ahmad dan Ibu Salma Nusi.

Pendidikan formal yang pernah diikuti adalah :

1. Masuk Sekolah Dasar (SD) Negeri Inpres Bulotalangi, Kecamatan Tapa Kabupaten Gorontalo pada tahun 1983 dan tamat pada tahun 1989.
2. Masuk Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri Tapa, Kecamatan Tapa Kabupaten Gorontalo pada tahun 1989 dan tamat pada tahun 1992.
3. Masuk Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 3 Gorontalo, Kecamatan Tapa Kabupaten Tapa pada tahun 1992 dan tamat pada tahun 1995.
4. Masuk Universitas Hasanuddin Fakultas Pertanian dan Kehutanan Jurusan Teknologi Pertanian Program Studi Teknik Pertanian di Makassar melalui jalur UMPTN tahun 1995 dan tamat setelah dipertanggungjawabkannya laporan praktik lapang ini.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan Praktik Lapang (skripsi) ini, yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknologi Pertanian pada Fakultas Pertanian dan Kehutanan Universitas Hasanuddin.

Dalam menyelesaikan laporan Praktik Lapang (skripsi) penulis telah banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu pada kesempatan ini penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. DR.Ir. Mariyati Bilang, DEA dan DR.Ir. Meta Mahendradatta sebagai Dosen Pembimbing yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama pelaksanaan penelitian hingga penyelesaian laporan ini.
2. Staf dosen dan karyawan Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas pertanian dan Kehutanan Universitas Hasanuddin.
3. Rekan-rekan angkatan '95 (Febby, Mila, Neni, Yanti, Mitos, Unank, Adi, Ros, Rully) yang telah membantu selama penelitian dan penyelesaian laporan ini.

Akhir kata semoga laporan ini dapat menjadi sumber yang bermanfaat bagi pihak yang memerlukannya.

Makassar, Februari 2001

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

DAFTAR TABEL vii

DAFTAR GAMBAR viii

DAFTRA LAMPIRAN ix

I. PENDAHULUAN

A. Pendahuluan 1
B. Tujuan dan Kegunaan 3

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Ikan Layang (*Decapterus ruselli*) 4
B. Komposisi Kimiawi Daging Ikan 5
C. Protein Ikan 8
D. Asam Amino Ikan 10
E. Proses Hidrolisa Oleh Enzim 12
F. Proses Hidrolisa Melalui Fermentasi 15

III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Tempat dan Waktu 17
B. Alat dan Bahan 17
C. Metode Penelitian 17
D. Perlakuan 20
E. Parameter Pengamatan 21
F. Analisa Data 24

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Protein Terlarut Hasil Hidrolisa Enzim Papain 25
B. Asam Amino Terlarut 29
C. Berat Kering Endapan 34
D. Berat Kering Filtrat 38
E. pH 40

V. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan 43

DAFTAR PUSTAKA 45

DAFTAR TABEL

No	Judul	Halaman
1.	Komposisi Kimia Daging Ikan	6
2.	Kadar Beberapa Vitamin Pada Daging Ikan	6
3.	Komposisi Kimia Daging Ikan Layang per 100 gram Daging Ikan Segar	7
4.	Kandungan Mineral dan Vitamin Ikan Layang per 100 gram Ikan Segar	7
5.	Kandungan Asam amino Dalam Protein Daging Ikan ..	11

DAFTAR GAMBAR

No	Judul	Halaman
1.	Diagram alir Prosedur Penelitian	19
2.	Protein Terlarut Respon Hasil Hidrolisa Enzim Papain ..	26
3.	Protein Terlarut Respon Hasil Fermentasi *Lactobacillus plantarum*	26
4.	Jumlah Asam Amino Hasil Hidrolisa Enzim Papain	31
5.	Jumlah Asam amino Hasil Fermentasi *Lactobacillus plantarum*	31
6.	Berat Kering Endapan Hasil Hidrolisa Enzim Papain ..	36
7.	Berat Kering Endapan Hasil Fermentasi *Lactobacillus plantarum*	36
8.	Berat Kering Filtrat Hasil Hidrolisa Enzim Papain	39
9.	Berat Kering Filtrat Hasil Fermentasi *Lactobacillus plantarum*	40
10.	pH Substrat Hasil Hidrolisa Enzim Papain	41
11.	pH Substrat Hasil Fermentasi *Lactobacillus plantarum*	41

DAFTAR LAMPIRAN

No	Judul	Halaman
1a.	Grafik Kurva Standar Asam Amino Bebas	48
1b.	Grafik Kurva Standar Protein	49
2.	Data Protein Terlarut Yang Dihidrolisa Dengan Enzim Papain	50
2a.	Analisa Sidik Ragam Protein Terlarut Yang Dihidrolisa Dengan Enzim Papain	50
2b.	Uji Lanjutan DMRT Protein Terlarut Yang Dihidrolisa Dengan Enzim Papain	51
3.	Data Protein Terlarut Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum*	51
3a.	Analisa Sidik Ragam Protein Terlarut Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum*	52
3b.	Uji Lanjutan DMRT Protein Terlarut Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum*	52
4.	Data Asam Amino Yang Dihidrolisa Dengan Enzim Papain	53
4a.	Analisa Sidik Ragam Asam Amino Yang Dihidrolisa Dengan Enzim Papain	54
5.	Data Asam Amino Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum*	55
5a.	Analisa Sidik Ragam Asam Amino Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum*	56
5b.	Uji Lanjutan DMRT Asam Amino Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum*	56

6.	Data Berat Kering Endapan Hasil Hidrolisa Dengan Enzim Papain	57
6a.	Analisa Sidik Ragam Berat Kering Endapan Hasil Hidrolisa Dengan Enzim Papain	58
6b.	Uji Lanjutan DMRT Berat Kering endapan Hasil Hidrolisa Enzim Papain	58
7.	Data Berat Kering Endapan Hasil Hidrolisa *Lactobacillus plantarum*	59
7a.	Analisa Sidik Ragam Berat Kering Endapan Hasil Hidrolisa *Lactobacillus plantarum*	60
8.	Data Berat Kering Filtrat Hasil Hidrolisa Enzim Papain ..	61
8a.	Analisa Sidik Ragam Berat Kering Filtrat Hasil Hidrolisa Dengan Enzim Papain	62
9.	Data Berat Kering Filtrat Hasil Hidrolisa *Lactobacillus plantarum*	63
9a.	Analisa Sidik Ragam Berat Kering Filtrat Hasil Hidrolisa *Lactobacillus plantarum*	64
9b.	Uji Lanjutan DMRT Berat Kering Filtrat Hasil Hidrolisa *Lactobacillus plantarum*	64
10.	Data pH Substrat Yang Dihidrolisa Dengan Enzim Papain	65
11.	Data pH Substrat Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum*	66

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Potensi hasil laut di Indonesia pada saat sekarang ini menjadi salah satu potensi yang perlu mendapat perhatian yang lebih, seperti hasil-hasil pertanian yang lainnya. Banyaknya hasil laut Indonesia khususnya untuk sektor perikanan yang diekspor keluar negeri merupakan salah satu usaha untuk meningkatkan devisa bagi negara, sehingga untuk saat sekarang ini dapat dikatakan bahwa hasil laut Indonesia khususnya perikanan sudah dikenal oleh hampir seluruh negara.

Produk hasil laut kebanyakan dijadikan sebagai bahan pangan seperti rumput laut, berbagai jenis ikan dan masih banyak potensi laut lainnya. Khusus untuk hasil laut yaitu ikan, sudah menjadi bahan pangan yang dikenal secara umum. Hal ini disebabkan karena ikan merupakan hasil perikanan yang paling banyak ditangkap dan dikonsumsi.

Ikan merupakan bahan pangan yang mempunyai kedudukan yang sangat penting untuk dikonsumsi, karena mempunyai gizi yang sangat tinggi, dimana kandungan proteinnya tersusun dari asam-asam amino esensial, yang dibutuhkan oleh manusia untuk pertumbuhannya.

Menurut Afrianto dan Liviawaty (1989), bahwa berdasarkan hasil penelitian, komposisi kimia daging ikan terdiri dari Air (60,0 – 84,0%), Protein (18,0 – 30,0%) Lemak (0,1 – 2,2%), Karbohidrat (0,0 – 1,0%) dan sisanya adalah vitamin dan mineral.

Jika dilihat dari komposisi kimia daging ikan diatas, maka dapat diketahui jika protein merupakan unsur terbesar setelah air. Protein daging ikan ini diklasifikasikan sebagai sumber protein yang mutunya sangat tinggi, sebab asam amino esensialnya lengkap, dengan komposisi yang hampir sama dengan hewan-hewan darat.

Banyaknya senyawa asam amino pembentuk protein hanya dapat diketahui jika protein tersebut mengalami perubahan struktur, seperti pemutusan ikatan peptida yang menghubungkan asam amino tersebut. Hal ini dapat dilakukan dengan cara hidrolisis.

Untuk menghidrolisa protein biasanya digunakan enzim atau mikroba. Enzim yang biasa digunakan adalah enzim proteolitik yang diisolasi dari hewan maupun tanaman, seperti papain. Sedangkan untuk mikroba biasanya adalah bakteri seperti *Lactobacillus Spp.* Protein hidrolisat ini dapat digunakan untuk beberapa hal seperti bahan pangan, pakan ternak dan juga sebagai pupuk untuk pertumbuhan mikroba (Champman and Hall, 1992).

Penelitian yang akan dilakukan adalah penelitian lanjutan dari penelitian protein hidrolisat ikan layang *(Decapterus ruselli),* tetapi di

dalam penelitian ini penekanannya pada hubungan kandungan protein dan asam amino terlarut dari hasil hidrolisatnya.

B. Tujuan dan Kegunaan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perlakuan hidrolisa ikan layang (*Decapterus ruselli*) oleh enzim papain dan fermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* terhadap kelarutan protein dan asam aminonya. Sedangkan kegunaannya diharapkan agar penelitian ini dapat berguna sebagai data dasar yang berkenaan dengan protein hidrolisat dan turunannya serta kelarutannya, sehingga dapat bermanfaat di dalam penelitian selanjutnya bila diperlukan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Ikan Layang (*Decapterus ruselli*)

Ikan layang *(Decapterus ruselli*) termasuk salah satu jenis ikan pelagis di Indonesia yang banyak dikenal oleh masyarakat. Menurut Dirjen Perikanan (1978) kebanyakan ikan layang berasal dari laut Jawa yaitu sekitar 57,60 % terutama dari laut Jawa Timur (Anonimous, 1983).

Di perairan Indonesia terdapat lima jenis ikan layang yang umum, yakni; *Decapterus ruselli, Decapterus kurroides, Decapterus lajang, Decapterus macrosoma*,dan *Decapterus maruadsi*. Dari kelima jenis ikan layang itu, hanya *Decapterus ruselli* yang mempunyai daerah sebaran yang luas di Indonesia. Oleh karena itu ikan layang dari spesies ini lebih banyak diketahui biologinya dibanding dengan jenis ikan layang lainnya.

Secara lengkap ikan layang (*Decapterus ruselli*) diklasifikasikan sebagai berikut:

Fillum	:	Chordata
Kelas	:	Pisces
Ordo	:	Percomorphi
Familia	:	Carangidae
Sub famili	:	Caranginae
Genus	:	Decapterus
Species	:	*Decapterus ruselli*

Seperti halnya hasil perikanan laut lainnya, ikan layang juga digolong-golongkan berdasarkan jenisnya, tempat atau daerah kehidupannya. Dan ikan layang termasuk dalam golongan pelagis kecil yang mempunyai ciri-ciri fisik seperti panjang 20 cm, warna punggung biru kehijauan dan pada bagian bawah perut warnanya putih keperakan (Hadiwiyoto, 1993).

B. Komposisi Kimiawi Daging Ikan

B.1 Komposisi Kimiawi Daging Ikan Secara Umum

Daging ikan selain mengandung protein, air lemak dan karbohidrat, juga mengandung sejumlah mineral yang sangat penting bagi tubuh manusia seperti : K, Cl, P, S, Mg, Ca, Fe, Mn, Zn, F, Cu dan I. Selain itu ikan juga mengandung vitamin A dan vitamin D dalam jumlah yang mencukupi kebutuhan tubuh dan sejumlah vitamin yang sangat dibutuhkan oleh tubuh manusia (Afrianto dan Liviawaty, 1989).

Menurut Hadiwiyoto (1983), daging ikan merupakan bahan biologik yang secara yang secara kimiawi sebagian besar tersusun dari unsur-unsur organik, yaitu oksigen (75%), hidrogen (10%), karbon (9,5%), dan nitrogen (2,5%). Unsur-unsur tersebut merupakan penyusun senyawa-senyawa protein, karbohidrat, lemak, vitamin, enzim dan sebagainya.

Secara lengkap komposisi kimia daging ikan itu dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 1. Komposisi kimia Daging Ikan

Komposisi	Daging Ikan (%)
Protein	15,0 – 24,0
Lemak	0,1 – 22,0
Karbohidrat	1,0 – 13,0
Elemen anorganik	0,8 – 2,0
Air	66,0 – 84,0

Sumber : Suzuki, (1981)

Ditambah lagi ada beberapa komponen vitamin yang terdapat pada daging ikan, yaitu:

Tabel 2. Kadar Beberapa Vitamin Pada Daging Ikan

Vitamin	IU / Gram
Vitamin A	50.000
Vitamin D	20 – 200.000

Sumber : Ishak *dkk.*, (1987)

Komposisi ini bervariasi untuk berbagai jenis ikan. Adanya variasi ini disebabkan oleh dua faktor yaitu faktor ekstrinsik seperti jenis makanan, musim, daerah kehidupan, dan faktor intrinsik seperti golongan ikan, umur dan jenis kelamin (Hadiwiyoto, 1993).

