

“ZERO WASTE CONCEPT” DI DALAM INDUSTRI PENGOLAHAN HASIL PERIKANAN

Y.S. Darmanto

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro
Jl. Prof. Soedharto SH, Tembalang, Semarang 50275
Alamat korespondensi: darmanto_thp@Undip.ac.id

ABSTRAK

Beberapa tahun terakhir ini di Indonesia, Industri Pengolahan Hasil Perikanan makin meningkat. Peningkatan jumlah industri biasanya diikuti meningkatnya limbah industri tersebut. Berbagai limbah seperti daging kerang mutiara, cangkang rajungan, cangkang kepiting, karapas udang, duri, tulang, kulit dan seterusnya, merupakan limbah pengolahan hasil perikanan. Limbah tersebut apabila dibiarkan dalam waktu relatif singkat akan menghasilkan senyawa sederhana seperti H₂S, CO₂, O₂, metan dan lain-lain, sehingga menghasilkan bau tidak enak dan menyebabkan pencemaran lingkungan. “Zero Waste Concept” merupakan cita-cita setiap industri pengolahan hasil perikanan, karena diperoleh hasil olahan yang maksimal tanpa ada limbah yang dihasilkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengolah daging kerang mutiara dengan teknologi enzim menjadi hidrolisa protein ikan (HPI), dan dengan metode kimia mengolah cangkang kepiting, karapas udang menjadi kitin dan kitosan, mengolah duri dan tulang menjadi kolagen dan kulit ikan menjadi gelatin. Setelah itu masing-masing hasil olahan limbah dianalisa kandungan asam amino, kemudian untuk mengetahui pengaruh penambahan hasil olahan limbah pada miofibril protein dianalisa kadar air, Aw, aktivitas enzim Ca-ATP, kekuatan gel, *monolayer* dan *multilayer water*, viskositas, *Water Holding Capacity* (WHC) dan *folding test*. Dari hasil penelitian hidrolisa protein ikan, kitin, kitosan, kolagen serta gelatin, mempunyai kandungan asam amino yang berbeda-beda, mempunyai *monolayer water*, *multilayer water* yang berbeda-beda, dapat menekan laju penurunan aktivitas enzim Ca-ATP, serta mempunyai kekuatan gel, viskositas, *Water Holding Capacity* (WHC), *folding test* yang berbeda.

Keywords : hidrolisa protein ikan, kitin, kitosan, kolagen, gelatin, Ca-ATP, miofibril.

PENDAHULUAN

Data statistik FAO (2007), menyatakan bahwa produksi kerang di dunia mencapai 2.615. 400 ton/tahun. Oleh Mori (2010), dinyatakan bahwa hampir 90% dari berat kerang *Crassostera gigas* berupa cangkang kerang, sedangkan Darmanto (1996), menyatakan bahwa berat kerang mutiara (*Pinctada fucata*) 45–60% terdiri dari cangkang, 25–35% dari limbah daging, 3–5% daging yang menempel pada cangkang dan 8–10% butiran mutiara. Pada saat panen mutiara, limbah daging dibuang di perairan sehingga menyebabkan terjadinya pencemaran lingkungan. Darmanto (1999), mengatakan bahwa dengan teknologi enzim *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus* limbah daging kerang mutiara dirubah menjadi hidrolisa protein ikan (HPI). Sedangkan Benjakul dan Khanlaphant (2010), mencoba membuat hidrolisa protein ikan dari Ikan Kakap merah dengan menggunakan enzim *Alcalase/ Pyloric Caeca Protease* (PCP) dan *Flavourzyme* (HFP) diperoleh hidrolisa protein ikan yang mengandung 18 jenis asam-asam amino. Sementara Ruttanapornvareesakul *et al.*, (2006), membuat hidrolisa protein ikan dengan bahan baku limbah kepala udang. Kemudian hidrolisa protein dari kepala udang tersebut ditambahkan pada miofibril protein selama proses pembekuan, ternyata mampu menstabilkan kondisi miofibril tersebut.

