

## PENGARUH ENZIM BROMELIN DAN WAKTU INKUBASI PADA PROSES HIDROLISIS IKAN LEMURU MENJADI KECAP

Taufik Iskandar<sup>1)</sup> dan Desi Arena Widyasrini<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup>Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Tribhuwana Tungadewi

<sup>2)</sup>Jurusan Teknik Kimia FTI UPN Veteran Jawa Timur

### Abstract

The process of making fish ketchup used to take quite long time. There are many efforts to improve the technology; one of them is using proteolytic enzyme as a catalyst that has a function of breaking down protein into asam aminos. Anyway, the problem is that the pure proteolytic enzyme costs very expensive. This research was trying to find the way to easily and less costly make proteolytic enzyme, and highly to dissolve nitrogen as well. The extract of pineapples was then used in the hydrolysis process because it is known that it contains high quantity of bromelin enzyme act as proteolytic enzyme. A kind of fish called lemuru was chosen as a raw material of producing ketchup in this observation due to the high content of protein. The hydrolysis process is conducted in the room temperature by adding the extract of pineapples in some variety of concentration (6, 8, 10%) and using 8, 10, and 12 hours incubation time. The best result was at the concentration of 8% pineapple extract and 10 hours incubation time. It produced totally 1,0233% nitrogen, contained of 0,86% dissolvent nitrogen, 27,5% dissolvent solid substance, 17% liquid volume and viscosity of 41,364%.

*Key Word: Fisk kechup, hydrolysis, bromelin enzyme, extract of pineapples*

### Pendahuluan

Kecap ikan mempunyai cita rasa yang berbeda dengan kecap kedelai, warnanya bening kekuningan sampai coklat muda, rasanya relatif asin dan banyak mengandung senyawa-senyawa nitrogen. Kecap yang baik memiliki kandungan protein 6%, lemak 1% karbohidrat 9% dan air 63% (Winarno, 1992).

Dalam penelitian ini digunakan ikan lemuru sebagai bahan baku kecap ikan, karena ikan lemuru (*sardinella longiceps sp*) memiliki nilai gizi yang baik dengan kandungan protein yang tinggi yaitu sekitar 20%. Daging ikan lemuru mengandung tiga macam protein yang dibedakan atas kelarutannya. Golongan yang dapat larut dalam air disebut protein sarkoplasma misalnya albumin

dan yang larut dalam garam disebut protein miofibrilar misalnya globulin. Protein yang tidak larut pada kedua jenis pelarut diatas disebut kolagen. Secara lengkap komposisi ikan lemuru dapat dilihat pada tabel 1 dibawah ini:

Tabel 1. Komposisi Ikan Lemuru dalam 100 g Bahan

Komponen	Jumlah
Air	76 g
Protein	20 g
Karbohidrat	0 g
Lemak	3 g
Kalsium (Ca)	100 mg
Phosphor (P)	1 mg
Besi (Fe)	1 mg
Vitamin B1	0,005 mg
Vitamin A	100 SI

Sumber : Anonymous, 1978

Proses umum yang terjadi dalam pengolahan kecap ikan adalah proses hidrolisis yaitu proses pemecahan substrat menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan molekul air (Winarno, 1992). Substrat yang paling banyak mengalami perubahan adalah protein yang melibatkan aktivitas enzim proteolitik yaitu yang berasal dari otot ikan (katepsin), saluran pencernaan (tripsin dan pepsin) dan bakteri yang terdapat pada pencernaan ikan, insang atau pada permukaan kulitnya.

Secara tradisional fermentasi ikan berlangsung dengan cara mencampur ikan dan garam dengan perbandingan tertentu dalam wadah yang tertutup, kemudian dibiarkan sampai beberapa bulan.

Selama proses fermentasi protein ikan akan terhidrolisis menjadi senyawa-senyawa nitrogen terlarut oleh aktivitas enzim proteolitik dari ikan dan mikroba yang tumbuh selama fermentasi berlangsung. Waktu fermentasi yang lama disebabkan terbatasnya enzim proteolitik yang ada pada ikan dan mikroba yang tumbuh selama fermentasi berlangsung.