B.2. Komposisi Kimia Ikan Layang (*Decapterus spp*)

Kandungan atau komposisi kimia daging ikan layang seperti halnya daging ikan lainnya, secara lengkap dapat dilihat dari tabel berikut:

Tabel 3. Komposisi Kimia Daging Ikan Layang per 100 gram Daging Ikan Segar

Komposisi Kimia	Prosentase (%)
Kadar Air	74,0
Protein	22,0
Lemak	1,7
Karbohidrat	2,4

Sumber : Malla *dkk.*,(1997)

Tabel 4. Kandungan Mineral dan Vitamin Ikan Layang per 100 gram Ikan Segar

Unsur	Jumlah (mg)
Kalsium	5,0
Fosfat	150
Zat Besi	2,0
Vitamin A	0,05
Vitamin B1	150 (su)

Sumber : Anonimous, 1983

C. Protein Ikan

Protein sebagai sumber kalori juga dapat menjadi sumber gizi bila mengandung asam amino esensial yang sempurna dan cukup. Protein yang berasal dari hewan mempunyai susunan asam amino esensial yang cukup dan dalam perbandingan yang serasi, sehingga protein hewani tinggi mutunya dibanding protein nabati yang mengandung kurang satu atau lebih asam amino esensial (Sultanry dan Kaseger, 1985).

Kandungan protein ikan merupakan komposisi terbesar setelah air. Menurut Afrianto dan Liviawaty (1989), kandungan protein yang cukup tinggi ini (20%) tersusun dari sejumlah asam amino yang berpola mendekati pola kebutuhan asam amino didalam tubuh manusia.

Mutu protein ikan dari berbagai jenis ikan hampir sama untu setiap spesies. Protein ikan rata-rata mempunyai daya cerna 90 – 95 %, nilai biologis 69 – 77% PER atau "Protein Effeciency Ratio " 2,14 dan protein score 77 (Stanby and Oleott, 1983) yang dikutip Genisa (2000).

Keunggulan lain dari protein ikan menurut Syarief dan Anies (1988), ada dua yaitu, mengandung jaringan ikat yang sedikit sehingga mudah dicerna kemudian komposisi asam amino yang dikandungnya lengkap seperti lysin dan methionin.

Protein ikan itu sendiri secara umum digolongkan berdasarkan kelarutannya dalam air, berdasarkan lokasi terdapatnya, berdasarkan fungsinya, berdasarkan bentuk, berdasarkan sifat-sifat fisik dan

berdasarkan struktur tiga dimensi. Khususnya untuk protein yang digolongkan berdasarkan kelarutannya dalam air dibagi lagi menjadi beberapa bagian yaitu; Albumin (yang larut dalam air dan garam), Globulin (sedikit larut dalam air tetapi larut dalam larutan garam), Protamin (larut dalam larutan etanol 70 – 80 % tetapi tidak larut dalam air dan etanol absolut), Histon (larut dalam larutan garam) dan Skleroprotein (tidak larut dalam air dan larutan garam) (Mayes *et al.*, 1987).

Ditambahkan pula oleh Pour (1981), bahwa tingkat kelarutan protein dipengaruhi oleh ukuran molekul protein. Semakin besar ukuran molekulnya, semakin sulit molekul tersebut larut.

Ciri utama molekul protein menurut Sultanry dan Kasegar (1985), adalah :

1. Kebanyakan bukan senyawa yang amorf, tidak berwarna, tidak mempunyai titik lebur dan titik didih tertentu.
2. Berat molekulnya besar, sehingga merupakan suatu makromolekul.
3. Umumnya terdiri dari 20 macam asam amino, yang berikatan membentuk rantai polipeptida.
4. Terdapatnya ikatan kimia lain, sehingga terbentuk lengkungan rantai polipeptida menjadikan adanya struktur tiga dimensi protein.
5. Strukturnya tidak stabil terhadap beberapa faktor seperti pH, radiasi dan suhu.
6. Sangat spesifik, disebabkan gugus samping yang reaktif dan susunan khas strukur makromolekulnya.

7. Bila protein dihidrolisis, maka didahului oleh pecahnya molekul-molekul menjadi zat-zat yang sederhana (pepton). Hidrolisis yang sempurna dari protein sederhana menghasilkan campuran asam amino.

Penggunaan protein oleh tubuh didahului dengan penguraian protein menjadi asam amino. Hal ini dilakukan dengan sekresi enzim dinamakan –protease- yang menghidrolisis ikatan peptida hingga dapat melepas masing-masing asam amino (Volk and Wheleer, 1988).

D. Asam Amino Ikan

Molekul protein amat besar dan terdiri dari rantaian panjang asam-asam amino yang berikatan secara kimiawi satu molekul protein mengandung kira-kira 500 asam amino, tergabung bersama membentuk ikatan peptida. Dua asam amino yang berikatan yang sama akan membentuk dipeptida, dan ikatan peptidanya dibentuk oleh atom -CONH- (Gaman dan Sherrington, 1992).

Asam amino yang ada pada ikan kebanyakan adalah asam amino esensial, sehingga protein ikan akan dikatakan protein yang bermutu tinggi (Winarno, 1982).

Menurut Zaitsev *et al.,* (1989) yang dikutip Genisa (2000), bahwa kandungan protein ikan cukup tinggi dan komposisi asam aminonya hampir sama dengan hewan-hewan darat. Ditinjau dari asam aminonya, maka protein ikan diklasifikasikan sebagai sumber protein yang bermutu

tinggi, sebab mengandung asam amino esensial yang lengkap. Untuk lebih lengkapnya kandungan asam amino yang terdapat pada ikan dapat dilihat pada tabel di bawah :

Tabel 5. Kandungan Asam Amino Dalam Protein Daging Ikan

Asam Amino	Prosentase (%)
Alanin	5,2 – 7,8
Asam Aspartat	6,2 – 11,8
Asam Glutamat	5,9 – 15,6
Glisin	1,0 – 5,6
Isoleusin	2,6 – 7,7
Leusin	3,9 – 18,0
Metionin	1,5 – 3,7
Serin	2,5 – 5,4
Treonin	0,6 – 6,2
Valin	0,6 – 6,4
Arginin	2,6 – 9,6
Lisin	4,1 – 14,4
Histidin	1,2 – 5,7
Fenilalanin	1,9 – 4,8
Prolin	3,0 – 7,1
Triptofan	0,4 – 1,4
Tirosin	1,3 – 5,0

Sumber : Zaitsev *et al.*, (1989) yang dikutip Genisa (2000)

Seperti pada tabel 5 dipaparkan jumlah asam amino yang terdapat pada daging ikan. Menurut Hadiwiyoto (1993), dari asam amino yang ada yang termasuk dalam asam amino esensial adalah threonin, valin, leusin, isoleusin, lisin, metionin, fenilalanin dan triptofan, sedangkan sisanya adalah asam amino non esensial.

Pengidentifikasian dan penentuan komponen asam amino suatu peptida secara kualitatif dapat dilakukan dengan menggunakan suatu metode yang tidak merusak, seperti hidrolisis. Peptida yang dihidrolisis dapat menentukan jumlah asam aminonya dengan cara menganalisa hidrolisatnya (Bodanszky, 1993).

Enzim yang dihasilkan oleh bakteri atau mikroba lainnya biasanya digunakan untuk menghidrolisis protein ikan. Bahkan enzim yang diisolasi dari tanaman dapat pula digunakan untuk hidrolisa protein ikan. Protein hidrolisat yang merupakan hasil dari proses hidrolisis ini, mengandung peptida, pepton, asam amino, protein terlarut dan beberapa mineral dalam bentuk garam (Champman and Hall, 1992).

E. Proses Hidrolisa Oleh Enzim

Seperti telah dipaparkan sebelumnya bahwa protein dapat dihidrolisa dengan menggunakan enzim yaitu enzim protease dan juga dapat difermentasi dengan menggunakan mikroba yaitu mikroba proteolitik.

Enzim adalah substansi yang dihasilkan oleh sel-sel hidup dan berperan sebagai katalisator pada reaksi kimia yang berlangsung dalam organisme. Semua enzim yang dikenal berupa protein dan disintesis dalam sel, serupa dengan cara sintesis protein yang lain (Gaman dan Sherrington, 1994).

Enzim dikatakan sebagai suatu kelompok protein yang berperan sangat penting dalam proses aktifitas biologis yang fungsinya adalah sebagai katalisator dalam sel dan sifatnya sangat khas. Sifat khas enzim ini dikarenakan enzim hanya bekerja pada substrat tertentu dan bentuk reaksi tertentu. Enzim akan kehilangan aktifitasnya jika bereaksi dengan bahan atau perlakuan yang menyebabkan denaturasi protein (Girindra, 1990).

Menurut Hartley (1960), enzim protease dapat dibagi menjadi 4 golongan berdasarkan sifat kimia dan lokasi aktifnya, yaitu sebagai berikut :

a. Enzim protease serin, artinya mempunyai residu serin dalam lolaksi aktifnya. Semua enzim tersebut bersifat endopeptides. Enzim yang termasuk golongan ini adalah tripsin, kimotripsis, etastase dan subtilin.
b. Enzim protese sulfhidril yang artinya mempunyai residu sulfhidril pada lokasi aktif. Enzim ini dihambat oleh senyawa oksidator, alkilator dan logam berat. Yang termasuk golongan protease ini

adalah yang berasal dari tanaman dan mikroba misalnya papain, visin dan bromelin.

c. Protease metal, yaitu enzim yang keaktifannya tergantung pada adanya metal, metal tersebut terdiri dari Mg, Zn, Co, Fe, Hg, dan Ni. Enzim tersebut dapat dihambat oleh EDTA (Ethylene Diamine Tetraacetic Acid) yang dapat mengikat metal sehingga keaktifan enzim hilang. Contohnya karboksi peptidase A untuk beberapa amino peptidase

d. Protease asam, yaitu enzim lokasi aktifnya terdapat dua gugus karboksil. Keaktifannya dapat dihambat oleh p-bromofenasil bromida. Enzim yang termasuk golongan ini adalah pepsin, renin dan protease kapang. Dan hanya aktif pada pH rendah.

Enzim papain merupakan salah satu enzim proteolitik yang dapat mengurai atau memecah protein dan dapat diisolasi dari getah pepaya. Seperti halnya enzim yang lain, enzim papain juga memiliki sifat khas dalam menguraikan protein. Enzim papain umumnya menghidrolisa polipeptida, amida dan ester terutama yang memiliki ikatan dasar asam amino leusin atau glisin serta peptida yang memiliki berat atom rendah (Fennema, 1985).

Kestabilan enzim papain baik sekali pada larutan yang mempunyai pH 5,0 ; pH optimum untuk substrat albumin maupun kasein adalah 7,0 dan untuk substrat gelatin 5,0. Papain mempunyai daya tahan panas yang relatif lebih tinggi daripada enzim nabati lainnya. Keaktifan enzim papain

hanya menurun 20 % pada pemanasan 70^0 C selama 30 menit pada pH 7,0 (Winarno,1995).

F. Proses Hidrolisa Melalui Fermentasi

Fermentasi adalah perubahan kimia dalam bahan pangan yang disebabkan enzim. Enzim yang berperan dapat dihasilkan oleh mikroorganisme atau yang telah ada dalam bahan pangan (Buckle *et al.*, 1985).

Dari mikroorganisme yang memfermentasikan bahan pangan, yang paling penting adalah bakteri pembentuk asam laktat, bakteri pembentuk asam asetat dan beberapa jenis khamir penghasil alkohol (Buckle *et al.*, 1987).

Bakteri asam laktat yang penting meliputi 4 genus yaitu *Lactobacillus, Leuconostoc, Streptococcus dan Pediococcus*. Genus dari *Lactobacillus* diklasifikasikan dalam 3 sub genus yaitu ; *betabacterium, Streptobacterium, Thermobacterium Streptobacterium* contohnya *Lactobacillus casei* dan *Lactobacillus plantarum* memproduksi sampai 1,5 % asam laktat dengan suhu optimal pertumbuhan 30^0 C bersifat homofermentatif yaitu hanya memproduksi asam laktat selama fermentasi berlangsung (Jay, 1986).

Bakteri asam laktat merupakan agen yang sangat esensial pada fermentasi daging dengan hasil yang berkualitas. Kualitas ini meliputi aktifitas metabolisme bakteri terhadap karbohidrat, protein, rendahnya

kadar gula, pH dan flavour yang dihasilkan. strain dari *Lactobacillus plantarum* umumnya diisolasi dari sosis daging dan ikan, dan memperlihatkan pertumbuhan yang baik pada media protein sarkoplasma dan dalam menghidrolisis protein (Fadda *et al.*, 1998).

III. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

A Tempat Dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Pangan dan Gizi jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian dan Kehutanan Universitas Hasanuddin dan dilaksanakan pada bulan Oktober sampai dengan bulan November 2000.

B. Alat Dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan layang, enzim papain, mikroorganisme *Lactobacillus plantarum*, Folin ciocalteu, Bovin Serum Albumin (BSA), Na_2CO_3, HCl 2 N, NaOH 0,1 N, $CuSO_4.5$ H_2O, H_2SO_4 pekat, $Na_2Br_4O_7$ 5 %, 1-flouro 2,4-Dinitrobenzen (DNFB) 99 % (pure), L-Asam Glutamat (pure).

Alat yang digunakan adalah shaker bath, sentrifuge, labu takar, Erlenmeyer, gelas piala, tabung reaksi, corong, kertas saring, spektrofotometer, stirrer, pipet mikroliter.

C. Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama.

