

KOMPOSISI N-PROTEIN DAN ASAM AMINO PRODUK FERMENTASI TRADISIONAL INA SUA DARI MALUKU TENGAH

[Composition Of N-Protein And Amino Acid On The Traditional Fermented Fish
Ina Sua From Centre Molluca]

Selfia Nara¹⁾, Frans G. Ijong^{2)*}, I Ketut Suwetja²⁾, Hens Onibala²⁾

¹⁾ Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana, Universitas Sam Ratulangi, Manado

²⁾ Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan, Universitas Sam Ratulangi, Manado

Diterima : 28 Juni 2013 / Disetujui 07 Juli 2013

ABSTRACT

Ina sua is a traditional salted fish originated from Centre Molluca (Teon, Nila, Serua) in which is processed by fermentation during a certain time. The research on the composition of nutrition as well as amino acid of this product is still rare done. Therefore the current research is to analyze the composition of N-protein and amino acid of ina sua during fermentation process. The results show that ina sua has 16 types of amino acids consisting of 9 amino acids essential and the rest were 7 amino acids non essential. The highest content of amino acids were glutamate acids (3,384%) and the lowest one was histidin (0,527%), while the content of N-protein were decreased during fermentation process up to 12 weeks.

Keywords: *ina sua, amino acids, n-protein*

PENDAHULUAN

Cara pengawetan dengan penggaraman merupakan usaha yang paling mudah dan murah dalam penanganan hasil tangkapan oleh nelayan. Pengolahan ikan dilakukan untuk memperbaiki cita rasa dan meningkatkan daya tahan ikan mentah serta memaksimalkan manfaat hasil tangkapan maupun hasil budidaya. Dengan penggaraman proses pembusukan dapat dihambat sehingga ikan dapat disimpan lebih lama. Penggunaan garam sebagai bahan pengawet terutama diandalkan pada kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri dan kegiatan enzim penyebab pembusukan yang terdapat dalam tubuh ikan. Proses penggaraman pada pengolahan

ikan secara tradisional mengakibatkan hilangnya protein ikan yang dapat mencapai 5%, tergantung pada kadar garam dan lama penggaraman.

Salah satu produk olahan tradisional yang belum banyak dikenal dan dilaporkan peneliti adalah ina sua (ikan asin basah) yang berasal dari masyarakat maluku tengah (Teon, Nila dan Serua). Ina sua dibuat dari berbagai jenis ikan berbentuk filet semi basah, bertekstur liat dengan aroma spesifik khas ikan fermentasi serta rasa yang sangat asin. Ina sua diolah dengan menggunakan garam sebagai bahan pengawet dengan konsentrasi 20-30% di fermentasi dalam wadah tertutup pada suhu kamar selama 3 bulan (Nendissa, 2001). Produk fermentasi biasanya mengandung nilai gizi yang lebih tinggi dari bahan asalnya. Hal tersebut dikarenakan selama proses fermentasi, protein ikan akan terhidrolisis menjadi asam-asam amino dan peptida, kemudian

*Korespondensi Penulis :
Email : selfianara@yahoo.co.id

asam-asam amino akan terurai lebih lanjut menjadi komponen-komponen lain yang berperan dalam membentuk citarasa produk (Adawyah, 2007).

Protein sebagai salah satu komponen penyusun pangan berperan penting dalam menentukan mutu pangan. Namun sifat protein mudah mengalami perubahan atau kerusakan akibat perlakuan fisik atau kimia terhadap bahan pangan semenjak penanganan awal, pengolahan, penyimpanan dan siap dikonsumsi yang mengakibatkan kerusakan nilai gizi protein. Penambahan garam lebih dari 13 % pada substrat kaya protein seperti ikan menghasilkan hidrolisis protein yang dapat mencegah pembusukan, menghasilkan pasta serta asam amino dan peptida yang beraroma "meaty" dan "savory" (Steinkrauss, 2002).

Mutu protein ditentukan oleh jenis dan proporsi asam amino yang dikandungnya. Protein ikan merupakan bagian yang penting untuk dipelajari terutama dari segi kimiawinya karena protein ikan merupakan komponen kedua terbesar dengan kadar 18 - 20 % setelah air. Protein yang bermutu tinggi adalah protein yang mengandung semua jenis asam amino dalam proporsi yang sesuai untuk pertumbuhan. Evaluasi nilai gizi terutama protein dan kandungan asam amino pada produk in situ selama proses fermentasi belum banyak dilaporkan sehingga penelitian mengenai produk ini perlu dilakukan.