Usaha untuk mempercepat proses hidrolisis protein daging ikan banyak dilakukan dengan jalan menambah enzim proteolitik dari luar baik enzim yang berasal dari hewan maupun tumbuhan. Penggunaan enzim murni membutuhkan biaya yang tinggi mengingat harga enzim murni yang sangat mahal. Oleh karena itu dalam penelitian ini dicari sumber enzim proteolitik yang murah dan mudah untuk menghidrolisis protein daging ikan dengan hasil nitrogen terlarut cukup tinggi, maka dicoba dengan menggunakan ekstrak buah nanas yang diketahui banyak mengandung enzim bromelin

Enzim bromelin adalah enzim proteolitik yang berasal dari buah nanas. Buah nanas mengandung vitamin (A dan C), kalsium, fosfor, magnesium, besi, natrium, kalium, dekstrosa, sukrosa (gula tebu), dan enzim bromelin. Bromelin berkhasiat anti radang, membantu melunakkan makanan di lambung, mengganggu pertumbuhan sel kanker, menghambat agregasi platelet, dan mempunyai aktivitas fibrinolitik. Enzim bromelin termasuk kelompok enzim protease sulfidril yang artinya memiliki residu sulfidril pada lokasi aktifnya. Sebagai enzim proteolitik, bromelin mampu memecah protein menjadi asam-asam amino (Hamidi, 2008). Suhu optimum untuk enzim bromelin adalah 50°C, di atas dan dibawah suhu tersebut keaktifan enzim menjadi lebih rendah. Enzim bromelin memiliki berat molekul rata-rata 31.000.

Enzim bromelin dapat diaktifkan oleh sistein dan KCN. Penghambatan oleh HgCl<sub>2</sub> dapat diaktifkan kembali dengan penambahan sistein, karena akan kembali menjadi senyawa pereduksi yang memiliki gugus sulfidril pada lokasi aktifnya (Reed, 1986). Hasil penelitian (Hamidi, 2008) menunjukkan bahwa makin matang buah maka enzim bromelin dalam buah tersebut makin kurang aktif.

Kecepatan reaksi enzimatik pada umumnya tergantung pada konsentrasi substrat, semakin tinggi konsentrasi substrat, reaksi enzimatik semakin cepat sampai pada suatu saat menjadi konstan. Pada saat itu kecepatan reaksi mencapai maksimum (Winarno, 1992). Hal ini juga dipengaruhi oleh pH, suhu, jenis enzim, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim dan adanya aktifitor dan inhibitor.

Penggunaan enzim untuk menghidrolisis protein akan menghasilkan kecap yang mempunyai

komposisi lebih lengkap dibandingkan hasil hidrolisis secara kimia, sebab disamping asam-asam amino akan dihasilkan komponen pembentuk citarasa dan aroma seperti alkohol, eter, asam-asam organik serta peptida-peptida tertentu. Tahapan pemecahan protein oleh kegiatan enzim proteolitik menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana adalah sebagai berikut :

Protein (BM : 10.000) → proteosa (BM : 5000) → pepton (BM : 2000) → peptida-peptida (BM : 1000 - 500) → dipeptida (BM : 200) → asam-asam amino (BM : 100).

Tingkat keasaman kecap fermentasi mencapai pH 7,5 sedang kecap hidrolisis dengan enzimatis mencapai pH 5,72, perbedaan ini disebabkan karena ekstraksi buah nanas banyak mengandung asam organik yang secara alami terdapat dalam buah-buahan, sedangkan kecap fermentasi banyak mengandung protein dan turunannya yang bersifat basa. Kecap ikan yang mempunyai pH 6,8 sampai 7,2 tidak dapat disimpan lama, produk yang lebih baik adalah kecap ikan yang memiliki pH lebih rendah, karena itu pH kecap ikan hidrolisis enzimatis termasuk dalam kategori yang baik.

### Bahan dan Metode

Bahan dasar adalah ikan lemuru yang dibeli dari pelabuhan Tanjung Tembaga Probolinggo, nanas muda yang kira-kira berumur 3 bulan 1 minggu terhitung saat terjadinya pembuahan, dan dibeli dari kebun nanas Desa Pagedangan Kecamatan Turen Kabupaten Malang, serta bumbu-bumbu dalam pembuatan kecap antara lain garam, gula putih, gula jawa, lengkuas, serai, ketumbar, bawang merah dan bawang putih. Bahan kimia adalah NaOH 0,1 N; NaOH 30%.

Dalam penelitian ini digunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 2 faktor yang diulang sebanyak 3 kali, selanjutnya data yang diperoleh dianalisis dengan analisis ragam, untuk mengetahui adanya perbedaan diantara perlakuan dilanjutkan dengan uji beda nyata terkecil (BNT) dan apabila terdapat interaksi maka dilanjutkan dengan uji regresi. Kondisi tetap dalam proses ini adalah berat ikan lemuru 100 g, berat gula merah 75% dan bumbu-bumbu 2,6% dari berat ikan lemuru. Penambahan aquadest dengan perbandingan 1 : 1, suhu proses 100°C, suhu inkubasi suhu kamar, pH ekstrak buah nanas 4,5 dan pH kecap ikan 4,5 – 6.