1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian ini dilakukan untuk memperoleh perbandingan daging ikan layang dan air yang diinginkan, yaitu tidak terlalu kental dan tidak terlalu cair yang selanjutnya akan dijadikan bahan penelitian pada penelitian utama. Perbandingan daging ikan dan air yang dilakukan adalah dimulai dengan 1 : 1 (daging ikan : air) sampai 1 : 12. Kemudian diperoleh bahwa perbandingan yang sesuai berdasarkan kesesuaian kekentalan yang memadai untuk dihidrolisa atau difermentasi dengan menggunakan pengaduk bergoyang (shaker bath) adalah 1 : 3, 1 : 4 dan 1 : 5 yang untuk selanjutnya pada penelitian utama perbandingan ini berturut–turut dituliskan sebagai perlakuan A1, A2 dan A3.

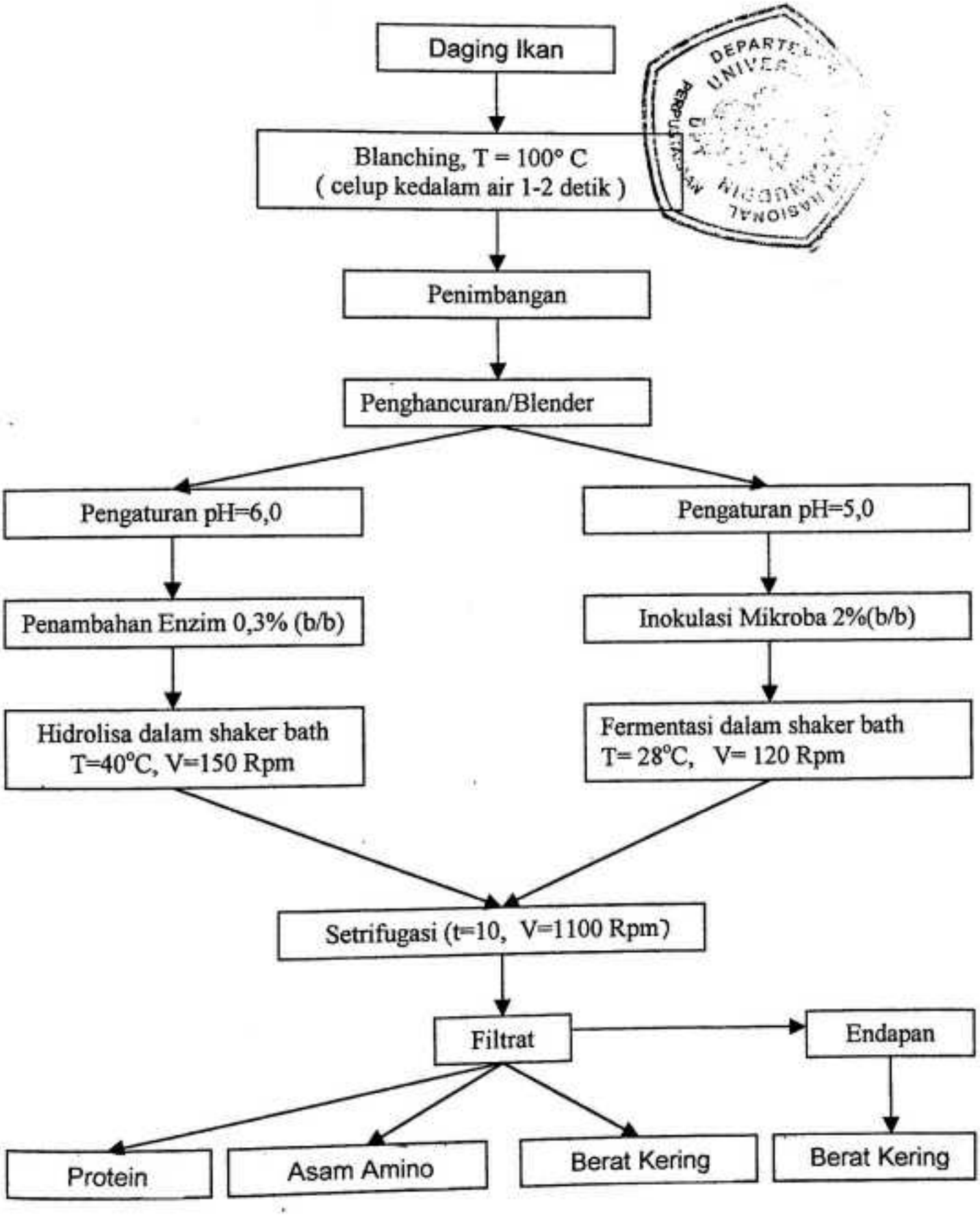
2. Penelitian Utama

Pada penelitian utama dilakukan :

- Hidrolisa daging ikan dengan menggunakan enzim Papain 0,3%
- Fermentasi daging ikan dengan menambahkan mikroba *Lactobacillus plantarum* 2 %
- Analisa kandungan protein
- Analisa kandungan asam amino

Metode yang digunakan pada analisa protein terlarut ini adalah metode Lowry yang dimodifikasi (Al Mahmood *et al.*, 1991).

Adapun proses pembuatan filtrat dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Diagram Alir Prosedur Penelitian

D. Perlakuan

Perlakuan yang dicobakan dalam penelitian ini dibagi atas dua yaitu :

a. Hidrolisa dengan penambahan enzim papain (0,3%/berat ikan)

- Perbandingan daging ikan dan air adalah :

  A1 = 1 : 3

  A2 = 1 : 4

- Lama waktu hidrolisa dalam shaker bath :

  t0 = 0 menit (tanpa shaker)

  t1 = 30 menit shaker

  t2 = 60 menit shaker

  t3 = 90 menit shaker

  t4 = 120 menit shaker

  t5 = 150 menit shaker

  t6 = 180 menit shaker

b. Fermentasi dengan menggunakan mikroba *Lactobacillus plantarum* (2 % per berat ikan0

Perbandingan daging ikan dan air :

A1 = 1 : 3

A2 = 1 : 4

A3 = 1 : 5

Lama waktu fermentasi dalam shaker bath :

B0 = 0 hari (tanpa shaker)

B1 = 1 hari shaker

B2 = 2 hari shaker

B3 = 3 hari shaker

B4 = 4 hari shaker

B5 = 5 hari shaker

E. Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati adalah jumlah protein dan asam amino bebas terlarut, berat kering endapan, berat kering filtrat dan pH.

1. Jumlah protein hasil hidrolisa

Prosedur analisa protein hasil hidrolisa didahului dengan pembuatan kurva standar

1.1 Pembuatan Kurva Standar

a. Larutan Standar

Pembuatan Reaktif :

- Reaktif A : 20 gram Na_2CO_3 anhidrit ditambahkan dengan 0,2 gram sodium tartrat, dilarutkan dengan NaOH 0,1 N dalam labu takar 1000 ml.

- Reaktif B : 0,5 gram $CuSO_4.5\ H_2O$ ditambahkan 1 tetes H_2SO_4 pekat, kemudian dilarutkan dengan aquadest dalam labu takar 100 ml.
- Reaktif C : Reaktif A + Reaktif B dengan perbandingan 50 : 1

Larutan standar dibuat dengan menggunakan "Bovin Serum Albumin" dengan 5 konsentrasi yaitu dari 5, 10, 15, 20, 25 (µg/ml larutan).

b. Analisis Protein Larutan Standar

Untuk konsentrasi 5µg/ml larutan

10 µl BSA (setara dengan 5 µg/ml larutan) ditambahkan 40 µl air, kemudian ditambahkan reaktif C sebanyak 3 ml. Dibiarkan selama 10 menit, kemudian ditambahkan 0,3 ml reaktan Folin, sehingga volume reaksi total dicukupkan sampai dengan 3,35 ml dengan aquadest, dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya dibaca pada spektrofotometer dengan λ 750 nm.

Demikian selanjutnya sampai konsentrasi 25 µg/ml larutan BSA.

1.2 Prosedur Analisa Protein Terlarut Produk

Prosedur analisa untuk protein terlarut, sama halnya dengan pembuatan kurva standar. Dalam hal ini larutan standar diganti dengan filtrat hasil perlakuan hidrolisa enzim papain dan hasil fermentasi mikroba *Lactobacillus plantarum.* Selanjutnya hasil pembacaan OD (Optical Density) ditera (diekstrapolasi) dengan bantuan kurva standar tersebut diatas.

2. Asam Amino Terlarut

Analisa asam amino yang terbentuk didahului dengan pembuatan kurva standar.

2.1 Pembuatan Kurva Standar

a. Larutan Standar

Larutan standar dibuat dengan menggunakan L-asam glutamat dengan 10 konsentrasi, yaitu mulai dari 10 nmol – 100 nmol.

b. Analisa Asam Amino Pada Larutan Standar

Untuk konsentrasi 10 nmol

Dari larutan 10 nmol diambil sebanyak 100 µl ditambahkan 10 µl 1-fluoro,2,4-Dinitrobenzen (DNFB) 99%, kemudian ditambahkan 25 µl larutan $Na_2Br_4O_7$ 5 %, dikocok lalu dipanaskan pada suhu 60^0 C selama 30 menit. Setelah itu

ditambahkan HCl 2 N sebanyak 1,5 ml, sehingga volume reaksi total adalah 1,635 ml, selanjutnya dikocok kembali sampai homogen. Terakhir dibaca pada spektrofotometer dengan λ 420 nm.

Demikian selanjutnya sampai konsentrasi 100 nmol, berturut-turut dimulai dari 20 nmol.

F. Analisa Data

Data hasil hidrolisa oleh enzim papain dan difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* masing-masing diolah secara terpisah, dengan menggunakan pola Rancangan Acak Lengkap Faktorial dengan dua kali ulangan . Persamaan matematikanya adalah :

$$Yijk = \mu + Ai + Bj + (AB)ij + Eijk$$

Keterangan :

Yijk = nilai pengamatan

μ = nilai tengah umum

Ai = pengaruh perbandingan dan air ke-i (i = 1,2)

Bj = pengaruh lama waktu hidrolisa/fermentasi ke-j (j= 1,2)

(AB)ij = pengaruh interaksi perlakuan A ke-i dan B ke-j

Eijk = pengaruh acak ke-i, ke-j dan ulangan ke-k.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Protein Terlarut Hasil Hidrolisa Enzim Papain

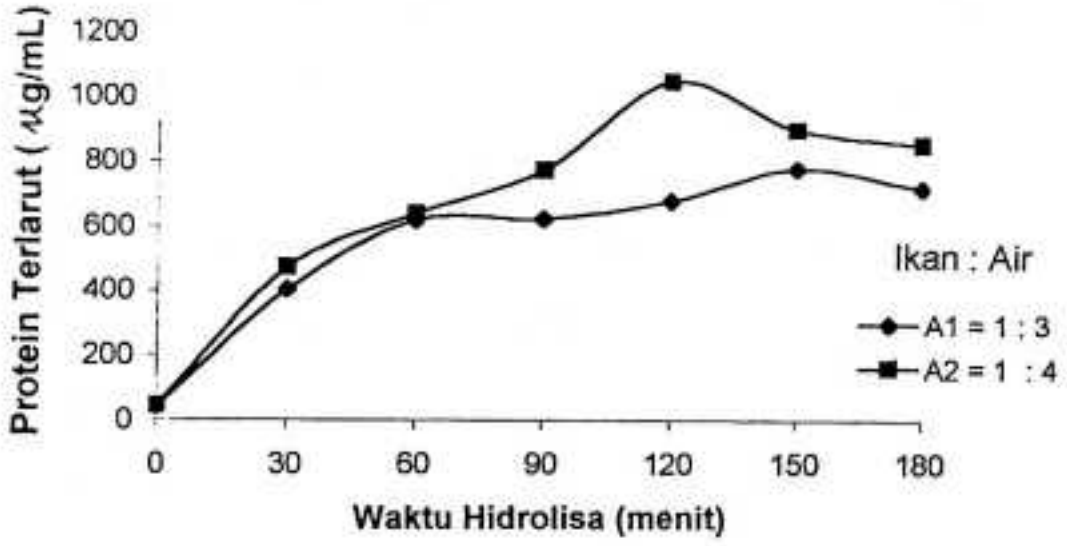
Protein terlarut respon hasil hidrolisa merupakan protein hasil hidrolisa oleh enzim papain dan fermentasi *Lactobacillus plantarum*, yang telah dikurangkan dengan protein terlarut kontrol (tanpa perlakuan).

