

## ***Ina sua*, a fermented salted fish product from central Moluccas**

### ***Ina sua* sebagai produk fermentasi ikan asin dari Maluku Tengah**

Selfia Nara<sup>1\*</sup>, Frans G. Ijong<sup>2</sup>, I K. Suwetja<sup>3</sup>, and Hens Onibala<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Ilmu Perairan, Program Pascasarjana, Universitas Sam Ratulangi, Jln Kampus Unsrat Kleak, Manado 95115, Sulawesi Utara, Indonesia

<sup>2</sup> Laboratorium Mikrobiologi Hasil Perikanan, FPIK-Unsrat

<sup>3</sup> Laboratorium Kimia Hasil Perikanan, FPIK-Unsrat

<sup>4</sup> Laboratorium Penanganan dan Pengolahan Hasil Perikanan FPIK-Unsrat  
\*E-mail: selfianara@yahoo.co.id

**Abstract:** *Ina sua* is a traditional fermented salted fish product originating from Central Moluccas (Teon, Nila, Serua islands), which is processed by fermentation at room temperature during a certain period. There is little or no research on the characteristics of microbial and chemical aspects of this process. Therefore the current research was performed in a laboratory in order to analyse the microbial and chemical characteristics of this product collected from traditional fishermen. The results showed that the composition of bacteria consisted of *Bacillus* sp.(59.6%), *Propionibacterium* sp. (17.3%), *Leuconostoc* sp. (13.5%), and *Lactobacillus* sp. (9.6%), while the chemicals included soluble protein, peroxide value, and total value acid increased during storage for 12 weeks at room temperature, while pH value of the product varied between 5.58 and 5.93.

**Keywords:** *ina sua*; fermented salted fish; microbial aspect; biochemical aspect

**Abstrak:** *Ina sua* adalah produk fermentasi ikan asin tradisional yang berasal dari Maluku Tengah (Pulau Teon, Nila, dan Serua) dimana dalam proses fermentasi dilakukan dalam suhu ruang selama waktu tertentu. Penelitian mengenai karakteristik mikrobiologis dan biokimiawi produk ini belum banyak dilakukan. Oleh karena itu dilakukan pengujian untuk menganalisis karakteristik mikrobiologi dan biokimia terhadap produk ini yang diperoleh dari nelayan tradisional. Hasil penelitian menunjukkan komposisi bakteri yang diperoleh yaitu *Bacillus* sp. (59,6%), *Propionibacterium* sp. (17,3%), *Leuconostoc* sp. (13,5%), dan *Lactobacillus* sp. (9,60%), sementara untuk nilai karakteristik kimia protein terlarut, bilangan peroksida dan nilai total asam mengalami peningkatan selama 12 minggu penyimpanan pada suhu ruang, sedangkan nilai pH mengalami perubahan dari 5,58 menjadi 5,93.

**Kata-kata kunci:** *ina sua*; fermentasi ikan asin; aspek mikrobiologi; aspek biokimia

### **PENDAHULUAN**

Fermentasi pada produk perikanan merupakan teknologi yang sudah tua dan secara tradisional digunakan untuk mengatasi sifat ikan yang mudah membusuk. Pengolahan dengan fermentasi memiliki beberapa keunggulan diantaranya proses pengolahannya sederhana, mudah dan tidak mahal, bahan baku yang digunakan dapat berasal dari berbagai jenis ikan diantaranya dapat menggunakan hasil tangkapan yang bernilai ekonomis rendah atau ikan rucah. Selain itu juga dapat memanfaatkan limbah seperti jeroan ikan tuna atau cacal yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan bakasang (Rahayu *et al.*, 1992).

