

**PENGARUH PEMBERIAN ENZIM PAPAIN KASAR (*CRUDE PAPAIN*)
DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP KUALITAS KECAP
IKAN LEMURU (*Sardinella longiceps*)**

SKRIPSI

Oleh:
MINHATIN ANIQOH
NIM. 12620086



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017**

**PENGARUH PEMBERIAN ENZIM PAPAIN KASAR (*CRUDE PAPAIN*)
DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP KUALITAS KECAP
IKAN LEMURU (*Sardinella longiceps*)**

SKRIPSI

Diajukan Kepada:

**Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

Oleh:

**MINHATIN ANIQOH
NIM. 12620086**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017**

**PENGARUH PEMBERIAN ENZIM PAPAIN KASAR (*CRUDE PAPAIN*)
DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP KUALITAS KECAP
IKAN LEMURU (*Sardinella longiceps*)**

SKRIPSI

Oleh:
MINHATIN ANIQOH
NIM. 12620086

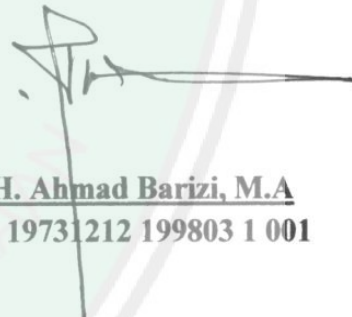
Telah disetujui oleh:
Tanggal: 03 Januari 2017

Dosen Pembimbing I



Ir. Hj. Liliek Harianie AR, M.P
NIP. 19620901 199803 2 001

Dosen Pembimbing II



Dr. H. Ahmad Barizi, M.A
NIP. 19731212 199803 1 001

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi**



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

**PENGARUH PEMBERIAN ENZIM PAPAIN KASAR (*CRUDE PAPAIN*)
DAN LAMA FERMENTASI TERHADAP KUALITAS KECAP
IKAN LEMURU (*Sardinella longiceps*)**

SKRIPSI

Oleh:
MINHATIN ANIQOH
NIM. 12620086

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan
Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 09 Januari 2017

Susunan Dewan Penguji

Penguji Utama: Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19650509 199903 2 002

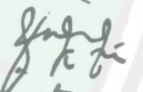
Ketua : Anik Maunatin, M.P
NIPT. 2014 0201 2 412

Sekretaris : Ir. Hj. Liliek Harianie AR, M.P
NIP. 19620901 199803 2 001

Anggota : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A
NIP. 19731212 199803 1 001

Tanda Tangan

()

()

()

()

**Mengetahui dan Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi**



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN PENULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Minhatin Aniqoh
 NIM : 12620086
 Jurusan : Biologi
 Fakultas : Sains dan Teknologi
 Judul Penelitian : Pengaruh Pemberian Enzim Papain Kasar (*Crude Papain*)
 dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Kecap Ikan
 Lemuru (*Sardinella longiceps*)

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 01 Januari 2017

Yang membuat pernyataan



Minhatin Aniqoh

NIM. 12620086

MOTTO

فَإِنَّ مَعَ الْعُسْرِ يُسْرًا ﴿١﴾

Verily, with the hardship, there is relief



PERSEMBAHAN

*Saya persembahkan skripsi ini kepada orangtua
(ayah dan ibu) saya tercinta, adik, kakak, teman-teman dan
semua keluarga yang selalu memberiku semangat, do'a,
dorongan, nasehat dan kasih sayang.*

*I presents this thesis for my beloved parents
(father and mother), sisters, brothers, friends and
my family who give me a spirit, invocation,
motivation, advice and love.*

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillahirabbil'alamin, segala puji bagi Allah atas segala ni'mat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Sholawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Baginda Nabi Muhammad SAW. Penulisan skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana pada program jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak akan maksimal tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan banyak terimakasih kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. drh. Hj. Bayyinatul Muchtaromah, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ir. Hj. Liliek Harianie AR, M.P selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan dan motivasi sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Dr. H. Ahmad Barizi, M.A selaku Dosen Pembimbing Agama yang telah meluangkan waktunya, menyalurkan ilmunya serta bimbingannya sehingga penulisan skripsi ini dapat terselesaikan.
6. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si selaku Dosen Penguji I yang telah memberikan masukan dan saran dalam penulisan skripsi ini.
7. Anik Maunatin, M.P selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan arahan dan saran dalam penulisan skripsi ini.
8. Mujahidin Ahmad, M.Sc selaku Dosen Wali selama penulis menempuh kuliah di UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

9. Seluruh dosen, staf laboratorium dan karyawan Jurusan Biologi yang telah membantu dalam proses penyelesaian skripsi ini.
10. Ayah, ibu tercinta dan seluruh keluarga yang telah menjadi inspirator dan selalu memberikan do'a, semangat, motivasi serta nasihat-nasihat dengan penuh keikhlasan, kesabaran, serta kasih sayang yang tiada hentinya sehingga penulis bisa mengenyam pendidikan setinggi ini.
11. Teman-teman semua yang sudah berkenan membantu tenaga dan juga fikiran dalam keberhasilan skripsi ini.
12. Semua pihak yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu yang telah memberikan bantuan selama penyusunan skripsi ini.

Semoga Allah SWT memberikan balasan yang berlipat ganda kepada semuanya. Akhirnya dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT, penulis mengharapkan skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya dan semua pihak pada umumnya.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 01 Januari 2017

Minhatin Aniqoh

NIM. 12620086

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN PENULISAN.....	v
MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
ABSTRAK	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.2 Tujuan	7
1.2 Hipotesis	7
1.3 Manfaat	8
1.4 Batasan Masalah	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Ikan	9
2.2.1 Ikan Lemuru.....	10
2.2 Kecap Ikan	13
2.2.1 Fermentasi Kecap Ikan	13
2.2.2 Mikrobiologi Kecap Ikan.....	16
2.2.3 Bakteri Asam Laktat (BAL)	17
2.2.4 Syarat Mutu Kecap	19
2.2.5 Faktor-Faktor Pengendalian Fermentasi Kecap.....	20
2.3 Enzim	21
2.3.1 Penggolongan Enzim	22
2.3.2 Enzim Protease	24
2.3.3 Enzim Papain	26
2.4 Hidrolisis Protein	31
2.5 Parameter Pengukuran Kualitas Kecap.....	33
2.5.1 Nilai pH.....	33
2.5.2 Kadar Protein	34
2.5.3 Kadar Garam	36

2.5.4 Rendemen	37
BAB III. METODE PENELITIAN	38
3.1 Rancangan Penelitian.....	38
3.2 Tempat dan Waktu.....	39
3.3 Variabel Penelitian.....	39
3.4 Alat dan Bahan.....	40
3.4.1 Alat.....	40
3.4.2 Bahan	40
3.5 Prosedur Penelitian	40
3.5.1 Pembuatan Kecap Ikan Lemuru.....	40
3.5.2 Uji Kualitas Kecap Ikan.....	41
3.5.2.1 Analisis Rendemen.....	41
3.5.2.2 Analisis Kadar Protein.....	41
3.5.2.2 Analisis Kadar NaCl.....	42
3.5.2.3 Analisis pH	42
3.6 Analisis Data.....	43
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	44
4.1 Pengaruh Enzim Papain Kasar dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Kecap Ikan Lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>)	44
4.1.1 Analisis Rendemen	44
4.1.2 Analisis Kadar Protein Kecap Ikan Lemuru	49
4.1.3 Analisis Kadar Garam Kecap Ikan Lemuru	56
4.1.4 Analisis Derajat keasaman (pH) Kecap Ikan Lemuru	60
4.2 Pengawetan dalam Perspektif Islam	65
BAB V. PENUTUP.....	68
5.1 Simpulan	68
5.2 Saran	68
DAFTAR PUSTAKA.....	69
LAMPIRAN.....	75

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Kandungan zat gizi ikan per 100 gram	12
Tabel 2.2 Syarat Mutu Kecap Berdasarkan SII.....	19
Tabel 2.3 Syarat Mutu Kecap Berdasarkan SNI.....	20
Tabel 2.4 Aktivitas Enzim Proteolitik	30
Tabel 3.1 Rancangan Percobaan	38
Tabel 4.1 Hasil Uji Jarak Duncan (UJD) Rendemen Kecap Ikan Lemuru	47
Tabel 4.2 Hasil Uji Jarak Duncan (UJD) Kadar Protein Kecap Ikan Lemuru	52
Tabel 4.3 Hasil Uji Jarak Duncan (UJD) pH Kecap Ikan Lemuru	64

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 <i>Sardinella longiceps</i>	11
Gambar 4.1 Rendemen kecap ikan lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>)	45
Gambar 4.2 Kadar protein kecap ikan lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>)	50
Gambar 4.3 Kadar garam Kecap Ikan Lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>)	57
Gambar 4.4 pH kecap ikan lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>).....	61



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Data Hasil Rendemen, Kadar Protein, Kadar Garam dan pH Kecap Ikan Lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>).....	75
Lampiran 2. Perhitungan Rendemen, Kadar Protein dan Kadar Garam Kecap Ikan Lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>).....	77
Lampiran 3. Hasil Analisis Statistik dengan SPSS Tentang Pengaruh Pemberian Enzim Papain Kasar (<i>Crude Papain</i>) dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein, Kadar Garam, Rendemen dan pH.Kecap Ikan Lemuru (<i>Sardinella longiceps</i>).....	82
Lampiran 4. Flow Chart Pembuatan Kecap Ikan Lemuru, Uji Kadar Protein, Uji Kadar Garam, Uji Rendemen dan pH.....	88
Lampiran 5. Absorbansi.....	92
Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian Kecap Ikan Lemuru.....	95

ABSTRAK

Aniqoh, Minhatin. 2017. Pengaruh Pemberian Enzim Papain Kasar (*Crude Papain*) dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*). Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Ir. Hj. Liliek Harianie, M.P dan Dr. H. Ahmad Barizi, M. A.

Kata Kunci: Kecap Ikan, Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*), Enzim Papain Kasar (*Crude Papain*), Lama Fermentasi.

Kecap ikan merupakan produk hasil fermentasi yang dibuat dari ikan atau limbah ikan (isi perut) dan biasanya digunakan sebagai bumbu masakan. Produk ini berupa cairan berwarna coklat jernih yang mempunyai cita rasa dan aroma yang khas. Kendala pada pembuatan kecap ikan umumnya membutuhkan waktu yang lama. Sehingga proses fermentasi bahan pangan dapat dipersingkat dengan penambahan enzim papain kasar (*crude papain*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi terhadap kualitas kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*).

Bahan yang digunakan ikan lemuru (*Sardinella longiceps*), garam dan enzim papain kasar (*crude papain*). Penelitian ini dilakukan dengan metode eksperimental laboratoris. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) faktorial. Faktor perlakuannya ditambahkan enzim papain dengan konsentrasi P1=4% (b/v), P2=7% (b/v) dan P3=10% (b/v), dan lama fermentasi W1=3, W2=6 dan W3=9 hari. Perlakuan disusun secara factorial dan ulangan dilakukan sebanyak 3 kali sehingga terdapat $3 \times 3 \times 3 = 27$ unit percobaan. Variabel yang dianalisa adalah kadar protein, kadar garam, rendemen dan pH. Data dianalisis menggunakan *Two Way ANOVA*, apabila hasil analisis menunjukkan adanya pengaruh maka dilakukan Uji Jarak Duncan (5%).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi memberikan pengaruh terhadap kadar protein, rendemen dan pH kecap ikan lemuru. Hasil terbaik pada penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi terhadap kadar protein, rendemen dan pH yaitu pada perlakuan P2W3 yaitu kombinasi enzim papain kasar (*crude papain*) 7% dan lama fermentasi 9 hari menghasilkan rendemen sebesar 90,54%, kadar protein 4,84%, kadar garam 23,28% dan pH sebesar 5,63.

ABSTRACT

Aniqoh, Minhatin. 2017. The Effect of Crude Papain Enzyme and Fermentation Length to Oil Sardine Fish Sauce Quality (*Sardinella longiceps*). Skripsi, Biology Department, Science and Technology Faculty, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang . Preceptor: Ir. Hj. Liliek Harianie, M.P dan Dr. H. Ahmad Barizi, M. A.

Keyword: Fish Sauce, Oil Sardine Fish (*Sardinella longiceps*) , Crude Papain Enzyme, Fermentation Length.

Fish sauce is a fermented product made from fish and usually used as a spice in cooking. The product is a clear brown liquid that has special taste and flavor. Generally, constraints on making fish sauce takes a long time. So that the fermentation of foodstuffs can be shortened by the addition of the enzyme papain coarse (*crude papain*). This study aims to determine the effect of the concentration of crude papain enzyme and fermentation length on the quality of fish sauce oil sardine (*Sardinella longiceps*).

Ingredients for this sauce include oil sardine (*Sardinella longiceps*), and the crude papain enzyme. This research was conducted with laboratory experimental method. The experimental design in this study used a randomized block design (RAK) factorial. Factor treatment was added to the papain enzyme at concentration of P1 = 4% (w / v), P2 = 7% (w / v) and P3 = 10% (w / v), and fermentation length W1 = 3, W2 = 6 and W3 = 9 days. Treatment was used factorial and replicates (that mean there are $3 \times 3 \times 3 = 27$ experimental units. The variables including protein amount, salt amount, yield and pH. To analysis data we are using a Two Way ANOVA, if the results of the analysis indicated an effect, than we testing it using Duncan Distance Test (5%).

The results showed that the addition of the crude papain enzyme and fermentation length gives effect to the protein amount, yield and pH of oil sardine fish sauce. The best results in addition of the crude papain enzyme and fermentation length to the protein amount, yield and pH (using P2W3 treatment) that is combination between crude papain enzyme (7%) and fermentation length (9 day) produce a yield (90.54%), protein (4.84%), salt amount (23.28%) and pH (5.63).

مستخلص البحث

عنيقة، منحة. 2017. تأثير اعطاء أنزيم غراء الخشن (*Crude Papain*) وقدم المخمرة على جودة الصلصة السمك السردين (*Sardinella longiceps*). بحث جامعي، قسم الأحياء، كلية العلوم والتكنولوجيا جامعة الإسلامية الإسلامية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف: إ.ر ليليك هرياني، الحج الماجستير و الدكتور احمد باريزي، الحج الماجستير

كلمات البحث: الصلصة السمك، السمك لامورو (*Sardinella longiceps*)، إنزيم غراء الخشن (*Crude Papain*)، قدم التخمير.

صلصة السمك هي نتاج المخمرة مصنوعة من الأسماك أو النفايات (أحشاء) وعادة ما تستخدم كتوابل في الطبخ. المنتج هو السائل البني الواضح أن لديه طعم ونكهة. القيود على جعل صلصة السمك عموما يأخذ وقتا طويلا. بحيث تخمر المواد الغذائية يمكن اختصارها من خلال إضافة الخشنة انزيم غراء (*crude papain*). وتهدف هذه الدراسة إلى تحديد تأثير تركيز الخشنة انزيم غراء (*crude papain*) وطويلة التخمير على نوعية من صلصة السمك السردين (*Sardinella longiceps*)

المواد المستخدمة هي السمك السردين (*Sardinella longiceps*)، وانزيم غراء الملح الخشن (*crude papain*). وقد أجريت هذه الدراسة مع مختبر المنهج التجريبي. كان التصميم التجريبي استخدم تصميم القطاعات العشوائية (RAK) مضروب. تمت إضافة العلاج عامل إلى غراء انزيم بتركيز $P1=4\%$ (b/v) , $P2=7\%$ (b/v) و $P3=10\%$ (b/v) الوقت التخمير $W1=3$ و $W2=6$ و $W3=9$ أيام. رتب العلاج العاملية ويكرر عمله 3 مرات حتى أن هناك $3 \times 3 \times 3 = 27$ وحدة تجريبية. وتشمل المتغيرات احظ: محتوى البروتين، محتوى الملح والمحصول ودرجة الحموضة. وقد تم تحليل البيانات باستخدام اتجاهين أنوفا، إذا أشارت نتائج التحليل وجود اختبار المسافة دنكان (5%).

أظهرت النتائج أن إضافة الخشنة انزيم غراء (*crude papain*) وطويلة التخمير يعطي تأثير إلى محتوى صلصة البروتين والمحصول ودرجة الحموضة الأسماك السردين. ولكن لا تعطي تأثير الملح. أفضل النتائج في إضافة الخشنة انزيم غراء (*crude papain*) طويلة التخمير محتوى البروتين والمحصول ودرجة الحموضة التي هي في العلاج $P2W3$ هو مزيج من انزيم غراء الخام (*crude papain*) 7% وقت التخمير 9 أيام مع المحصول الكلي من 90.54%، ومستويات بلغ البروتين يعني 4.84%، ومحتوى الملح يعني 23.28% ودرجة الحموضة (pH) يعني 5.63

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Ikan merupakan sumber protein hewani yang utama. Namun, karena sifat fisik ikan cepat mengalami pembusukan, khususnya pada iklim tropis dan kelembaban yang tinggi. Fermentasi ikan secara tradisional merupakan salah satu dari metode pengawetan berbiaya rendah dan digunakan secara luas di Asia Tenggara. Salah satu metode fermentasi yaitu dengan membuat kecap ikan. Kecap ikan dapat dibuat dari berbagai jenis ikan, baik dari air tawar maupun air laut dengan menggunakan berbagai metode pembuatan kecap (Lopetcharat *et al.*, 2001).

Allah Swt. berfirman di dalam Al-Qur'an surat An-Nahl/16 ayat 14, yaitu:

وَهُوَ الَّذِي سَخَّرَ الْبَحْرَ لِتَأْكُلُوا مِنْهُ لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُوا مِنْهُ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى
الْفُلَّكَ مَوَاجِرَ فِيهِ وَلِتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلِعَلَّكُمْ تَشْكُرُونَ ﴿١٤﴾

Artinya: “Dan Dia-lah Allah yang menundukkan lautan (untukmu), agar kamu dapat memakan daripadanya daging yang segar (ikan), dan kamu mengeluarkan dari lautan itu perhiasan yang kamu pakai; dan kamu melihat bahtera berlayar padanya, dan supaya kamu mencari (keuntungan) dari karunia-Nya, dan supaya kamu bersyukur” (QS. An-Nahl/16:14).

Ayat diatas dijelaskan bahwa Allah Swt. telah menciptakan lautan dengan berbagai macam fungsi dan kegunaannya, dari kandungan ayat tersebut dapat dijelaskan menfaat laut yaitu ada 4 hal, (1) Kekayaan akan sumber makanan, ayat tersebut mengindikasikan bahwa laut menyediakan sumber makanan berupa

daging yang segar seperti ikan, kepiting, udang serta makanan yang halal lagi baik untuk kesehatan. (2) Kekayaan berupa perhiasan, ayat tersebut mengindikasikan bahwa laut tak hanya menyediakan sumber makanan namun juga menyediakan perhiasan seperti emas, perak dan mutiara. (3) Kekayaan akan sarana transportasi, ayat tersebut mengindikasikan bahwa Allah juga menyediakan alat transportasi yaitu kapal untuk nelayan, berdagang dan sebagai mata pencaharian di laut. (4) Kekayaan akan usaha tambang, ayat tersebut mengindikasikan bahwa Allah menyeru kepada hambaNya untuk mencari keuntungan daripada laut melalui kapal yang berlayar seperti menambang berupa minyak dan gas bumi, timah dan pasir, boksit dan juga granit. Sungguh banyak hasil tambang yang dapat digali dari laut yang mendatangkan manfaat besar bagi kesejahteraan manusia dan supaya manusia itu bersyukur atas ni'matNya (Abdullah, 2006).

Ash-Shiddiqy (2000), juga menambahkan mengenai surat An-Nahl ayat 14, bahwa kata "*lahman thariyyan*" yang berarti ikan yang lembut. Ikan laut sangat lembut dagingnya dalam ayat tersebut dimaksudkan untuk mengingatkan bahwa sebaiknya ikan dimakan dengan segera, karena cepat membusuk. Ayat tersebut juga menjelaskan bahwa manusia dapat mencari keuntungan serta bersyukur atas karuni Allah Swt. karena dalam lautan terdapat ikan yang segar yang dapat dimanfaatkan oleh manusia sebagai kecap ikan. Hal tersebut dapat menambah nilai ekonomis suatu bahan serta dapat memanfaatkan ikan dari penurunan mutu akibat kerusakan dan pembusukan.

Ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) merupakan jenis ikan pelagik kecil yang banyak dijumpai di perairan Indonesia. Ikan lemuru memiliki kandungan

protein yang cukup tinggi (17,8-20%). Selain itu juga mengandung asam lemak essensial, khususnya Omega-3. Akan tetapi karena kandungan lemak yang cukup tinggi dan tidak kompaknya tekstur ikan menjadikan ikan lemuru mudah mengalami kerusakan dan pembusukan, karena aktivitas mikrobiologis pada saat pasca mortem (Suparno, 1993).

Pada saat musim timur, hasil tangkapan nelayan melimpah sementara bentuk pemanfaatannya masih terbatas untuk industri pengalengan, pindang, ikan asin dan untuk tepung ikan. Sehingga ikan tidak mendapatkan penanganan sebagaimana mestinya. Salah satu alternatif yang dapat dilakukan untuk mengatasi masalah ini adalah mengolah ikan lemuru menjadi kecap ikan. Selain proteinnya yang tinggi, harga ikan lemuru yang tergolong murah dibandingkan ikan yang lain serta keberadaan ikan lemuru yang melimpah, menjadi sebuah nilai tambah dalam pemanfaatan ikan lemuru sebagai bahan baku kecap ikan. Menurut penelitian Mayasari (2012), berdasarkan perhitungan unit pengolahan pelabuhan perikanan pantai (UP4) Kecamatan Muncar, setiap hari ikan yang dibongkar di Muncar minimal 61,22 ton.

Proses pembuatan kecap ikan yang banyak dilakukan selama ini adalah menggunakan teknik penggaraman. Teknik ini merupakan teknik yang paling tradisional, yaitu fermentasi hanya dengan memanfaatkan bakteri-bakteri *indigenous* (yang secara alamiah terdapat pada tubuh ikan), sehingga membutuhkan waktu fermentasi antara 6 sampai 12 bulan karena mikroorganisme penghasil enzim protease memerlukan waktu adaptasi yang cukup lama untuk dapat hidup dalam keadaan lingkungan berkadar garam tinggi (Ernawati, 2010).

Selain itu, kualitas produknya tidak konsisten dan kurang baik (Afrianto dan Liviawaty, 1989). Waktu proses yang lama merupakan suatu kelemahan, sehingga perlu di cari jalan keluar untuk mempercepat proses fermentasi kecap ikan. Salah satu proses yang digunakan adalah menggunakan enzim protease seperti papain, bromelin dan ficin untuk mempercepat proses fermentasi. Dalam penelitian ini menggunakan enzim papain karena memiliki aktivitas yang tinggi dibandingkan dengan enzim protease yang lainnya (Calkins, 2007).

Penggunaan enzim murni membutuhkan biaya yang tinggi, karena metode pemurniaanya sendiri membutuhkan waktu yang lama serta bahan-bahan yang diperlukan untuk pemurnian juga relatif mahal, pada penelitian ini enzim yang digunakan yaitu papain kasar (*crude papain*), dengan harapan dapat menghasilkan kecap ikan lemuru yang memiliki karakteristik kimia kecap sesuai standar, sehingga dapat menambah nilai ekonomis ikan lemuru dan waktu pembuatan kecap yang lebih singkat. Menurut Moehd (1999), Enzim papain kasar terdiri dari papain, kimopapain A, kimopapain B dan *papaya peptidase*. Papain dan kimopapain memiliki kemampuan menguraikan ikatan-ikatan dalam molekul protein. Sehingga daya enzimatis papain kasar lebih tinggi dibandingkan dengan enzim papain murni karena terdiri dari gabungan ke empat enzim proteolitik tersebut.