Hasil analisa sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi substrat berpengaruh nyata terhadap jumlah protein terlarut baik yang dihidrolisa oleh enzim papain maupun mikroba *Lactobacillus plantarum* (lampiran 2a dan 3a). Sementara itu waktu hidrolisa berpengaruh sangat nyata terhadap protein terlarut (lampiran 2a), tetapi waktu fermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* tidak berpengaruh nyata terhadap protein terlarut (lampiran 3a). Selanjutnya diperlihatkan pula bahwa kombinasi perlakuan konsentrasi substrat dan waktu hidrolisa oleh enzim papain berpengaruh nyata terhadap protein terlarut, begiru pula halnya dengan kombinasi konsentrasi substrat dan waktu fermentasi oleh *Lactobacillus plantarum.*

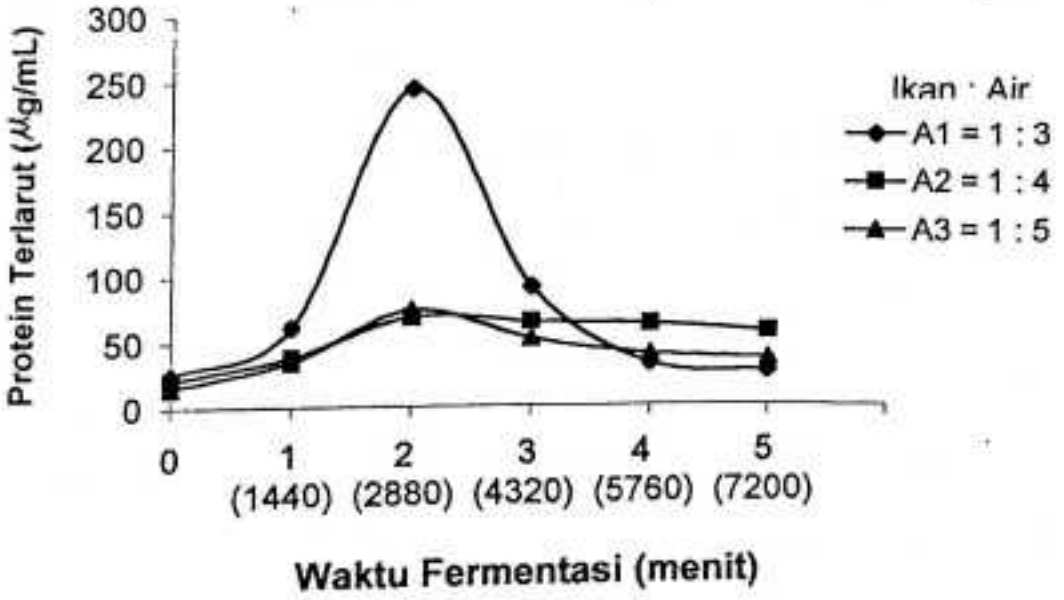
Hasil uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) memperlihatkan bahwa peningkatan protein terlarut pada konsentrasi substrat 1 : 3 tidak berbeda nyata pada waktu hidrolisa 60 – 180 menit, sedangkan pada konsentrasi substrat 1 : 4 berbeda nyata pada setiap waktu hidrolisa. Sementara itu peningkatan protein terlarut hasil fermentasi

Lactobacillus plantarum pada setiap konsentrasi substat (1 : 3, 1 : 4, 1 : 5) tidak berbeda nyata pada setiap waktu hidrolisa.

Besarnya protein terlarut respon hasil hidrolissa enzim papain dan *Lactobacillus plantarum* dapat dilihat pada gambar grafik berikut :



Gambar 2. Protein Terlarut Respon Hasil Hidrolisa Enzim Papain



Gambar 3. Protein Terlarut Respon Hasil Fermentasi *Lactobacillus Plantarum*

Pada gambar 2 (protein respon hasil hidrolisa enzim papain) diatas, dapat dilihat konsentrasi substrat 1 : 4 (ikan : air), jumlah protein terlarut yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi substrat 1 : 3 (ikan : air). Untuk konsentrasi substrat 1 : 4, jumlah protein terlarut hasil hidrolisa cenderung meningkat sampai pada waktu hidrolisa 120 menit, yaitu sebesar 1064,963 µg/ml atau sekitar 2,22 %. Tetapi setelah melewati waktu hidrolisa optimum tersebut, protein terlarut yang dihasilkan mulai menurun. Hal ini disebabkan karena enzim dalam hal ini enzim papain hanya mampu bekerja sampai batas maksimum aktifitasnya. Setelah melewati waktu tersebut, enzim cenderung memiliki aktifitas yang tetap karena kejenuhannya terhadap substrat.

Pada konsentrasi substrat 1 : 3 dimana protein terlarut yang dihasilkan lebih rendah dibanding konsentrasi substrat 1 : 4. Nilai tertinggi diperoleh pada waktu hidrolisa 180 menit yaitu 732,151 µg/mL atau sekitar 1,68 %. Rendahnya jumlah protein terlarut yang dihasilkan pada konsentrasi substrat 1 : 3 ini menurut Winarno (1995) dipengaruhi oleh jumlah air yang ditambahkan sebagai pelarut dimana pada perbandingan 1 : 3, air yang tersedia tidak memadai sehingga laju reaksi enzimatik menjadi tidak optimal. Hal ini sejalan dengan pendapat Fennema (1985) bahwa laju reaksi enzimatik akan meningkat dengan meningkatnya kadar air, seperti halnya konsentrasi substrat 1 : 4 (jumlah air yang ditambahkan lebih memadai) sehingga

enzim dan substrat lebih mampu menghidrolisa protein yang tidak larut menjadi larut. Sementara itu proses hidrolisa pada konsentrasi usbstrat 1 : 3 terjadi rintangan dan halangan daalam hal penyebaran enzim atau substrat selama hidrolisa sehingga protein terlarut yang dihasilkan menjadi lebih rendah.

Pada gambar 3 dapat dilihat protein terlarut respon yang dihidrolisa oleh enzim yang berasal dari mikroba *Lactobacillus plantarum.* Protein terlarut respon yang dihasilkan dari hidrolisa protein oleh bakteri *Lactobacillus plantarum* menunjukkan bahwa pada konsentrasi substrat 1 : 3 memberikan hasil yang paling tinggi dibandingkan dua konsentrasi substrat lainnya (1 : 4 dan 1 : 5) terutama pada waktu fermentasi hari ke-2, yaitu 246,154 μg/ml. Tetapi setelah masuk pada fermentasi hari ke-3 terjadi penurunan jumlah protein terlarut hasil hidrolisa pada konsentrasi substrat 1 : 3.

Penurunan ini ada hubungannya dengan fase pertumbuhan mikroba. Setelah melewati fase adaptasi, mikroba masuk pada fase stasionary pada fermentasi hari ke-2. Menurut Buckle *et al.*, (1987), pada fase ini pertumbuhan mikroba tetap, karena mikroba jarang dapat tetap hidup secara eksponensial dengan kecepatan tinggi untuk suatu jangka waktu tertentu. Sebaliknya aktifitasnya berlanjut dengan menghidrolisa lebih lanjut protein tersebut menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti asam-asam amino, paptida, pepton dan

komponen yang lebih sederhana lainnya, sehingga pada fermentasi hari ke-3 protein terlarut respon yang dihasilkan menjadi menurun.

Sedangkan untuk konsentrasi substrat 1 : 4 dan 1 : 5 nilai protein terlarut respon yang dihasilkan lebih rendah, walaupun waktu fermentasi diperpanjang samapi 5 hari. Hal ini disebabkan oleh lebih rendahnya konsentasi protein awal, sehingga lebih cepat diubah menjadi senyawa (komponen) lain yang lebih kecil dan sederhana, oleh berbagai enzim yang dihasilkan oleh *Lactobacillus plantarum*, selama fermentasi.

B. Asam Amino Terlarut

Asam amino merupakan senyawa penyusun protein. Jika protein terdegradasi, maka yang terbentuk adalah peptida dan asam-asam amino bebas yang jika dilanjutkan akan mengalami pembongkaran senyawa-senyawa tersebut menjadi senyawa metabolit penyebab bau busuk.

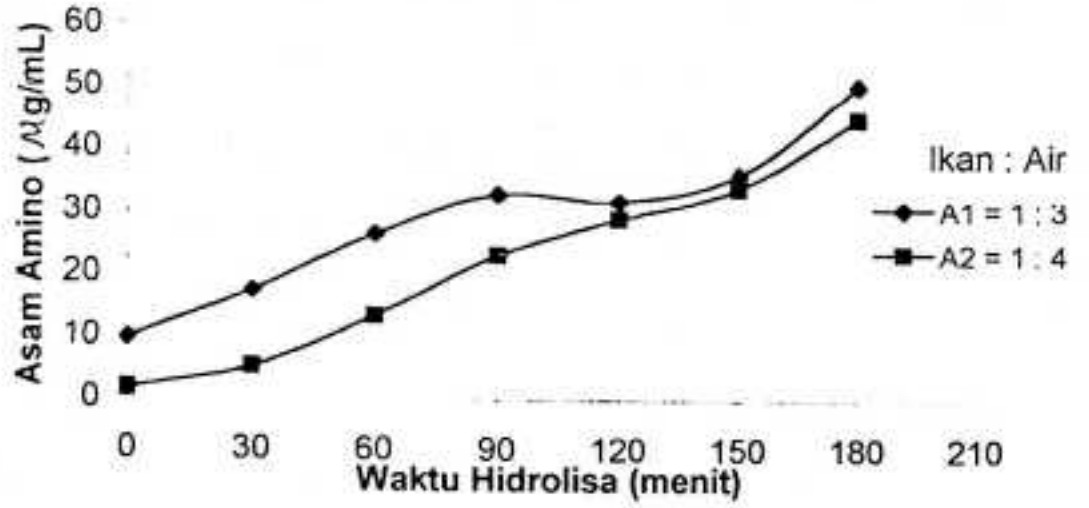
Seperti halnya protein terlarut respon, asam amino respon juga adalah selisih antara jumlah asam amino dari filtrat yang diberi perlakuan dengan jumlah asam amino dari filtrat tanpa diberi perlakuan.

Hasil analisa sidik ragam menunjukkan bahwa konsentrasi substrat berpengaruh nyata terhadap jumlah asam amino baik yang dihidrolisa dengan enzim Papain maupun difermentasi oleh mikroba *Lactobacillus plantarum* (lampiran 4a dan 5a). Sementara itu waktu

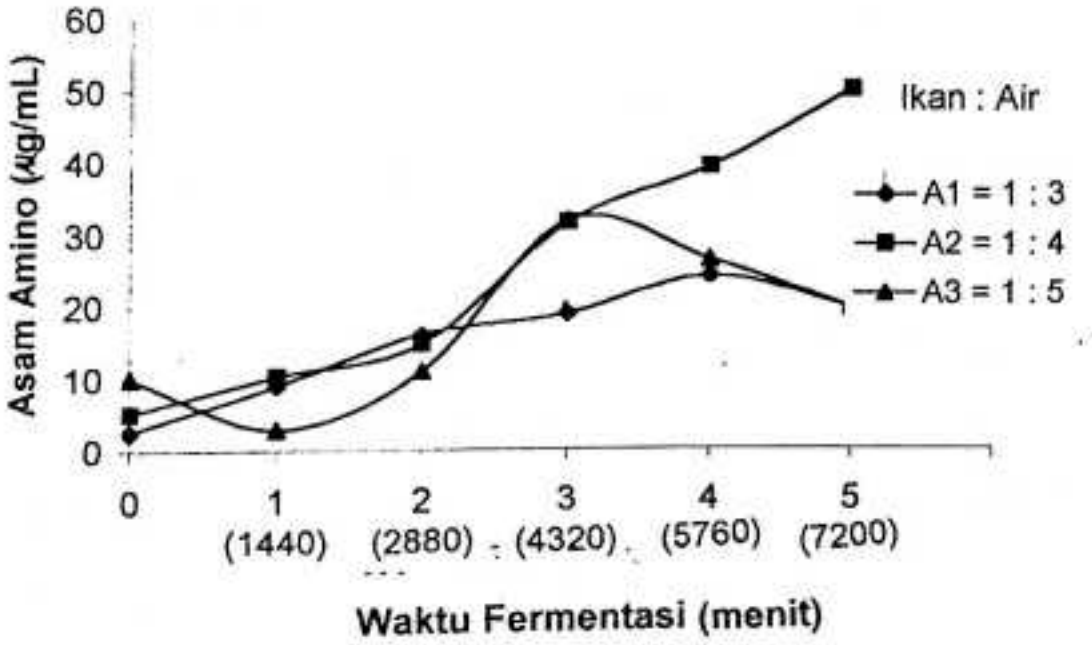
hidrolisa dan fermentasi berpengaruh sangat nyata terhadap jumlah asam amino (lampiran 4a), sebaliknya kombinasi konsentrasi substrat dan waktu fermentasi berpengaruh nyata terhadap jumlah asam amino yang dihasilkan.

Hasil uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) memperlihatkan bahwa jumlah asam amino yang dihasilkan untuk setiap konsentrasi substrat (1 : 3, 1 : 4, 1 : 5) tidak berbeda nyata pada setiap waktu fermentasi.

Penambahan enzim Papain maupun mikroba *Lactobacillus plantarum* ke dalam substrat, menyebabkan protein yang ada dalam substrat menjadi terdegradasi (Zubay, 1986). Ikatan-ikatan peptida yang tadinya menghubungkan asam-asam amino akan menjadi terputus akibat degradasi struktur protein tersebut. Protein hidrolisat ini menurut Champman and Hall (1992), terjadi jika aktifitas enzim berlanjut, yang akan menghasilkan senyawa yang terdiri dari peptida, pepton, asam amino, protein terlarut dan beberapa mineral dalam bentuk garam.



Gambar 4. Jumlah Asam Amino Hasil Hidrolisa Enzim Papain



Gambar 5. Jumlah Asam Amino Hasil Fermentasi Oleh *Lactobacillus plantarum*

Pada gambar 4 memperlihatkan bahwa untuk konsentrasi substrat 1 : 4 lebih banyak menghasilkan asam amino dibanding pada konsentrasi substrat 1 : 3. Jumlah asam amino yang dihasilkan dari setiap konsentrasi substrat cenderung meningkat. Semakin lama

waktu hidrolisa, maka semakin banyak asam amino yang dihasilkan oleh aktifitas enzim dalam menghidrolisis protein.

Seperti pada gambar 4, pada waktu hidrolisa 120 menit untuk konsentrasi substrat 1 : 4, asam amino yang dihasilkan mengalami sedikit penurunan yaitu sebesar 29,658 µg/ml. Tetapi penurunan ini tidak berpengaruh secara nyata untuk jumlah asam amino yang dihasilkan (lampiran 4a). Hal ini dibuktikan pada waktu hidrolisa 150 menit, jumlah asam amino yang dihasilkan kembali meningkat, sebesar 34,815 µg/ml. Peningkatan jumlah asam amino yang dihasilkan ini pada saat tertentu akan mengalami kestabilan jika diteruskan waktu hidrolisanya. Karena seperti yang dikemukakan oleh Lehninger (1982), bagaimanapun tingginya konsentrasi substrat , tetapi jika telah melewati titik batas aktifitas enzim, maka kecepatan reaksi akan mendekati titik batas tersebut, tetapi tidak akan pernah mencapai garis maksimum. Titik batas ini yang disebut kecepatan maksimum dan pada saat ini enzim menjadi jenuh oleh substratnya, dan tidak dapat berfungsi lebih cepat walaupun konsentrasi substrat ditambah.