Produk ikan fermentasi tradisional memberikan gambaran keragaman yang dapat mewakili asal daerah dari produk tersebut, karena terdapat banyak jenis produk ikan fermentasi. 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 selanjutnya disebut TNS). *Ina sua* dibuat dari berbagai jenis ikan terutama ikan laut seperti ikan kakatua, kerongkerong, bobara, ekor kuning dll, dapat berbentuk filet, semi basah, dengan aroma spesifik khas ikan fermentasi serta rasa yang sangat asin. *Ina sua* diolah dengan menggunakan garam sebagai bahan pengawet dengan konsentrasi 20-30%, dan proses fermentasi dilakukan dalam wadah tertutup pada suhu kamar selama 3 bulan (Nendissa, 2001). Penelitian terhadap produk *ina sua* sangat jarang dilakukan oleh karenanya penelitian terhadap aspek mikrobiologis dan kimiawi dari produk tersebut menjadi sangat penting untuk dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menganalisis

komposisi dan perubahan beberapa aspek kimiawi selama penyimpanan pada suhu ruang.

## MATERIAL DAN METODA

Bahan yang dipakai pada penelitian ini adalah *ina sua* yang diperoleh dari masyarakat pengolah ikan di TNS, Maluku Tengah. Produk *ina sua* dipisah dari cairan yang ada dalam wadah kemudian bagian daging ditimbang dengan sejumlah berat tertentu untuk dianalisis.

### Isolasi dan identifikasi bakteri pada *ina sua*

Secara aseptik sebanyak 10 gram daging ikan dimasukkan ke dalam mortar steril untuk dihaluskan dan kemudian ditambahkan NaCl 90 ml 0,9% (pengenceran  $10^{-1}$ ), dibuat seri pengenceran untuk  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , dan  $10^{-4}$ . Perhitungan total bakteri dengan menggunakan metode Tuang pada media de Mann Rogosa Sharpe Agar (merck, pH 5,7) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Koloni yang tumbuh diolasi dan dilakukan pemurnian pada media *Tryptic Soy Agar* dengan cara digores kemudian diinkubasi kembali. Koloni yang tumbuh dipindahkan pada agar miring sebagai kultur sediaan. Isolasi dan identifikasi dilakukan berdasarkan hasil uji fisiologis dan biokimia dan dibandingkan dengan kunci identifikasi bakteri menurut *Bergey's Manual*.

### Penentuan pH dan total asam

Sampel sebanyak 10 gr ditimbang dan ditambahkan 90 ml aquades, kemudian dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 2 menit. Sampel dihomogenkan kemudian diukur pH-nya dengan menggunakan pH meter. Selanjutnya untuk menentukan total asam, dititrasi dengan menggunakan larutan 0,1 N NaOH hingga mencapai pH 8,5. Kemudian dilakukan pengadukan selama 10 menit, dibiarkan untuk dilihat kembali nilai pHnya. Bila larutan sampel memiliki nilai pH kurang dari 8,5 maka dilakukan titrasi kembali dengan penambahan 0,1 N NaOH hingga pH meter menunjukkan angka 8,5 pada kedudukan konstan. Perhitungan total asam (% w/w) = ml 0,1 NaOH x  $10^{-3}$  x 90.

### Kadar protein terlarut

Kadar protein terlarut dilakukan menurut metode Lowry (Apriyantono et al., 1989), dimana langkah-langkahnya adalah sebagai berikut, ke dalam tabung reaksi dimasukkan 0 (blanko), 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, dan 1,0 ml sampel larutan. Kemudian akuades ditambahkan sampai volume

total masing-masing 4 ml. selanjutnya, ditambahkan 5,5 ml pereaksi  $\text{NaCO}_3$  2% dalam larutan NaOH 0,1 N 50 ml dicampur 1 ml pereaksi  $\text{CuSO}_4$  0,5 % dalam larutan  $\text{Na}_2\text{K}_3\text{O}_6$  1 %; dicampur merata, dan dibiarkan selama 10-15 menit pada suhu kamar, lalu ditambahkan 0,5 ml pereaksi *folin ciocalteau* ke dalam masing-masing tabung reaksi dan kocok cepat hingga merata. Dibiarkan selama lebih kurang 30 menit sampai warna biru terbentuk. Diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 650 nm.