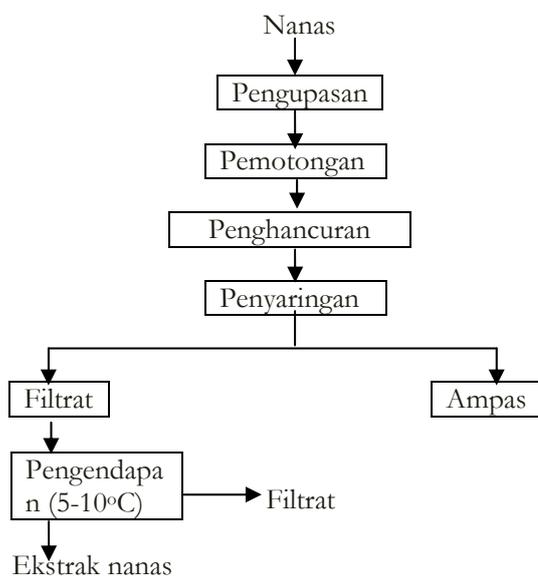
### Tahapan Proses

Penelitian ini terdiri dari dua tahap, tahap pertama adalah proses ekstraksi buah nanas menjadi enzim bromelin dan tahap kedua proses hidrolisis ikan lemuru menjadi kecap.

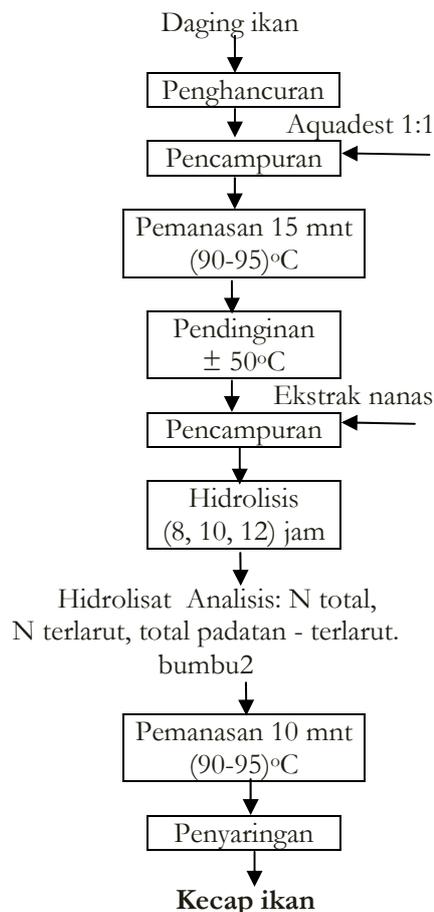
Tahap pertama dilakukan ekstraksi buah nanas dengan cara pemerasan dan penyaringan. Filtrat yang didapat kemudian diendapkan pada suhu 5-10°C, endapan berupa enzim bromelin.

Tahap kedua, daging ikan lemuru yang telah dibersihkan dan dihancurkan, ditambah aquadest, dan dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit kemudian dinginkan hingga suhu 50°C. Tambahkan ekstrak buah nanas (6; 8; 10) dan inkubasikan (8; 10; 12). Hidrolisat yang dihasilkan dianalisis kadar nitrogen total, nitrogen terlarut, total padatan terlarut dan volume cairan. Selanjutnya kedalam hidrolisat ditambahkan bumbu, gula, bahan penambah aroma serta asam benzoat sebagai bahan pengawet dan dilakukan pemanasan pada suhu 100 °C selama 10 menit. Produk berupa kecap ikan dan

dilakukan uji organoleptik terhadap rasa, warna dan viscositas.



Gambar 1. Ekstraksi Enzim Bromelin dari Buah Nanas



Gambar 2. Skema Proses Hidrolisis Ikan Lemuru menjadi Kecap

## Hasil dan pembahasan

Tabel 2. Nilai Rata-Rata Parameter Hasil Hidrolisis Ikan Lemuru dengan Penambahan Ekstrak Buah Nanas dan Waktu Inkubasi.