Selanjutnya enzim tersebut akan beraktifitas lebih lanjut, tetapi bukan lagi memecah ikatan-ikatan peptida yang ada menjadi asam-asam amino, pepton dan lain-lain, melainkan menghidrolisa lebih lanjut komponen tersebut menjadi senyawa yang lebih sederhana lagi seperti amoniak, aldehid dan lain-lain.

Sedangkan jika dilihat pada gambar 5, untuk konsentrasi substrat 1 : 4 jumlah asam amino yang dihasilkan cenderung mengalami peningkatan sampai batas waktu hidrolisa/fermentasi yang ditentukan (5 hari). Makin lama waktu hidrolisa, makin tinggi jumlah asam amino yang dihasilkan. Ini menunjukkan bahwa sampai pada waktu hidrolisa 5 hari, mikroba masih tetap tumbuh dan beraktifitas dan belum memasuki tahap atau fase stasionary jika dilihat pada kurva pertumbuhan mikroba secara umum. Lain halnya dengan jumlah asam amino yang dihasilkan dari konsentrasi substrat 1 : 3, karena pada waktu hidrolisa 4 hari, asam amino yang dihasilkan tidak menunjukkan perubahan yang nyata sampai waktu hidrolisa 5 hari yaitu 24,500 µg/ml dan 20,974 µg/ml. Hal ini disebabkan mikroba pada saat itu mulai memasuki fase stasionary. Seperti yang dikatakan oleh Buckle *et al*., (1987), pada fase ini populasi mikroba jarang dapat tetap tumbuh secara eksponensial dengan kecepatan tinggi untuk suatu jangka yang lama.

Jumlah asam amino untuk konsentrasi substrat 1 : 5 (gambar 5) lebih tinggi dibandingkan pada konsentrasi substrat 1 : 3. tetapi pada awal hidrolisa/fermentasi yaitu pada waktu hidrolisa satu hari, asam amino yang dihasilkan agak menurun hal ini disebabkan karena adanya hambatan yang dialami mikroba untuk kontak langsung dengan substrat yang mengandung protein karena banyaknya air pada substrat tersebut. Dan setelah hidrolisa hari ke-3, asam amino yang

dihasilkan meningkat yaitu sebesar 32,237 μg/ml, karena kemungkinan besar mikroba mulai masuk pada fase dimana aktifitas mikroba optimum. Tetapi setelah fermentasi hari ke-4 asam amino yang dihasilkan mulai menurun sampai 26,757 μg/ml, Hal ini karena mikroba mulai terhambat pertumbuhannya oleh hasil metabolismenya sendiri dimana enzim dari mikroba tersebut sudah menghidrolisa lebih lanjut menjadi senyawa yang lebih sederhana lagi seperti metabolit yang menghambat pertumbuhannya dan komponen-komponen penyebab bau busuk, seperti amoniak (Girindra, 1990).

Menurut Zubay (1988) kecenderungan enzim dari mikroba dalam menghidrolisa lebih lanjut asam amino ini, karena mikroba tersebut mengandung enzim endopetidase dan enzim eksopeptidase, enzim endopeptidase berfungsi memutuskan ikatan peptida yang ada pada bagian tengah ikatan secara acak, sedangkan enzim exopeptidase berfungsi memutuskan ikatan peptida dari bagian ujung ikatan. Hal inilah yang menyebabkan ikatan peptida yang ada dapat cepat terputus dan selanjutnya langsung dihidrolisa oleh enzim lainnya menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana lagi seperti amin.

C. Berat Kering Endapan

Berat kering endapan menunjukkan jumlah substrat yang mengandung protein yang tidak terhidrolisa selama waktu hidrolisa yang ditetapkan. Tetapi selain komponen protein yang tidak

terhidrolisa dalam endapan tersebut ada juga komponen komponen lain yang bukan protein. Makin banyak protein terlarut yang dihasilkan dari proses hidrolisa, akan menurunkan berat kering endapan.

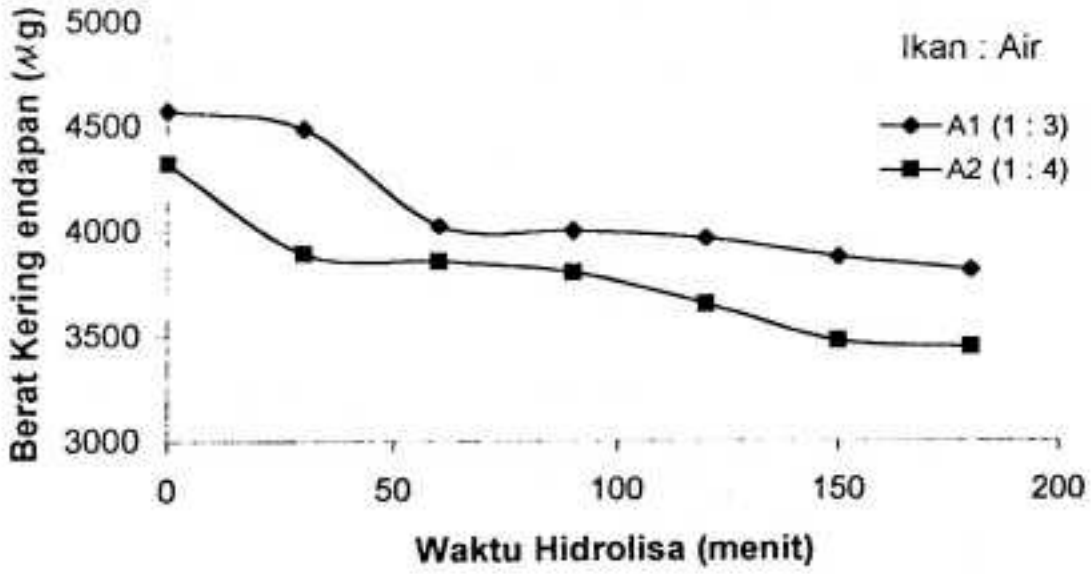
Dari hasil analisis ragam diperoleh bahwa interaksi antara konsentrasi substrat dan waktu hidrolisa berpengaruh nyata terhadap berat kering endapan yang dihasilkan untuk substat yang dihidrolisa oleh enzim. Sedangkan yang dihidrolisa oleh mikroba *Lactobacillus plantarum* tidak berpengaruh nyata.

Hasil uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) menunjukkan bahwa berat kering endapan hasil hidrolisa enzim papain baik konsentrasi substrat 1 : 3 maupun 1 : 4 berbeda nyata pada setiap waktu hidrolisa.

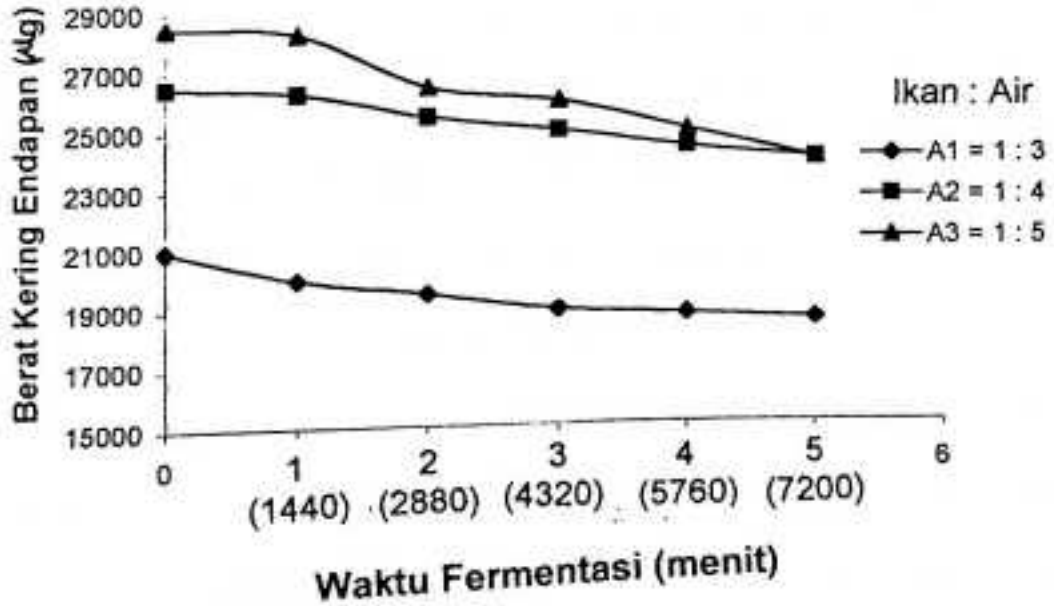
Terbentuknya endapan ini dikarenakan oleh enzim yang berperan sebagai katalisator dalam menghidrolisa protein mempunai spesifikasi tertentu dalam memecahkan ikatan-ikatan peptida yang ada sehingga tidak semua protein yang ada dapat dilarutkan dan dihidrolisa, terutama enzim murni seperti yang terdapat pada papain, lain halnya dengan enzim yang berasal dari mikroba seperti *Lactobacillus plantarum* yang lebih banyak jenisnya.

Begitu pula seperti yang dikatakan oleh Winarno (1982) bahwa hasil degradasi protein menghasilkan turunan protein, salah satunya adalah protein turunan primer. Ada dua jenis protein turunan primer, yaitu protean dan metaprotean. Protean ini adalah salah satu jenis

protein yang jika dihidrolisa oleh air maupun enzim, maka bersifat tidak larut. Contohnya adalah Miosan dan Edestan. Kemungkinan, jenis protein inilah yang tersisa dalam endapan selain komponen yang bukan protein lainnya



Gambar 6. Berat Kering Endapan Hasil Hidrolisa Enzim Papain



Gambar 7. Berat Kering Endapan Hasil Fermentasi *Lactobacillus plantarum.*

Jika dilihat pada gambar 6 diatas maka diperoleh berat kering endapan dari hasil hidrolisa enzim papain untuk konsentrasi substrat 1 : 3 yang diperoleh lebih tinggi dibanding berat kering yang dihasilkan dari konsentrasi substrat 1 : 4. Jika hal ini dihubungkan dengan jumlah protein terlarut hasil hidrolisa oleh enzim, maka hubungan ini berbanding terbalik. Seperti ditunjukkan pada gambar 2, protein terlarut yang dihasilkan dari konsentrasi substrat 1 : 4 lebih besar, sehingga endapan yang dihasilkan menjadi rendah berat keringnya.

Seperti telah disebutkan sebelumnya bahwa bukan hanya komponen protein saja yang ada dalam endapan tersebut, tetapi juga komponen yang bukan protein seperti lemak dan komponen lainnya.

Begitu pula halnya dengan berat kering endapan hasil fermentasi *Lactobacillus plantarum* (gambar 7). Semakin lama waktu fermentasi, maka berat kering endapan makin menurun. Jika dibandingkan dengan protein terlarut respon yang dihasilkan (gambar 3) adalah kebalikannya. Protein terlarut respon yang dihasilkan untuk konsentrasi substrat 1 : 5 paling rendah, sebaliknya berat kering endapan yang dihasilakn lebih tinggi dibanding dua konsentrasi substrat lainnya (substrat 1 : 3 dan 1 : 4).

Penurunan berat kering endapan ini diisebabkan oleh semakin lama waktu hidrolisa sehingga nakin banyak protein yang terdegradasi. Akibatnya banyak komponen yang ada dalam substrat makin banyak yang larut dengan bertambahnya waktu hidrolisa.

D. Berat Kering Filtrat

Komponen ini adalah protein yang terlarut yang mempunyai berat molekul bervariasi; seperti asam-asam amino, dipeptida, tripeptida yang terbentuk selama proses hidrolisa

Hasil analisa sidik ragam memperlihatkan bahwa konsentrasi substrat dan waktu hidrolisa tidak berpengaruh nyata terhadap berat kering filtrat yang dihasilkan untuk filtrat yang dihidrolisa oleh enzim papain (lampiran 8a). Sedangkan filtrat yang dihidrolisa oleh *Lactobacillus plantarum* kombinasi antara konsentrasi substrat dan waktu hidrolisa menunjukkan adanya perbedaan yang sangat nyata untuk berat kering filtrat yang dihasilkan (lampiran 9a).

Hasil uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) menunjukkan bahwa berat kering filtrat hasil fermentasi *Lactobacillus plantarum* untuk semua konsentrasi substrat (1 : 3, 1 : 4, dan 1 : 5), berbeda nyata untuk setiap waktu hidrolisa (lampiran 9b).

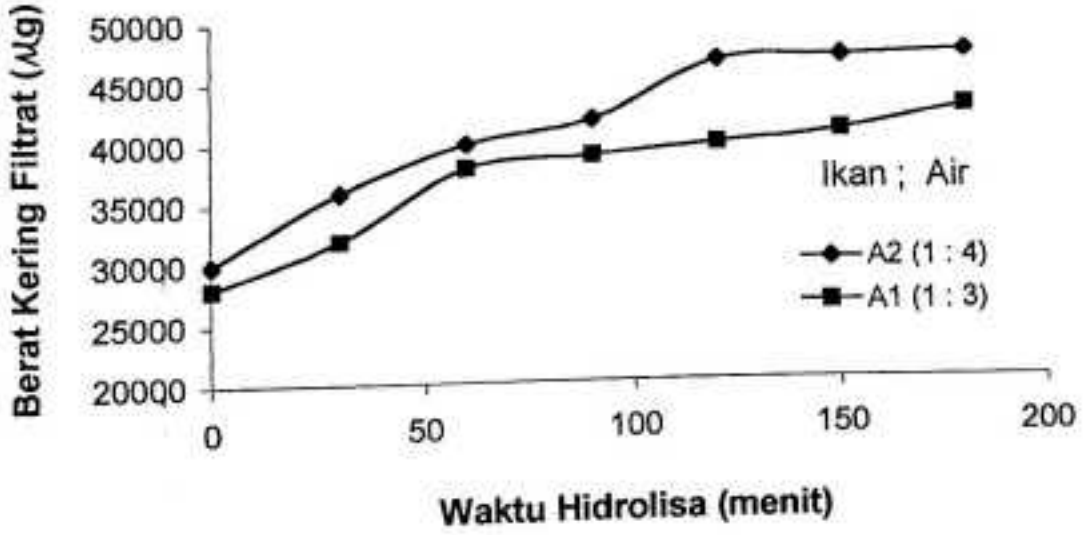
Secara umum berat kering filtrat hasil hidrolisa enzim papain meningkat seiring dengan bertambahnya waktu hidrolisa, begitu pula halnya berat kering filtrat hasil fermentasi *Lactobacillus plantarum*.