### Analisis bilangan peroksida

Metode analisis bilangan peroksida mengikuti cara menurut Apriyantono et al. (1989). Sampel ditimbang sebanyak 5 gram ke dalam Erlenmeyer 250 ml. Kemudian ditambahkan 30 ml pelarut (campuran larutan  $\text{CH}_3\text{COOH}$  60% dan  $\text{CHCl}_3$  40%), dikocok hingga larut, lalu ditambahkan 0,5 ml larutan KI jenuh, dibiarkan ditempat gelap selama 2 menit, sambil sekali-kali larutan digoyang dan ditambahkan 30 ml akuades. Campuran tersebut dititrasi dengan larutan  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  0,01N tergantung dari banyaknya jumlah yodium yang dibebaskan. Titrasi harus dilakukan secara cepat sampai warna kuning hampir hilang (kuning muda). Ditambahkan larutan pati sebanyak 0,5 ml 1% dan titrasi diteruskan hingga terbentuk warna biru gelap. Erlenmeyer digoyang secara cepat sampai mendekati titik akhir yaitu warna biru menghilang. Penentuan pada blanko juga dilakukan dan setiap penentuan contoh dan blanko dilakukan secara duplo.

$$\text{Perhitungan bilangan peroksida} = \frac{(S - B) N}{W} \times 1000$$

S: Volume titrasi (ml) sampel

B: Volume titrasi (ml) blanko

N: Normalitas  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  (mEq/ml)

W: Berat sampel (g)

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi dan identifikasi bakteri pada *ina sua*

Pada tahapan isolasi diperoleh 52 isolat murni yang merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang berantai maupun terpisah dan bulat. Berdasarkan pengujian biokimia uji pewarnaan gram, uji katalase, uji oksidase, uji motilitas, uji indol, uji *methyl red*, uji *Voges Proskauer*, uji sitrat, uji  $\text{H}_2\text{S}$ , dan uji fermentasi karbohidrat maka diperoleh 4 genus bakteri gram positif seperti diperlihatkan pada Tabel 1, yaitu *Bacillus* sp., *Propionibacterium* sp., *Leuconostoc* sp., dan *Lactobacillus* sp. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *Bacillus* sp. (59,6%)

merupakan bakteri yang dominan diisolasi dari sampel *ina sua* diikuti oleh *Propionibacterium* sp. (17,3%), *Leuconostoc* sp. (13,4%) dan *Lactobacillus* sp. (9,60%).

Genus *Bacillus* sp. merupakan bakteri yang berbentuk batang dapat dijumpai di tanah dan air termasuk pada air laut. Beberapa jenis menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks. *Bacillus* sp. membentuk endospora, merupakan gram positif, bergerak dengan adanya flagel peritrikus, dapat bersifat aerobik atau fakultatif anaerobik serta bersifat katalase positif (Pelczar *et al.*, 1976). Endospora yang dihasilkan oleh *Bacillus* sp. mempunyai ketahanan yang tinggi terhadap faktor kimia dan fisika, seperti suhu ekstrim, alkohol, dan sebagainya. Selain itu setiap jenis juga menunjukkan kemampuan dan ketahanan yang berbeda-beda dalam menghadapi kondisi lingkungannya, misalnya ketahanan terhadap panas, asam, kadar garam. *Bacillus* sp. memiliki kemampuan dalam menghasilkan antibiotik yang berperan dalam nitrifikasi dan denitrifikasi, menurunkan pH substrat akibat asam organik yang dihasilkannya sehingga dapat menghambat pertumbuhan bakteri lainnya.