METODOLOGI

Bahan dan metode

Metode penelitian ini bersifat deskriptif. Bahan yang dipakai pada penelitian ini adalah in situ yang diperoleh dari masyarakat pengolah ikan di TNS (Teon, Nila, Serua). Bahan kimia yang dipakai ialah H_2SO_4 pekat, NaOH, selenium, indikator mixture, HCL, kertas saring, sedangkan peralatan yaitu alat-alat gelas, oven, timbangan analitik, serangkaian alat HPLC, alat destilasi, alat destruksi, alat titrasi dan labu kjeldhal.

Analisis asam amino

Asam amino diperoleh dari protein dalam sampel yang telah dihidrolisis. Sebanyak $\pm 0,15$ g sampel dimasukkan ke dalam tabung 25 ml, ditambahkan HCL 6 N sebanyak 5-10 ml dan dipanaskan selama 24 jam pada suhu $100^\circ C$. Kemudian disaring dan diambil 30 μ l filtrat sampel dan tambahkan larutan pengering, selanjutnya dikeringkan. Setelah kering, ditambahkan 30 μ l larutan derivatisasi (methanol, Na-acetat, triethylamine) dan didiamkan selama 20 menit, kemudian tambahkan 2 ml larutan Natrium asetat 1 M. Hidrolisat yang diperoleh dari proses hidrolisis tersebut kemudian diinjeksikan pada HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) untuk menentukan kadar dan jenis asam amino sampel. Perhitungan konsentrasi asam amino, dilakukan pembuatan kromatogram standar. Kondisi HPLC yaitu temperatur terprogram $27^\circ C$ (suhu ruang), jenis kolom HPLC *ultra techspere* (Coloum C-18), laju aliran fase mobil 1 ml/menit pada batas tekanan 3000 psi, fase mobil berupa buffer Na-asetat dan methanol 95%, detektor yang digunakan adalah fluoresensi dengan panjang gelombang 254 nm.

Kandungan asam amino dalam 100 gram bahan dapat dihitung dengan rumus:

$$\% \text{asam amino} = \frac{A}{B} \times \frac{C \times fp \times BM \times 100\%}{\text{Bobot sampel } (\mu\text{g})}$$

Keterangan:

A = Luas area sampel

B = Luas area standar

C = Konsentrasi standar asam amino ($\mu\text{g/ml}$)

fp = faktor pengenceran

BM = Bobot molekul dari masing-masing asam amino (g/mol)

Analisis kadar N-protein

Analisis kadar N-protein menggunakan uji kuantitatif dengan

metode kjedhal. Tahapan yang dilakukan terdiri dari destruksi, destilasi, dan titrasi.

Tahap destruksi

Sampel ditimbang seberat 0,5 gram, kemudian dimasukkan ke dalam tabung kjedhal. Ialu ditambahkan 0,25 gram selenium dan ditambahkan 10 ml H₂SO₄. Tabung yang berisi larutan tersebut dimasukkan ke dalam alat pemanas dengan suhu 410°C ditambahkan 10 ml air. Proses destruksi dilakukan sampai larutan menjadi bening.

Tahap destilasi

Isi labu dituangkan ke dalam labu destilasi, lalu ditambahkan dengan aquades (50 ml). Air bilasan juga dimasukkan ke dalam alat destilasi dan ditambahkan larutan NaOH 40 % sebanyak 20 ml. Cairan dalam ujung tabung kondensor ditampung dalam Erlenmeyer 125 ml berisi larutan H₃BO₃ dan 3 tetes indikator (cairan *methyl red* dan *brom cresol green*) yang ada di bawah kodensor. Destilasi dilakukan sampai diperoleh 200 ml destilat yang bercampur dengan H₃BO₃ dan indikator dalam Erlenmeyer.

(3). Tahap titrasi

Titrasi dilakukan dengan menggunakan HCl 0,1 N sampai warna larutan pada Erlenmeyer berubah warna menjadi pink. Perhitungan kadar protein :

$$N = \frac{(ms - mb) \times 0,1 \text{ N HCl} \times 14 \times 10}{\text{Mg sampel}}$$

$$\% \text{Kadar Protein} = \% N \times \text{fk} (6,25)$$

Keterangan:

- N = Nitrogen
- ms = ml HCl sampel
- mb = ml HCl blanko
- fk = factor konversi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi asam amino

Analisis asam amino dilakukan untuk mengetahui jenis dan kadar asam amino produk *ina sua* dengan metode *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Hasil analisis asam amino menunjukkan adanya 16 jenis asam amino yang terdiri dari 9 asam amino esensial dan 7 asam amino non esensial. Sembilan jenis asam amino esensial yang ditemukan pada produk *ina sua* yaitu: histidin, arginin, treonin, valin, metionin, isoleusin, leusin, fenilalanin, dan lisin. Histogram asam amino esensial dapat dilihat pada gambar 1. Kandungan asam amino esensial tertinggi adalah lisin (2,380%) dan leusin (1,757%). Leusin merupakan asam amino yang paling banyak ditemui pada bahan pangan sumber protein.