Pada konsentrasi substrat 1 : 3 untuk berat kering filtrat hasil hidrolisa enzim papain yang tertinggi, diperoleh sebesar 43000 $\mu g \times 10^2$/ml sampel, sedangkan untuk konsentasi substrat 1 : 4 yang tertinggi adalah 47666 $\mu g \times 10^2$/ml. Kisaran nilai yang diperoleh

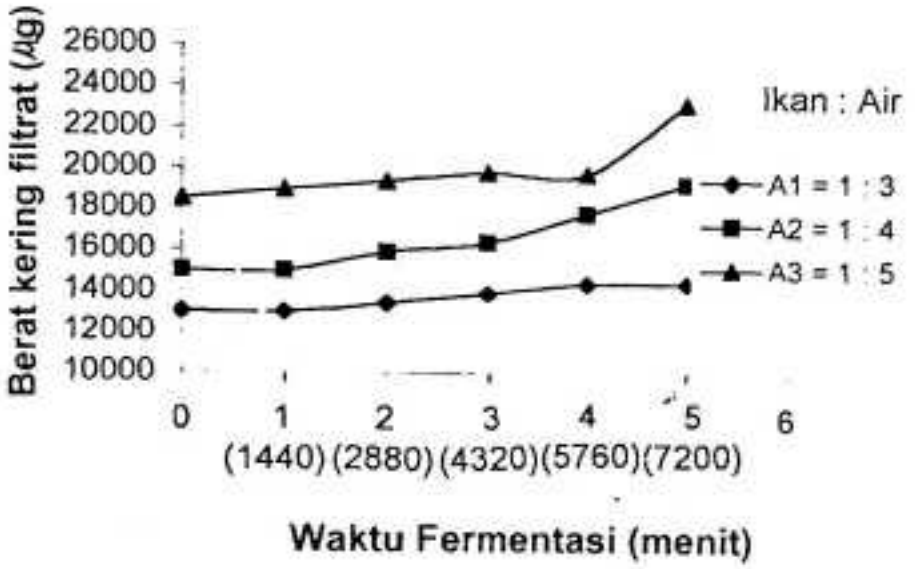
untuk berat kering filtrat ini pada dua konsentrasi ini yang tertinggi adalah pada konsentrasi substrat 1 : 4.

Sedangkan berat kering filtrat hasil fermentasi *Lactobacillus plantarum* berat kering filtrat yang tertinggi diperoleh pada sampel dan konsentrasi substrat 1 : 5 dengan kisaran nilai 18500 µg – 23500 µg, hal ini disebabkan karena pada kondisi ini banyak komponen protein maupun non protein.

Berat kering filtrat dari endapan yang merupakan molekul yang besar (peptida-peptida yang berat molekulnya besar) mengendap ke bawah selama proses pengeringan akibat gaya gravitasi.



Gambar 8. Berat Kering Filtrat Hasil Hidrolisa Enzim Papain

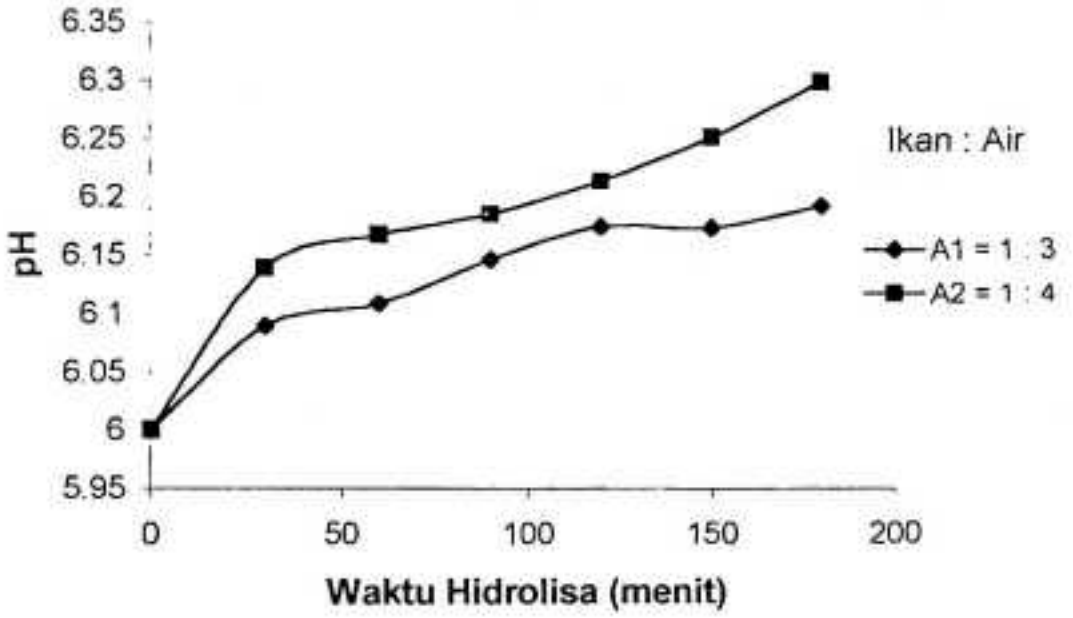


Gambar 9. Berat Kering Filtrat Hasil Fermentasi *Lactobacillus plantarum*

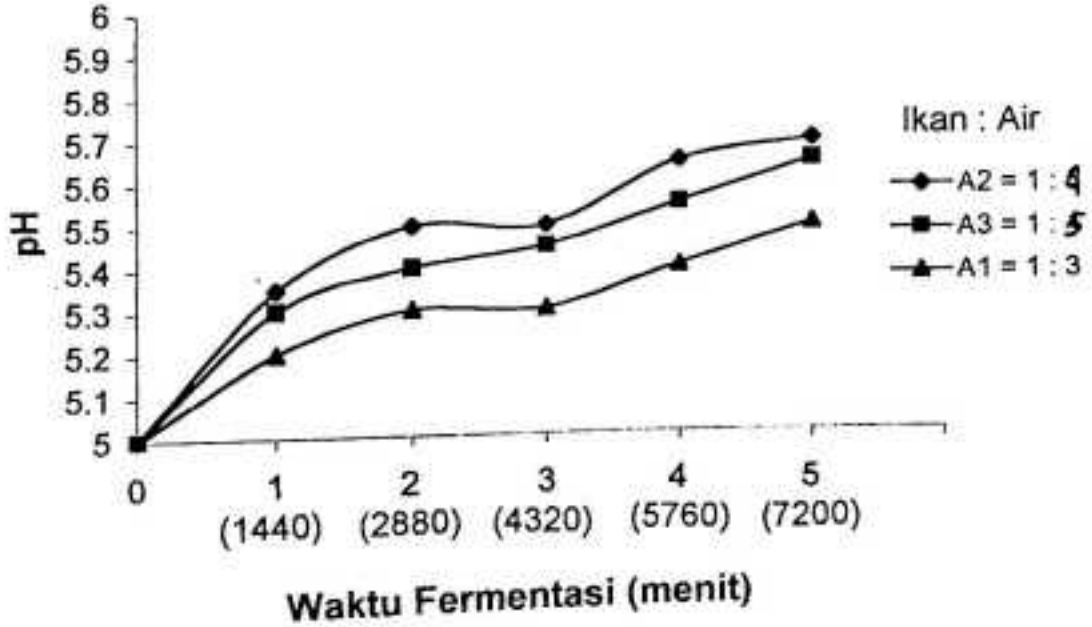
E. pH

Pengukuran pH terhadap suatu substrat bertujuan untuk mengetahui derajat keasaman substrat tersebut. Pada daging ikan segar, menurut Hadiwiyoto (1993) pH mula-mula kurang lebih 6,6, setelah diberi perlakuan yaitu penambahan enzim papain dan mikroba *Lactobacillus plantarum,* pH substrat akan menurun.

Aktifitas enzim dan mikroba sangat dipengaruhi oleh pH substrat. pH menurut Winarno (1995), kisarannya untuk efektifitas maksimum enzim adalah 4,5 – 8,0. khususnya enzim papain pH untuk aktifitas maksimum 5,0 – 7,0. sedangkan untuk mikroba, khususnya jenis bakteri asam laktat tumbuh baik pada pH 3,0 – 6,0.



Gambar 10. pH Substrat Hasil Hidrolisa Enzim Papain



Gambar 11. pH Substrat Hasil Fermentasi *Lactobacillus plantarum*

Dari gambar 10 dapat dilihat bahwa kisaran pH untuk konsentrasi substrat 1 : 3 lebih rendah dibanding pada konsentrasi substrat 1 : 4. sedangkan pada gambar 11, dapat dilihat bahwa konsentrasi substrat 1 : 3 kisaran pH yang ada lebih rendah dibanding

konsentrasi substrat lainnya (1 : 4, 1 : 5). Berarti semakin tinggi konsentrasi substrat semakin tinggi kisaran nilai pH yang diperoleh.

pH yang ditunjukkan oleh kedua gambar diatas menunjukkan peningkatan dengan bertambahnya waktu hidroiisa/fermentasi. Menurut Connel (1980), hal ini disebabkan oleh terbentuknya asam-asam amino dan amoniak yang merupakan hasil akhir degradasi protein dan bersifat basa sehingga meningkatkan nilai pH.

V. KESIMPULAN

Kesimpulan

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Protein terlarut respon hasil hidrolisa enzim papain lebih tinggi pada konsentrasi substrat 1 : 4 dengan waktu hidrolisa 120 menit.
2. Protein terlarut respon hasil fermentasi mikroba *Lactobasillus plantarum* lebih banyak pada konsentrasi substrat 1 : 3 dengan waktu fermentasi 2 hari.
3. Jumlah asam amino respon yang dihasilkan dari hidrolisa dengan enzim papain pada konsentrasi substrat 1 : 4 lebih tinggi dibandingkan konsentrasi substrat 1 : 3. Sedangkan asam amino respon yang dihasilkan dari fermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* cenderung meningkat dengan bertambahnya waktu hidrolisa dan pada waktu tertentu akan mengalami penurunan.
4. Secara umum terjadi penuruna berat kering endapan dan diikuti oleh peningkatan berat kering filtrat baik perlakuan hidrolisa enzim papain maupun fermentasi oleh *Lactobacillus plantarum* dengan bertambahnya waktu hidrolisa/fermentasi.
5. Peningkatan berat kering filtrat baik yang dihidrolisa oleh enzim papain maupun *Lactobacillus plantarum* sejalan dengan bertambahnya waktu hidrolisa/fermentasi.

6. pH meningkat dengan bertambahnya waktu hidrolisa/fermentasi baik yang dihidrolisa oleh enzim papain maupun yang difermentasi oleh *Lactobacillus plantarum*.

DAFTAR PUSTAKA

Al Mahmood, Collin, S., R. Bonaly, 1991. Kluyveromyces Yeastlectins. J. Biochemistyry. 266. 20882, 2087, Franch.

Afrianto, Eddy dan Evi Liviawaty, 1989. Pengawetan dan Pengolahan Ikan Penerbit Kanisius, Yogyakarta.

Anonimous, 1983. Evaluasi Tentang Potensi Dan Usaha Pengelolaan Sumber Daya Ikan Layang. Proyek Studi Potensi Sumber Daya Alam Indonesia. Studi Potensi Sumber Daya Alam Hayati Ikan. Lembaga Oseanologi Nasional – LIPI, Jakarta.

Bodanszky, Miklos, 1993. Kimia Peptida. Penerbit ITB, Bandung

Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet. M. Wootton, 1987. Food Science. Penenrjemah Hari Purnomo dan Adiono dalam Ilmu Pangan. Penerbit UI Press, Jakarta.

Bergman, M dan J.S. Fruton, 1981. Advances Anzymol. 1:63 – 2 :49 dalam skripsi Hamka, 2000. Pengaruh Penambahan Bubuk Papain Dan Lama Maturasi Terhadap Keempukan dan Daya ikat Pada Otot semitendonosus Daging Kerbau (Pectoralis propundus). Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Petanian Kehutanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Champman and Hall, 1992. Fish Processing Technology. Published in The USA and Canada, New York.

Fadda, Silvina., Yolanda Sanz, Graciela Vignolo, M. Conception Aristoy, Guillermo Oliver, Fidel Toldra, 1998. Hydrolisis Of Muscle Sarcoplasmic and Myofirillar Protein Hydrolysis Caused by *L. plantarum*. Instituto de Agroquimica Technologia de Alimentos. Burjassot, Valencia, Spain.

Fennema, Owen R., 1985. Food Chemistry. Second Edition Revised and Expanded Marscel Decker, New York.

Frazier, W.C and Westhoff, D.C., 1978. Food Microbilogy. Mc Graw Hill Publishing Co. Ltd., New Delhi

Gaman, P. M. dan K.B. Sherrington, 1981. The Science of Introduction To Food Science Nutrition And Microbiology, Second Edition dalam Muridajati Gardjito, sri Naruki, Agnes Murdiatu dan Sardjono, 1994. Ilmu Pangan. Pengantar Ilmu Pangan Nutrisi dan Mikrobilogi Edisi Kedua. Penerbit Gadjah Mada Press, Yogyakarta.