Konsentrasi Buah Nanas (%)	Waktu Inkubasi (jam)	Nitrogen Total (%)	Nitrogen Terlarut (%)	Total Padatan Terlarut (%)	Volume Cairan (% b/b)	Viskositas (% b/b)
6	8	0,8167	0,6525	26,3250	12,2250	28,013
	10	0,9300	0,6850	27,3500	12,5250	32,772
	12	0,9200	0,6550	26,4500	12,3500	19,034
8	8	0,9467	0,7500	26,3125	15,3500	31,637
	10	1,0233	0,8600	27,5000	17,0000	41,364
	12	1,0067	0,7875	26,1000	15,8500	26,383
10	8	0,8633	0,6830	20,3000	7,0750	28,434
	10	0,8833	0,7500	23,4650	7,8000	40,683
	12	0,7900	0,6925	20,2250	7,6750	24,958

Parameter yang diamati pada produk kecap hasil hidrolisis ikan lemuru adalah kadar nitrogen total, nitrogen terlarut, total padatan terlarut, volume cairan dan viskositas. Nilai rata-rata dari masing-masing perlakuan dapat dilihat pada tabel 2.

#### *Nitrogen total*

Dari tabel 2 terlihat kadar nitrogen total tertinggi pada penambahan ekstrak buah nanas konsentrasi 8% dan waktu inkubasi 10 jam yaitu sebesar 1,0233% b/b. Hal ini karena semakin banyak penambahan ekstrak buah nanas akan mempengaruhi hasil hidrolisat, sedangkan semakin lama waktu inkubasi akan memberi kesempatan yang lebih panjang bagi enzim untuk memecah substrat sehingga hasilnya semakin banyak sampai pada batas waktu tertentu hasil reaksi akan konstan (Winarno, 1992), penurunan nitrogen total kemungkinan disebabkan telah terbentuknya senyawa nitrogen yang mudah menguap ( $\text{NH}_3$ ) oleh bakteri pembusuk sehingga menunjukkan pengurangan nitrogen total, disamping itu senyawa nitrogen total yang ada sebagian dipergunakan oleh bakteri pembusuk sebagai sumber nitrogen. Proses tersebut menyebabkan adanya perubahan lingkungan enzim, sehingga aktifitas enzim menurun.

Berdasarkan hasil analisis ragam pada kadar nitrogen total, terdapat perbedaan yang nyata ( $p \leq 0,05$ ) pada perlakuan kombinasi antara waktu inkubasi dan penambahan ekstrak kasar buah nanas, demikian juga pada masing-masing faktor, keduanya berpengaruh nyata.

#### *Nitrogen terlarut*

Dari tabel 2 terlihat kadar nitrogen terlarut tertinggi pada penambahan ekstrak buah nanas konsentrasi 8% dan

waktu inkubasi 10 jam yaitu sebesar 0,86% b/b, sesuai dengan Reed, 1986 bahwa makin tinggi konsentrasi enzim yang ditambahkan makin besar pula kecepatan reaksinya, tetapi pada batas-batas tertentu hasil hidrolisat yang diperoleh akan konstan dengan meningkatnya konsentrasi enzim, hal ini disebabkan penambahan enzim sudah tidak aktif lagi, sedangkan waktu yang lebih lama akan menyebabkan daya kerja enzim untuk mengkatalis menjadi lebih lama dan tentunya akan menyebabkan hasil katalisa yang lebih banyak yang bergantung pula konsentrasi substrat yang ada.

Berdasarkan hasil analisis ragam pada kadar nitrogen terlarut, terdapat perbedaan yang nyata ( $p \leq 0,05$ ) pada perlakuan kombinasi antara waktu inkubasi dan penambahan ekstrak kasar buah nanas, demikian juga pada masing-masing faktor, keduanya berpengaruh nyata.

#### *Total padatan terlarut*

Dari tabel 2 terlihat kadar total padatan terlarut tertinggi pada penambahan ekstrak buah nanas konsentrasi 8% dan waktu inkubasi 10 jam yaitu sebesar 27,5% b/b. Hal ini disebabkan banyaknya penambahan ekstrak buah nanas mempengaruhi hasil hidrolisat yang menjadi semakin baik terutama zat padat yang terkandung dalam hidrolisat ikan lemuru tersebut, sesuai dengan produk kecap pada umumnya yaitu tidak terlalu padat dan tidak terlalu encer.

Berdasarkan hasil analisis ragam pada kadar total padatan terlarut, terdapat perbedaan yang nyata ( $p \leq 0,05$ ) pada perlakuan kombinasi antara waktu inkubasi dan penambahan ekstrak kasar buah nanas, demikian juga pada masing-masing faktor, keduanya berpengaruh nyata.