Enzim papain merupakan enzim yang terdapat pada tanaman papaya (*Carica papaya* L.). Enzim ini mampu memecah protein menjadi molekul yang lebih sederhana, seperti oligopeptida pendek atau asam amino dengan reaksi hidrolisis pada ikatan peptida sehingga dapat mempercepat proses hidrolisis

pembuatan kecap ikan lemuru. Suhu optimal enzim papain antara 50-60°C (Winarno, 2003). Menurut Risnawati dan Cahyaningrum (2013), enzim papain memiliki pH optimum 7.

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 asam-asam organik serta asam amino (asam glutamat dan asam aspartat) (Hamidi, 2008). Selain itu, penggunaan enzim untuk menghidrolisis protein juga menghasilkan kecap dengan pH yang lebih rendah dibandingkan dengan teknik penggaraman, sehingga mutu kecap hidrolisis enzimatis memiliki daya simpan yang lebih lama dibandingkan kecap dengan teknik penggaraman. Menurut Jay (1992), kecap yang diolah dengan teknik penggaraman memiliki nilai pH 6,2-6,6 selama penyimpanan dengan waktu fermentasi lebih dari satu tahun. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Hasnan (1991) bahwa penambahan enzim pada kecap ikan akan terbentuk asam (asam amino, asam lemak, peptida, dan lain-lain) yang diakibatkan oleh adanya aktivitas enzim proteolitik.

Kombinasi hidrolisa enzimatis dan fermentasi dapat digunakan untuk membuat kecap ikan dengan waktu yang relatif singkat. Simanjorang (2012) dalam penelitiannya, membuat kecap tutut dengan penambahn enzim papain konsentrasi 5%, 7%, 9%, 11%, kadar garam sebesar 20% dengan lama waktu fermentasi 6 hari pada suhu 50°C. Hasil dari penelitiannya menyimpulkan bahwa penggunaan papain sebesar 5% memiliki kadar protein 2,698%.

Briani, dkk (2014) dalam penelitiannya, menggunakan enzim papain pada pembuatan kecap ikan rucah dengan 3 perlakuan dan 2 faktor. Masing-masing konsentrasinya yaitu sebesar 3%, 6% dan 9%, kadar garam sebesar 20% dan variasi waktu 10, 20, 30 hari. Hasil terbaik yang diperoleh dari penelitian tersebut yaitu dengan konsentrasi enzim papain sebesar 9% dan lama fermentasi 30 hari pada suhu ruang menghasilkan nilai total N (1,27gN/100 mL).

Berdasarkan penelitian Simanjorang (2012) dan Briani (2014), maka dilakukan penelitian tentang “pengaruh pemberian enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi terhadap kualitas kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*)” dengan menambah konsentrasi enzim papain kasar 4%, 7%, 10% dan lama fermentasi 3 hari, 6 hari, 9 hari pada suhu 50°C serta penambahan garam 20% dengan harapan dapat mengetahui konsentrasi dan lama fermentasi yang efektif, sehingga menghasilkan kualitas kecap ikan dengan mutu yang baik.

Pengukuran kualitas kecap ikan meliputi beberapa parameter menurut Standar Negara Indonesia (SNI), diantaranya yaitu kadar protein, kadar garam dan pH. Kadar protein dalam kecap ikan merupakan suatu parameter yang penting, karena kualitas kecap dinyatakan baik apabila memiliki kandungan protein yang tinggi atau sesuai standart yang ditetapkan. Selain kadar protein, kadar garam juga termasuk parameter yang dilakukan untuk mengetahui berapa jumlah garam yang terkandung dalam produk kecap ikan setelah proses fermentasi.

Derajat keasaman juga merupakan parameter yang digunakan untuk menentukan kualitas kecap ikan, nilai pH berhubungan dengan kondisi/kerentanan produk terhadap serangan mikroba, sehingga dapat diperkirakan masa simpannya.

Selain pengukuran kualitas, pengukuran kuantitas produk kecap ikan juga dilakukan dengan mengukur rendemen. Rendemen merupakan parameter yang penting untuk menentukan efektif tidaknya proses produksi kecap ikan. Dengan arti, semakin besar rendemen yang dihasilkan maka semakin efisien perlakuan yang diberikan.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana pengaruh konsentrasi enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi terhadap kualitas kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*)?

1.3 Tujuan

Menganalisa pengaruh konsentrasi enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi terhadap kualitas kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*).

1.4 Hipotesis

Konsentrasi enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi dapat memberikan pengaruh terhadap kualitas kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*).

1.5 Manfaat

1. Enzim papain kasar (*crude papain*) pada getah pepaya dapat digunakan sebagai enzim proteolitik yang berguna untuk mempercepat proses hidrolisis dan proses fermentasi enzimatik pada pembuatan kecap ikan lemuru.
2. Masyarakat dapat melakukan diversifikasi pengolahan ikan lemuru sebagai alternatif untuk mengatasi kerusakan dan pembusukan ikan lemuru pasca penangkapan.

1.6 Batasan Masalah

1. Ikan lemuru yang digunakan sebanyak 50gr.
2. Ikan lemuru didapatkan dari tempat pelelangan ikan kecamatan Muncar Banyuwangi.
3. Enzim papain kasar yang di gunakan merk Paya
4. Konsentrasi papain kasar yang digunakan adalah 4%, 7%, dan 10%
5. Kadar garam yang digunakan adalah 20%.
6. Lama inkubasi pada pembuatan kecap adalah 3 hari, 6 hari dan 9 hari.
7. Proses inkubasi pada suhu 50°C
8. Inaktivasi enzim dengan oven selama 10 menit pada suhu 80-90°C.
9. Parameter yang diamati meliputi kadar protein, kadar garam, rendemen dan pH.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan

Ikan banyak mengandung protein yang sangat diperlukan oleh manusia karena protein ikan selain mudah dicerna juga mengandung asam amino dengan pola yang hampir sama dengan pola asam amino yang terdapat di dalam tubuh manusia. Komposisi ikan secara umum adalah air 60-84%, protein 18-30%, lemak 0,1-2,2%, karbohidrat 15 % dan sisanya berupa vitamin dan mineral (Afrianto dan Liviawaty, 1989).

Allah Swt. berfirman di dalam Al-Qur'an surat Fathir/35 ayat 12, yaitu:

وَمَا يَسْتَوِي الْبَحْرَانِ هَذَا عَذْبٌ فُرَاتٌ سَائِغٌ شَرَابُهُ وَهَذَا مِلْحٌ أُجَاجٌ وَمِنْ كُلٍّ تَأْكُلُونَ
لَحْمًا طَرِيًّا وَتَسْتَخْرِجُونَ حِلْيَةً تَلْبَسُونَهَا وَتَرَى الْفُلْكَ فِيهِ مَوَازِرَ لَتَبْتَغُوا مِنْ فَضْلِهِ وَلَعَلَّكُمْ
تَشْكُرُونَ ﴿١٢﴾

Artinya: *“Dan tidak sama (antara) dua laut: yang ini tawar, segar, sedap diminum dan yang lain asin lagi pahit. Dan dari (masing-masing lautan) itu kamu dapat memakan daging yang segar, dan kamu dapat mengeluarkan perhiasan yang kamu pakai, dan di sana kamu melihat kapal-kapal berlayar membelah laut agar kamu dapat mencari karunia-Nya dan agar kamu bersyukur”* (QS. Fathir/35:12).

Ayat ini menyatakan bahwa: *“Dan tiada sama (antara) dua laut: yang ini tawar, segar, sedap diminum dan yang lain asin lagi pahit”*. Penggalan ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah Swt. menciptakan beberapa jenis air yang berbeda, ada air yang tawar yakni air yang biasa kita gunakan untuk kebutuhan

sehari-hari dan ada juga air asin yakni air laut. Dari berbagai macam air tersebut Allah Swt. yang menundukkan serta menjadikannya tempat hidup binatang tumbuh dan berkembang serta pembentukan aneka perhiasan. Hal ini dimaksudkan agar manusia dapat menangkap hidup-hidup atau yang mengapung dari ikan-ikan dan binatang yang lainnya yang berada di laut maupun di sungai, sehingga manusia dapat memakan darinya daging yang segar yakni binatang-binatang yang terdapat di perairan tersebut (Shihab, 2002).

Kata “*lahman thariyyan*” yang berarti daging yang segar (Asy-Syanqithi, 2007). Daging yang segar dalam ayat tersebut dimaksudkan untuk mengingatkan bahwa sebaiknya ikan dimakan dalam keadaan segar, hal ini dikarenakan ikan dapat cepat rusak atau berubah yang dapat menurunkan nilai gizi maupun kualitas dari ikan tersebut.

2.1.1 Ikan Lemuru

Di perairan Indonesia banyak dijumpai jenis ikan lemuru (*Sardinella* sp.) yang merupakan jenis ikan pelagik kecil yaitu jenis ikan yang berenang di permukaan air laut. Ada dua jenis ikan lemuru yang penting secara ekonomis yaitu *Sardinella sirm* dan *Sardinella longiceps*. Daerah penyebaran jenis *Sardinella sirm* terutama di laut Jawa, sedangkan *Sardinella longiceps* didapatkan dalam jumlah besar di selat Bali (Rasyid, 2001).

Pada saat musim timur, hasil tangkapan nelayan melimpah dan terjadi kelebihan produksi serta tidak mendapatkan penanganan sebagaimana mestinya sehingga mengalami kerusakan dan pembusukan (Rostini, 2007). Penelitian Dwiponggo (1972) memperkirakan di Selat Bali ikan lemuru memijah pada bulan

Mei-Agustus dengan puncaknya Juni-Juli (Tampubolon, 2002). Menurut penelitian Mayasari (2012), berdasarkan penghitungan unit pengolahan pelabuhan perikanan pantai (UP4) Kecamatan Muncar, setiap hari ikan yang dibongkar di Muncar minimal 61,22 ton.. Menurut data statistika di sekretariat unit pengolahan pelabuhan perikanan pantai (UP4), Muncar merupakan penghasil ikan terbesar di Jawa Timur.

Menurut Burhanuddin *et al.* (1984), musim pemijahan ikan lemuru biasanya bersamaan dengan tingginya produktivitas perairan karena air naik (*upwelling*) yang terjadi pada musim Timur dan diperkirakan tempat pemijahannya dekat pantai atau perairan yang agak dalam. Musim Barat Daya adalah faktor terpenting yang mempengaruhi ikan lemuru dewasa untuk berpijah di perairan pantai. Ikan dewasa dan kecil berupaya ke arah pantai mencari makanan yang terdapat dalam jumlah besar pada musim Barat Daya (Tampubolon, 2002).



Gambar 2.1 *Sardinella longiceps*

Komposisi gizi ikan sangat bervariasi dan dipengaruhi oleh banyak factor yaitu spesies, jenis kelamin, tingkat kematangan (umur), musim, siklus bertelur dan letak geografis. Kandungan protein ikan sangat dipengaruhi oleh kadar air dan lemaknya. Namun secara umum dapat dikatakan bahwa ikan bersirip mengandung

protein 16-24%. Kandungan gizi berbagai jenis ikan dapat dilihat pada Tabel 2.1 berikut (Khomsan, 2004):

Tabel 2.1 Kandungan zat gizi ikan per 100 gram dari beberapa jenis ikan segar

No	Jenis Ikan	Komposisi Gizi (%)			
		Protein	Lemak	Abu	Air
1.	Ikan demersal:				
	- Petek	17,70	0,20	1,30	80,00
	- Kurisi	14,80	0,47	0,30	84,00
	- Beloso	16,00	0,50	1,30	79,50
	- Manyung	16,20	0,64	1,45	80,38
	- Kuniran	15,43	0,46	0,77	84,29
	- Kerapu	18,11	0,13	1,26	79,86
	- Kakap	20,00	0,70	2,30	77,00
	- Pari	18,24	0,53	1,07	80,41
2.	Ikan pelagis				
	- Teri	17,02	0,97	0,03	79,88
	- Kembung	22,00	0,70	0,22	75,00
	- Bandeng	20,00	4,80	1,20	74,00
	- Lemuru	20,00	3,00	1,00	76,00
	- Layang	22,00	1,70	2,30	74,00
	- Bawal	19,00	1,70	1,30	78,00
	- Tongkol	18,66	0,28	1,20	80,40

Sumber: Khomsan, 2004.

Ikan lemuru merupakan jenis ikan yang tergolong mudah rusak (*perishable food*). Tubuh ikan mempunyai kadar air yang tinggi (60-84%) dan pH tubuh ikan mendekati netral sehingga merupakan media yang baik untuk pertumbuhan bakteri pembusuk maupun mikroba yang lain (Afrianto dan Liviawaty, 1989). Menurut Adawiyah (2007), ikan merupakan bahan pangan yang mudah rusak (membusuk). Hanya dalam waktu sekitar 8 jam sejak ikan ditangkap dan dipindahkan ke daratan sudah akan timbul proses perubahan yang mengarah pada kerusakan. Karena itu agar ikan dan hasil perikanan lainnya dapat dimanfaatkan semaksimal mungkin, perlu dijaga kondisinya. Salah satu contoh

ikan yang mudah mengalami kerusakan adalah ikan lemuru (*Sardinella longiceps*).

2.2 Kecap Ikan

2.2.1 Fermentasi Kecap Ikan

Kecap ikan merupakan salah satu produk perikanan tradisional yang dibuat dengan cara fermentasi dan telah dikenal sejak lama, dengan ciri khas berupa cairan jernih berwarna kekuningan sampai coklat, mempunyai rasa gurih asin dengan bau sedikit amis. Proses pembuatan kecap dapat dilakukan dengan dua cara, yakni dengan fermentasi dan hidrolisis baik secara kimia maupun enzimatis. Pembuatan kecap dengan fermentasi telah banyak dilakukan, akan tetapi mengingat waktu yang cukup lama dan mutunya yang tidak konsisten, maka untuk tujuan praktis kecap dibuat dengan cara hidrolisis. Pada prinsipnya pembuatan secara hidrolisis adalah pembuatan protein hidrolisat. Beberapa cara hidrolisis yang biasa digunakan antara lain hidrolisis asam-basa dan enzimatis (Hidayat *et al.*, 2006).

Teknologi fermentasi merupakan salah satu cara pengolahan dan pengawetan makanan, baik secara konvensional maupun modern dengan memanfaatkan mikroba baik langsung maupun tidak langsung. Dalam proses fermentasi, mikroba maupun enzim yang dihasilkan dapat menstimulir cita rasa (flavor) yang spesifik, meningkatkan nilai cerna bahan pangan, menurunkan kandungan senyawa anti gizi atau bahan lain yang tidak dikehendaki dan dapat menghasilkan produk atau senyawa turunan yang bermanfaat bagi manusia (Misgiyarta dan Widowati, 2003).

Proses fermentasi yang terjadi pada ikan merupakan proses penguraian secara biologis atau semibiologis terhadap senyawa-senyawa kompleks terutama protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dalam keadaan terkontrol. Selama proses fermentasi, protein ikan akan terhidrolisis menjadi asam-asam amino dan peptida, kemudian asam-asam amino akan terurai lebih lanjut menjadi komponen-komponen lain yang berperan dalam pembentukan cita rasa produk (Karim, 2014).

Selama proses fermentasi akan terjadi aktivitas enzim protease terutama tripsin dan katepsin, lipase dan aminase yang dihasilkan oleh mikroba. Komponen protein, lemak dan karbohidrat akan terdegradasi sehingga akan menghasilkan komponen lain dengan berat molekul yang lebih rendah dan mudah diserap tubuh, serta terbentuk aroma dan rasa yang khas (Rahayu *et al.*, 1992). Rasa enak yang khas akan dicapai apabila hampir semua senyawa nitrogen terlarut dalam bentuk asam amino bebas. Pembentukan asam amino bebas dalam cairan kecap sangat dipengaruhi oleh waktu fermentasi. Selain itu selama penggaraman terjadi penarikan air, protein yang terdegradasi dalam jaringan tubuh ikan akan terlepas dan larut ke dalam cairan garam (Hidayat *et al.*, 2006).

Menurut Xu (2008), perubahan biokimia yang terjadi selama proses fermentasi antara lain:

1. Perubahan pH

pH pada produk fermentasi ikan dijadikan indikator untuk daya awet produk. Perubahan pH disebabkan oleh produksi asam oleh aktifitas bakteri. pH juga berperan menghasilkan rasa asam pada produk akhir fermentasi.

2. Perubahan Formaldehyde Nitrogen

Formaldehid nitrogen digunakan sebagai indeks untuk mengklasifikasikan kualitas kecap ikan, senyawa ini memegang peran penting sebagai indikator pembentukan rasa yang optimum. Peningkatan formaldehyde nitrogen selama proses fermentasi berlangsung disebabkan karena senyawa protein terhidrolisa secara bertahap oleh aktifitas bakteri proteolitik atau enzim proteinase yang terdapat pada tubuh ikan.

3. Perubahan *Total Volatile Base Nitrogen* (TVB-N) dan Kadar Garam

TVBN mengalami peningkatan karena proses autolisis yang terjadi selama proses fermentasi. Garam pada proses fermentasi memegang peran penting karena dapat memberikan citarasa dan aroma pada produk fermentasi yang dihasilkan, meningkatkan laju perombakan protein, meningkatkan nilai nutrisi produk fermentasi, dan sebagai akselerator proses fermentasi. Akan tetapi kadar garam yang berlebihan pada proses fermentasi justru akan memperlambat proses enzimatik dan juga menyebabkan daging ikan menjadi keras karena pengaruh tekanan osmotik yang semakin tinggi.

4. Asam Amino

Asam amino terbentuk karena proses autolisis pemecahan protein menjadi komponen sederhana yaitu peptida maupun asam amino. Asam amino glutamat, aspartat, sistein, leusin dan alanin adalah asam amino yang dominan pada kecap ikan. Asam amino memberikan rasa dan aroma khas produk fermentasi, seperti glutamat memberikan aroma khas daging; glisin, alanin, serin dan threonin memberikan rasa manis pada produk.

Proses fermentasi kecap ikan sebenarnya merupakan proses degradasi dan pelarutan daging ikan dengan rantai protein yang kompleks terdekomposisi menjadi rantai protein yang lebih sederhana. *Flavor* kecap ikan timbul sebagai hasil dari interaksi lemak, protein dan karbohidrat, pembentuk ester dan *flavor* (Astawan, 1989).

Senyawa yang berkontribusi terhadap rasa kecap ikan adalah asam amino (asam glutamat dan asam aspartat), peptida, nukleotida, dan asam organik (asam suksinat). Terdapat tiga faktor utama yang berkontribusi terhadap aroma kecap ikan, yaitu senyawa-senyawa yang memberikan bau amonia (*ammonia note*), keju (*cheesy note*), dan daging (*meaty note*). Senyawa-senyawa yang memberi kesan bau amonia adalah amonia, amin, dan trimetilamin yang tidak tergantung pada aktivitas mikroorganisme. Senyawa-senyawa yang memberikan kesan keju adalah asam lemak volatil berberat molekul rendah yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang menggunakan asam amino sebagai substrat, seperti asam asetat, etanolat, propionat, *n*-butirat, dan asam-asam isoelektrik. Sementara itu, senyawa-senyawa yang memberi kesan bau daging dihasilkan oleh proses oksidasi (Lopetcharat, *et al*, 2001).

2.2.2 Mikrobiologi Kecap Ikan

Proses fermentasi kecap ikan terjadi karena adanya aktivitas mikroba, khususnya bakteri yang menghasilkan enzim sehingga terjadi degradasi komponen gizi yang terdapat pada ikan menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana. Mikroba yang aktif pada pembuatan kecap ikan termasuk mikroba yang toleran terhadap garam (halofilik) (Rahayu *et al.*, 1992). Pada awal

fermentasi, bakteri yang berperan adalah *Bacillus coagulans*, *B. subtilis* dan *B. megaterium*, sedangkan pada pertengahan fermentasi, bakteri yang berperan adalah *Staphylococcus* dan pada akhir fermentasi *Micrococcus roseus*, *M. varians* dan *M. saprophyticus*. Selain itu ditemukan juga kapang *Cladosporium herbarum* dan *Aspergillus clausenii* (Adawiyah, 2007).

Beberapa dari jenis bakteri tersebut baik secara tunggal maupun bersama akan menghasilkan enzim yang mampu mendegradasi komponen-komponen dalam tubuh ikan. Jumlah mikroba yang ada pada kecap ikan akan berkurang dengan semakin lamanya fermentasi, hal ini terjadi karena adanya faktor-faktor pembatas seperti berkurangnya nutrisi dan terbentuknya asam (Rahayu *et al.*, 1992). Pada proses fermentasi ikan secara umum dan fermentasi yang menggunakan kadar garam tinggi diperkirakan jenis BAL yang mampu tumbuh dan berkembang adalah dari genus *Lactobacillus*, *Pediococcus* dan *Leuconostoc* (Buckle *et al.*, 1987).

Kecap ikan umumnya dibuat dengan kadar garam 20-30% sehingga mikroflora yang hidup di dalamnya termasuk bersifat halofilik. Berdasarkan konsentrasi garam yang dibutuhkan untuk pertumbuhannya, bakteri dapat digolongkan menjadi *slightly halophilic*, *moderately halophilic* dan *extremely halophilic* dengan konsentrasi garam untuk pertumbuhannya masing-masing 2-5%, 5-20% dan 20-30% (Kuswanto dan Sudarmadji, 1988).

2.2.3 Bakteri Asam Laktat (BAL)

Bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri yang mempunyai kemampuan untuk membentuk asam laktat dari metabolisme karbohidrat dan

tumbuh pada pH lingkungan yang rendah. Secara ekologis kelompok bakteri ini sangat bervariasi dan anggota spesiesnya dapat mendominasi macam-macam makanan, minuman atau habitat lain (Sudarmadji, 1989).

Mikroba yang terdapat pada kecap ikan termasuk mikroba yang toleran terhadap garam yang tinggi (halofilik) (Rahayu et al., 1992). Buckle *et al.*, (1987) menambahkan bahwa pada proses fermentasi ikan secara umum dan fermentasi yang menggunakan kadar garam tinggi diperkirakan jenis BAL yang mampu tumbuh dan berkembang adalah dari genus *Lactobacillus*, *Pediococcus* dan *Leuconostoc*.

Hasil degradasi protein dan lemak berupa asam-asam amino dan asam lemak dapat menstimulasi pertumbuhan BAL pada awal fermentasi. Bakteri asam laktat juga mempunyai daya adaptasi yang tinggi pada pH rendah sehingga BAL dapat mendominasi proses fermentasi kecap ikan (Jay, 1992). Jumlah BAL yang ada pada kecap ikan akan berkurang dengan semakin lamanya proses fermentasi, hal ini dapat terjadi karena adanya faktor-faktor pembatas yaitu berkurangnya nutrisi dan terbentuknya asam (Adawiyah, 2007).

Proses fermentasi juga menyebabkan terjadinya perubahan nilai pH kecap ikan lemuru akibat adanya aktivitas metabolisme BAL selama fermentasi. Selama fermentasi, asam laktat yang terbentuk semakin meningkat, yang mengakibatkan semakin banyaknya asam yang terdisosiasi dengan melepaskan ion hidrogen sehingga selama fermentasi kecap ikan, pH akan menjadi semakin menurun. Derajat keasaman produk berhubungan erat dengan produksi asam organik oleh

mikroba terutama asam laktat yang dapat menurunkan pH menjadi 5,0 atau kurang (Jay, 1992).

2.2.4 Syarat Mutu Kecap

Kecap ikan mempunyai kandungan gizi yang baik karena kandungan nitrogennya. Pada prosesnya protein pada ikan akan terhidrolisa sehingga menghasilkan senyawa-senyawa lain yang lebih dan mudah dicerna. Menurut Winarno (1993), pada umumnya kecap dibuat dari hidrolisat protein. Hidrolisis merupakan pemecahan suatu substrat menjadi senyawa-senyawa yang sederhana dengan bantuan air. Hidrolisis dapat dilakukan secara tradisional, kimiawi maupun dengan menggunakan enzim. Pada proses hidrolisis substrat, zat kimia atau enzim berfungsi sebagai katalisator.