Genus *Propionibacterium* sp. memfermentasi karbohidrat, pepton, piruvat atau laktat dengan produk utamanya asam propionat dan asam asetat sehingga sangat berpengaruh terhadap bau yang dihasilkan pada produk fermentasi. Bakteri ini dapat mencegah pertumbuhan mikroba yang berlebihan dan mencegah perubahan akibat aktifitas enzim.

Genus *Leuconostoc* sp. bersifat heterofermentatif yaitu memfermentasi gula menjadi asam laktat, CO<sub>2</sub>, dan etanol atau asam asetat (Holt *et al.*, 1994). Bakteri ini berperan dalam perusakan larutan gula dengan produksi pertumbuhan dekstran berlendir. Walaupun demikian, bakteri ini merupakan jenis yang penting dalam permulaan fermentasi sayuran dan juga ditemukan dalam sari buah, anggur, dan bahan pangan lainnya (Suprihatin, 2010).

Genus *Lactobacillus* sp. dengan ciri gram positif, batang, non motil, kadang berantai kadang menjadi batang pendek, dan *nonsporing*. Jenis bakteri ini memiliki kemampuan menghasilkan

katalase dan sitokrom negatif (Holt *et al.*, 1994). *Lactobacillus* sp. berkontribusi terhadap rasa, waktu penyimpanan, dan konsisten menghasilkan asam laktat, asetildehida, diasetil, dan polisakarida. Genus ini paling banyak digunakan sebagai *starter* mikroba pada makanan fermentasi.

### Nilai pH dan total asam

Nilai pH medium sangat berpengaruh pada jenis mikroba yang tumbuh. Nilai pH yang diperoleh dari sampel *ina sua* yaitu 5,93, 5,80 dan 5,58 dimana dapat kita lihat bahwa semakin lama penyimpanan maka pH akan mengalami perubahan untuk menjadi lebih asam. Hal ini disebabkan karena kondisi aerob maka bakteri yang bersifat aerob fakultatif akan berproduksi lebih cepat menghasilkan bakteri asam laktat. Penurunan pH selama fermentasi juga dilaporkan oleh Sudiarta (2011) yakni pada produk kecap ikan lemuru dari 6,10 menjadi 5,02 selama fermentasi 3 bulan yang terjadi karena terbentuk dan terakumulasinya asam laktat yang dihasilkan oleh aktivitas metabolisme bakteri asam laktat pada produk kecap ikan. Untuk melakukan metabolisme dengan baik, mikroba membutuhkan pH yang sesuai untuk aktivitas enzim secara optimal. Bila pH lingkungan tidak sesuai untuk aktivitas enzim secara optimal, maka mikroba tidak dapat melakukan metabolisme dengan baik, akibatnya mikroba tidak dapat tumbuh dengan optimal (Nani, 2010).

Hasil pengujian total asam selama fermentasi mengalami kenaikan dari 1,305 menjadi 1,458. Derajat keasaman produk berhubungan erat dengan produksi asam organik oleh mikroba terutama asam laktat yang dapat menurunkan pH menjadi 5,0 atau kurang (Jay, 1996). Peningkatan nilai total asam selama fermentasi juga dilaporkan oleh Nendissa (2001) yang menyatakan total asam *ina sua* mengalami peningkatan pada 3 bulan fermentasi tanpa penambahan *P. acidilactici*. Peningkatan nilai total asam kecap ikan selama fermentasi juga dilaporkan oleh Kopermsub and Yunchalard (2008) yang menyatakan bahwa pada *plaa-som* (produk fermentasi ikan khas Thailand), total asam meningkat dari 0,12% pada awal fermentasi menjadi 1,17% pada akhir fermentasi. Afrianto dan Liviawaty (1989) menyatakan bahwa selama proses fermentasi ikan akan terbentuk asam-asam organik yang dapat memberikan cita rasa yang khas dan juga akan berfungsi sebagai bahan pengawet pada produk ikan tersebut.