### *Volume cairan*

Dari tabel 2 terlihat hasil volume cairan tertinggi pada penambahan ekstrak buah nanas konsentrasi 8% dan waktu inkubasi 10 jam yaitu sebesar 17% b/b. Hal ini disebabkan penambahan ekstrak buah nanas akan mempengaruhi hasil hidrolisat menjadi semakin baik terutama pada volume cairan yang terbentuk merupakan salah satu criteria terjadinya proses hidrolisis senyawa protein menjadi senyawa yang lebih sederhana dan bersifat larut. Dengan demikian semakin besar volume cairan semakin baik proses hidrolisis protein berlangsung. Menurut Zubaidah, 1983 bahwa sampai batas tertentu kenaikan enzim akan menaikkan aktifitas enzim sampai akhirnya hasil hidrolisis menjadi konstan yang diikuti dengan peningkatan volume cairan hasil hidrolisis.

Hasil analisis ragam pada volume cairan menunjukkan adanya perbedaan yang nyata ( $p \leq 0,05$ ) pada perlakuan kombinasi antara waktu inkubasi dan penambahan ekstrak kasar buah nanas, demikian juga pada masing-masing faktor, keduanya berpengaruh nyata.

### *Viskositas*

Dari tabel 2 terlihat viskositas tertinggi pada penambahan ekstrak buah nanas konsentrasi 8% dan waktu inkubasi 10 jam yaitu sebesar 41,364% b/b. Hal ini disebabkan semakin banyak penambahan ekstrak buah nanas akan mempengaruhi viskositas hidrolisat yang dihasilkan menjadi semakin baik terutama pada tingkat pengenceran filtrat kecap ikan lemuru yang di hasilkan dan ini berpengaruh pada besarnya viskositas yang dihasilkan, selain itu juga dipengaruhi adanya faktor penambahan gula yang memberikan rasa manis pada kecap yang menyebabkan reaksi Maillard antara

gula turunan protein yang dihasilkan selama proses pemasakan akibat terjadinya hidrolisis protein oleh panas (Hamidi, 2008) sehingga meningkatkan ketersediaan gugus amino bebas yang mampu bereaksi, selain akibat dari meningkatnya jumlah gugus karbonil bebas yang tersedia dengan semakin meningkatnya konsentrasi gula dalam kecap ikan lemuru. Makin tingginya kadar komponen yang memiliki banyak sisi aktif yang bersifat polar (gula reduksi dan sukrosa) menyebabkan larutan tersebut mempunyai sifat hidrofil yang banyak berpengaruh terhadap peningkatan drajat viskositas.

Hasil analisis ragam pada viskositas kecap ikan lemuru, ternyata terdapat perbedaan yang nyata ( $p \leq 0,05$ ) pada perlakuan kombinasi antara waktu inkubasi dan penambahan ekstrak kasar buah nanas, demikian juga pada masing-masing faktor, keduanya berpengaruh nyata.

### **Kesimpulan**

Terdapat interaksi yang nyata antara perlakuan penambahan ekstrak buah nanas dan waktu inkubasi terhadap kadar nitrogen total, nitrogen terlarut, total padatan terlarut dan volume cairan serta viskositas kecap ikan lemuru. Hasil terbaik pada hidrolisis ikan lemuru adalah pada konsentrasi ekstrak buah nanas 8% (b/b) dan waktu inkubasi 10 jam, dengan hasil nitrogen total sebesar 1,0233%, nitrogen terlarut 0,8600%, total padatan terlarut 27,5000% dan volume cairan 17,0000% serta viskositas 41,364% b/b.

**Ucapan Terima Kasih**

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Ketua Jurusan Teknik Kimia FTI UPN Veteran Jawa Timur di Surabaya yang telah memberi kesempatan dan bantuan dengan sungguh-sungguh sehingga penelitian dapat berjalan semestinya..

**Daftar Pustaka**

Anonymous. 1978. Microbiology of Fish and Meat Curing Brines. In Proceeding Seminar of the Second International Symp. On Fd. Microbiol.

Hamidi, H.. 2008. Pengaruh Enzim Bromelin pada Proses Pembuatan Kecap Keong Sawah terhadap Kadar Protein Kecap Keong Sawah. Universitas Negeri Semarang, [simawa.unnes.ac.id](http://simawa.unnes.ac.id).

Reed, G. 1986. Enzime Food Processing. Academic Press. New York.

Winarno, F. G. 1992. Kimia Pangan dan Gizi. PT Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.

Zubaidah, E. 1983. Mempelajari Jenis dan Konsentrasi Enzim Proteolitik terhadap Pembentukan Hidrolisat Protein dari Ikan Lemuru (*Sardinella Longiceps* Sp). Departemen Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya Malang.