Syarat mutu kecap berdasarkan Standar Industri Indonesia (SII) sebagaimana tersebut dalam Tabel 2.2:

Tabel 2.2 Syarat Mutu Kecap Berdasarkan SII

Parameter	Kecap Asin
Bau, rasa, warna	Normal
Kadar Garam	Min 10%
pH	5-6
Zat pengawet buatan	Max 250%
Kapang	-
Bahan berbahaya	-
Protein	Min 3%

Sumber: Handayani, 2006

Syarat mutu kecap berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI 01-4271-1996) sebagaimana tersebut dalam Tabel 2.3:

Tabel 2.3 Syarat Mutu Kecap Berdasarkan SNI

No.	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1.	Keadaan:		
1.1	Penampakan	-	Jernih
1.2	Bau	-	Khas
1.3	Rasa	-	Khas
1.4	Warna	-	Normal
2.	pH	-	5-6
3.	“Amino Nitrogen”	% b/b	Min. 5
4.	NaCl	% b/b	19-25
5.	Bahan tambahan makanan	Sesuai dengan SN-I 01-0222-1995	
5.1	Pengawet makanan		
5.2	Pewarna makanan		
6.	Cemaran logam:	Mg/kg	Maks. 2,0
6.1	Timbal (Pb)	Mg/kg	Maks. 20,0
6.2	Seng (Zn)	Mg/kg	Maks. 100,0
6.3	Raksa (Hg)	Mg/kg	Maks. 0,5
6.4	Cemaran arsen (As)	Mg/kg	Maks. 1,0
7.	Cemaran mikroba		
8.	Angka lempeng total	Koloni/g	Maks. 10^4
8.1	Coliform	APM/g	<3
8.2	<i>Salmonella</i> / 25 ml	-	Negative
8.3	<i>Staphylococcus aureus</i> / ml	-	Negative
8.4	Kapang	-	Negative

Sumber: BSN, 1996.

2.2.5 Faktor-Faktor Pengendalian Fermentasi Kecap

Faktor-faktor yang diperlukan untuk pengendalian fermentasi kecap yaitu (Handayani dan Indriastati, 2006) :

- a. Lama fermentasi, umumnya lama fermentasi kecap yang digunakan tergantung pada suhu yang digunakan. Suhu 35-38°C dibutuhkan waktu 30-40 hari.

- b. Konsentrasi garam, larutan garam bersifat hipertonik sehingga menarik air dalam bahan. Manfaat garam dalam proses fermentasi ini diantaranya menghambat mikroorganisme yang tidak diharapkan tumbuh dalam substrat.
- c. Menaikkan suhu fermentasi, pada produksi kecap ikan, peningkatan suhu 45⁰C serta mengurangi kadar konsentrasi garam dapat mengurangi waktu fermentasi. Fermentasi kecap ikan pada suhu 50⁰C menghasilkan kandungan total nitrogen lebih tinggi dibanding fermentasi pada suhu 35⁰C.
- d. pH, mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi kecap dapat tumbuh pada kondisi asam atau pH rendah.
- e. Oksigen, pada fermentasi kecap , mikroorganisme berperan merupakan kapang aerobik sehingga perlu adanya ketersediaan oksigen agar kapang dapat bekerja secara optimal.
- f. Kelembapan optimum ruangan fermentasi kapang adalah 53-65%.

2.3 Enzim

Enzim merupakan biokatalisator yang mampu meningkatkan kecepatan reaksi spesifik tanpa ikut bereaksi dan tidak menghasilkan produk samping, bersifat jauh lebih efisien dibandingkan katalis lain, disebabkan molekul enzim memiliki spesifitas yang tinggi terhadap substratnya. Ukuran molekul enzim jauh lebih besar dari ukuran substratnya karena enzim terdiri dari ratusan bahkan lebih dari seribu asam amino. Ikatan enzim dengan substrat biasa terjadi di sekitar *active site*, selain itu enzim memiliki sisi regulator yang berfungsi sebagai pengatur untuk meningkatkan ataupun menurunkan aktivitas kerja enzim. Sisi regulator ini akan mengikat molekul kecil atau substrat secara langsung ataupun

tidak langsung yang berfungsi untuk enzim-substrat yang bersifat sementara dan akan kembali membentuk enzim bebas dan produk (Lehninger, 1997).

Menurut Palmer (1985), reaksi antara enzim dengan substrat dapat terjadi menurut dua hipotesis berikut:

a. Hipotesis *Lock and Key*

Spesifitas enzim termasuk adanya struktur komplementer antara enzim dengan substrat terjadi apabila substrat mempunyai kesesuaian bentuk ruang dengan enzim pada struktur sisi aktif enzim.

b. Hipotesis *Induce Fit*

Substrat tidak mempunyai kesesuaian ruang dengan sisi aktif enzim pada kompleks enzim-substrat, tetapi dalam proses pengikatan substrat, enzim mengalami perubahan konformasi sehingga sesuai dengan substrat. Proses ini disebut proses induksi.

2.3.1 Penggolongan Enzim

Kebanyakan enzim diberi nama dengan menambahkan akhiran *-ase-* pada nama substratnya, seperti urease yang mengkatalisis hidrolisis urea. Tetapi beberapa enzim yang dinamakan tanpa menerangkan substratnya, seperti tripsin. (Lehninger, 1997).

Berdasarkan sistem penamaan enzim internasional dari IUB (International Union of Biochemistry), enzim dapat digolongkan dalam enam golongan berdasarkan reaksi yang dikatalisisnya (Lehninger, 1997), yaitu:

1. Oksidoreduktase

Oksidoreduktase (dehidrogenase atau oksidase) mengkatalisis reaksi oksidasi reduksi, seperti glukosa oksidase, alkohol dehidrogenase dan piruvat hidrogenase.

2. Transferase

Transferase mengkatalisis pemindahan suatu gugus tertentu, seperti transmetilase, transaldolase, dan transketolase.

3. Hidrolase

Hidrolase berperan dalam reaksi hidrolisis, seperti protease, amilase, selulase, pektinase, dan maltase.

4. Liase

Liase mengkatalisis penghilangan gugus tertentu dari substrat dengan atau tanpa melalui proses hidrolisis atau melalui pemutusan ikatan rangkap. Contoh: piruvat dekarboksilase.

5. Isomerase

Isomerase adalah semua enzim yang mengkatalisis reaksi isomerisasi, seperti alanin rasemase.

6. Ligase

Ligase berperan dalam reaksi pembentukan ikatan kimia, termasuk diantaranya enzim-enzim yang mengkatalisis pembentukan ikatan C-O, C-S, C-N, dan C-C. Contoh: tiokinase.

2.3.2 Enzim Protease

Enzim proteolitik adalah enzim yang dapat memecah molekul-molekul protein dengan cara menghidrolisis ikatan peptide menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti pepton, polipeptida, dipeptide, dan sejumlah asam amino (Reed, 1975). Di dalam aplikasinya, enzim dijumpai dalam bentuk kasar dan murni, baik dari hewan atau tumbuhan dan digunakan dalam pengolahan bahan makanan misalnya untuk pengempukan daging, penjernihan minuman, pembuatan keju dan mempercepat hidrolisa protein menjadi nitrogen terlarut. Enzim protease dapat dihasilkan dari berbagai sumber, yaitu bakteri, jamur, virus, tumbuhan, hewan dan manusia. Enzim protease yang dihasilkan dari tanaman diantaranya adalah papain dan bromealin. Papain merupakan enzim protease yang dihasilkan oleh buah pepaya (Reed, 1975).

Winarno (1993) menyatakan kerja enzim protease dipengaruhi oleh:

a. Suhu

Pada umumnya, semakin tinggi suhu, semakin naik laju reaksi kimia, baik yang tidak dikatalis maupun yang dikatalis oleh enzim. Pengaruh suhu terhadap enzim agak kompleks, misalnya pada suhu yang terlalu tinggi dapat mempercepat kerusakan enzim, sebaliknya semakin tinggi suhu (dalam batas tertentu) maka akan semakin tinggi aktivitas enzim tersebut. Bila suhu masih naik terus, laju kerusakan enzim semakin tinggi.

b. pH

Pada kisaran pH yang ekstrim baik asam maupun basa terjadi inaktivasi yang *irreversible* pada kisaran pH selebihnya masih dapat terjadi inaktivasi, tetapi

bersifat *reversible*. Perlu diketahui pada enzim yang sama sering berbeda pH optimumnya, tergantung asal enzim tersebut.

Perubahan aktivitas enzim akibat perubahan pH lingkungan disebabkan terjadinya perubahan ionisasi enzim, substrat atau kompleks enzim-substrat. Enzim menunjukkan aktivitas maksimum pada kisaran pH optimum. Pada kisaran pH yang ekstrim, baik asam maupun basa, terjadi inaktivasi yang *irreversible*. Pada kisaran pH yang selebihnya masih dapat terjadi inaktivasi, tetapi bersifat *reversible*. Pengaturan pH ini penting untuk mendapatkan keaktifan enzim yang maksimal (Winarno, 1993).

c. Konsentrasi enzim

Semakin tinggi enzim yang ditambahkan makin besar pula kecepatan reaksinya tetapi pada batas-batas tertentu dimana hidrolisis yang diperoleh akan konstan dengan meningkatnya konsentrasi enzim. Hal ini disebabkan penambahan enzim sudah tidak efektif lagi (Reed, 1975).

d. Konsentrasi substrat

Kusnawidjaya (1993) menyatakan bahwa kecepatan hidrolisis dari suatu reaksi sangat tergantung pada konsentrasi substrat, dimana semakin tinggi konsentrasi substrat, reaksi semakin cepat hingga mencapai kecepatan yang tetap. Untuk dapat diperoleh kompleks enzim-substrat, diperlukan adanya kontak antara enzim dengan substrat. Kontak ini terjadi pada sisi aktif enzim. Pada konsentrasi substrat rendah, sisi aktif enzim hanya akan menampung substrat sedikit. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin banyak substrat yang akan bergabung

dengan enzim pada sisi aktif tersebut. Dengan demikian, konsentrasi kompleks enzim-substrat makin besar.

e. Kadar air dan Aw

Kadar air bahan sangat mempengaruhi laju reaksi enzimatis. Pada kadar air bebas yang rendah menjadi halangan sehingga difusi baik enzim atau substrat terhambat. Akibatnya hidrolisis hanya terdapat pada bagian substrat yang langsung berhubungan dengan enzim.

f. Waktu inkubasi

Menurut Whittaker (1994), lama inkubasi berpengaruh terhadap hasil hidrolisis, dimana makin lama proses hidrolisis, makin banyak enzim yang berdifusi ke dalam substrat sehingga produk yang dihasilkan makin besar pula. Pada batas tertentu peningkatan lama hidrolisis tidak akan menambah jumlah produk disebabkan karena substratnya sudah habis atau terjadi penghambatan atau umpan balik dari produknya.

2.3.3 Enzim Papain

Papain adalah suatu zat (enzim) yang dapat diperoleh dari getah tanaman pepaya dan buah pepaya muda. Getah pepaya tersebut terdapat hampir di semua bagian tanaman pepaya, kecuali bagian akar dan biji. Kandungan papain paling banyak terdapat dalam buah pepaya yang masih muda. Getah pepaya (papain) cukup banyak mengandung enzim yang bersifat proteolitik (pengurai protein) (Warisno, 2003). Getah pepaya mengandung sebanyak 10% papain, 45% kimopapain dan lisozim sebesar 20% (Winarno, 1993).

Enzim papain adalah enzim protease yang dapat merombak struktur primer protein, yaitu ikatan antar asam amino pada rantai polimer asam amino. Enzim ini tergolong protease sulfhidril dan mengandung unsur yang cukup besar (1,2%) asam-asam amino penyusun papain adalah: lisin, arginine, asam aspartate, asparagine, asam glutamate, glutamin, teonin, serin, prolin, alanine, valin, isoleusin, leusin, tirosin, fenil alanine, triptofan, sistein dan sistin (Wirahadikusumah, 1989).

Enzim papain termasuk ke dalam golongan protease sulfhidril yang aktivitasnya sangat dipengaruhi oleh adanya satu atau lebih gugus S-H pada sisi aktifnya. Gugus sulfhidril ini berperan dalam reaksi hidrolisis substrat menyangkut pembentukan ikatan kovalen tiol ester antara gugus karboksil dan sulfhidril protein papain. Papain dapat menghidrolisis amida pada residu asam amino arginin, lisin, glutamin, histidin, glisin, dan tirosin (Leung 1996).

Aktivitas enzim papain ditandai dengan proses pemecahan substrat menjadi produk oleh gugus histidin dan sistein pada sisi aktif enzim. Beveridge (1996) memaparkan bahwa selama proses katalisis hidrolisis gugus-gugus amida, mula-mula gugus sistein (Cys-25) yang bersifat sangat reaktif berikatan dengan substrat pada sisi aktif papain sehingga dihasilkan ikatan kovalen substrat dengan enzim yang berbentuk tetrahedral. Kemudian gugus histidin (His-159) terprotonasi sehingga berikatan dengan nitrogen yang terdapat di dalam substrat. Akibatnya gugus amin pada substrat terdifusi dan kedudukannya digantikan oleh molekul-molekul air yang pada akhirnya menghidrolisis hasil intermediet sehingga mengembalikan enzim ke dalam bentuk dan fungsinya seperti semula.

Kerja enzim papain pada fermentasi kecap ikan yaitu enzim papain sebagai enzim protease dapat mengurai protein dalam kolagen dan serat otot. Proteolisis kolagen dan serat otot dapat mengakibatkan *shear force* kolagen dan serat otot berkurang, sehingga kerapatan daging ikut berkurang. Proteolisis miofibril menghasilkan fragmen protein dengan rantai peptida lebih pendek, semakin banyak proteolisis pada miofibril, maka jumlah protein terlarut semakin besar. Terhidrolisisnya myofibril menyebabkan hilangnya ikatan antar serat dan juga pemecahan serat menjadi fragmen yang lebih pendek, menjadikan sifat serat otot lebih mudah terpisah sehingga daging ikan mudah hancur (Prasetyo, 2012).

Menurut Warisno (2003) papain kasar dapat diperoleh dengan mengeringkan getah pepaya dibawah sinar matahari selama 1 -3 hari atau sampai semua air dari getah menguap. Papain kasar juga didapatkan dengan mengeringkan getah pepaya pada oven dengan suhu antara 50-60 °C. Untuk mendapatkan papain kasar dari getah pepaya dapat dilakukan dengan mengeringkan getah pepaya pada oven dengan suhu optimum pada 55 °C.

Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim papain, yaitu:

1. Konsentrasi enzim

Enzim papain mempunyai kemampuan untuk melunakkan daging dan menghidrolisis ikatan peptida dari protein. Tingginya konsentrasi enzim yang digunakan akan mempengaruhi banyaknya substrat yang dapat ditransformasi. Konsentrasi enzim yang berlebihan akan menyebabkan proses tersebut menjadi tidak efisien. Derajat kemurnian enzim papain yang tinggi, mempunyai hubungan linear dengan jumlah enzim dan taraf aktivitas (Lehninger, 1993).

2. Suhu

Reaksi yang dikatalisis oleh enzim sangat peka terhadap suhu. Enzim sebagai protein akan mengalami denaturasi pada suhu yang tinggi sehingga mengakibatkan daya kerja enzim tersebut menurun (Girindra, 1993). Enzim akan semakin aktif apabila suhu dinaikkan (sampai suhu optimumnya), tetapi bila suhu tersebut terus dinaikkan maka laju kerusakan enzim akan melampaui reaksi katalisis enzim sehingga menyebabkan reaksi tidak efisien. Suhu optimal papain sendiri adalah 50-60°C. Papain relatif tahan terhadap suhu, bila dibandingkan dengan enzim proteolitik lainnya seperti bromelin dan fisin (Winarno, 1993).

3. pH

Enzim menunjukkan aktivitas maksimum pada suatu kisaran pH yang disebut pH optimum (Winarno, 1993). Setiap enzim memiliki selang pH tertentu untuk dapat melakukan aktivitasnya. Enzim akan mengalami denaturasi dan mengakibatkan kehilangan aktivitasnya apabila enzim bekerja di bawah atau di atas selang pH tersebut. Derajat keasaman (pH) sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim, karena sifat ionik gugus karboksil dan gugus amino mudah dipengaruhi oleh pH. pH ini juga menyebabkan daerah katalitik dan konformasi enzim menjadi berubah (Lehninger, 1997).

Aktivitas enzim papain cukup spesifik karena papain hanya dapat mengkatalisis proses hidrolisis dengan baik pada kondisi pH serta suhu dalam kisaran waktu tertentu. Papain mempunyai pH optimum 7,2 pada substrat BAEE (benzoil arginil etil ester), pH 6,5 pada substrat kasein, pH 7,0 pada albumin dan pH 5,0 pada gelatin (Muchtadi *et al.*, 1992).

4. Pengaruh Inhibitor (faktor penghambat)

Inhibitor adalah suatu senyawa atau gugus senyawa yang menghambat aktivitas enzim. Enzim sangat peka terhadap senyawa atau gugus senyawa yang diikatnya. Enzim papain sangat sensitif terhadap logam. Adanya logam akan merusak gugus sulfhidril yang merupakan gugus katalitik enzim papain. Keaktifan enzim papain akan hilang bila direaksikan dengan oksidator (Girindra, 1993).

Menurut Calkins *et al.* (2007) dalam penelitiannya tentang pemberian enzim untuk melunakkan daging, diketahui bahwa aktivitas enzim papain lebih besar dibandingkan dengan enzim proteolitik yang lain yaitu dapat dilihat pada Tabel 2.4 yaitu:

Tabel 2.4 Aktivitas Enzim Proteolitik

<i>Protease</i>	<i>Enzyme target level (ppm)</i>	<i>Enzyme Activity Units added (per lbs)</i>
Papain	9.0	1500 MCU
Bromelain	14.5	1400 MCU
Ficin	9.0	1240 MCU

Sumber: Calkins, 2007.

Allah Swt. berfirman di dalam Al-Qur'an surat Thaha/20 ayat 53, yaitu:

الَّذِي جَعَلَ لَكُمُ الْأَرْضَ مَهْدًا وَسَلَكَ لَكُمْ فِيهَا سُبُلًا وَأَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجْنَا بِهِ أَزْوَاجًا مِّنْ نَّبَاتٍ شَتَّى ﴿٥٣﴾

Artinya: “(Tuhan) yang telah menjadikan bagimu bumi sebagai hamparan dan yang telah menjadikan bagimu di bumi itu jalan-jalan, dan menurunkan dari langit air hujan. Maka Kami tumbuhkan dengan air hujan itu berjenis-jenis dari tumbuh-tumbuhan yang bermacam-macam”(QS. Thaha/20:53).

Berbagai macam tumbuhan yang ada di dunia ini merupakan ciptaan Allah Swt. yang banyak membari manfaat dan kenikmatan kepada manusia. Tanaman papaya adalah salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai enzim protease. Hal tersebut dapat dibuktikan dengan hasil hidrolisis enzimatis kecap ikan menggunakan *crude papain*.

Allah Swt. berfirman di dalam Al-Qur'an surat Asy-Syu'ara'/26 ayat 7, yaitu:

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, betapa banyak Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam (tumbuh-tumbuhan) yang baik?” (QS. Asy-Syu'ara'/26:7).

Menurut Tafsir Ibnu Katsir: Surat Asy-Syu'ara' ayat 7 menjelaskan bahwa Dialah Yang Mahaperkasa, Mahaagung lagi Mahakuasa yang telah menciptakan bumi dan menumbuhkan di dalamnya tumbuh-tumbuhan yang baik berupa tanaman, buah-buahan dan hewan (Abdullah, 2006).

2.4 Hidrolisis Protein

Hidrolisis diartikan sebagai pemecahan banyak ikatan menjadi ikatan lebih kecil dan sederhana. Pada hidrolisis, sebuah ikatan antara dua atom dipecah. Meskipun demikian istilah hidrolisis kadang-kadang berkembang pada reaksi pemecahan banyak ikatan menjadi satu ikatan (Kirk dan Othmer, 1953).

Hidrolisis protein dapat dilakukan secara kimia dan enzimatis. Selain itu hidrolisis protein dapat dilakukan menggunakan uap panas, kapang, khamir, dan bakteri. Hidrolisis protein terjadi bila protein dipanaskan dengan asam, alkali

kuat, atau dengan penggunaan enzim yang akan disertai dengan pembebasan asam amino penyusun molekul protein (Kirk dan Othmer, 1953). Ikatan peptida pada protein dapat dihidrolisis dengan perebusan asam atau basa kuat untuk menghasilkan komponen asam amino dalam bentuk bebas. Ikatan ini dapat juga dihidrolisis dengan enzim tertentu, seperti tripsin dan kemotripsin (Lehninger, 1997).

Hidrolisis protein merupakan protein yang mengalami degradasi hidrolitik dengan asam, basa, atau enzim proteolitik yang menghasilkan produk berupa asam amino dan peptida. Penggunaan enzim dalam menghidrolisis protein dianggap paling aman dan menguntungkan. Hal ini disebabkan kemampuan enzim dalam menghidrolisis protein dapat menghasilkan produk hidrolisat yang terhindar dari perubahan dan kerusakan produk (Kurniawan *et al.*, 2012).

Hidrolisis protein dipengaruhi oleh konsentrasi bahan-bahan penghidrolisis, suhu, dan waktu hidrolisis serta tekanan udara. Peningkatan konsentrasi enzim ternyata akan meningkatkan volume hidrolisat protein ikan yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut. Kecepatan katalisis enzim meningkat pada konsentrasi enzim yang lebih besar, tetapi bila konsentrasi enzim berlebih, maka proses tersebut tidak efisien. Untuk meningkatkan aktivitas hidrolisis, dapat digunakan enzim-enzim proteolitik komersial (Syahrizal, 1991).

Enzim mengkatalisis proses enzimatik pada saat dicampurkan dengan substrat. Selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis dipengaruhi oleh konsentrasi substrat,

konsentrasi enzim, nilai pH, serta suhu yang digunakan pada proses (Winarno, 1993).

Hasil hidrolisis protein secara enzimatis berupa suatu hidrolisat yang mengandung peptida yang berat molekulnya lebih rendah dan asam amino bebas. Produk hidrolisat mempunyai kelarutan pada air yang tinggi, kapasitas emulsinya baik, serta mudah diserap oleh tubuh (Fox *et al.*, 1991).

2.5 Parameter Pengukuran Kualitas Kecap

Parameter kualitas kecap yang lazim digunakan adalah kandungan proteinnya. Kandungan protein ini selain dipengaruhi oleh kandungan protein bahan baku, juga ditentukan oleh proses ekstraksi protein, taraf pengenceran akibat penambahan gula merah (khususnya kecap manis) tidak kurang dari 40% b/b dan jenis gula yang digunakan. Kecap yang baik memiliki kandungan protein 6%, lemak 1%, karbohidrat 9% dan kadar air 63% (Suhardi, 1997).

2.5.1 Nilai pH

Nilai pH diartikan sebagai logaritma konsentrasi ion hydrogen yang dinyatakan dalam gram per liter larutan. Nilai pH menunjukkan keasaman suatu larutan atau bahan. Tingkat keasaman larutan dapat digambarkan dari konsentrasi H^+ nya. Pada umumnya kehilangan asam dari larutan menyebabkan nilai pH lebih tinggi dan kebanyakan pH larutan mempunyai nilai pH antara 0-14 (Hadiwiyoto, 1994).

Derajat keasaman (pH) berhubungan dengan daya simpan produk. Kecap ikan yang mempunyai pH tinggi (6,8-7,2) tidak dapat disimpan tahan lama.

Produk yang baik adalah kecap ikan yang mempunyai pH lebih rendah. Dengan pH rendah maka pertumbuhan mikroba patogen dan pembusuk dapat dihambat karena terbentuknya ion-ion hydrogen dalam konsentrasi yang tinggi menyebabkan ketidakstabilan pada membrane dan meningkatkan permeabilitas membrane (Hadiwiyoto, 1994).