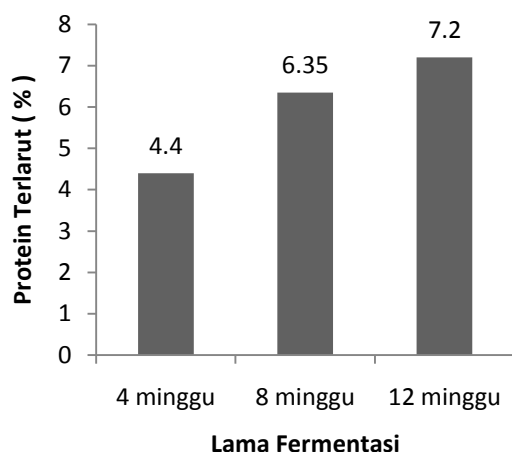
### Protein terlarut

Hasil analisis protein terlarut ditemukan terjadinya peningkatan kadar protein terlarut yaitu

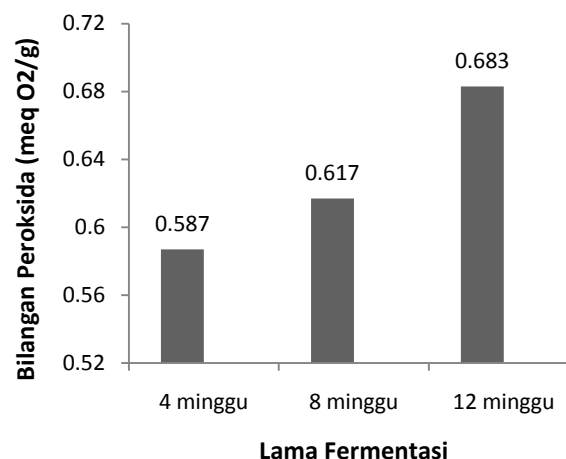
Tabel 1. Hasil Identifikasi Bakteri pada Produk *Ina Sua*

Genus	Jumlah isolat	Persentasi
<i>Bacillus</i>	31	59,6
<i>Propionibacterium</i>	9	17,3
<i>Leuconostoc</i>	7	13,5
<i>Lactobacillus</i>	5	9,60

Ket: jumlah isolat 52



Gambar 1. Perubahan Protein Terlarut Selama Fermentasi



Gambar 2. Perubahan Bilangan Peroksida Selama Fermentasi

dari 4,40% menjadi 7,20% (Gambar 1) selama 12 minggu fermentasi. Peningkatan kadar protein terlarut selama fermentasi terjadi karena adanya garam yang dapat menarik air dari ikan, menaikkan konsentrasi zat-zat terlarut di dalam cairan yang keluar dari daging ikan dan menaikkan konsentrasi substrat. Adanya garam dapat meningkatkan atau menurunkan kelarutan protein. Hal ini karena penambahan garam akan mempengaruhi kekuatan ion dalam larutan, yang berpengaruh pula terhadap kelarutan protein. Pada umumnya, jika kekuatan ion meningkat, kelarutan protein semakin besar (Kusnandar, 2010). Protein ikan pada proses fermentasi dapat berubah selama penggaraman karena terjadinya hidrolisis protein menjadi senyawa yang lebih sederhana. Protein terlarut pada ikan merupakan hasil hidrolisis protein menjadi peptida, dipeptida, dan asam amino dengan berat molekul kecil yang mudah larut dalam air melalui proses enzimatik, aktivitas mikroba maupun campuran keduanya (Hadiwiyoto, 1993).