Girindra, Aisjah, 1990. Biokimia I. Penerbit PT Gramedia Pustaka Uama, Jakarta.

Hartley, 1960. dalam Skripsi Ratna Maruddin, 1995. Pengaruh Campuran Susu Sapi dan Susu Kedelai Sebagai Bahan Dasar Pembuatan Dangke. Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian dan Kehutanan, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Hadiwiyoto, Suwedo, 1993. Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan. Penerbit Liberty, Yogyakarta

Ishak, Elly, H. Pakassi K, S. Berhimpon, CH. Nanere L dan Soenaryanto, 1987.. Pengolahan Hasil Pertanian. Badan Kerjasama Perguruan Tinggi Negeri Indonesia Bagian Timur, Ujung Pandang

Jay, James M., 1986. Modern Food Microbilogy. Van Nostranel Reinhold Company Inc, New York.

Lehninger, Albert L., dalam Maggy Thenawidjaja, 1982. Dasar-dasar Biokimia Jilid I. Penerbit Erlangga.

Malla, Akil M., Veni Hadju dan Metusalach, 1997. Aspek Gizi Dan Kesehatan Makanan Laut. Pusat Studi Gizi dan Pangan UniversitasHasanuddin, Makassar.

Mayes, Peter A., Daryl K. Granner, Victor W. Rodwell, David W. Martin, JR, 1987. Biokimia Harper Edisi 20 (Harper's Review Of Biochemistry). Penerjemah Iyan Darmawan. Penerbit EGC, Jakarta.

Pour El, A., 1981. Protein Functionality. Desification, Definition and Methodology dalam J.P. xylostella Chrry, Protein Functionality in Food. American Chemistry, Washington DC.

Stansby, M.E and Oleott, 1963. Composition of Fish in Industrial Fermentation Method For Conserring Fresh Fish Wash Winder S.E. Asian Condition dalam Genisa, J., (2000). Produksi Histamin Pada

Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis* L) Selama Lepas Tangkap. Universitas Hasanuddin Makassar.

Sultanry., Rubianty dan Berty Kaseger, 1985. Kimia Pangan. Badan Kerjasama Perguruan Tinggi Negri Indonesia Bagian Timur, Lembaga Penerbitan Universitas Hasanuddin, makassar.

Volk A. Wesley and Eheeler F. Margaret, 1988. Basic Microbiology. Penerjemah Markham M.Sc. dalam Mikrobiologi Dasar. Penerbit Erlangga, Jakarta.

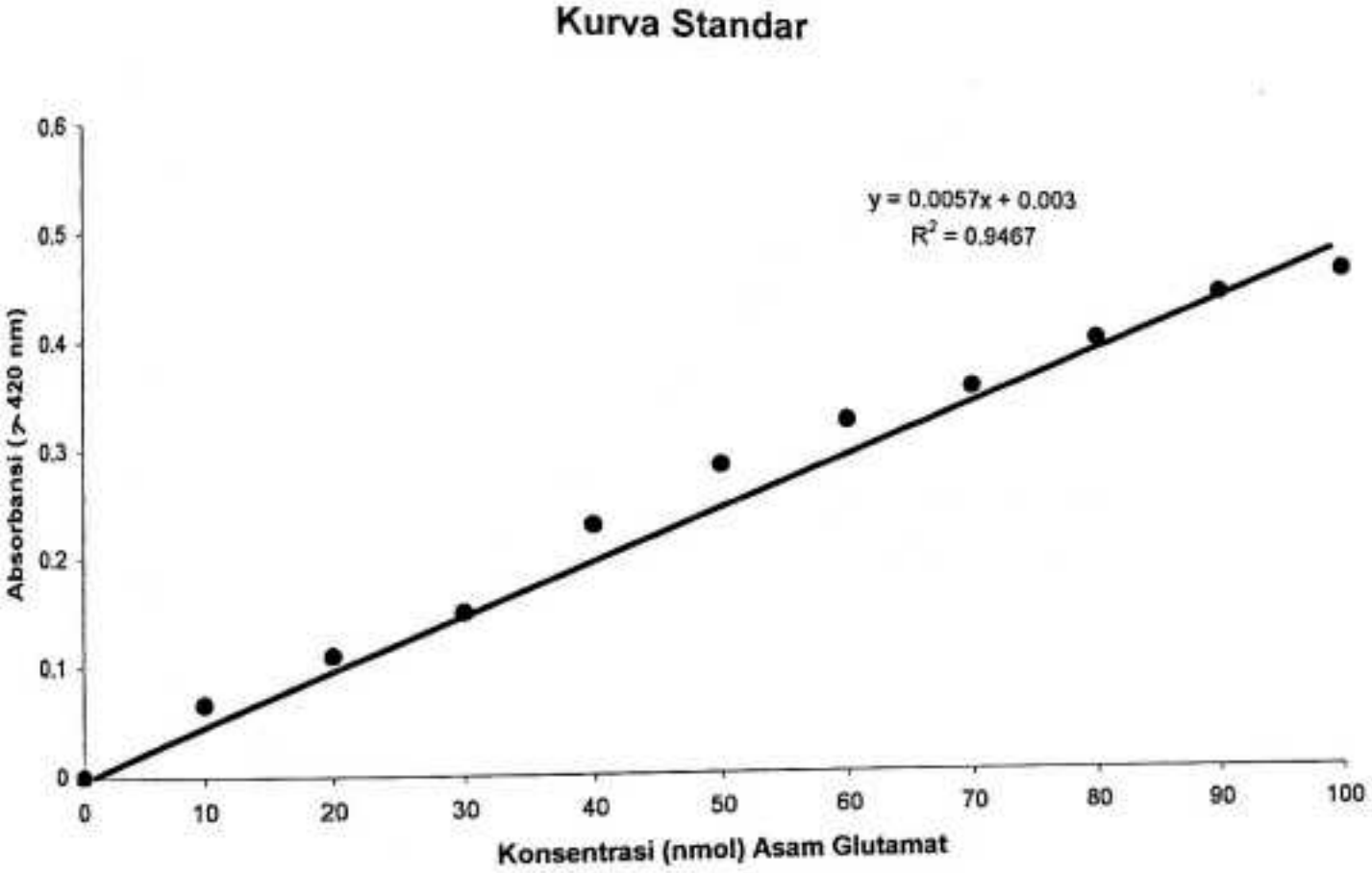
Winarno, F.G. , 1995. Enzim Pangan. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama.

Winarno, F.G., 1982. Kimia Pangan Dan Gizi. Penerbit PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.

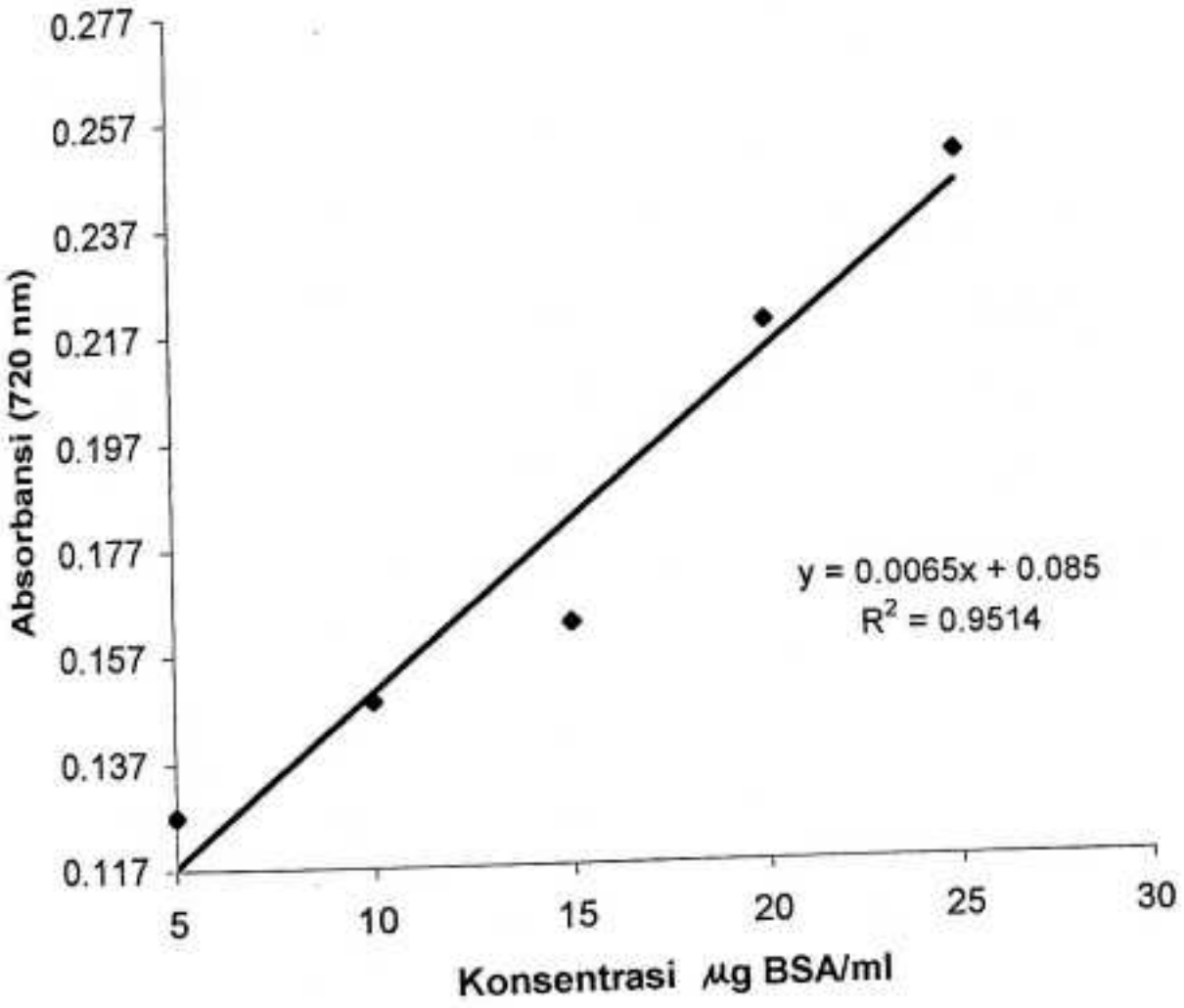
Zaitsev, V.I., Kezevetter, L. Lagunov, T. Makarova L. Minder, V. Potselov, 1989. Fish Curing and Processing dalam Genisa, J., 2000. Produksi Histamin Pada Ikan Cakalang (*Katsuwonus pelamis* L) Selama Lepas Tangkap. Universitas Hasanuddin Makassar.

Zubay Geofrey, 1986. Biochemistry. Second Edition. Collier Mc. Millan Publisher, London.

Lampiran 1a. Grafik Kurva Standar Asam Amino Bebas



Lampiran 1b. Grafik Kurva Standar Protein



Lampiran 2. Data Protein terlarut yang Dihidrolisa Dengan Enzim *Papain* (µg)

Perlakuan	A_1		A_2		Total
	U_1	U_2	U_1	U_2	
t_0	36.178	47.836	36.538	52.524	173.076
t_1	401.082	409.375	515.384	437.620	1763.461
t_2	608.774	640.144	707.692	583.774	2540.384
t_3	693.389	570.913	761.538	806.851	2832.691
t_4	647.235	732.452	1115.384	1014.543	3509.614
t_5	778.005	807.067	823.077	1006.851	3415.000
t_6	747.235	717.067	784.615	953.005	3201.922
Total	3911.898	3924.854	4744.228	4855.168	17436.148

Lampiran 2a. Analisa Sidik Ragam Protein Terlarut Yang Dihidrolisa Dengan Enzim *Papain* (µg)

SK	*DB*	*JK*	*KT*	*F.Hit*	*F.Tab*	
					0.05	*0.01*
Perlakuan	13	2307544.566	177503.428	41.002**	2.515	3.769
t	6	2104509.163	350751.527	81.022**	2.850	4.460
A	1	110961.210	110961.210	25.632**	4.600	8.860
A x t	6	92074.194	15345.699	3.545*	2.850	4.460
GALAT	14	60607.244	4329.089			
TOTAL	27	2368151.811	87709.326			

Keterangan : * = Berbeda nyata
** = Berbeda sangat nyata

t = Waktu Hidrolisa
A = Perlakuan Ikan : Air

Lampiran 2b. Uji Lanjutan DMRT Protein Yang Dihidrolisa Dengan Enzim *Papain* (µg).

PERLAKUAN	A_1	A_2	*NP* $DMRT_{0.05}$
t_0	42.007[a]	44.531[a]	140.970
t_1	405.229[b]	476.502[b]	172.141
t_2	624.459[c]	645.733[c]	191.216
t_3	632.151[c]	784.195[cd]	205.174
t_4	689.844[c]	1064.964[e]	215.874
t_5	792.536[c]	914.964[de]	224.714
t_6	732.151[c]	868.810[d]	
NP $DMRT_{0,05}$	140.970		

Keterangan: Huruf yang sama (a,b,c,d,e) pada kolom yang sama tidak berbeda nyata

Lampiran 3. Data Protein Terlarut Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum* (µg).

PERLAKUAN	A_1		A_2		A_3		Total
	U_1	U_2	U_1	U_2	U_1	U_2	
B_0	15.384	34.616	34.615	7.692	11.538	19.231	123.076
B_1	92.308	30.77	49.999	26.923	26.923	42.308	269.231
B_2	269.231	223.077	7.692	130.769	92.308	57.693	780.770
B_3	138.461	46.154	46.153	84.615	69.231	34.616	419.230
B_4	30.769	34.616	123.076	3.846	7.692	73.077	273.076
B_5	50.000	3.846	73.076	42.308	34.615	38.462	242.307
Total	596.153	373.079	334.611	296.153	242.307	265.387	2107.69

Lampiran 3a. Analisa Sidik Ragam Protein Terlarut Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum* (µg).