2.5.2 Kadar Protein

Protein merupakan zat makanan yang amat penting bagi tubuh, karena selain berfungsi sebagai bahan bakar dalam tubuh juga berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur (Winarno, 1993). Protein terdiri dari rantai-rantai panjang asam amino yang terikat satu sama lain dalam ikatan peptide. Asam amino terdiri dari unsur-unsur karbon, hydrogen, oksigen dan nitrogen. Protein kecap ikan dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometer. Spektrofotometer adalah alat untuk mengukur transmitan atau absorbansi suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang. Panjang gelombang cahaya UV atau *visible* bergantung pada mudahnya promosi electron. Molekul-molekul yang memerlukan lebih banyak energy untuk promosi electron, akan menyerap pada panjang gelombang yang lebih pendek. Molekul yang memerlukan energy lebih sedikit akan menyerap cahaya dalam daerah tampak (senyawa berwarna) yang mempunyai electron yang lebih mudah dipromosikan daripada senyawa yang menyerap pada panjang gelombang UV (Khopkar, 2003).

Spektrofotometer UV-Vis dapat digunakan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif. Pada aspek kuantitatif, suatu berkas radiasi dikenakan pada larutan sampel dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan akan diukur besarnya.

Radiasi yang diserap oleh larutan sampel ditentukan dengan membandingkan intensitas cahaya yang diteruskan dengan intensitas atau kekuatan radiasi cahaya yang diserap. Intensitas ini akan sebanding dengan jumlah foton yang melalui luas penampang tertentu (Rohman, dkk., 2010).

Pemilihan panjang gelombang yang digunakan untuk analisis kuantitatif adalah panjang gelombang yang mempunyai absorbansi maksimal, dilakukan dengan membuat kurva hubungan antara absorbansi dan panjang gelombang dari suatu larutan baku dengan konsentrasi tertentu. Terkadang dijumpai keadaan yang mana pemakaian panjang gelombang maksimal kurang baik. Hal ini karena misalnya, selain zat yang dianalisis, juga terdapat zat lain yang mempunyai absorbansi pada panjang gelombang tersebut. Ada beberapa variable yang dapat mempengaruhi absorbansi yaitu: jenis pelarut, pH larutan, suhu, konsentrasi tinggi dan zat pengganggu (Rohman, dkk., 2007).

Kadar protein dalam sampel kecap ikan lemuru diukur menggunakan reagen biuret. Prinsip metode ini adalah pengukuran serapan cahaya oleh ikatan kompleks berwarna ungu yang terjadi bila suatu peptide yang mempunyai dua buah ikatan peptide atau lebih bereaksi dengan ion Cu^{++} dalam suasana basa pada λ 520 nm. Perubahan pada warna sampel uji akan memberikan hasil yang positif atau negative protein. Di samping itu gugus karboksil pada asam amino dapat dilepaskan dengan proses dekarboksilasi dan menghasilkan suatu amina. Gugus amino pada asam amino dapat bereaksi dengan asam nitrit dan melepaskan gas nitrogen yang dapat diukur volumenya. Reaksi tersebut digunakan untuk menentukan gugus amino bebas pada asam amino, peptide maupun protein

(Poedjiadi, 1994). Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 520 nm. Prinsip dari spektrofotometri UV-Vis adalah sinar/cahaya dilewatkan melewati sebuah wadah (kuvet) yang berisi larutan, dimana akan menghasilkan spektrum.

2.5.3 Kadar Garam

Garam merupakan salah satu komponen yang ikut berperan dalam berperan dalam proses fermentasi kecap ikan. Garam berfungsi sebagai pengawet dimana terjadi pengurangan kadar air bebas dalam bahan pangan melalui proses osmotik dan juga berfungsi sebagai penyeleksi mikroba pada saat proses fermentasi berlangsung (Thariq, 2014). Menurut Ebine (1979), penggunaan larutan garam dalam pembuatan kecap bertujuan untuk:

1. Mencegah pertumbuhan mikroba yang tidak dikehendaki, kecuali bakteri asam laktat halofilik yang berperan dalam cita rasa dan aroma spesifik pada kecap.
2. Menghilangkan rasa pahit yang disebabkan oleh adanya pemecahan protein ikan oleh enzim protease.
3. Selain itu juga, garam berfungsi sebagai pengawet dan pemberi rasa asin pada kecap.
4. Terciptanya bagian-bagian anaerobik pada media fermentasi.

Penentuan kadar garam dapat dilakukan dengan menggunakan metode titrasi, metode titrasi yang dipilih yaitu argentometri (titrasi pengendapan) lebih khusus ke metode Mohr. Menurut Harizul (1995), proses argentometri termasuk dalam titrasi yang menghasilkan endapan dan pembentukan ion kompleks. Proses

argentometri menggunakan AgNO_3 sebagai larutan standar. Metode argentometri dipilih karena cukup akurat dalam menentukan kadar NaCl dalam sampel, dimana ion Ag^+ dari titran langsung bereaksi dengan Cl^- dalam sampel dan membentuk endapan. Prinsip dari metode Mohr adalah melakukan titrasi terhadap sampel dengan menggunakan larutan perak nitrat (AgNO_3) sehingga terbentuk endapan AgCl berwarna putih (Wiryawan, 2011).

Penentuan kadar garam dengan metode Mohr adalah dengan mentitrasi sampel kecap ikan menggunakan perak nitrat standar AgNO_3 sebagai larutan titran dan K_2CrO_4 sebagai indikatornya. Pada permulaan titrasi akan terjadi endapan perak klorida dan setelah tercapai titik ekuivalen, maka penambahan sedikit perak nitrat akan bereaksi dengan kromat dengan membentuk endapan perak kromat yang berwarna merah bata. Menurut Sudarmadji (2008), pendeteksian endapan AgCl dilakukan dengan penambahan indikator kalium kromat K_2CrO_4 yang akan menghasilkan endapan Ag_2CrO_4 berwarna merah bata.

2.5.4 Rendemen

Analisis rendemen merupakan salah satu parameter yang penting dalam menilai efektif tidaknya proses produksi kecap ikan. Semakin besar rendemen yang dihasilkan maka semakin efisien perlakuan yang diberikan. Rendemen dihitung berdasarkan perbandingan antara jumlah cairan kecap ikan yang dihasilkan dengan berat campuran daging ikan, garam dan papain kasar sebagai bahan baku. Analisa kualitas fisik kecap ikan salah satunya adalah dengan mengukur rendemen.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) Faktorial. Factor perlakuannya adalah ditambahkan enzim papain dengan konsentrasi P1=4% (b/v), P2=7% (b/v) dan P3=10% (b/v), diinkubasi dalam lama waktu W1=3, W2=6 dan W3=9 hari. Perlakuan disusun secara factorial dan ulangan dilakukan sebanyak 3 kali sehingga terdapat $3 \times 3 \times 3 = 27$ unit percobaan. Selanjutnya dilakukan analisis kadar protein, kadar garam, analisis rendemen dan pH.

Tabel 3.1 Rancangan Percobaan Penelitian Kecap Ikan Hidrolisis Enzim Papain

Lama Inkubasi	Konsentrasi <i>Crude Papain</i>		
	P1	P2	P3
W1	P1W1	P2W1	P3W1
W2	P1W2	P2W2	P3W2
W3	P1W3	P2W3	P3W3

Keterangan:

P1W1: Konsentrasi enzim 4%, dan lama inkubasi 3 hari.

P1W2: Konsentrasi enzim 4%, dan lama inkubasi 6 hari.

P1W3: Konsentrasi enzim 4%, dan lama inkubasi 9 hari.

P2W1: Konsentrasi enzim 7%, dan lama inkubasi 3 hari.

P2W2: Konsentrasi enzim 7%, dan lama inkubasi 6 hari.

P2W3: Konsentrasi enzim 7%, dan lama inkubasi 9 hari.

P3W1: Konsentrasi enzim 10%, dan lama inkubasi 3 hari.

P3W2: Konsentrasi enzim 10%, dan lama inkubasi 6 hari.

P3W3: Konsentrasi enzim 10%, dan lama inkubasi 9 hari.

3.2 Tempat dan Waktu

Penelitian tentang pengaruh pemberian enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi terhadap kualitas kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) dilaksanakan di laboratorium Mikrobiologi, Genetika dan Biokimia jurusan Biologi fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang yang dilaksanakan pada bulan Mei-Juni 2016.

3.3 Variabel Penelitian

Variable yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari 3 variabel yang meliputi: 1) variable bebas, 2) variable terikat dan 3) variable terkendali.

1. Variable bebas yaitu factor yang sengaja diubah atau dimanipulasi oleh peneliti dengan maksud untuk mengetahui perubahan yang terjadi. Variable bebas yang digunakan adalah jumlah pemberian enzim papain kasar (*crude papain*) 4%, 7%, 10% dan lama fermentasi 3, 6, 9 hari.
2. Variable terkendali yaitu factor yang sengaja dikendalikan supaya tidak mempengaruhi variable bebas maupun variable terikat. Variable terkendali dalam penelitian ini adalah konsentrasi enzim dan suhu 50°C.
3. Variable terikat yaitu variable yang diukur atau diamati sebagai akibat dari manipulasi variable bebas. Variable terikat dalam penelitian ini yaitu kadar protein, kadar garam, rendemen dan pH.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada pembuatan kecap ikan lemuru adalah pisau, sendok, panci, talenan, beker glass, gelas ukur, Erlenmeyer, mortar partel, botol kecil, botol sedang, kompor, saringan halus, pipet, incubator, pH meter, timbangan analitik, tabung reaksi, rak tabung, spektrofotometer, alat titrasi, buret, corong glass.

3.4.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan lemuru (*Sardinella lemuru*), enzim papain kasar merk “paya”, air, garam, reagen biuret, K_2CrO_4 5% dan $AgNO_3$ 0,1 N.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Pembuatan Kecap Ikan Lemuru

1. Ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) dicuci dan disiangi (pembuangan kepala dan isi perut).
2. Dikukus selama 10 menit untuk mengurangi kandungan lemak dalam ikan.
3. Dihaluskan daging ikan lemuru dengan menggunakan mortar. Diambil daging ikan lemuru 50 gram untuk setiap sampelnya.
4. Ditambahkan enzim papain dengan konsentrasi 2 gram, 3,5 gram, 5 gram.
5. Ditambah garam (NaCl) sebanyak 10 gram.
6. Ditambah air dengan perbandingan 50 ml

7. Daging ikan lemuru yang telah dicampur dengan bahan diatas ditutup rapat lalu diinkubasi pada suhu 50°C selama 3, 6 dan 9 hari.
8. Inaktivasi enzim pada suhu 80-90 selama 20 menit.
9. Disaring dan dihasilkan kecap ikan lemuru.

3.5.2 Uji Kualitas Kecap Ikan

3.5.2.1 Analisis Rendemen

Rendemen yaitu perbandingan antara berat produk setelah jadi dengan berat adonan. Rendemen dapat dihitung dengan rumus (AOAC, 1990):

1. Ditimbang berat sampel campuran semua bahan sebelum pemasakan menggunakan neraca analitik.
2. Ditimbang berat akhir yang dihasilkan setelah proses pemasakan dengan neraca analitik.
3. Persentase rendemen yang dihasilkan dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Rendemen (\%)} \text{ massa produk} = \frac{\text{massa produk kecap}}{\text{massa bahan baku}} \times 100\%$$

3.5.2.2 Analisis Kadar Protein

Uji kadar protein pada kecap ikan lemuru dengan metode biuret (Suhardi, 1997) yaitu:

1. Ditimbang 1 gram sampel kecap ikan lemuru
2. Dimasukkan ke dalam beaker glass 10 ml.
3. Dilarutkan dengan lebih kurang 50 ml aquadest.
4. Dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml.
5. Dipipet 1 ml.

6. Ditambah 3 ml aquadest dan 6 ml reagen Biuret.
7. Dibiarkan lebih kurang 30 menit.
8. Diukur absorbansinya pada $\lambda = 520 \text{ nm}$.

3.5.2.3 Penentuan Kadar NaCl

Uji kadar NaCl pada kecap ikan lemuru ini (Fitantri, 2011), yaitu:

1. Diambil 5 ml sampel, dimasukkan erlenmeyer
2. Ditambahkan aquades sebanyak 100 ml
3. Dipanaskan sampai mendidih
4. Diencerkan menjadi 125 ml
5. Diambil 12,5 ml, dimasukkan dalam Erlenmeyer, kemudian ditambah indicator K_2CrO_4 5% sebanyak 1,5 ml
6. Dititrasi dengan AgNO_3 0,1 N sampai terbentuk endapan merah bata
7. Persentase kadar NaCl dapat dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar NaCl (\%)} = \frac{\text{ml AgNO}_3 \times 0,1 \times \text{Fp} \times \text{BM NaCl (58,46)} \times 100\%}{\text{mg sampel}}$$

3.5.2.4 Penentuan pH

Pengukuran pH sampel dilakukan dengan menggunakan pH meter adalah sebagai berikut (AOAC, 1990) :

1. Disiapkan sampel kecap.
2. Diatur *test mode selective* pada posisi pH
3. Dimasukkan bagian elektroda pH meter ke dalam larutan *buffer* untuk dikalibrasi.

4. Dibilas elektroda pH meter dengan akuades, kemudian dikeringkan dengan kertas tisu.
5. Dimasukkan ke dalam sampel yang akan diuji.
6. Dicatat angka yang tertera pada layar pH meter setelah keadaan konstan.

3.6 Analisis Data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis ragam *Two Way Anova*. Anova digunakan untuk membuktikan adanya pengaruh penambahan enzim papain dan lama inkubasi terhadap kualitas kecap ikan yang meliputi kadar protein, kadar garam, analisis rendemen dan penentuan pH. Apabila hasil analisis menunjukkan adanya pengaruh antar perlakuan karena interaksinya mempunyai nilai Signifikansi $<0,05$, sehingga perlu dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan (5%).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Enzim Papain Kasar (*Crude Papain*) dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

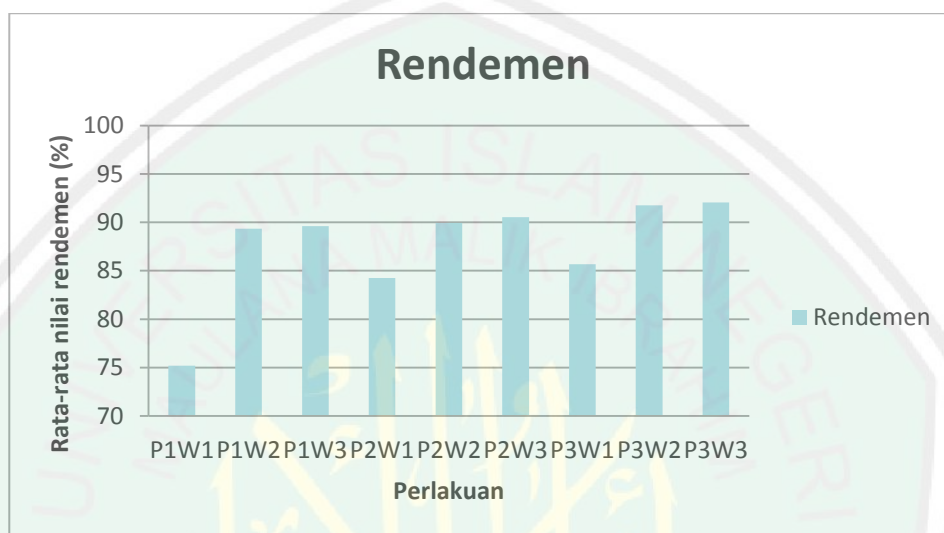
4.1.1 Pengaruh Enzim Papain Kasar (*Crude Papain*) dan Lama Fermentasi Terhadap Rendemen Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

Analisis rendemen merupakan salah satu parameter yang penting dalam menilai efektif tidaknya proses produksi kecap ikan. Semakin besar rendemen yang dihasilkan maka semakin efisien perlakuan yang diberikan. Rendemen dihitung berdasarkan perbandingan antara jumlah cairan kecap ikan yang dihasilkan dengan berat campuran daging ikan, garam dan papain kasar sebagai bahan baku. Analisa kualitas fisik kecap ikan salah satunya adalah dengan mengukur rendemen.

Rendemen kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) yang dihasilkan berupa cairan berwarna coklat keabu-abuan yang terbentuk dari daging ikan lemuru yang terhidrolisis dengan bantuan enzim papain kasar (*crude papain*) pada proses fermentasi. Penambahan papain kasar ke dalam kecap ikan berfungsi untuk mempercepat proses hidrolisis daging ikan sehingga rendemen yang dihasilkan juga semakin banyak.

Wijayanti (2005) menyatakan bahwa jenis dan konsentrasi enzim merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kecepatan tingkat degradasi enzim proteolitik. Pada proses hidrolisis dengan menggunakan enzim, substrat yang digunakan akan diubah menjadi produk hidrolisat. Persentase banyaknya produk hidrolisat yang dihasilkan terhadap berat bahan baku sebelum dihidrolisis

disebut rendemen produk hidrolisat. Persentase rendemen kecap ikan dengan perlakuan konsentrasi enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi dapat dilihat pada gambar 4.1 dibawah ini:



Gambar 4.1 Pengaruh konsentrasi enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi terhadap rendemen kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*)

Gambar 4.1 menunjukkan bahwa rata-rata rendemen kecap ikan lemuru dengan metode enzimatik berkisar antara 75,2-92,07. Hasil rendemen paling tinggi pada perlakuan P3W3 yaitu konsentrasi papain kasar 10% dan lama fermentasi 9 hari. Sedangkan rendemen terendah pada perlakuan P1W1 yaitu konsentrasi papain 4% dan lama fermentasi 3 hari. Pada konsentrasi enzim 4%, 7% dan 10 % berturut turut dihasilkan cairan hidrolisat yang semakin meningkat.

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *Two Way ANOVA* dengan signifikansi 0,05 atau 5% dapat diketahui bahwa interaksi antara penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama waktu fermentasi berpengaruh secara signifikan terhadap rendemen kecap ikan lemuru yang

dihasilkan. Hal ini ditunjukkan oleh nilai p -value untuk variasi konsentrasi enzim papain kasar dan lama waktu fermentasi kecap ikan yaitu $0,00 < 0,05$ sehingga hipotesis 0 (H_0) ditolak dan Hipotesis 1 (H_1) diterima yang artinya perlakuan konsentrasi enzim papain kasar dan lama fermentasi memberikan pengaruh nyata terhadap rendemen produk kecap ikan (*Sardinella longiceps*), dapat dilihat pada Lampiran 3.

Hasil pengukuran volume hidrolisat menunjukkan bahwa semakin meningkat persentase enzim papain kasar yang diberikan, semakin meningkat volume hidrolisat yang dihasilkan. Hal ini disebabkan oleh terjadinya peningkatan kadar air oleh adanya perombakan-perombakan yang terjadi selama proses hidrolisis fermentasi. Hidayat (2005) menyatakan selama hidrolisis terjadi pelepasan air dari jaringan daging ikan. Dengan adanya garam dan air akan membantu proses hidrolisis ikan, sehingga mempercepat proses konversi protein jaringan daging ikan menjadi turunan-turunan utamanya seperti peptide dan asam amino.

Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Savitri (2011), bahwa selama proses fermentasi terjadi peningkatan kadar air. Hal ini dapat disebabkan oleh adanya perombakan protein. Sehingga semakin banyak enzim papain, akan semakin banyak protein yang terombak. Selain itu, lama waktu juga mempengaruhi kerja enzim papain dalam melakukan hidrolisis, sehingga akan menghasilkan rendemen yang semakin banyak.

Kristianawati (2014) menambahkan bahwa kecepatan reaksi enzim berbanding lurus dengan konsentrasi enzim, semakin besar jumlah enzim maka

semakin cepat reaksi enzimnya. Hal ini mengindikasikan bahwa jumlah rendemen yang dihasilkan pada proses pengolahan kecap ikan dipengaruhi oleh adanya penambahan enzim yang mampu melakukan aktivitas yang tinggi. Kerja enzim dipengaruhi oleh kesesuaian pH substrat, kadar garam, konsentrasi enzim, konsentrasi substrat serta suhu.

Selain konsentrasi papain dan lama waktu, konsentrasi garam yang ditambahkan ke dalam daging ikan lemuru juga diduga mempunyai peran dalam nilai rendemen yang ada pada kecap ikan. Menurut Lopetcharat dan Park (2001), bahwa meningkatnya ekstraksi cairan osmotik dari suatu sampel dipengaruhi oleh garam. Adanya garam ini menyebabkan percepatan proses osmosa, sehingga air lebih mudah terlepas dari jaringan daging ikan.

Faktor interaksi penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama waktu memberikan hasil yang berbeda nyata, maka untuk mengetahui perlakuan terbaik dilakukan Uji jarak Duncan (UJD) dengan signifikansi 5%. Hasil uji lanjut Duncan terhadap rendemen kecap ikan lemuru dapat dilihat pada tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil Uji Jarak Duncan (UJD) Rendemen Kecap Ikan Lemuru

Perlakuan	Rata-rata rendemen
P1W1	75.20 a
P1W2	89.36 c
P1W3	89.62 c
P2W1	84.27 b
P2W2	89.95 c
P2W3	90.54 c
P3W1	85.66 b
P3W2	91.76 c
P3W3	92.07 c

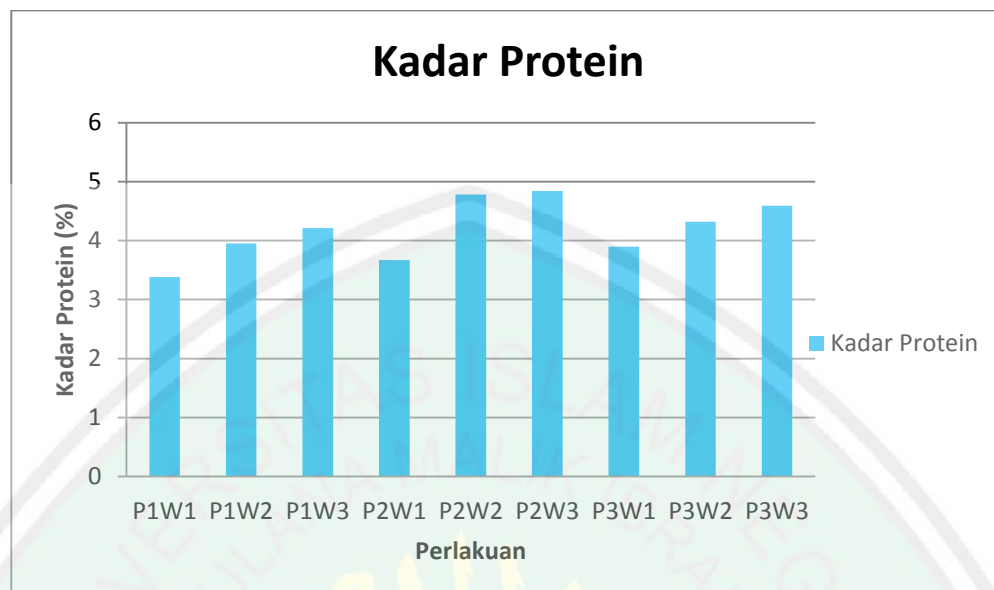
Berdasarkan Tabel 4.1 dapat diketahui bahwa perlakuan P1W2, P1W3, P2W2, P2W3, P3W2 dan P3W3 memiliki notasi yang sama. Hal ini menunjukkan bahwa keenam perlakuan tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak Duncan 5%. Nilai pH perlakuan P3W3 yang hampir sama dengan perlakuan P3W2 dan P2W3, P2W2, P1W3 dan P1W2 menunjukkan bahwa setelah penyimpanan 6 hari, perombakan protein yang terjadi pada proses fermentasi sangat sedikit, sehingga kadar air atau hidrolisat yang dihasilkan memiliki notasi yang tidak berbeda nyata.

Rendahnya jumlah rendemen pada perlakuan P1W1 dapat terjadi karena penambahan konsentrasi papain kasar yang sedikit dan lama waktu fermentasi yang pendek menyebabkan kurang optimalnya enzim dalam menghidrolisis daging ikan lemuru. Hal tersebut sesuai yang dinyatakan Martoharsono (1993) peningkatan jumlah enzim yang digunakan menyebabkan reaksi enzimatik meningkat sehingga semakin banyak pula substrat yang diubah dan hasil (produk) yang didapat juga meningkat. Pada penelitian ini, rendemen kecap ikan termasuk tinggi dibandingkan dengan pada penelitian Briani (2014), pada penambahan papain kasar 9% dan lama fermentasi 30 hari menghasilkan rendemen sebesar 76,63%. Hal tersebut karena pada penelitian Briani suhu yang digunakan saat fermentasi yaitu pada suhu ruang, sedangkan menurut literature enzim papain memiliki suhu optimal antara 50-60°C.