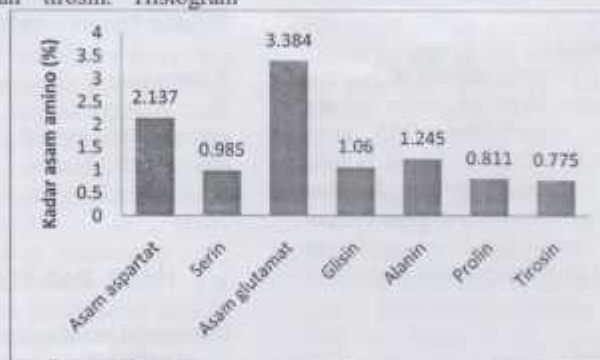
Gambar 1. Histogram kandungan asam amino esensial

Leusin dan lisin merupakan asam amino esensial yang banyak ditemukan pada moluska laut (Villanueva *et al.*, 2004).

Kandungan asam amino pada daging ikan kaya akan lisin, tetapi kurang akan kandungan triptofan. Asam amino non

esensial pada ina sua berjumlah 7 yaitu asam aspartat, asam glutamat, serin, glisin, alanin, prolin, dan tirosin. Histogram

kandungan asam amino non esensial dapat dilihat pada gambar 2.



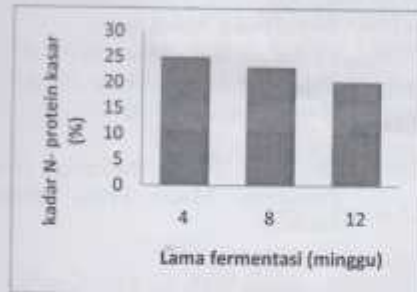
Gambar 2. Histogram asam amino non esensial

Kandungan asam amino non esensial tertinggi yaitu asam glutamat (3,384 %) dan asam aspartat (2,137%). Asam glutamat merupakan asam amino yang dapat memberikan rasa gurih. Gugus hidrogen pada asam glutamat dapat disubstitusi dengan sodium sehingga membentuk monosodium glutamat (MSG) yang memiliki intensitas rasa gurih yang lebih kuat sehingga banyak digunakan sebagai *flavor enhancer*. Profil asam amino pada produk jambal roti dapat diperoleh informasi bahwa asam glutamat memiliki peran yang penting di dalam pembentuk flavor dari produk jambal roti, disamping asam aspartat, alanin, valin dan glisin (Anonimous, 2003). Pada fermentasi wadi ikan betok juga ditemukan kandungan asam amino glutamat yang tertinggi yaitu 5,47 dibandingkan jenis asam amino lainnya (Khairina dan khotimah, 2006). Sebagai bahan pangan, asam amino serin, glisin, alanin, dan valin memiliki rasa yang manis selain itu leusin dan isoleusin merupakan asam amino yang mutlak diperlukan dalam perkembangan anak-anak dan menjaga keseimbangan nitrogen pada orang dewasa, leusin juga berguna untuk perombakan dan pembentukan protein otot.

Pada umumnya kandungan asam amino bebas yang terdiri dari taurin, asam glutamat, glisin, lisin, dan alanin berperan penting dalam memberikan cita rasa serta flavor pada ikan dan kerang. Protein di dalam daging ikan akan mengalami penguraian menjadi komponen yang lebih sederhana yaitu peptida-peptida dan asam-asam amino bebas. Terbentuknya asam-asam amino bebas ini akan sangat berpengaruh pada aroma dan rasa ikan (Suwetja, 2011). Mutu protein dinilai dari perbandingan asam-asam amino yang terkandung dalam protein tersebut, prinsipnya suatu protein yang dapat menyediakan asam amino esensial dalam suatu perbandingan yang menyamai kebutuhan manusia, mempunyai mutu yang tinggi begitupun sebaliknya. Cha dan Cadwallader (1995) menyatakan bahwa senyawa volatil yang terbentuk pada produk fermentasi ikan – garam dan udang adalah senyawa aldehid, keton, dan ester yang memberikan aroma dari semua flavor fermentasi ikan anchovy, big eye hering dan pasta isi perut ikan hair tail.