#### Bilangan peroksida

Peroksida adalah senyawa pertama yang terjadi pada oksidasi kemudian disusul timbulnya aldehid terutama molaldehid, dan terakhir adalah terbentuknya senyawa-senyawa karbonil. Hasil analisis bilangan peroksida pada Gambar 2 menunjukkan terjadinya peningkatan peroksida dari 0,587 meq/1000g menjadi 0,683 meq/1000g setelah fermentasi 12 minggu. Nilai ini memungkinkan produk *ina sua* masih aman untuk dikonsumsi. Bilangan peroksida suatu produk pangan yang lebih dari 10-20 meq/1000 g kemungkinan besar sudah ditolak konsumen. Semakin meningkatnya bilangan peroksida menunjukkan bahwa jumlah peroksida semakin banyak dan dapat diduga bahwa tingkat reaksi oksidasi semakin tinggi. Proses oksidasi

menyebabkan lemak mengalami ketengikan. Suwetja (2011) menyatakan ketengikan (*rancidity*) pada umumnya ditandai dengan adanya penurunan mutu berupa rasa dan bau yang terdapat pada bahan pangan yang berlemak, serta menyebabkan kerusakan nilai nutrisi, yaitu kerusakan asam lemak dan vitamin yang larut dalam lemak esensial.

### KESIMPULAN

Produk *ina sua* memiliki komposisi bakteri *Bacillus* sp. (59,5%), *Propionibacterium* sp. (17,3%), *Leuconostoc* sp. (13,4%) dan *Lactobacillus* sp. (9,60%) dan karakteristik biokimia pada akhir fermentasi 12 minggu yaitu pH 5,77, total asam 5,58, protein terlarut 7,20%, dan bilangan peroksida yang rendah yaitu 0,683 meq/1000g membuat produk ini masih aman untuk dikonsumsi.

### REFERENSI

- AFRIANTO, E. and LIVIAWATY, E. (1989) *Pengawetan dan pengolahan ikan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- APRIYANTONO, A. et al. (1989) *Petunjuk laboratorium analisis pangan*. Bogor: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi. Pusat Antar Universitas Pangan Dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- HADIWIYOTO, S. (1993) *Teknologi pengolahan hasil perikanan*. Jilid 1. Yogyakarta: Penerbit Liberty .

- HOLT, J.G. et al. (1994) *Bergey's Manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Maryland: Williams and Wilkins.
- IJONG, F.G. and OHTA, Y. (1996) Psychochemical and mikrobiological changer associated with bakasang processing a traditional Indonesian fermented fish sauce. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 71, pp. 69-74.
- JAY, J.M. (1996) *Modern food microbiology*. 5th ed. New York: Chapman and Hall.
- KUSNANDAR, F. (2010) *Kimia pangan - komponen makro*. Jakarta: PT Dian Rakyat.
- KOPERMSUB, P. and YUNCHALARD, S. (2008) Safety control indices for plaa-som, a Thai fermented fish product. *African Journal of Microbiology Research*, 2, pp. 018-025.
- NANI (2010) *Mikrobiologi pangan: prinsip mikrobiologi* [WWW] Fakultas Teknik Universitas Negeri Yogyakarta. Available from: <http://staff.uny.ac.id/sites/default/files/Diktat> [Accessed 21/10/13].
- NENDISSA, S.J. (2001) *Pemanfaatan kultur *pedioccocus acidilactici* F 11 penghasil bakteriosin untuk memperbaiki kualitas Ina Sua (ikan asin) gurame (*Osphoremus gouramy Lacepede*)*. Unpublished Thesis (MSc), Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- PELCZAR, M.J., CHAN, E.C.S. and KRIEG, N.R. (1976) *Microbiology*. New York: Mc. Graw Hill Book Company.
- RAHAYU, S. et al. (1992). *Teknologi fermentasi produk perikanan*. Bogor: Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- SUDIARTA, I.W. (2011) *Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat indigenous dari kecap ikan lemuru (*Sardinella longiceps*) selama fermentasi*. Unpublished Thesis (MSc), Universitas Udayana, Denpasar.
- SUPRIHATIN (2010) *Teknologi fermentasi*. Semarang: Penerbit Unesa University Press.
- SUWETJA, I.K. (2011) *Biokimia hasil perikanan*. Jakarta: Penerbit Media Prima Aksara.

Diterima: 27 September 2013

Disetujui: 23 Oktober 2013