4.1.2 Pengaruh Enzim Papain Kasar (*Crude Papain*) dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

Aplikasi pembuatan kecap ikan lemuru dengan menggunakan enzim papain kasar (*crude papain*) untuk hidrolisis protein ini diharapkan produk kecap yang dihasilkan memiliki kandungan protein yang cukup atau sesuai Standar Nasional Indonesia (SNI). Protein merupakan zat makanan yang amat penting bagi tubuh, karena selain berfungsi sebagai bahan bakar dalam tubuh juga berfungsi sebagai zat pembangun dan pengatur (Winarno, 2004). Protein terdiri dari rantai-rantai panjang asam amino yang terikat satu sama lain dalam ikatan peptide. Asam amino terdiri dari unsur-unsur karbon, hydrogen, oksigen dan nitrogen.

Kadar protein dalam sampel kecap ikan lemuru diukur menggunakan reagen biuret. Pengukuran dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada gelombang 520 nm. Larutan sampel yang telah ditambahkan reagen biuret ini akan berubah warna dari biru muda menjadi ungu. Perubahan pada warna sampel uji akan memberikan hasil yang positif atau negative protein. Kualitas kecap ikan lemuru ditentukan pada kadar protein yang terkandung didalamnya. Jika kadar protein dalam kecap ikan tersebut tinggi, maka kualitas kecap akan semakin bagus. Berdasarkan penelitian ini kadar protein dapat dilihat pada gambar 4.2 dibawah ini:



Gambar 4.2 Pengaruh konsentrasi enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi terhadap kadar protein kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*)

Gambar 4.2 menunjukkan bahwa kadar protein kecap ikan berkisar antara 3,38-4,84%. Kadar protein tertinggi yaitu pada sampel kombinasi P2W3 dengan konsentrasi papain kasar 7% dan lama fermentasi 9 hari yaitu sebesar 4,84%. Sedangkan kadar protein terendah pada sampel kombinasi P1W1 dengan konsentrasi papain kasar 4% dan lama fermentasi 3 hari yaitu sebesar 3,38%.

Perlakuan P1W1 memiliki kadar protein yang lebih sedikit. Hal ini karena pemberian enzim papain hanya 4% dan lama fermentasi yang terlalu singkat. Pada perlakuan konsentrasi papain 7% memiliki kadar protein yang lebih tinggi karena ada penambahan jumlah papain yang semakin besar dan lama fermentasi yang cukup lama. Hal tersebut karena dengan pemberian enzim papain 7% optimal dalam mendegradasi protein menjadi asam amino. Selama proses fermentasi terjadi reaksi hidrolisis protein dimana terjadi pemutusan ikatan peptide yang mengubah protein menjadi bentuk yang lebih sederhana yaitu asam amino. Hal

tersebut sesuai dengan pendapat Lehninger (1997), bahwa tingginya konsentrasi enzim yang digunakan akan mempengaruhi banyaknya substrat yang dapat ditransformasi. Santy (1992) juga menyatakan bahwa semakin lama waktu fermentasi mengakibatkan semakin banyak molekul yang terpecahkan.

Enzim papain termasuk ke dalam golongan protease sulfhidril yang aktivitasnya sangat dipengaruhi oleh adanya satu atau lebih gugus S-H pada sisi aktifnya. Gugus sulfhidril ini berperan dalam reaksi hidrolisis substrat menyangkut pembentukan ikatan kovalen tiol ester antara gugus karboksil dan sulfhidril protein papain. Papain dapat menghidrolisis amida pada residu asam amino arginin, lisin, glutamin, histidin, glisin, dan tirosin (Leung 1996).

Aktivitas enzim papain ditandai dengan proses pemecahan substrat menjadi produk oleh gugus histidin dan sistein pada sisi aktif enzim. Beveridge (1996) memaparkan bahwa selama proses katalisis hidrolisis gugus-gugus amida, mula-mula gugus sistein (Cys-25) yang bersifat sangat reaktif berikatan dengan substrat pada sisi aktif papain sehingga dihasilkan ikatan kovalen substrat dengan enzim yang berbentuk tetrahedral. Kemudian gugus histidin (His-159) terprotonasi sehingga berikatan dengan nitrogen yang terdapat di dalam substrat. Akibatnya gugus amin pada substrat terdifusi dan kedudukannya digantikan oleh molekul-molekul air yang pada akhirnya menghidrolisis hasil intermediet sehingga mengembalikan enzim ke dalam bentuk dan fungsinya seperti semula.

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *Two Way ANOVA* dengan signifikansi 5% dapat diketahui bahwa interaksi antara penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi berpengaruh secara signifikan

terhadap kadar protein yang dihasilkan. Hal ini ditunjukkan oleh nilai ($p < 0,05$) yang artinya terdapat pengaruh interaksi antara konsentrasi enzim papain kasar dan lama waktu fermentasi terhadap kadar protein kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*), dapat dilihat pada Lampiran 3.

Faktor interaksi penambahan papain kasar (*crude papain*) dan lama waktu fermentasi memberikan hasil yang berbeda nyata, maka untuk mengetahui perlakuan terbaik dilakukan Uji Jarak Duncan (UJD) dengan signifikansi 5%. Hasil uji lanjut Duncan terhadap kadar protein kecap ikan lemuru dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Hasil Uji Jarak Duncan (UJD) Kadar Protein Kecap Ikan Lemuru

Perlakuan	Rata-rata kadar protein
P1W1	3.38 a
P1W2	3.95 c
P1W3	4.21 d
P2W1	3.67 b
P2W2	4.78 f
P2W3	4.84 f
P3W1	3.90 c
P3W2	4.32 d
P3W3	4.59 e

Berdasarkan hasil uji jarak Duncan dengan signifikansi 5% pada tabel 4.2 dapat diketahui bahwa perlakuan penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) terbaik pada kombinasi perlakuan P2W3 yaitu konsentrasi papain 7% dan lama fermentasi 9 hari. Hal ini menunjukkan bahwa kadar protein pada kecap ikan yang optimal diperoleh dari penambahan papain sebanyak 7% dan lama waktu fermentasi selama 9 hari.

Pada kombinasi perlakuan penambahan papain 7% kadar protein lebih tinggi dari penambahan papain 10%. Hal tersebut karena pada konsentrasi penambahan papain 7% optimal dalam menghidrolisis protein pada sampel. Lehninger (1997) menyatakan bahwa enzim papain mempunyai kemampuan untuk melunakkan daging dan menghidrolisis ikatan peptida dari protein. Tingginya konsentrasi enzim yang digunakan akan mempengaruhi banyaknya substrat yang dapat ditransformasi. Akan tetapi, konsentrasi enzim yang berlebihan akan menyebabkan proses tersebut menjadi tidak efisien. Reed (1975) menambahkan bahwa Semakin tinggi enzim yang ditambahkan makin besar pula kecepatan reaksinya tetapi pada batas-batas tertentu dimana hidrolisat yang diperoleh akan konstan dengan meningkatnya konsentrasi enzim. Hal ini disebabkan penambahan enzim sudah tidak efektif lagi.

Selain itu, hidrolisis oleh enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi substrat. Untuk dapat diperoleh kompleks enzim-substrat, diperlukan adanya kontak antara enzim dengan substrat. Kontak ini terjadi pada sisi aktif enzim. Pada penambahan enzim 10% terjadi jumlah enzim yang berlebih sedangkan konsentrasi substrat rendah, sehingga bagian aktif enzim hanya menampung substrat sedikit. Seperti yang telah dikemukakan oleh Kusnawidjaya (1993) bahwa kecepatan hidrolisis dari suatu reaksi sangat tergantung pada konsentrasi substrat, dimana semakin tinggi konsentrasi substrat, reaksi semakin cepat hingga mencapai kecepatan yang tetap. Pada konsentrasi substrat rendah, sisi aktif enzim akan menampung substrat sedikit. Bila konsentrasi substrat diperbesar, makin

banyak substrat yang akan bergabung dengan enzim pada sisi aktif tersebut. Dengan demikian, konsentrasi kompleks enzim-substrat makin besar.

Rendahnya kadar protein pada penambahan papain kasar 10% dibandingkan dengan penambahan papain kasar 7% juga dapat terjadi karena tingginya kadar garam pada konsentrasi tersebut. Tingginya kadar garam terjadi karena enzim papain kasar yang digunakan sudah mendapat penambahan garam dalam setiap kemasannya. Sehingga semakin besar konsentrasi enzim akan semakin besar kadar garam pada proses fermentasi. Menurut Ilminingtyas (2000), kadar protein terlarut selama fermentasi kecap ikan juga terjadi karena adanya garam yang dapat menarik air dari ikan, menaikkan konsentrasi zat-zat terlarut didalam cairan kecap ikan dan menaikkan konsentrasi substrat. Dengan adanya garam selama fermentasi ikan, pemecahan protein dapat dikontrol dengan cara menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen. Akan tetapi, kadar garam yang berlebihan dapat menghambat kerja enzim karena akan mempengaruhi tekanan osmotik. Xu (2008) juga menambahkan bahwa kadar garam yang berlebihan pada proses fermentasi justru akan memperlambat proses enzimatik dan juga menyebabkan daging ikan menjadi keras karena pengaruh tekanan osmotik yang semakin tinggi.

Kerasnya daging ikan akibat pengaruh tekanan osmotik yang tinggi dapat mempengaruhi enzim dalam mendegradasi protein. Hal tersebut berhubungan dengan kerja enzim papain sebagai enzim protease yang dapat mengurai protein dalam kolagen dan serat otot. Prasetyo (2012), Proteolisis kolagen dan serat otot dapat mengakibatkan *shear force* kolagen dan serat otot berkurang, sehingga

kerapatan daging ikut berkurang. Proteolisis miofibril menghasilkan fragmen protein dengan rantai peptida lebih pendek, semakin banyak proteolisis pada miofibril, maka jumlah protein terlarut semakin besar. Olson dan Parish (1977) menambahkan, terhidrolisisnya myofibril menyebabkan hilangnya ikatan antar serat dan juga pemecahan serat menjadi fragmen yang lebih pendek, menjadikan sifat serat otot lebih mudah terpisah sehingga daging ikan mudah hancur.

Menurut Karim (2004), proses fermentasi yang terjadi pada ikan merupakan proses penguraian secara biologis atau semibiologis terhadap senyawa-senyawa kompleks terutama protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dalam keadaan terkontrol. Selama proses fermentasi, protein ikan akan terhidrolisis menjadi asam-asam amino dan peptida, kemudian asam-asam amino akan terurai lebih lanjut menjadi komponen-komponen lain yang berperan dalam pembentukan cita rasa produk.

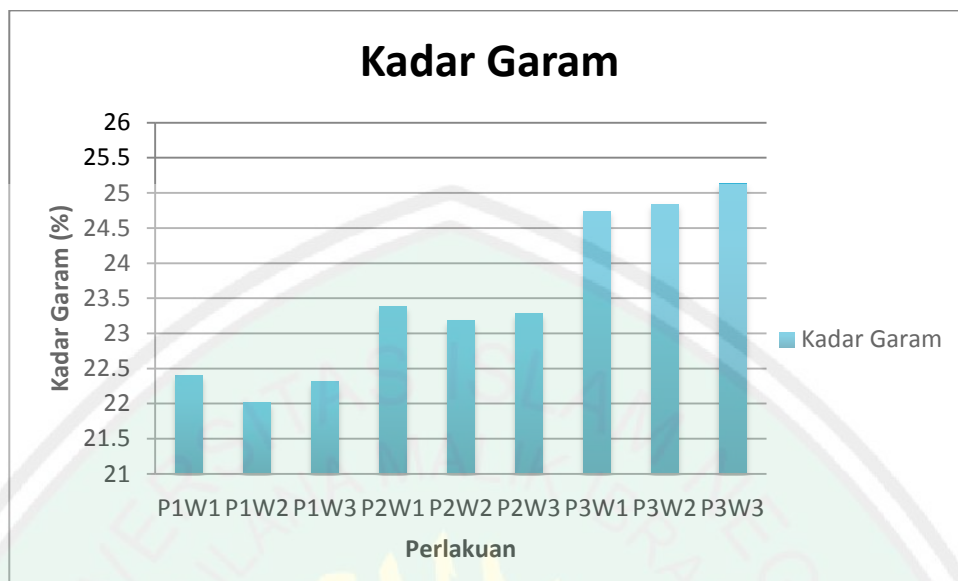
Nilai kadar protein produk akhir kecap ikan lemuru dari semua perlakuan penambahan papain kasar dan lama fermentasi berkisar antara 3,38%-4,84%. Jika dibandingkan dengan standar kecap ikan menurut SNI 01-4271-1996 kadar protein kecap ikan dalam penelitian ini masih belum termasuk ke dalam standar, karena standar kadar protein untuk kecap ikan menurut SNI yaitu minimal 5%. Akan tetapi jika dibandingkan dengan Standar Industri Indonesia kadar protein dalam penelitian ini sudah termasuk standart, karena untuk kandungan protein kecap asin menurut SII tahun 1985 yaitu minimal 3%. Hal ini dikuatkan oleh pendapat Hasnan (1991), bahwa kecap ikan yang dibuat dengan hidrolisis enzimatis mempunyai kandungan protein kasar rata-rata 3,9%. Pada penelitian

Simanjorang (2012), dalam pembuatan kecap tutut dengan penambahan papain 5% hanya menghasilkan kadar protein 2,7%. Jika dibandingkan dengan penelitian Simanjorang, kadar protein pada penelitian ini lebih tinggi.

4.1.3 Pengaruh Enzim Papain Kasar (*Crude Papain*) dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Garam Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

Analisis kadar NaCl merupakan salah satu parameter yang dilakukan untuk mengetahui berapa jumlah garam yang terkandung di dalam produk kecap ikan setelah proses fermentasi. Hasilnya diketahui berdasarkan jumlah kadar garam dalam produk kecap ikan lemuru yang dihasilkan. Garam merupakan salah satu komponen yang ikut berperan dalam proses fermentasi kecap ikan. Menurut Thariq (2014), garam berfungsi sebagai pengawet dimana terjadi pengurangan kadar air bebas dalam bahan pangan melalui proses osmotik dan juga berfungsi sebagai penyeleksi mikroba pada saat proses fermentasi berlangsung.

Kadar garam (NaCl) kecap ikan (*Sardinella longiceps*) dapat dilihat pada gambar 4.3 dibawah ini:



Gambar 4.3 Pengaruh konsentrasi enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama waktu fermentasi terhadap kadar garam kecap ikan lemuru (*sardinella longiceps*)

Gambar 4.3 menunjukkan bahwa kadar garam kecap ikan berkisar antara 22,01-25,13. Kadar garam kecap ikan tertinggi yaitu pada formula sampel P3W3 dengan konsentrasi papain kasar 10% dan lama fermentasi 9 hari yaitu sebesar 25,13, sedangkan kadar garam terendah pada formula sampel P1W2 dengan konsentrasi papain 4% dan lama fermentasi 3 hari sebesar 22,01. Nilai tersebut menunjukkan bahwa kadar garam meningkat seiring pertambahan konsentrasi enzim papain kasar (*crude papain*). Semakin tinggi konsentrasi enzim papain kasar maka kadar garam kecap ikan lemuru semakin tinggi.

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *Two Way ANOVA* dengan signifikansi 0,05 atau 5% dapat diketahui bahwa interaksi antara penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama waktu fermentasi tidak berpengaruh secara signifikan terhadap kadar garam kecap ikan lemuru yang dihasilkan. Hal ini ditunjukkan oleh nilai *p-value* untuk variasi konsentrasi enzim

papain kasar dan lama waktu fermentasi kecap ikan yaitu $0,09 > 0,05$ sehingga hipotesis 0 (H_0) diterima dan Hipotesis 1 (H_1) ditolak yang artinya perlakuan konsentrasi enzim papain kasar dan lama fermentasi tidak memberikan pengaruh nyata terhadap kadar garam produk kecap ikan (*Sardinella longiceps*), dapat dilihat pada Lampiran 3.

Factor interaksi penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi tidak memberikan hasil yang berbeda nyata. Akan tetapi pada analisis penambahan papain kasar memberikan pengaruh yang nyata pada kadar garam. Kadar garam yang dihasilkan menunjukkan bahwa semakin tinggi papain yang diberikan maka semakin tinggi kadar garam pada produk kecap ikan lemuru tersebut. Hal tersebut karena enzim papain kasar yang digunakan pada penelitian sudah mendapatkan penambahan garam dalam setiap kemasannya. Sehingga semakin banyak papain yang ditambahkan maka kadar garam kecap ikan akan semakin tinggi. Garam yang ditambahkan akan menyebabkan penarikan air dari dalam potongan daging lemuru.

Kadar garam produk akhir kecap ikan lemuru dari semua perlakuan penambahan enzim papain kasar dan lama fermentasi berkisar antara 22,01%-25,13%, nilai tersebut masih memasuki nilai standard yang ditetapkan, akan tetapi pada perlakuan penambahan papain 10% termasuk nilai yang tinggi dari nilai standart yang ditetapkan. Hal tersebut karena papain kasar yang digunakan sudah mendapatkan penambahan garam dalam setiap kemasannya. Menurut SNI 01-4271-1996 mengenai persyaratan kadar garam pada kecap ikan yaitu sebesar 19 - 25%.

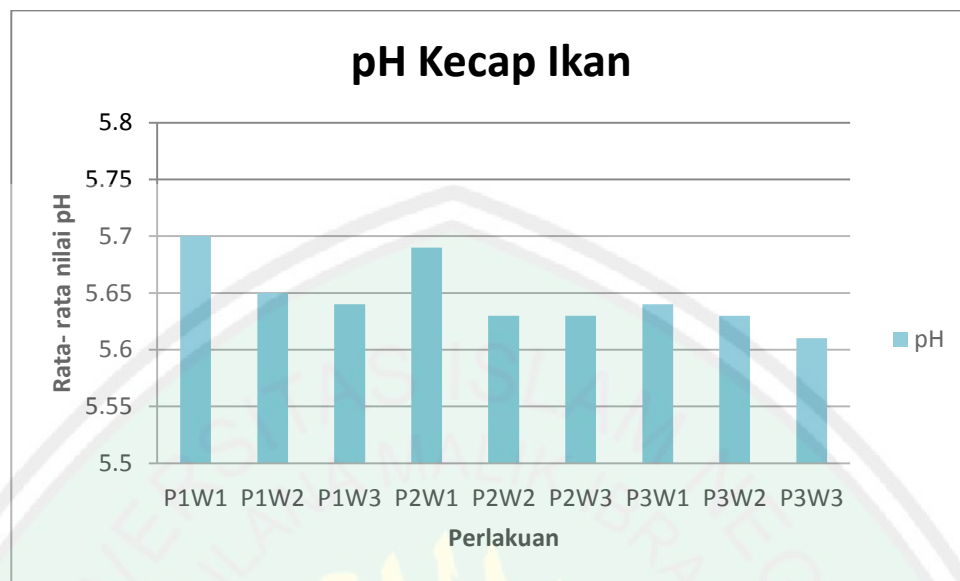
Peningkatan kadar garam dapat terjadi karena pada saat pengolahan kecap ikan mengalami pemanasan sehingga terjadi proses evaporasi (penguapan) pada sampel akhir kecap ikan yang menyebabkan pengurangan kadar air, sehingga akan meningkatkan kadar garam tanpa mempengaruhi jumlah garam pada sampel. Menurut Praptiningsih (1999), evaporasi adalah proses pengentalan larutan dengan cara mendidihkan atau menguapkan pelarut. Evaporasi bertujuan menurunkan aktivitas air dengan cara meningkatkan konsentrasi solid terlarut, sehingga terjadi peningkatan senyawa terlarut (*solute*).

Pada prosesnya, osmosis dapat terjadi pada daging ikan yang dicampurkan dengan larutan garam. Membran sel kulit dan daging ikan yang bersifat selektif permeabel berperan meloloskan garam yang lebih pekat di luar membran sehingga garam berpenetrasi menembus membran sel. Air yang terkandung dalam sel ikan secara otomatis akan terdesak keluar dan hampir semua zat-zat terlarut penting tetap berada di dalam sel hingga tercapai suatu ekuilibrase tekanan osmosis di dalam dan luar sel (Moeljanto, 1982). Garam dalam proses fermentasi berfungsi untuk mencegah mikrobiologi yang tidak dikehendaki tumbuh dalam produk. Karena garam dapat membantu berlangsungnya proses fermentasi pada kecap ikan.

4.1.4 Pengaruh Enzim Papain Kasar (*Crude Papain*) dan Lama Fermentasi Terhadap pH Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

Derajat keasaman (pH) merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk menentukan kualitas dari produk kecap ikan. Nilai pH berhubungan dengan kondisi/kerentanan produk terhadap serangan mikroba, sehingga dapat diperkirakan masa simpannya sampai pada saat pertumbuhan mikroba tersebut tidak dapat dihambat. Mikroorganisme yang dapat tumbuh dalam suatu produk memiliki pH kisaran tertentu. Umumnya mikroorganisme akan tumbuh pada kisaran pH 6,0-8,0, serta pH diluar 2,0-10,0 umumnya bisa merusak.

Pembuatan kecap ikan lemuru dalam penelitian ini menggunakan metode fermentasi yang dikombinasikan dengan enzim papain kasar (*crude papain*) yang berfungsi untuk mempercepat proses hidrolisis daging ikan sehingga waktu fermentasi semakin pendek. Penambahan papain kasar ke dalam kecap ikan mengakibatkan pH kecap ikan yang dihasilkan memiliki nilai rendah. Selama proses fermentasi terjadi penurunan pH produk sejak awal hingga akhir fermentasi. Adapun alat yang digunakan dalam pengukuran nilai pH produk kecap ikan lemuru adalah pH meter. Perubahan pH kecap ikan dengan perlakuan konsentrasi enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi dapat dilihat pada gambar 4.4 dibawah ini:



Gambar 4.4 Pengaruh konsentrasi enzim papain kasar (crude papain) dan lama fermentasi terhadap pH kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*)

Gambar 4.4 menunjukkan bahwa rata-rata pH pada penelitian ini berkisar antara 5,61-5,70. pH terendah pada perlakuan P3W3 yaitu konsentrasi enzim papain kasar 10% dan lama fermentasi 9 hari. Sedangkan pH tertinggi yaitu pada perlakuan P1W1, yaitu konsentrasi enzim papain kasar 4% dan lama fermentasi 3 hari. Nilai tersebut menunjukkan bahwa pH kecap ikan menurun seiring pertambahan konsentrasi enzim papain kasar dan lama waktu fermentasi. Semakin tinggi konsentrasi enzim papain kasar dan waktu fermentasi semakin lama maka pH kecap ikan semakin rendah.

Berdasarkan hasil analisis statistik menggunakan *Two Way* ANOVA dengan signifikansi 0,05 atau 5% dapat diketahui bahwa interaksi antara penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama waktu fermentasi berpengaruh secara signifikan terhadap pH kecap ikan lemuru yang dihasilkan. Hal ini ditunjukkan oleh nilai *p-value* untuk variasi konsentrasi enzim papain kasar dan lama waktu fermentasi kecap ikan yaitu $0,03 < 0,05$ sehingga hipotesis

0 (H_0) ditolak dan Hipotesis 1 (H_1) diterima yang artinya perlakuan konsentrasi enzim papain kasar dan lama fermentasi memberikan pengaruh nyata terhadap pH produk kecap ikan (*Sardinella longiceps*), dapat dilihat pada Lampiran 3.