Kadar N-Protein

Penentuan kadar protein dilakukan dengan mengukur jumlah nitrogen yang dikandungnya. Hasil pengamatan kadar protein dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Histogram kadar N-protein

Pada ketiga sampel yang dianalisis kadar N-protein mengalami penurunan selama fermentasi masing-masing yaitu 25.01%, 23.10%, dan 20.30%, untuk fermentasi selama 4, 8, dan 12 minggu. Hasil yang diperoleh menunjukkan selama proses penggaraman terjadi penetrasi garam ke dalam tubuh ikan dan keluarnya cairan karena adanya perbedaan konsentrasi garam Winarno (1991) menyatakan bila dalam suatu larutan protein ditambahkan garam, daya larut protein akan berkurang, akibatnya protein akan terpisah sebagai endapan dimana proses ini disebut *salting out*. Proses penggaraman, pada pengolahan ikan secara tradisional, mengakibatkan hilangnya protein ikan yang dapat mencapai 5%, tergantung pada kadar garam dan lama penggaraman (Opstvedt, 1988). Penurunan ini juga mungkin disebabkan oleh aktivitas bakteri proteolitik yang mendegradasi protein sehingga terbentuk senyawa yang lebih sederhana yang larut dalam larutan garam yang terbentuk selama fermentasi. Garam yang masuk ke dalam jaringan ikan akan menimbulkan berbagai perubahan kimiawi, fisikawi, dan mikrobiologis mengakibatkan perubahan beberapa komponen utama protein dan daging ikan, garam akan mendenaturasi larutan koloid protein dan mengakibatkan koagulasi, sehingga air dari dalam tubuh ikan akan keluar dan daging ikan mengkerut.

Garam-garam yang dapat digunakan kalsium sulfat, amonium sulfat, natrium sulfat, garam-garam magnesium, dan

garam fosfat dengan penambahan dalam konsentrasi tinggi dapat menurunkan kelarutan protein (Kusnandar, 2010). Hasil penelitian yang dilakukan Nendissa (2001) juga menunjukan terjadinya penurunan kadar protein in situ ikan gurami dari fermentasi minggu ke 3 sampai minggu ke-12. Garam dapat menghambat mikroorganisme pembusuk dan patogen karena mempunyai sifat dapat meningkatkan tekanan osmotik substrat, menurunkan Aw bahan pangan, dehidrasi sel mikroorganisme, bakteriosidal dan menyebabkan denaturasi protein (Rahayu dkk, 1992).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh ditemukan 16 jenis asam amino yang terdiri dari 9 jenis asam amino esensial dan 7 asam amino esensial dengan kandungan tertinggi yaitu asam glutamat dan histidin yang terendah, sedangkan untuk kandungan N-protein mengalami penurunan selama 12 minggu proses fermentasi yang diakibatkan karena kadar garam yang cukup tinggi dan larutnya protein dalam larutan garam.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, R. 2007. Pengolahan dan Pengawetan Ikan. Bumi Aksara. Jakarta.
- Anonimous. 2003. Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Produk Ikan Fermentasi. <http://www.bbrp2b.dkp.go.id>.
- Cha, Y.J. and K. Cadwallader. 1995. Volatile Component in Salt Fermented Fish Shrimp Pastes. *J.Food Science*. 60 : 19 - 24.
- Khairina, R dan K.I Khotimah. 2006. Studi Komposisi Asam Amino Dan

- Mikroflora Pada Wadi Ikan Betok
Jurnal Teknologi Pertanian, Vol. 7
No. 2. 120-126
- Kusnandar, F. 2010. Kimia Pangan.
Komponen Makro. PT Dian
Rakyat Jakarta.
- Muchtadi, D. 2010. Teknik Evaluasi Nilai
Gizi Protein. Alfabeta Bandung.
- Nendissa, S.J. 2001. Pemanfaatan Kultur
Pediococcus acidilactici F 11
Penghasil Bakteriosin Untuk
Memperbaiki Kualitas *Ina Sua*
(Ikan Asin) Gurame (*Osphoremus*
gouramy Lacepede). Tesis.
Program Pascasarjana Universitas
Gajah Mada. Yogyakarta.
- Opstvedt, J. 1988. Influence of drying and
smoking on protein quality in fish
smoking and drying, the Effect of
Smoking and Drying on the
Nutritional Properties of Fish. J.R.
(Ed). Elsevier Applied Science,
London and New York. p. 23-26.
- Rahayu, W.P., S. Ma'oen, Suliantari dan S.
Fardiaz. 1992. Teknologi
Fermentasi Produk Perikanan.
Pusat Antar Universitas Pangan
dan Gizi. Institut Pertanian Bogor.
Bogor
- Steinkrauss, KH. 2002. Fermentation In
World Food Processing .
*Comprehensive Review In Food
Science And Food Safety. Jurnal
Food Science 1:23-30*
- Suwetja I. K. 2011. Biokimia Hasil
Perikanan. Media Prima Aksara
Jakarta.
- Villanueva, R., J. Riba, C. Ruiz-Capillas,
A.V. Gonzales, and M. Baeta.
2004. Amino acid composition of
early stages of cephalopods and
effect of amino acid dietary
treatments on *Octopus vulgaris*
paralarvae. *Aquaculture*
242(4):455-478.
- Winarno, F.G. 1991. Kimia Pangan dan
Gizi. PT Gramedia Pustaka
Utama Jakarta.