SK	DB	JK	KT	F.Hit	F.Tab	
					0.05	0.01
Perlakuan	17	89382.164	5257.77	3.322		
A	2	44313.158	22156.58	13.998**	3.550	6.010
B	5	9520.115	1904.02	1.203tn	2.770	4.250
A x B	10	35548.891	3554.89	2.246*	2.410	3.510
GALAT	18	28490.960	1582.83			
TOTAL	35	117873.124	3367.80			

Keterangan : * : Berbeda nyata
** : Berbeda sangat nyata A = Perlakuan Ikan : Air
tn : Tidak berbeda nyata B = Waktu Fermentasi

Lampiran 3b. Uji Lanjutan DMRT Protein Terlarut Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum* (µg).

PERLAKUAN	A_1	A_2	A_3	NP $DMRT_{0.05}$
B_0	25.000[a]	21.154[a]	15.385[a]	83.552
B_1	61.539[a]	38.461[a]	34.616[a]	87.772
B_2	246.154[b]	69.231[a]	75.001[a]	90.304
B_3	92.308[a]	65.384[a]	51.924[a]	91.992
B_4	32.693[a]	63.461[a]	40.385[a]	93.399
B_5	26.923[a]	57.692[a]	36.539[a]	
NP $DMRT_{0.05}$	83.552	87.772		

Keterangan: Huruf yang sama (a,b) pada kolom yang sama tidak berbeda nyata.

Lampiran 4. Data Asam Amino yang Dihidrolisa Dengan Enzim *Papain* (µg).

Perlakuan	A_1		A_2		Total
	U_1	U_2	U_1	U_2	
t_0	17.408	1.934	2.579	0.645	22.566
t_1	25.145	9.671	6.448	3.868	45.132
t_2	34.171	19.342	14.829	12.25	80.592
t_3	41.263	25.79	17.408	29.658	114.119
t_4	32.236	32.881	21.277	38.04	124.434
t_5	47.066	27.079	36.75	32.881	143.776
t_6	61.25	42.553	43.842	49	196.645
Total	258.539	159.25	143.133	166.342	727.264

Lampiaran 4a. Analisa Sidik Ragam asam Amino Yang Dihidrolisa Dengan Enzim *Papain* (µg).

SK	DB	JK	KT	F.Hit	F.Tab	
					0.05	0.01
Perlakuan	13	5865.59994	451.20000	5.802**	2.515	3.769
t	6	5332.49089	888.74848	11.429**	2.850	4.460
A	1	418.99724	418.99724	5.388*	4.600	8.860
A x t	6	114.11181	19.01863	0.245tn	2.850	4.460
GALAT	14	1088.67956	77.76283			
TOTAL	27	6954.27949	257.56591			

Keterangan : tn = Tidak nyata
* = Berbeda nyata
** = Berbeda sangat nyata

A = Perlakuan Ikan : Air
t = Waktu Hidrolisa

Lampiran 5. Data Asam amino Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum* (µg).

PERLAKUAN	A_1		A_2		A_3		Total
	U_1	U_2	U_1	U_2	U_1	U_2	
B_0	0.645	4.513	4.513	5.803	8.381	11.605	35.46
B_1	11.605	6.447	10.961	9.671	1.289	4.513	44.486
B_2	18.053	14.184	26.434	3.224	4.513	17.408	83.816
B_3	19.342	18.697	32.237	31.592	28.368	36.105	166.341
B_4	29.013	19.986	45.132	34.816	26.434	27.079	182.46
B_5	26.434	13.855	52.224	49.645	18.697	21.276	182.131
Total	105.092	77.682	171.501	134.751	87.682	117.986	694.694

Lampiran 5a. Analisa Sidik Ragam Asam Amino Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum* (µg).

SK	DB	JK	KT	F.Hit	F.Tab	
					0.05	0.01
Perlakuan	17	5919.18704	348.187	10.392		
A	2	3993.48774	1996.744	59.595**	3.550	6.010
B	5	719.11369	143.823	4.293*	2.770	4.250
A x B	10	1206.58561	120.659	3.601*	2.410	3.510
GALAT	18	603.09339	33.505			
TOTAL	35	6522.28043	186.351			

Keterangan : * = Berbeda nyata
** = Berbeda sangat nyata
A = Perlakuan Ikan : Air
B = Waktu Fermentasi

Lampiran 5b. Uji Lanjutan DMRT Asam Amino Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum* (µg).

PERLAKUAN	A_1	A_2	A_3	NP DMRT$_{0.05}$
t_0	2.579^{a}	5.158^{a}	9.993^{ab}	12.156
t_1	9.026^{ab}	10.316^{a}	2.901^{a}	12.770
t_2	16.119^{bc}	14.829^{a}	10.961^{ab}	13.139
t_3	19.020^{bc}	31.915^{b}	32.237^{d}	13.384
t_4	24.500^{c}	39.974^{bc}	26.757^{cd}	13.589
t_5	20.145^{c}	50.935^{c}	19.987^{bc}	
NP DMRT$_{0.05}$	12.156	12.770		

Keterangan: Huruf yang sama (a,b,c) pada kolom yang sama tidak berbeda nyata.

Lampiran 6. Data Berat Kering Endapan Hasil Hidrolisa Enzim *Papain* (µg).

Perlakuan	A_1		A_2		Total
	U_1	U_2	U_1	U_2	
t_0	4579	4581	4329	4331	17820
t_1	4498	4502	3898	3902	16800
t_2	4039	4041	3868	3872	15820
t_3	4019	4021	3819	3821	15680
t_4	3988	3992	3669	3671	15320
t_5	3899	3901	3489	3491	14780
t_6	3839	3841	3459	3461	14600
Total	28861	28879	26531	26549	110820

DEPARTEMEN PENDIDIKAN ... PERPUSTAKAAN ...

Lampiaran 6a. Analisa Sidik Ragam Berat Kering Endapan Hasil Hidrolisa Enzim *Papain* (µg).

SK	DB	JK	KT	F.Hit	F.Tab	
					0.05	0.01
Perlakuan	13	2856071.43	219697.80	59149.41**	2.515	3.769
t	6	1949771.43	324961.90	87489.74**	2.850	4.460
A	1	775557.14	775557.14	208803.85**	4.600	8.860
A x t	6	130742.86	21790.48	5866.67**	2.850	4.460
GALAT	14	52.00	3.71			
TOTAL	27	2856123.43	105782.35			

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata

A = Perlakuan Ikan : Air
t = Waktu Hidrolisa

Lampiran 6b. Uji Lanjutan DMRT Berat Kering endapan Hasil Hidrolisa enzim *Papain* (µg).

PERLAKUAN	A_1	A_2	NP $DMRT_{0.05}$
t_0	4580^{fx}	4330^{fy}	4.129
t_1	4500^{ex}	3900^{ey}	5.042
t_2	4040^{dx}	3870^{dy}	5.601
t_3	4020^{cx}	3820^{cy}	6.010
t_4	3990^{bx}	3670^{by}	6.323
t_5	3900^{ax}	3490^{ay}	6.582
NP $DMRT_{0.05}$	3840	3460	

Keterangan: Huruf yang sama (a,b,c,d,e,f) pada kolom yang sama dan (x,y) pada baris yang sama tidak berbeda nyata.

Lampiran 7. Data Berat Kering Endapan Hasil Hidrolisa *Lactobacillus plantarum* (µg).

PERLAKUAN	A_1		A_2		A_3		Total
	U_1	U_2	U_1	U_2	U_1	U_2	
B_0	22000	20000	27000	26000	29000	28000	152000
B_1	20000	20000	26600	26000	28600	28000	149200
B_2	20000	19000	26000	25000	27000	26000	143000
B_3	18900	18900	25000	25000	26000	26000	139800
B_4	18500	18900	24800	24000	24500	25500	136200
B_5	18500	18500	24000	24000	24000	24000	133000
Total	117900	115300	153400	150000	159100	157500	853200

Lampiran 7a. Analisa Sidik Ragam Berat Kering Endapan Hasil Hidrolisa *Lactobacillus plantarum* (µg).

SK	DB	JK	KT	F.Hit	F.Tab	
					0.05	0.01
Perlakuan	17	385840000	22696471	70.926		
A	2	45346667	22673333	70.854**	3.550	6.010
B	5	334940000	66988000	209.338**	2.770	4.250
A x B	10	5553333	555333	1.735tn	2.410	3.510
GALAT	18	5760000	320000			
TOTAL	35	391600000	11188571			

Keterangan : ** = Berbeda Sangat nyata
tn = Tidak Berbeda nyata

A = Perlakuan Ikan : Air
B = Waktu Fermentasi

Lampiran 8. Data Berat Kering Filtrat Hasil Hidrolisa Enzim *Papain* (µg).

Perlakuan	A_1		A_2		Total
	U_1	U_2	U_1	U_2	
t_0	27000	29000	30000	30000	116000
t_1	31000	33000	34000	38000	136000
t_2	34000	42000	39000	41000	156000
t_3	40500	37500	42000	42000	162000
t_4	40000	40000	45500	48500	174000
t_5	39000	43000	48333	46333	176666
t_6	44000	42000	49666	45666	181332
Total	255500	266500	288499	291499	1101998

Lampiaran 8a. Analisa Sidik Ragam Berat Kering Filtrat Hasil Hidrolisa Enzim *Papain* (µg).

SK	DB	JK	KT	F.Hit	F.Tab	
					0.05	0.01
PERLAKUAN	13	997506890	76731299	14**	2.515	3.769
t	6	853628445	142271407	27**	2.850	4.460
A	1	120134572	120134572	22**	4.600	8.860
A x t	6	23743873	3957312	1tn	2.850	4.460
GALAT	14	75000000	5357143			
TOTAL	27	1072506890	39722477			

Keterangan : ** = Berbeda sangat nyata A = Perlakuan Ikan : Air
tn = Tidak Berbeda Nyata t = Waktu Hidrolisa

Lampiran 9. Data Berat Kering Filtrat Hasil Hidrolisa *Lactobacillus plantarum* (µg).

PERLAKUAN	A_1		A_2		A_3		Total
	U_1	U_2	U_1	U_2	U_1	U_2	
B_0	13000	13000	15000	15000	18500	18500	93000
B_1	13000	13000	15000	15000	19000	19000	94000
B_2	14000	13000	15500	16500	19000	20000	98000
B_3	14000	14000	16000	17000	20000	20000	101000
B_4	14500	14500	17000	19000	20000	20000	105000
B_5	15000	14000	19500	19500	24000	23000	115000
Total	83500	81500	98000	102000	120500	120500	606000

Lampiran 9a. Analisa Sidik Ragam Berat Kering Filtrat Hasil Hidrolisa *Lactobacillus plantarum* (µg).

SK	DB	JK	KT	F.Hit	F.Tab	
					0.05	0.01
Perlakuan	17	309000000.000	18176470.588	65.435		
A	2	55666666.667	27833333.333	100.200**	3.550	6.010
B	5	241166666.667	48233333.333	173.640**	2.770	4.250
A x B	10	12166666.667	1216666.667	4.380**	2.410	3.510
GALAT	18	5000000.000	277777.778			
TOTAL	35	314000000.000	8971428.571			

Keterangan : ** = Berbeda Sangat nyata

A = Perlakuan Ikan : Air
B = Waktu Fermentasi

Lampiran 9b. Uji DMRT Berat Kering Filtrat Hasil Hidrolisa *Lactobacillus plantarum* (µg).

PERLAKUAN	A_1	A_2	A_3	NP DMRT
B_0	13000^{ax}	15000^{ay}	18500^{az}	1106.854
B_1	13000^{ax}	15000^{ay}	19000^{az}	1162.755
B_2	13500^{bx}	16000^{ay}	19500^{az}	1196.296
B_3	14000^{bx}	16500^{ay}	20000^{az}	1218.657
B_4	14500^{bx}	18000^{by}	20000^{az}	1237.291
B_5	14500^{bx}	19500^{by}	23500^{bz}	
NP DMRT	1106.854	1162.755		

Keterangan : Huruf yang sama pada kolom (a,b) dan baris (x,y,z) yang sama tidak berbeda nyata.

Lampiran 10. Data pH yang Dihidrolisa Dengan Enzim Papain (μg).

Perlakuan	A_1		A_2		Total
	U_1	U_2	U_1	U_2	
t_0	6.000	6.000	6.000	6.000	24.000
t_1	6.090	6.090	6.140	6.140	24.460
t_2	6.110	6.110	6.170	6.170	24.560
t_3	6.150	6.150	6.190	6.190	24.680
t_4	6.180	6.180	6.220	6.220	24.800
t_5	6.180	6.180	6.260	6.260	24.880
t_6	6.200	6.200	6.310	6.310	25.020
Total	42.930	42.930	43.410	43.410	172.680

Lampiran 11.Data pH Yang Dihidrolisa Dengan *Lactobacillus plantarum* (µg).

PERLAKUAN	A_1		A_2		A_3		Total
	U_1	U_2	U_1	U_2	U_1	U_2	
B_0	5	5	5	5	5	5	30
B_1	5.3	5.4	5.3	5.3	5.2	5.2	31.7
B_2	5.5	5.5	5.4	5.4	5.3	5.3	32.4
B_3	5.5	5.5	5.4	5.5	5.3	5.3	32.5
B_4	5.6	5.7	5.5	5.6	5.4	5.4	33.2
B_5	5.7	5.7	5.6	5.7	5.5	5.5	33.7
Total	32.6	32.8	32.2	32.5	31.7	31.7	193.5