Hasil pengukuran nilai pH menunjukkan bahwa semakin meningkat persentase enzim papain yang diberikan, dan semakin lama waktu fermentasi yang dilakukan maka semakin rendah pH pada produk kecap ikan. Rendahnya nilai pH kecap ikan dapat terjadi karena pembentukan senyawa-senyawa asam dari proses hidrolisis. Menurut Hasnan (1991), penurunan nilai pH pada kecap akan terjadi karena pengaruh penambahan enzim, dimana terbentuk asam (asam amino, asam lemak, peptida, dan lain-lain) yang diakibatkan oleh adanya aktivitas enzim proteolitik. Semakin banyak enzim papain yang diberikan maka akan semakin banyak pula sisi-sisi aktif yang muncul pada substrat, sehingga enzim papain akan semakin aktif dalam menghidrolisis daging untuk menghasilkan produk-produk asam yang dapat menurunkan pH.

Selain itu, tersedinya lama waktu fermentasi juga mempengaruhi kerja enzim papain dalam melakukan proses hidrolisis, sehingga akan menghasilkan senyawa-senyawa asam lebih banyak yang akan menurunkan nilai pH kecap ikan lemuru. Menurut Anggraini dan Yuniarta (2015), menyatakan bahwa waktu inkubasi yang lama akan menyebabkan daya kerja enzim untuk melakukan proses hidrolisis semakin panjang, dan semakin banyak gugus karboksilat yang dilepaskan melalui proses hidrolisis. Suatu larutan protein yang terhidrolisis akan mengalami penurunan pH, karena pada saat enzim protease memecah ikatan peptida, gugus karboksilat dilepaskan dan akan dibebaskan sejumlah ion

hidrogen. Jay (1992) menambahkan, proses fermentasi menyebabkan terjadinya perubahan nilai pH kecap ikan akibat adanya aktivitas metabolisme BAL selama fermentasi. Selama fermentasi, asam laktat yang terbentuk semakin meningkat, yang mengakibatkan semakin banyaknya asam yang terdisosiasi dengan melepaskan ion hidrogen sehingga selama fermentasi kecap ikan, pH akan menjadi semakin menurun

Rendahnya pH dapat terjadi karena lamanya waktu fermentasi yang akan menyebabkan terbentuknya asam laktat yang dihasilkan oleh BAL (Bakteri Asam Laktat) yang secara alami sudah terdapat pada tubuh ikan selama proses fermentasi, sehingga akan menurunkan pH kecap ikan lemuru yang dihasilkan. Menurut Hardoko (2003), semakin lama fermentasi proses pembentukan asam-asam hidrolisa akan semakin banyak sehingga menyebabkan pH turun, disamping adanya senyawa nitrogen yang mudah menguap juga mempengaruhi penurunan pH. Menurut Kusmarwati (2011) penurunan pH terjadi seiring dengan kenaikan jumlah bakteri asam laktat dan asam yang diproduksi.

Hasil degradasi protein dan lemak berupa asam-asam amino dan asam lemak dapat menstimulasi pertumbuhan BAL pada awal fermentasi. Bakteri asam laktat juga mempunyai daya adaptasi yang tinggi pada pH rendah sehingga BAL dapat mendominasi proses fermentasi kecap ikan (Jay, 1992). Jumlah BAL yang ada pada kecap ikan akan berkurang dengan semakin lamanya proses fermentasi, hal ini dapat terjadi karena adanya faktor-faktor pembatas yaitu berkurangnya nutrisi dan terbentuknya asam (Adawiyah, 2007).

Faktor interaksi penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi memberikan hasil yang berbeda nyata, maka untuk mengetahui perlakuan terbaik dilakukan Uji Jarak Duncan (UJD) dengan signifikansi 5%. Hasil uji lanjut Duncan terhadap pH kecap ikan lemuru dapat dilihat pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Hasil Uji Jarak Duncan (UJD) pH Kecap Ikan Lemuru

Perlakuan	Rata-rata pH
P1W1	5.70 c
P1W2	5.65 b
P1W3	5.64 b
P2W1	5.69 c
P2W2	5.63 b
P2W3	5.63 ab
P3W1	5.64 b
P3W2	5.63 ab
P3W3	5.61 a

Berdasarkan tabel 4.3 dapat diketahui bahwa perlakuan P3W3 yaitu kombinasi konsentrasi papain kasar 10% dan lama fermentasi 9 hari merupakan perlakuan yang paling baik. Rendahnya pH pada perlakuan P3W3 diduga karena Produksi asam laktat menyebabkan jumlah ion H^+ meningkat sehingga terjadi penurunan pH yang menghasilkan rasa asam pada kecap ikan tersebut. Frazier dan Whesthoff (1979) menyatakan bahwa pada pengukuran pH, nilai yang terukur merupakan konsentrasi nilai H^+ yang menunjukkan asam yang terdisosiasi.

Perlakuan P3W3, P3W2 dan P3W3 memiliki notasi yang sama, hal ini menunjukkan bahwa ketiga perlakuan tidak berbeda nyata berdasarkan uji jarak Duncan 5%. Nilai pH perlakuan P3W3 yang hampir sama dengan perlakuan P3W2 dan P2W3 menunjukkan bahwa setelah penyimpanan 6 hari, aktivitas BAL

dalam memproduksi asam laktat sangat sedikit. Perbedaan konsentrasi papain 7% dan 10% tidak memberikan pengaruh yang nyata dalam derajat keasaman (pH).

Menurut Standar Nasional Indonesia tentang mutu kecap asin (SNI 01-4271-1996) pH kecap ikan berada dalam kisaran 5-6. Derajat keasaman (pH) berhubungan dengan daya simpan produk. Menurut Hasnan (1991) kecap yang mempunyai pH tinggi (6,8-7,2) tidak dapat disimpan lama. Produk yang lebih baik adalah kecap ikan yang mempunyai pH lebih rendah. Berdasarkan keterangan tersebut, kecap yang dihasilkan dalam penelitian ini kemungkinan masih dapat disimpan dalam waktu yang lama, karena memiliki pH yang sesuai terhadap Standart Negara Indonesia (SNI) yang ada.

4.2 Pengawetan dalam Perspektif Islam

Allah Swt. memerintahkan umat manusia untuk memakan makanan yang halal lagi baik, sebagaimana firman-Nya dalam Al-Qur'an surat Al-Baqarah/2 ayat 168, yaitu:

يَتَأَيُّهَا النَّاسُ كُلُوا مِمَّا فِي الْأَرْضِ حَلَالًا طَيِّبًا وَلَا تَتَّبِعُوا خُطُوَاتِ الشَّيْطَانِ ۚ إِنَّهُ لَكُمْ عَدُوٌّ

مُبِينٌ

Artinya: “Hai sekalian manusia, makanlah yang halal lagi baik dari apa yang terdapat di bumi, dan janganlah kamu mengikuti langkah-langkah syaitan: karena sesungguhnya syaitan itu adalah musuh yang nyata bagimu.” (QS. Al-Baqarah/2:168).

Tafsir Ibnu Katsir, menjelaskan bahwa Allah Swt. maha pemberi rizqi bagi seluruh makhlukNya. Dalam hal pemberian nikmat, Allah menyebutkan

bahwa Dia telah membolehkan manusia untuk memakan segala yang ada di muka bumi, yaitu makanan yang halal, baik dan bermanfaat bagi dirinya serta tidak membahayakan bagi tubuh dan akal pikiran. Dan Allah juga melarang mereka untuk mengikuti langkah-langkah dan jalan syaitan dalam tindakan-tindakannya yang menyesatkan para pengikutnya, seperti mengharamkan *bahira*, *saibah*, *wasilah* dan lain-lainnya yang ditanamkan *syaitan* kepada mereka pada masa jahiliyah (Abdullah, 2006).

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah Swt. menganjurkan kepada manusia untuk mengkonsumsi makanan dan minuman yang halal lagi baik untuk konsumsi sehari-hari. Kata halal dan baik mempunyai makna yaitu makanan yang dihalalkan oleh syari'at Islam, tidak membahayakan tubuh dan tidak berlebihan dalam penggunaannya. Pada ayat tersebut terdapat anjuran untuk mengkonsumsi makanan yang "*halalan thoyyibah*". Makna dari kata "*halalan*" merupakan sifat yang harus ada dan dimiliki oleh setiap bahan pangan yang hendak dikonsumsi oleh manusia yang terhindar dari unsur-unsur haram. Sedangkan kata "*thoyyibah*" memiliki makna diperbolehkannya mengkonsumsi segala makanan yang halal, baik, lezat, bergizi dan memiliki dampak positif bagi kesehatan dari apa yang telah Allah anugerahkan kepada manusia. Selain itu, makan dan minuman yang dikonsumsi harus memiliki nilai gizi yang tinggi yang mengandung protein, karbohidrat, mineral, vitamin dan lain-lain (Shihab, 2002).

Salah satu makanan yang halal, baik serta lezat untuk dikonsumsi adalah kecap ikan. Kecap ikan adalah cairan hasil fermentasi hewani yang berprotein tinggi di dalam larutan garam, yang dicampur dengan bahan-bahan lain seperti

gula, garam, dan bumbu dengan tujuan untuk meningkatkan cita rasa makanan. Kecap berwarna coklat tua, berbau khas, rasa asin ataupun manis dan dapat mempersedap rasa masakan.

Bahan baku kecap ikan pada penelitian ini yaitu ikan lemuru (*Sardinalla longiceps*), ikan banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan yang merupakan sumber protein utama selain kacang-kacangan. Kandungan protein ikan lemuru cukup tinggi. Oleh karena itu, ikan merupakan bahan pangan yang dianjurkan apalagi kandungan Omega-3 nya yang memberikan efek positif bagi kesehatan. Akan tetapi, karena ikan yang telah ditangkap dan dipindahkan ke daratan akan mudah mengalami kerusakan yang disebabkan oleh bakteri pathogen atau bakteri pembusuk, sementara hasil tangkapan nelayan melimpah sehingga diperlukan alternative dengan menjadikan ikan lemuru menjadi kecap ikan fermentasi enzimatis.

Kombinasi hidrolisa enzimatis dan fermentasi digunakan untuk membuat kecap ikan dengan waktu yang rerlatif singkat dan menghasilkan kecap ikan dengan mutu yang cukup baik. Hal ini tercakup dalam pemahaman lafadz (kata) “*thoyyibah*” yaitu yang tidak berbaya dalam kesehatan tubuh manusia dan tetap mempertahankan kualitas produk yang dihasilkan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi memberikan pengaruh terhadap kadar protein, rendemen dan pH kecap ikan lemuru. Akan tetapi tidak memberikan pengaruh terhadap kadar garam. Hasil terbaik pada penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi terhadap kadar protein, rendemen dan pH yaitu pada perlakuan P2W3 yaitu kombinasi enzim papain kasar (*crude papain*) 7% dan lama fermentasi 9 hari dengan kadar protein sebesar 4,84%, kadar garam sebesar 23,28%, rendemen 90,54% dan pH sebesar 5,63.

5.2 Saran

1. Berdasarkan hasil penelitian dapat direkomendasikan bahwa kecap ikan lemuru dengan penambahan enzim papain kasar (*crude papain*) 7% dan lama fermentasi 9 hari merupakan hasil terbaik pada penelitian ini.
2. Perlu adanya penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh penambahan enzim proteolitik yang berbeda dengan variasi lama waktu dan spesies ikan yang lain.
3. Perlu dilakukan uji mikroba patogen sesuai dengan Standar Nasional Indonesia (SNI), seperti: *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* dan *Kapang*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah bin Muhammad. 2006. *Tafsir Ibnu Katsir*, Jilid 5. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Abdullah bin Muhammad. 2006. *Tafsir Ibnu Katsir*, Jilid 6. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i.
- Adawiyah, R. 2007. *Pengolahan dan Pengawetan Ikan*. Edisi Pertama. Jakarta: Bumi Aksara.
- Afrianto, E dan Liviawaty, E. 1989. *Pengawetan dan Pengolahan Ikan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Anggraini dan Yunianta. 2015. Pengaruh suhu dan lama hidrolisis enzim papain terhadap sifat kimia, fisik dan organoleptik sari edamame. *Jurnal Pangan dan Agroindustri* 3 (3):1015-1025.
- AOAC Intl. 1990. *Official Methods of Analysis*. 16th ed. Arlington, Va.: AOAC.
- Astawan, M. 1991. *Teknologi Pengolahan Pangan Nabati Tepat Guna*. Jakarta: Akademi Presindo.
- Asy- Syanqithi, Al allamah Asy Syaikh Al Musafir Muhammad Amin. 2007. *Tafsir Adhwa'ul Bayan Jilid 6*. Tafsir Al-Qur'an dengan Al-Qur'an. Jakarta: Pustaka Azzam.
- Badan Standar Nasional. 1996. SNI 06-6989-11-2004. Jakarta: Badan Standar Nasional.
- Beveridge AJ. 1996. A theoretical study of the active sites of papain and S195C rat trypsin: Implication for the low reactivity of mutant serine proteinases. *J Protein Sci* 5:1355:1365.
- Briani, Sekar. 2014. Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain dan Lama Fermentasi Terhadap Kualitas Kecap Ikan Runcuh. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. Semarang. Jurusan Perikanan.Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Diponegoro.Vol.3 No.3.
- Buckle, K.A., Edwards, R.A., Fleet, G.H., dan Wootton, M. 1987. *Ilmu Pangan*. Diterjemahkan oleh Hari Purnomo dan Adiono. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Cahyadi, W. 2007. *Kedelai, Khasiat dan Teknologi*. Jakarta: PT. Bumi Akasara.
- Calkins, R. Chris et al. 2007. Adding Enzymes to Improve Beef Tenderness. *Beef facts, Product Enhancement*. University of Nebraska.
- Ebine, H. 1979. *International Symposium on Microbial Aspect of Food Storage, Processing and Fermentation in Tropical Asia*. Bogor: FTDC IPB.
- Ernawati, Yeni. 2010. Uji Kandungan Karbohidrat Pada Pembuatan Kecap Dengan Penambahan Air Kelapa Pada Berbagai Konsentrasi. *Skripsi*. Surakarta: UM Press.
- Fardiaz, Srikandi. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB.

- Fitantri, A. Laksmi. 2011. Pengendalian mutu dan penyusunan HACCP pada pengolahan kecap hidrolisa protein dengan bahan baku ikan tongkol “arum sari”. Skripsi. Surakarta: UNS Press.
- Fox P.F., Morrissy P.A., and Mulvihill D.M. 1991. *Chemical and Enzymatic Modification of Food Protein*. London: Development in Food Protein. APPL.Sci.Pbl.
- Frazier dan Westhoff. 1979. *Food Microbiology*. Mc Inc. New York: Gaman.
- Girindra, Aisjah. 1993. *Biokimia 1*. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama.
- Hadiwiyoto, S. 1994. *Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan*. Yogyakarta: Liberty.
- Hamidi, H. 2008. *Pengaruh Enzim Bromelin pada Proses Pembuatan Kecap Keong Sawah terhadap Kadar Protein Kecap Keong Sawah*. Semarang: Universitas Negeri Malang.
- Handayani, Hanny dan Indriastati, S.A. 2006. Aplikasi Teknik Pembuatan Kecap Ikan untuk Meningkatkan Pendapatan Ibu Rumah Tangga di Wilayah Kelurahan Dinoyo. *Jurnal Dedikasi*, Vol 3.
- Hardoko. 2003. Pengaruh Penambahan Moromi Enzim Papain dan Lama Waktu Fermentasi terhadap Mutu Kecap Ikan Dari Ekstrak Ikan Tuna. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. Vol 1, No 1.
- Harizul, Rivai. 2005. *Asas Pemeriksaan Kimia*. Jakarta: UI Press.
- Hasnan, M. 1991. *Pengaruh Penggunaan Enzim Papain Selama Proses Hidrolisis Kecap Ikan*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hidayat, N., Padaga, M.C. dan Suhartini, S. 2006. *Mikrobiologi Industri*. Yogyakarta: C.V. Andi Offset.
- Ilminingtyas *et al.* 2000. Pembentukan Fraksi – Fraksi Protein Selama Fermentasi Ikan Peda. *Jurnal Agrosains*. Volume 13 (1), hal: 1 – 18.
- Iriana, S. 1991. Pengaruh Varietas Buah Pepaya Dan Metode Pemurnian Terhadap Mutu Papain yang Dihasilkan. Skripsi. Jurusan Teknologi Industri Pertanian. Fakultas Teknologi Pertanian. Bogor: IPB.
- Jannah, Roudlotul. 2015. *Aktivitas Proteolitik Enzim Papain dari getah Papaya (Carica papaya L.) varietas Calina dan Peranannya sebagai Antibakteri*. Skripsi. Program Studu Kimia. Fakultas Matematika dan ilmu Pengetahuan Alam. Yogyakarta: UGM.
- Jay, J. M. 1992. *Modern Food Microbiology*. Fourth Edition. New York: An AVI Book . Van Nostrand Reinhold.
- Karim , Farhan Alfarobi, Fronthea Swastawati, dan Apri Dwi Anggo. 2014. Pengaruh Perbedaan Bahan Baku terhadap Kandungan Asam Glutamat pada Terasi. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. Volume 3, Nomor 4. Halaman 51-58.

- Kencanawati. 2012. Pengaruh Variasi Konsentrasi Enzim Papain Komersial Terhadap Karakteristik Fisikokimiawi Dan Sensori Kecap Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*). Skripsi. Semarang: UNIKA
- Khomsan, A. 2004. *Peranan Pangan dan Gizi untuk Kualitas Hidup*. Jakarta: PT. Gramedia Widiasarana Indonesia.
- Khopkar. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Kirk R. E and Othmer J. B. 1953. *Encyclopedia of Chemical Technology*. Volume IX. New York: The Interscience Encyclopedia Inc.
- Kristianawati, Ferika, Ratna Ibrahim dan Laras Rianingsih. 2014. Penambahan Enzim yang Berbeda pada Pengolahan Kecap Ikan Dari Isi Rongga Perut Ikan Manyung (*Arius thalassinus*) terhadap Mutu Produk. *Jurnal Saintek Perikanan*. Vol. 9, No. 2. Hal: 24-32.
- Kurniawan, Ronny. 2008. Pengaruh Konsentrasi Larutan Garam dan Waktu Fermentasi terhadap Kualitas Kecap Ikan Lele. *Jurnal teknik Kimia*, 2 (2).
- Kusmarwati, Arifah, et al. 2011. Pengaruh Penambahan *Pediococcus acidilactici* F-11 Sebagai Kultur Starter terhadap Kualitas Rusip Teri (*Stolephorus* sp.). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Vol. 6 No. 1.
- Kusnawidjaja, Kurnia, Prof. DR. 1993. *Biokimia*. Bandung: Penerbit Alumni.
- Kuswanto, K.R dan Sudarmadji, S. 1988. *Proses-proses Mikrobiologi Pangan*. Yogyakarta. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi.
- Lehninger, A. L. 1997. *Dasar-Dasar Biokimia*. Terjemahan Thenawidjaja. M. Dari *Principles of Biochemistry* (1982). Jakarta: Erlangga.
- Leung AY. 1996. *Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics*. Ed ke-2. New York: Interscience.
- Lopetcharat, K., and , Park, J. W., and Daeschel, M. A. 2001. Fish sauce Products and Manufacturing. *Food a Rivew International*. 17 (1): 65-88
- Madrigal, L.A., R., Orfitzs, R., Cooke, R., Fernandez. 1980. The dependence of crude papain yield on different collection procedure (tapping) for papaya latex. *J. Food Sci. Canada: Agriculture*: 31.
- Martoharsono, Soeharsono. 1993. *Biokimia Jilid 3* . Yogyakarta: UGM Press.
- Mayasari, LD. 2012. *Pengaruh Hasil Tangkapan Ikan Lemuru terhadap Produksi Pengalengan Ikan PT Maya Muncar Di Kecamatan Muncar Banyuwangi*. Surabaya: Fakultas Ekonomi Universitas Negeri Surabaya.
- Misgiyarta, S. dan Widowati. 2003. *Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat (BAL) Indigenus*. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pasca panen Pertanian.
- Moehd. B.K. 1999. *Bertanam Pepaya*. Jakarta : PT Penebar Swadaya.
- Moeljanto. 1992. *Pengalengan Ikan, Penanganan Ikan Segar, Pengawetan dan Pengolahan Hasil Perikanan*. Jakarta: Penebar Swadaya.

- Muchtadi, T.R. dan Sugiono. 1992. *Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan*. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Tinggi Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Olson, D.G and F.C. Parrish. 1977. Relationship of Myofibril Fragmentation Index To Measures of Beef Steak Tenderness. *J Food Sci. Volume 42* : 506-509.
- Ophardt, C. 2003. *Mechanism of Enzyme Reaction*. <http://member.oal.com>. diakses pada tanggal 01 April 2016.
- Palmer, T. 1995. *Understanding Enzymes*, 4th edition, London : Prentice Hall.
- Poedjiadi, Anna. 1994. *Dasar-dasar Biokimia*. Jakarta: UI Press.
- Praptiningsih, Yulia. 1999. *Buku Ajar Teknologi Pengolahan*. Jember: FTP. UNEJ.
- Prasetyo M. N. 2012. Pembuatan Kecap dari Ikan Gabus Secara Hidrolisis Enzimatis Menggunakan Sari Nanas. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri. Vol,1. No (1). Hal : 270- 276*.
- Rahayu, W.P., Ma'oen, S., Suliantari dan Fardiaz, S. 1992. *Teknologi Fermentasi Produk Perikanan*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB.
- Rao MB, Tanksale AM, Ghatge MS, Deshpande VV. 1998. Molecular and biotechnological aspect of microbial proteases. *Microbiol Mol Biol Review* 62:597-635.
- Rasyid, A. 2001. Isolasi Asam Lemak Tak Jenuh Majemuk Omega-3 dari Ikan Lemuru (*Sardinella* sp.). *Prosiding Seminar Riptek Kelautan Nasional*. Jakarta.
- Reed, G. 1975. *Enzymes in Food Processing*. New York: Academic Press.
- Risnawati, Metty dan Sari Edi Cahyaningrum. 2013. Pengaruh Penambahan Ion Logam Ca Terhadap Aktivitas Enzim Papain. *UNESA Journal of Chemistry. Volume 2 (1): 76-83*.
- Rohman, Abdul dan Gandjar, I. 2010. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Rostini, I. 2007. Peranan Bakteri Asam Laktat (*Lactobacillus plantarum*) Terhadap masa Simpan Fillet Nila Merah Pada Suhu Rendah. *Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan*. Jatinangor: Universitas Padjadjaran.
- Savitri, E. 2008. *Khasiat Tanaman Obat Dalam Prespektif Islam*. Malang: Uin Press.
- Shihab, Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah*. Jakarta: Lentera Hati.
- Siagian A. 2002. *Identifikasi Sederhana Makanan Beresiko Tidak Aman*. Fakultas Kesehatan Masyarakat. Universitas Sumatera Utara.

- Simanjourang, dkk. 2012. Pengaruh Penggunaan Enzim Papain Dengan Konsentrasi Yang Berbeda Terhadap Karakteristik Kimia Kecap Tutut. Skripsi. *Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan*: Universitas Padjajaran.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., dan Suhardi. 2008. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty Press.
- Suhardi, Haryono, B. Sudarmadji, S... 1997. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Penerbit Liberty.
- Suparman, A. 1993. Pembuatan Kecap Ikan dengan Cara Kombinasi Hidrolisa Enzimatis dan Fermentasi. Skripsi. *Fakultas Teknologi Pertanian*. Bogor: IPB.
- Suparno. 1993. Kumpulan hasil-hasil penelitian pascapanen perikanan. *Seri pengembangan hasil penelitian*. No. PHP/KAN/23. Puslitbang Perikanan.
- Suprpti, M Lies. 2008. *Produk-Produk Olahan Ikan Kecap, Dendeng, dan Kamaboko*. Yogyakarta: Kanisius.
- Syahrizal FSNA. 1991. Mikrobiologi kecap ikan yang dibuat secara hidrolisis enzimatis [skripsi]. Bogor: *Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor*.
- Tampubolon, R.V., Sukimin.S, dan Rahradjo. 2002. Aspek Biologi Reproduksi dan Pertumbuhan Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps* C.V) di Perairan Teluk Sibolga. *Jurnal Iktiologi Indonesia*. Vol. 2, No.1.
- Thariq, Ahmad Sofie, Fronthea Swastawati, Titi Surti. 2014. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Garam pada Peda Ikan Kembung (*Rastrelliger neglectus*) Terhadap Kandungan Asam Glutamat Pemberi Rasa Gurih (Umami). *Jurnal- Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan Volume 3 Nomer 3*. Halaman 104-111.
- Warisno. 2003. *Budidaya Pepaya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Whitaker, J.R. 1994. *Principles of Enzymology for the Food Sciences*. California: Marcel Dekker Inc.
- Widyastuti, Puji. Ryadi, putut. dan Ibrahim, Rama. 2014. Mutu Kecap Ikan Yang Terbuat Dari Isi Perut Ikan Manyung (*Arius Thalassinus*) Dengan Konsentrasi Garayang Berbeda. *Jurnal Saintek Perikanan Vol. 9, No. 2, 2014: 18-23*.
- Wijayanti, Ima dkk. 2015. Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain terhadap Kadar Proksimat dan Nilai Rendemen Hidrolisat ProteinIkan Bandeng (*Chanos chanos* Forsskal). *Akuatika Volume 12 No 1*.
- Winarno, F.G. 1993. *Pengantar Teknologi Pangan*. Jakarta: PT. Gramedia.
- Winarno, F. G.1983. *Enzim Pangan*. Jakarta: PT Gramedia Pustaka Utama.
- Wirakusumah, Emma S. 2002. *Buah dan Sayur untuk Terapi*. Jakarata: Penebar Swadaya.

- Wiryawan. A. 2011. Kajian pengaruh metode penggaraman basah terhadap ikan asin gabus dengan metode argentometri. *Jurnal Teknologi Pertanian*. Volume 8, No 3: halaman 25- 26.
- Xu ,Wei., Yu, Gang., Xue ,Changhu. , Xue, Yong, Ren ,Yan . 2007. Biochemical changes associated with fast fermentation of squid processing by-products for low salt fish sauce. *Jurnal Kimia Pangan*. No 107, halaman 1597 – 1604.



Lampiran 1. Data Hasil Rendemen, Kadar Protein, Kadar Garam dan pH Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

1. Data Hasil Rendemen Kecap Ikan Lemuru

Konsentrasi Papain Kasar	Ulangan	Lama Waktu Fermentasi Hari Ke-		
		W1 (3 Hari)	W2 (6 Hari)	W3 (9 Hari)
P1 (4%)	1	71,81	88,39	89,42
	2	75,14	90,61	89,91
	3	78,66	89,10	89,55
	Rata-rata	75,20 ±3,42	89,36 ±1,13	89,62 ±0,25
P2 (7%)	1	86,48	89,57	91,28
	2	84,12	90,59	90,77
	3	82,23	89,69	89,58
	Rata-rata	84,27 ±2,12	89,95 ±0,55	90,54 ±0,87
P3 (10%)	1	87,78	91,89	92,86
	2	84,41	91,23	92,37
	3	84,80	92,17	91,00
	Rata-rata	85,66 ±1,84	91,76 ±0,48	92,07 ±0,96

2. Data Hasil Kadar Protein Kecap Ikan Lemuru

Konsentrasi Papain Kasar	Ulangan	Lama Waktu Fermentasi Hari Ke-		
		W1 (3 Hari)	W2 (6 Hari)	W3 (9 Hari)
P1 (4%)	1	3,44	3,84	4,21
	2	3,31	4,02	4,18
	3	3,40	4,00	4,24
	Rata-rata	3,38 ±0,06	3,95 ±0,09	4,21 ±0,03
P2 (7%)	1	3,62	4,86	4,89
	2	3,75	4,74	4,89
	3	3,64	4,74	4,76
	Rata-rata	3,67 ±0,07	4,78 ±0,07	4,84 ±0,06
P3 (10%)	1	3,94	4,32	4,58
	2	3,93	4,41	4,66
	3	3,85	4,24	4,54
	Rata-rata	3,90 ±0,04	4,32 ±0,08	4,59 ±0,06

3. Data Hasil Kadar Garam Kecap Ikan Lemuru

Konsentrasi Papain Kasar	Ulangan	Lama Waktu Fermentasi Hari Ke-		
		W1 (3 Hari)	W2 (6 Hari)	W3 (9 Hari)
P1 (4%)	1	22,21	22,79	21,63
	2	22,50	21,33	22,21
	3	22,50	21,92	23,09
	Rata-rata	22,40 $\pm 0,16$	22,01 $\pm 0,73$	22,31 $\pm 0,73$
P2 (7%)	1	23,09	22,79	23,67
	2	23,38	23,96	22,79
	3	23,67	22,79	23,38
	Rata-rata	23,38 $\pm 0,29$	23,18 $\pm 0,67$	23,28 $\pm 0,44$
P3 (10%)	1	25,43	24,84	24,26
	2	23,96	25,13	25,43
	3	24,84	24,55	25,72
	Rata-rata	24,74 $\pm 0,73$	24,84 $\pm 0,29$	25,13 $\pm 0,77$

4. Data Hasil Pengukuran pH Kecap Ikan Lemuru

Konsentrasi Papain Kasar	Ulangan	Lama Waktu Fermentasi Hari Ke-		
		W1 (3 Hari)	W2 (6 Hari)	W3 (9 Hari)
P1 (4%)	1	5,72	5,65	5,62
	2	5,71	5,66	5,64
	3	5,69	5,65	5,66
	Rata-rata	5,70 $\pm 0,01$	5,65 $\pm 0,005$	5,64 $\pm 0,02$
P2 (7%)	1	5,68	5,63	5,62
	2	5,69	5,64	5,63
	3	5,70	5,63	5,64
	Rata-rata	5,69 $\pm 0,01$	5,63 $\pm 0,005$	5,63 $\pm 0,01$
P3 (10%)	1	5,65	5,64	5,60
	2	5,62	5,62	5,61
	3	5,65	5,63	5,62
	Rata-rata	5,64 $\pm 0,01$	5,63 $\pm 0,01$	5,61 $\pm 0,01$

Lampiran 2. Perhitungan Rendemen, Kadar Protein dan Kadar Garam Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

1. Perhitungan Rendemen

$$\text{Rumus: \% Rendemen} = \frac{\text{massa produk kecap}}{\text{massa bahan baku}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Contoh: \% Rendemen} &= \frac{\text{massa produk kecap}}{\text{massa bahan baku}} \times 100\% \\ &= \frac{75,04}{104,49} \times 100\% \\ &= 71,81 \% \end{aligned}$$

No.	Kode Sampel	Massa Produk (g)	Massa Bahan Baku (g)	Rendemen (%)
1	P1W1	75,04	104,49	71,81 %
2	P1W1	78,03	103,84	75,14 %
3	P1W1	82,11	104,38	78,66 %
4	P2W1	89,54	103,53	86,48 %
5	P2W1	87,94	104,54	84,12 %
6	P2W1	86,43	105,11	82,23 %
7	P3W1	95,17	108,41	87,78 %
8	P3W1	89,43	105,95	84,41 %
9	P3W1	89,01	104,96	84,80 %
10	P1W2	99,66	112,74	88,39 %
11	P1W2	98,88	109,12	90,61 %
12	P1W2	98,76	110,84	89,10 %
13	P2W2	100,34	109,19	91,89 %
14	P2W2	99,31	108,84	91,23 %
15	P2W2	100,46	108,99	92,17 %
16	P3W2	99,97	111,60	89,57 %
17	P3W2	99,97	110,35	90,59 %
18	P3W2	99,01	110,39	89,69 %
19	P1W3	99,81	111,61	89,42 %
20	P1W3	99,82	111,01	89,91 %
21	P1W3	92,58	103,39	89,55 %
22	P2W3	102,35	110,22	92,86 %
23	P2W3	100,02	108,28	92,37 %
24	P2W3	100,36	110,28	91,00 %
25	P3W3	93,54	102,47	91,28 %
26	P3W3	93,47	102,97	90,77 %
27	P3W3	98,46	109,91	89,58 %

2. Perhitungan Kadar Protein

A. Pembuatan Larutan BSA (Bovin Serum Albumin) untuk Kurva Standar Uji Kadar Protein Metode Biuret

- a. Cara pembuatan larutan stok Bovine Serum Albumin (BSA) ppm adalah :

$$5000 \text{ ppm} = \frac{5000 \mu\text{g}}{1 \text{ ml}} = \frac{50000 \mu\text{g}}{10 \text{ ml}} = \frac{50 \text{ mg}}{10 \text{ ml}}$$

- b. Untuk membuat larutan protein standar 5000 ppm dibutuhkan 50 mg Bovine Serum Albumin (BSA), dilarutkan dalam 10 ml aquades. Selanjutnya dibuat larutan BSA dengan variasi konsentrasi 0, 0,05 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,2 mg/ml, 0,3 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,5 mg/ml sebanyak 10 ml sesuai dengan perhitungan berikut :

$$\text{Misal dibuat variasi konsentrasi } 0,1 \text{ mg/ml} = \frac{1 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = \frac{1000 \mu\text{g}}{10 \text{ ml}} = 100 \text{ ppm}$$

B. Perhitungan Kurva Standart

1. Konsentrasi $0,05 \text{ mg/ml} = 50 \text{ ppm}$

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 5000 &= 10 \times 50 \\ V_1 &= \frac{500}{5000} = 0,1 \text{ ml BSA dalam 3,9 ml aquades} \end{aligned}$$

2. Konsentrasi $0,1 \text{ mg/ml} = 100 \text{ ppm}$

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 5000 &= 10 \times 100 \\ V_1 &= \frac{1000}{5000} = 0,2 \text{ ml BSA dalam 3,8 ml aquades} \end{aligned}$$

3. Konsentrasi $0,2 \text{ mg/ml} = 200 \text{ ppm}$

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 5000 &= 10 \times 200 \\ V_1 &= \frac{2000}{5000} = 0,4 \text{ ml BSA dalam 3,6 ml aquades} \end{aligned}$$

4. Konsentrasi $0,3 \text{ mg/ml} = 300 \text{ ppm}$

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 5000 &= 10 \times 300 \\ V_1 &= \frac{3000}{5000} = 0,6 \text{ ml BSA dalam 3,4 ml aquades} \end{aligned}$$

5. Konsentrasi $0,4 \text{ mg/ml} = 400 \text{ ppm}$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 5000 = 10 \times 400$$

$$V_1 = \frac{4000}{5000} = 0,8 \text{ ml BSA dalam 3,2 ml aquades}$$

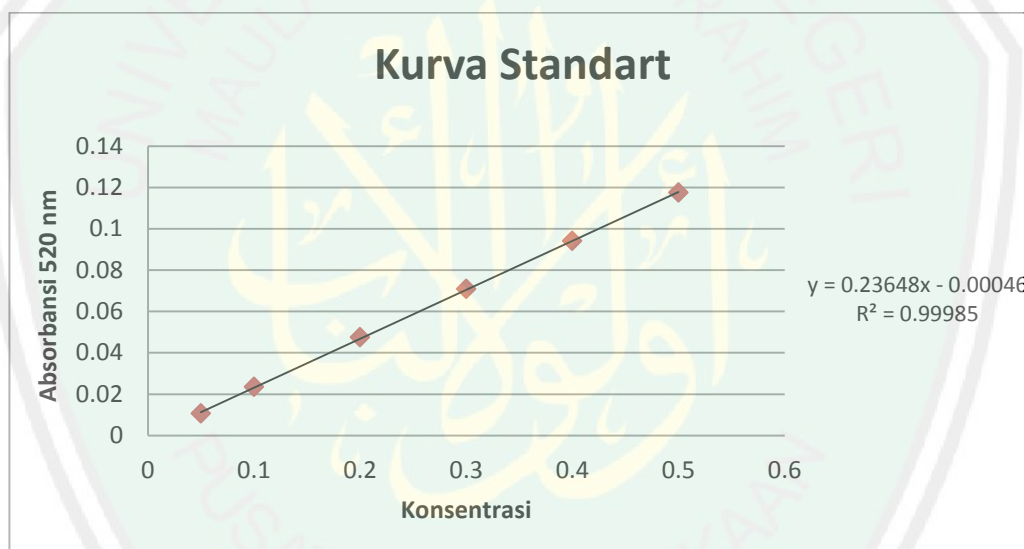
6. Konsentrasi $0,5 \text{ mg/ml} = 500 \text{ ppm}$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 5000 = 10 \times 500$$

$$V_1 = \frac{5000}{5000} = 1 \text{ ml BSA dalam 3 ml aquades}$$

C. Grafik Kurva Standart



D. Perhitungan Kadar Protein dalam Sampel

$$\text{Konsentrasi protein} = \frac{\text{Absorbansi sampel} + 0,00046}{0,23648}$$

$$\text{Konsentrasi sampel} = \frac{\text{Massa} \times 1000 \text{ (mg)}}{100 \text{ (ml)}}$$

$$\% \text{ Protein} = \frac{\text{Konsentrasi protein}}{\text{Konsentrasi sampel}} \times \text{fp} \times 100\%$$

Contoh: Konsentrasi protein = $\frac{\text{Absorbansi sampel} + 0,00046}{0,23648}$

$$= \frac{0,0406 + 0,00046}{0,23648}$$

$$= 0,1736$$

Konsentrasi sampel = $\frac{\text{Massa} \times 1000 \text{ (mg)}}{100 \text{ (ml)}}$

$$= \frac{5,0453 \times 1000 \text{ (mg)}}{100 \text{ (ml)}}$$

$$= 50,4530$$

% Protein = $\frac{\text{Konsentrasi protein}}{\text{Konsentrasi sampel}} \times \text{fp} \times 100\%$

$$= \frac{0,1736}{50,4530} \times 10 \times 100$$

$$= 3,44 \%$$

No	Kode Sampel	Massa (g)	Absorbansi	Konsentrasi protein (mg/ml)	Konsentrasi ampel (mg/ml)	Protein (%)
1	P1W1	5,0453	0,0406	0,1736	50,4530	3,44
2	P2W1	5,1191	0,0434	0,1855	51,1910	3,62
3	P3W1	5,1406	0,0433	0,2026	51,4060	3,94
4	P1W2	5,1609	0,0464	0,1982	51,6090	3,84
5	P2W2	5,0602	0,0536	0,2461	50,6020	4,86
6	P3W2	5,1049	0,0476	0,2207	51,0490	4,32
7	P1W3	5,1144	0,0463	0,2152	51,1440	4,21
8	P2W3	5,0761	0,0541	0,2482	50,7610	4,89
9	P3W3	5,1765	0,0515	0,2372	51,7650	4,58
10	P1W1	5,0758	0,0393	0,1681	50,7580	3,31
11	P2W1	5,0569	0,0444	0,1897	50,5690	3,75
12	P3W1	5,0933	0,0427	0,2000	50,9330	3,93
13	P1W2	5,0945	0,0438	0,2047	50,9450	4,02
14	P2W2	5,0655	0,0522	0,2402	50,6550	4,74
15	P3W2	5,0635	0,0482	0,2233	50,6350	4,41
16	P1W3	5,1739	0,0466	0,2165	51,7390	4,18
17	P2W3	5,0472	0,0538	0,2470	50,4720	4,89
18	P3W3	5,0985	0,0516	0,2377	50,9850	4,66
19	P1W1	5,0134	0,0357	0,1704	50,1340	3,40
20	P2W1	5,0362	0,0387	0,1831	50,3620	3,64
21	P3W1	5,1669	0,0424	0,1987	51,6690	3,85
22	P1W2	5,1288	0,0439	0,2051	51,2880	4,00
23	P2W2	5,1104	0,0527	0,2423	51,1040	4,74
24	P3W2	5,0752	0,0463	0,2152	50,7520	4,24
25	P1W3	5,1246	0,0468	0,2174	51,2460	4,24
26	P2W3	5,1845	0,0537	0,2465	51,8450	4,76
27	P3W3	5,1298	0,0505	0,2330	51,2980	4,54

3. Perhitungan Kadar Garam

$$\text{Rumus: \% NaCl} = \frac{\text{ml AgNO}_3 \times 0,1 \times F_p \times \text{BM NaCl (58,46)}}{\text{mg sampel}} \times 100\%$$

- 1 ml = 1 g
- 1 gram = 1000 mg

$$\text{Contoh: } \sum \text{ml AgNO}_3 = 7,5 + 7,7 = 15,2 : 2 = 7,6$$

$$\begin{aligned} \% \text{ NaCl} &= \frac{\text{ml AgNO}_3 \times 0,1 \times F_p \times \text{BM NaCl (58,46)}}{\text{mg sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{7,6 \times 0,1 \times 25 \times 58,46}{5000} \times 100\% \\ &= 22,21\% \end{aligned}$$

No.	Kode Sampel	Vol. AgNO ₃ (ml)	Kadar Garam (%)
1	P1W1	7,6	22,21
2	P1W1	7,7	22,50
3	P1W1	7,7	22,50
4	P2W1	7,9	23,09
5	P2W1	8,0	23,38
6	P2W1	8,1	23,67
7	P3W1	8,7	25,43
8	P3W1	8,2	23,96
9	P3W1	8,5	24,84
10	P1W2	7,8	22,79
11	P1W2	7,3	21,33
12	P1W2	7,5	21,92
13	P2W2	7,8	22,79
14	P2W2	8,2	23,96
15	P2W2	7,8	22,79
16	P3W2	8,5	24,84
17	P3W2	8,6	25,13
18	P3W2	8,4	24,55
19	P1W3	7,4	21,63
20	P1W3	7,6	22,21
21	P1W3	7,9	23,09
22	P2W3	8,1	23,67
23	P2W3	7,8	22,79
24	P2W3	8,0	23,38
25	P3W3	8,3	24,26
26	P3W3	8,7	25,43
27	P3W3	8,8	25,72

Lampiran 3. Hasil Analisis Statistik dengan SPSS Tentang Pengaruh Pemberian Enzim Papain Kasar (*Crude Papain*) dan Lama Fermentasi Terhadap Rendemen, Kadar Protein, Kadar Garam dan pH. Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

1. Analisis Rendemen Kecap Ikan Lemuru

	Value Label	N
Konsentrasi 1	4%	9
2	7%	9
3	10%	9
LamaWaktu 1	3 Hari	9
2	6 Hari	9
3	9 Hari	9

Rendemen

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	681.656 ^a	8	85.207	33.007	.000
Intercept	207229.190	1	207229.190	8.028E4	.000
Konsentrasi	122.803	2	61.401	23.786	.000
LamaWaktu	469.495	2	234.748	90.937	.000
Konsentrasi * LamaWaktu	89.359	4	22.340	8.654	.000
Error	46.466	18	2.581		
Total	207957.312	27			
Corrected Total	728.122	26			

Terdapat pengaruh pemberian papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi terhadap rendemen kecap ikan lemuru karena interaksinya mempunyai nilai Sig=0,00<0,05, sehingga perlu dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan (5%).

Post Hoc Test: Uji Jarak Duncan (5%)

Homogenous

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1	3	75.2033		
4	3		84.2767	
7	3		85.6633	
2	3			89.3667
3	3			89.6267
5	3			89.9500
6	3			90.5433
8	3			91.7633
9	3			92.0767
Sig.		1.000	.305	.082

2. Analisis Kadar Protein Kecap Ikan Lemuru

		Value Label	N
Lama Waktu	1	3 Hari	9
	2	6 Hari	9
	3	9 Hari	9
Konsentrasi	1	4%	9
	2	7%	9
	3	10%	9

Kadar Protein

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6.052 ^a	8	.757	155.447	.000
Intercept	472.926	1	472.926	9.718E4	.000
LamaWaktu	3.924	2	1.962	403.202	.000
Konsentrasi	1.639	2	.819	168.371	.000
LamaWaktu * Konsentrasi	.489	4	.122	25.108	.000
Error	.088	18	.005		
Total	479.066	27			
Corrected Total	6.140	26			

Terdapat pengaruh pemberian papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi terhadap kadar protein kecap ikan lemuru karena interaksinya mempunyai nilai $\text{Sig}=0,00<0,05$, sehingga perlu dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan (5%).

Post Hoc Test: Uji Jarak Duncan (5%)
Homogenous

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
1	3	3.3833					
4	3		3.6700				
7	3			3.9067			
2	3			3.9533			
3	3				4.2100		
8	3				4.3233		
9	3					4.5933	
5	3						4.7800
6	3						4.8467
Sig.		1.000	1.000	.423	.062	1.000	.257

3. Analisis Kadar Garam Kecap Ikan Lemuru

	Value Label	N
Konsentrasi 1	4%	9
2	7%	9
3	10%	9
LamaWaktu 1	3 Hari	9
2	6 Hari	9
3	9 Hari	9

Kadar Garam

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	28.310 ^a	8	3.539	10.656	.000
Intercept	14058.597	1	14058.597	4.233E4	.000
Konsentrasi	27.503	2	13.752	41.407	.000
LamaWaktu	.136	2	.068	.205	.817
Konsentrasi * LamaWaktu	.191	4	.048	.144	.963
Error	5.646	17	.332		
Total	14258.351	26			
Corrected Total	33.956	25			

Post Hoc Test: Uji Jarak Duncan (5%)

Homogenous

Konsentrasi	N	Subset		
		1	2	3
4%	9	22.2422		
7%	9		23.2800	
10%	8			24.8050
Sig.		1.000	1.000	1.000

4. Analisis pH Kecap Ikan Lemuru

	Value Label	N
Konsentrasi 1	4%	9
2	7%	9
3	10%	9
LamaWaktu 1	3 Hari	9
2	6 Hari	9
3	9 Hari	9

pH

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.023 ^a	8	.003	19.744	.000
Intercept	861.230	1	861.230	5.813E6	.000
Konsentrasi	.008	2	.004	26.175	.000
LamaWaktu	.014	2	.007	45.975	.000
Konsentrasi * LamaWaktu	.002	4	.001	3.413	.030
Error	.003	18	.000		
Total	861.256	27			
Corrected Total	.026	26			

Terdapat pengaruh pemberian papain kasar (*crude papain*) dan lama fermentasi terhadap pH kecap ikan lemuru karena interaksinya mempunyai nilai $\text{Sig}=0,03 < 0,05$, sehingga perlu dilanjutkan dengan Uji Jarak Duncan (5%).

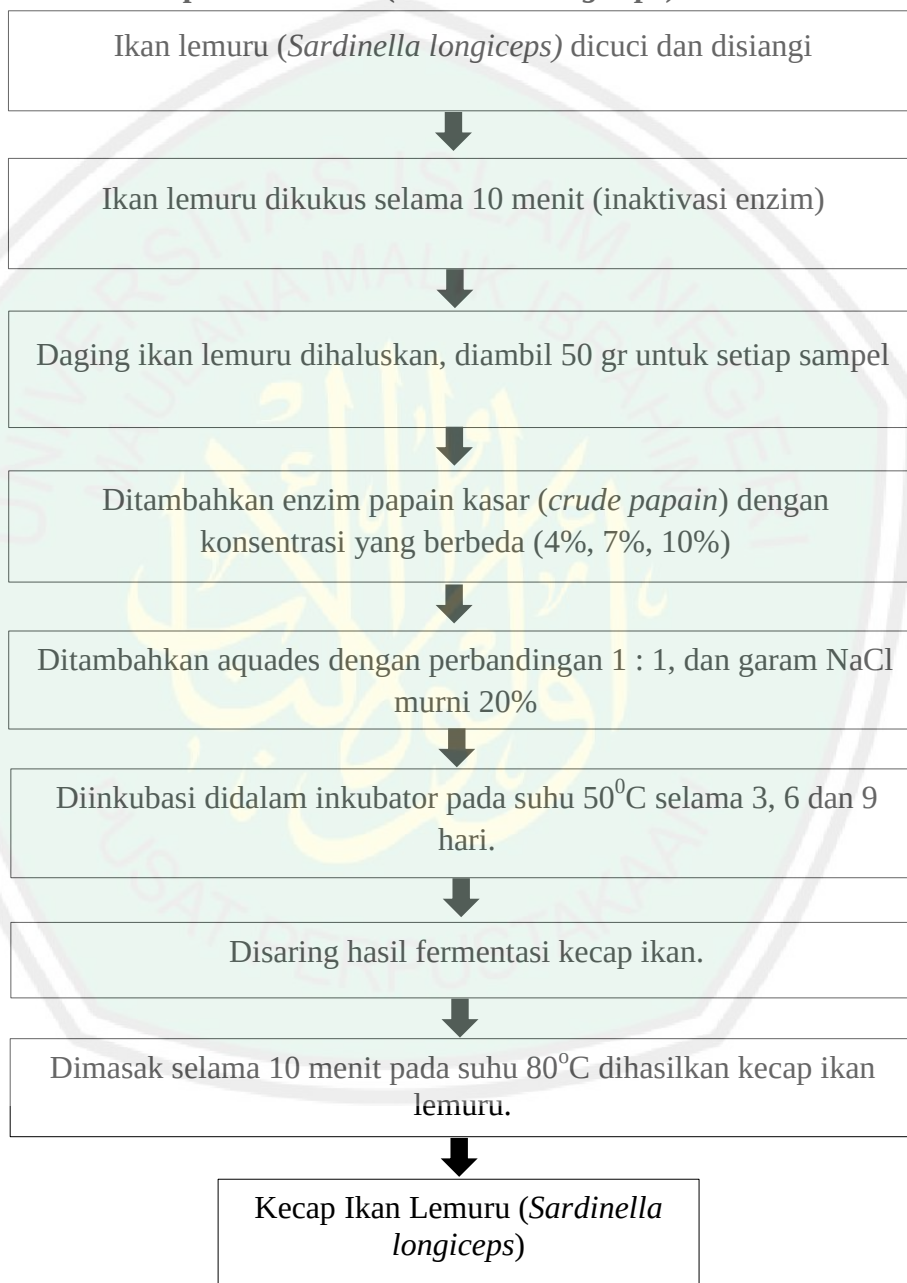
Post Hoc Test: Uji Jarak Duncan (5%)

Homogenous

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
9	3	5.6100		
6	3	5.6300	5.6300	
8	3	5.6300	5.6300	
5	3		5.6333	
3	3		5.6400	
7	3		5.6400	
2	3		5.6533	
4	3			5.6900
1	3			5.7067
Sig.		.078	.055	.119

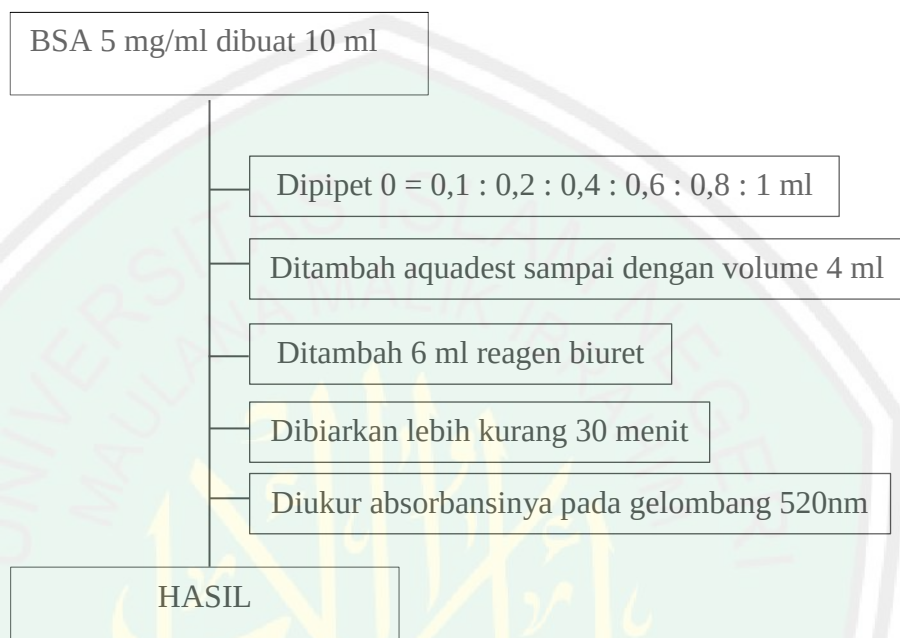
Lampiran 4. Flow Chart Pembuatan Kecap Ikan Lemuru, Uji Rendemen, Uji Kadar Protein, Uji Kadar Garam dan pH.

1. Pembuatan kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*)

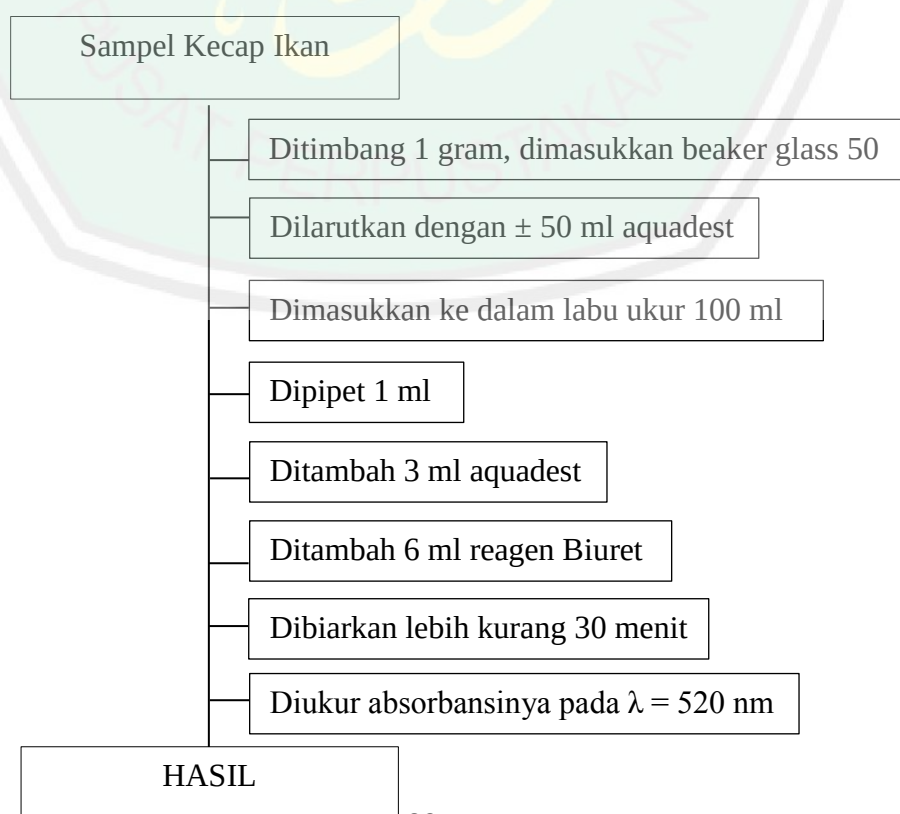


2. Analisis Kadar Protein Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

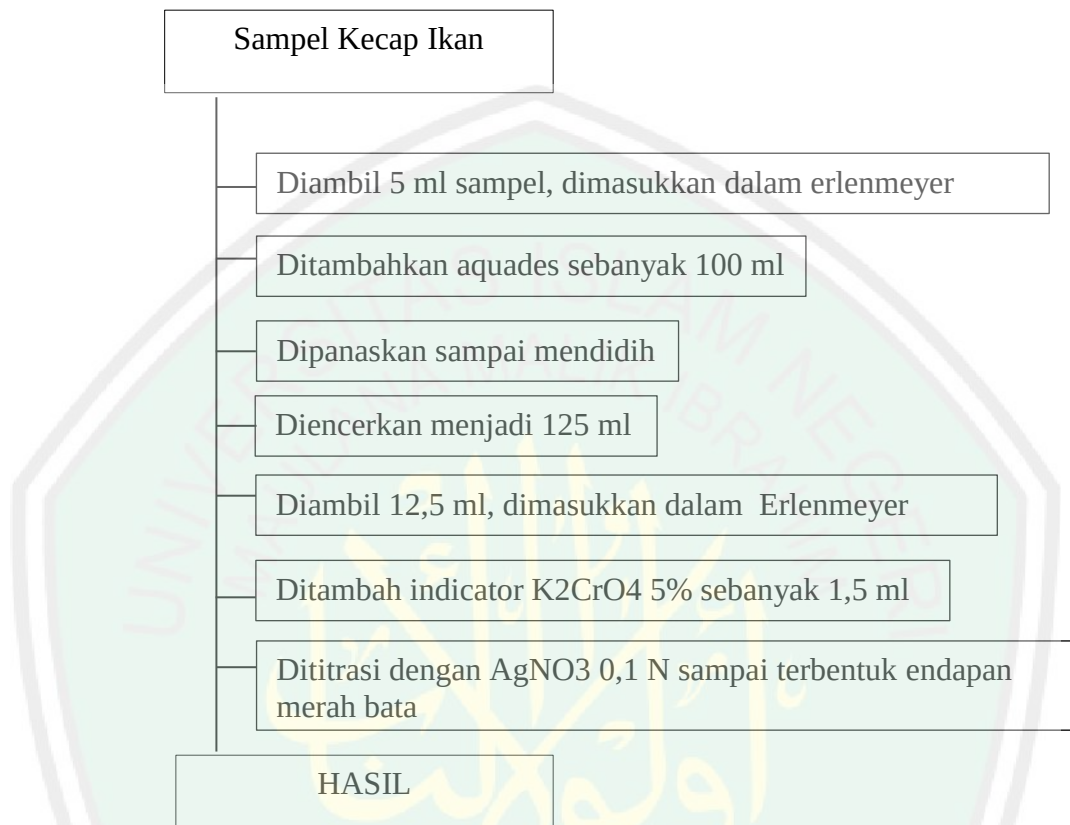
a. Pembuatan Kurva Standar



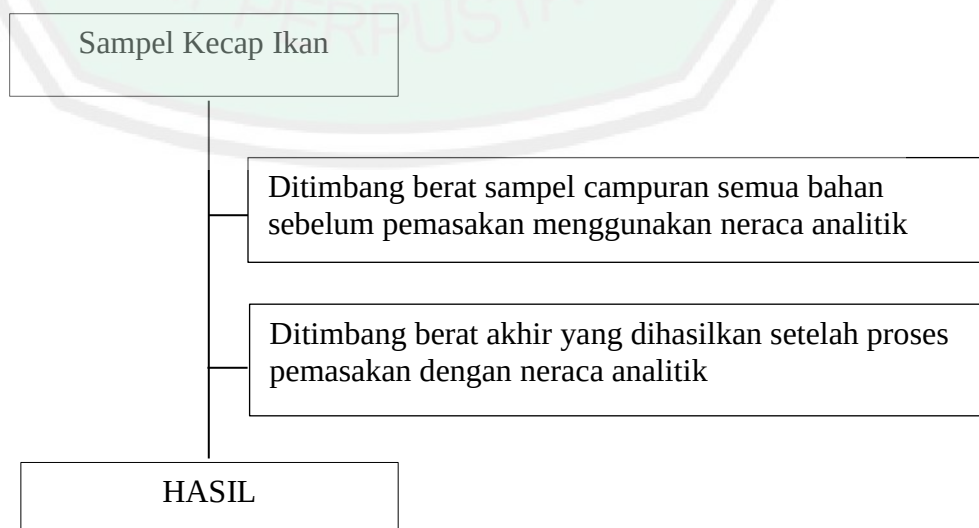
b. Uji Kadar Protein Sampel Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)



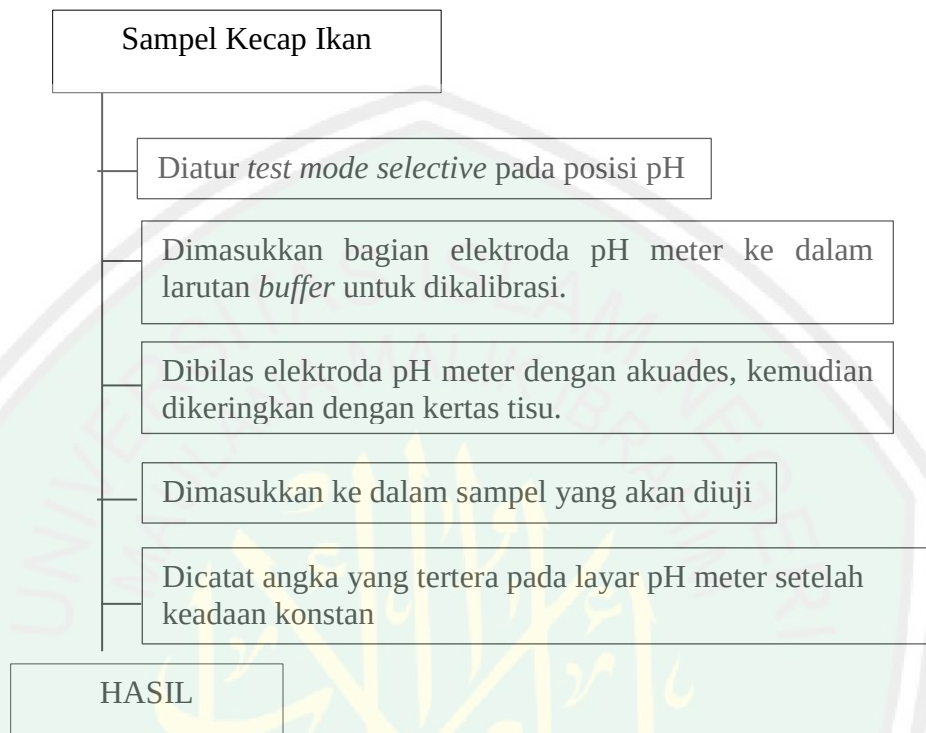
3. Penentuan Kadar NaCl Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)



4. Penentuan Rendemen Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)



5. Penentuan pH Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)



Lampiran 5. Absorbansi

KURVA Baku BSA

Concentration Analysis Report

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 520.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Standard/Sample averaging OFF
 Weight and volume corrections OFF
 Fit type Linear
 Min R² 0.95000
 Concentration units mg/mL

Zero Report

Read	Abs	nm
Zero	(0.1181)	520.0

Calibration

Standard	Concentration mg/mL	F	Mean	SD	%RSD	Readings
Std 1						0.0104 0.0107 0.0107
	0.05	0.0106	0.0002	1.5		
Std 2						0.0234 0.0235 0.0234
	0.10	0.0234	0.0000	0.17		
Std 3						0.0474 0.0474 0.0475
	0.20	0.0474	0.0001	0.13		
Std 4						0.0709 0.0708 0.0707
	0.30	0.0708	0.0001	0.18		
Std 5						0.0941 0.0942 0.0940
	0.40	0.0941	0.0001	0.11		
Std 6						0.1174 0.1174 0.1174
	0.50	0.1174	0.0000	0.04		

Calibration eqn

Abs = 0.23648*Conc -0.00046

Correlation Coefficient

0.99985

Absorbansi Sampel Kecap Ikan

Advanced Reads Report

Instrument Settings

Instrument Cary 50
 Instrument version no. 3.00
 Wavelength (nm) 520.0
 Ordinate Mode Abs
 Ave Time (sec) 0.1000
 Replicates 3
 Sample averaging OFF

Analysis

Sample	F	Mean	SD	%RSD	Readings
P1W1					0.0406 0.0405 0.0406
		0.0406	0.0000	0.05	
P1W1					0.0394 0.0393 0.0393
		0.0393	0.0001	0.12	
P1W1					0.0358 0.0357 0.0357
		0.0357	0.0001	0.14	
P2W1					0.0435 0.0434 0.0433
		0.0434	0.0001	0.24	
P2W1					0.0445 0.0444 0.0443
		0.0444	0.0001	0.26	
P2W1					0.0387 0.0387 0.0386
		0.0387	0.0001	0.15	
P3W1					0.0432 0.0433 0.0433
		0.0433	0.0001	0.17	
P3W1					0.0427 0.0426 0.0426
		0.0427	0.0001	0.12	
P3W1					0.0424 0.0424 0.0424
		0.0424	0.0000	0.06	
P1W2					0.0464 0.0463 0.0465
		0.0464	0.0001	0.28	
P1W2					0.0438 0.0438 0.0437
		0.0438	0.0001	0.16	
P1W2					0.0439 0.0438 0.0439
		0.0439	0.0000	0.14	

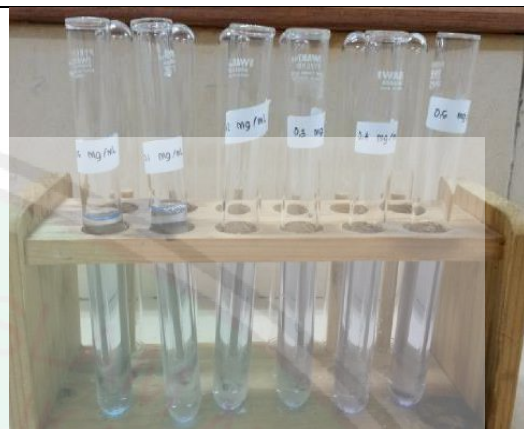
P2W2				0.0537 0.0536 0.0537
	0.0536	0.0001	0.13	
P2W2				0.0523 0.0522 0.0522
	0.0522	0.0001	0.16	
P2W2				0.0528 0.0526 0.0525
	0.0527	0.0002	0.27	
P3W2				0.0477 0.0476 0.0475
	0.0476	0.0001	0.21	
P3W2				0.0482 0.0481 0.0482
	0.0482	0.0001	0.18	
P3W2				0.0465 0.0462 0.0461
	0.0463	0.0002	0.40	
P1W3				0.0463 0.0463 0.0463
	0.0463	0.0000	0.06	
P1W3				0.0466 0.0466 0.0465
	0.0466	0.0000	0.08	
P1W3				0.0467 0.0468 0.0468
	0.0468	0.0001	0.13	
P2W3				0.0542 0.0542 0.0541
	0.0541	0.0001	0.11	
P2W3				0.0539 0.0538 0.0538
	0.0538	0.0000	0.07	
P2W3				0.0538 0.0536 0.0535
	0.0537	0.0002	0.27	
P3W3				0.0514 0.0515 0.0516
	0.0515	0.0001	0.19	
P3W3				0.0516 0.0516 0.0515
	0.0516	0.0001	0.13	
P3W3				0.0505 0.0506 0.0505
	0.0505	0.0001	0.16	

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*)

	
Sterilisasi alat	Penyiangan Ikan Lemuru
	
Penghalusan dan penimbangan ikan	Penambahan papain kasar dan garam
	
Penambahan aquades pada sampel	Inkubasi kecap ikan



Kecap ikan lemur



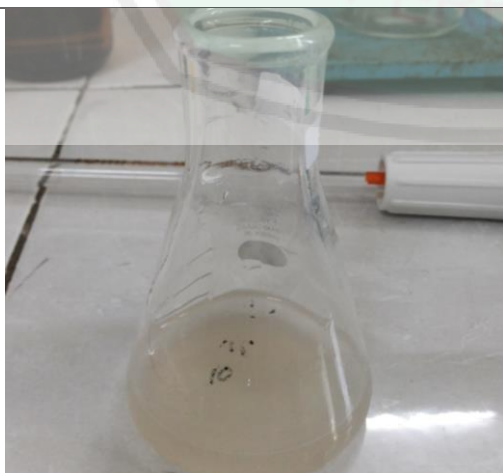
Penentuan Kurva Standart



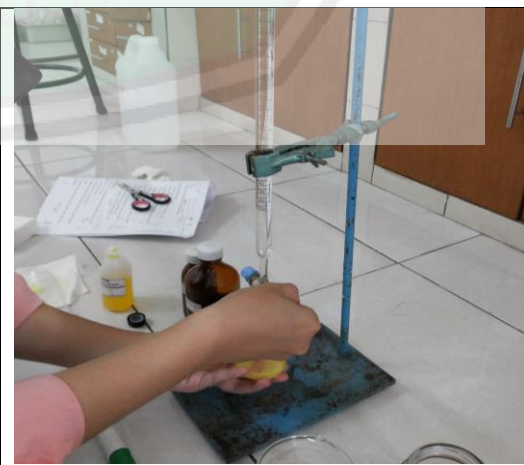
Penentuan kadar protein sampel kecap



Proses pemanasan uji kadar garam



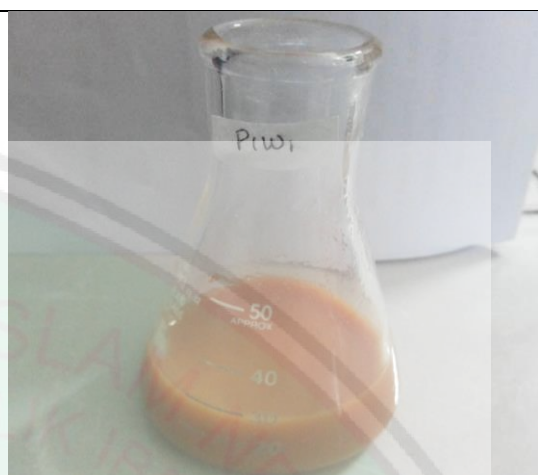
Penentuan kadar garam kecap ikan



Proses titrasi pada analisis K. Garam



Penentuan kadar garam kecap ikan



Penentuan kadar garam kecap ikan



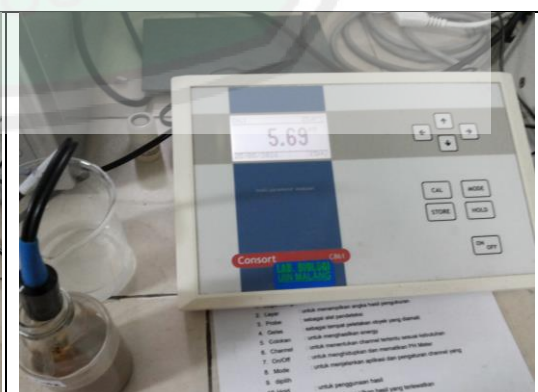
Pengukuran rendemen kecap ikan



Pengukuran rendemen kecap ikan



Pengukuran pH menggunakan pH meter



Pengukuran pH menggunakan pH meter



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang (0341) 551345 Fax. (0341) 572533

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Minhatin Aniqoh
NIM : 12620086
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Enzim Papain Kasar (*Crude Papain*) dan Lama Fermentasi terhadap Kualitas Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella lemuru*)
Pembimbing : Ir. Hj. Liliek Harianie. AR, M.P

No.	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	24 Maret 2016	Pengajuan Judul	1. 
2.	15 April 2016	Pengajuan Proposal	2. 
3.	21 April 2016	Revisi Bab 1 dan II	3. 
4.	26 Mei 2016	Revisi Bab II dan III	4. 
5.	8 Juni 2016	ACC Proposal Skripsi	5. 
6.	22 Juni 2016	Seminar Proposal Skripsi	6. 
7.	10 Agustus 2016	Revisi BAB I, II, dan III	7. 
8.	17 Agustus 2016	ACC BAB I, II, dan III	8. 
9.	18 Oktober 2016	Konsultasi BAB IV	9. 
10.	20 Desember 2016	Revisi BAB IV	10. 
11.	5 Januari 2017	ACC Skripsi	11. 
12.	10 Januari 2017	ACC Keseluruhan	12. 

Malang, 10 Januari 2017
Mengetahui,
Ketua Jurusan,




Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 197410182003122002



KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
Jl. Gajayana No. 50 Dinoyo Malang (0341) 551345 Fax. (0341) 572533

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Minhatin Aniqoh
NIM : 12620086
Fakultas/Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi
Judul Skripsi : Pengaruh Pemberian Enzim Papain Kasar (*Crude Papain*) dan Lama Fermentasi terhadap Kualitas Kecap Ikan Lemuru (*Sardinella lemuru*)

Pembimbing : Dr. H. Ahmad Barizi, M.A

No.	Tanggal	Uraian Materi Konsultasi	Ttd. Pembimbing
1.	8 Juni 2016	Konsultasi BAB I, II, dan III	1.
2.	13 Juni 2016	Revisi BAB I, II, dan III	2.
3.	18 Agustus 2016	ACC BAB I, II, dan III	3.
4.	25 Oktober 2016	Konsultasi BAB IV	4.
5.	11 Desember 2016	Revisi BAB IV	5.
6.	5 Januari 2017	ACC Skripsi	6.
7.	10 Januari 2017	ACC Keseluruhan	7.

Malang, 10 Januari 2017
Mengetahui,
Ketua Jurusan,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 197410182003122002