Di Indonesia hampir 50–60% produksi udang dan kepiting merupakan limbah berupa cangkang kepiting, kepala udang, karapas udang dan lain-lain. Limbah tersebut biasanya dibuat sebagai campuran kerupuk, petis, terasi dan pakan ternak. Sedangkan di negara maju seperti Jepang dan Amerika, cangkang kepiting dan karapas udang sebagai bahan industri kitin, kitosan dan selulosa. Darmanto (2001), mengatakan bahwa dengan metode kimia cangkang kepiting dan karapas udang dibuat menjadi kitin dan kitosan. Pada proses pembuatan kitin dan kitosan melalui 3 tahap yaitu deproteinisasi, demineralisasi dan deasetilasi. Sedangkan Trung (2010), menggunakan metode kombinasi antara metode enzimatik dan kimia. Oleh Hirano (1988), menyatakan bahwa kitin adalah biopolimer polisakarida dengan rantai lurus tersusun 2000–3000 monomer N-Asetil D Glucosamine yang terangkai dengan ikatan β (1–4), dengan berat molekul lebih dari 1×10^6 , sedangkan kitosan merupakan produk deasetilasi kitin, merupakan polimer rantai panjang glukosamine (2-amino-2 deoksiglukosa) dengan berat molekul 1×10^5 . Menurut Austin (1988), kitin dan kitosan mempunyai sifat biopolimer alami, bioaktivitas, biodegradabilitas, liat, tidak beracun dan dapat mengisap asam lemak. Sedangkan Hirano (1988), mengatakan bahwa kitin dan kitosan sebagai bahan dasar membuat kulit sintetis, benang pembedahan, pembungkus kapsul, kontak lens, lotion, pengental gel, perawat rambut, cat kuku, perawat kulit, perawat gigi, penjernih air PAM, filter air minum, pengikat logam berat, penjernih sari buah, industri ber, apel, anggur, dan sebagainya.

Pada umumnya pengolahan hasil perikanan dibagi menjadi dua bagian yaitu dengan skala rumah tangga (abon ikan, pindang cabut duri, kecap ikan, terasi, petis, kerupuk) dan skala pabrik (ikan/ kepiting kaleng, *fillet* ikan, ikan kayu, surimi) dan lain-lain. Dalam aktivitas mengolah tersebut, ternyata limbah merupakan persoalan yang sangat serius. Biasanya limbah tersebut berupa kulit, tulang, duri, isi perut, cangkang, karapas dan limbah cair. Darmanto *et al.*, (2012), meneliti berbagai jenis tulang ikan tawar, payau dan ikan laut menjadi kolagen. Kolagen merupakan komponen dengan struktur utama jaringan pengikat meliputi 30% dari total protein pada jaringan organ tubuh vertebrata dan avertebrata (Poppe, 1977). Sedangkan Poedjiadi (1994), menyatakan bahwa kolagen merupakan jenis protein yang mempunyai struktur heliks tripel dan terdiri atas *sistein*, *sistin* dan *triptopan*.

Kolagen apabila mengalami hidrolisa lebih lanjut akan menjadi gelatin. Gelatin merupakan bagian atau derivat protein yang tidak dapat larut dalam air yang terdapat pada tulang dan kulit. Menurut Mochtar, *et al.*, (2010), dikatakan bahwa gelatin mempunyai berat molekul yang tinggi yang diperoleh dari hidrolisa kolagen yang berasal dari tulang dan kulit ikan. Sedangkan Tabarestani (2010), mengatakan bahwa gelatin mempunyai fungsi sebagai pembentuk gel, biopolimer yang banyak dimanfaatkan sebagai industri pangan, farmasi maupun berbagai bahan dasar industri lainnya.

Industri pengolahan pangan dengan bahan dasar ikan saat ini meningkat. Menurut Suzuki (1981), ikan mengandung 65–75% miofibril dengan komposisi *actomiosin*, *actin*, *myosin*, *myosin subunit*, *troponin*, *tropomyosin*, dan lain-lain. Darmanto (1999), menyatakan bahwa actomyosin mempunyai peranan yang sangat penting dalam pembentukan gel. Surimi adalah lumatan daging ikan yang biasa digunakan bahan dasar pangan berbentuk gel seperti sosis, bakso,

kamaboko, chikuwa, nuget, kaki naga, *fish cake*, dan lain-lain. Pada umumnya kualitas surimi tergantung jenis ikan, warna daging ikan, teknik pengolahan, kecepatan dan kecermatan tenaga kerja, sarana dan prasarana pabrik. Untuk menjaga kualitas surimi selama pembekuan biasanya menggunakan bahan tambahan seperti sorbitol, sukrosa (Matsumoto, 1985), asam tanat (Balange dan Benjakul, 2009).

METODOLOGI

Bahan dan alat

Bahan yang digunakan dalam pembuatan hidrolisa protein ikan adalah limbah daging kerang mutiara, kitin dan kitosan dibuat dari limbah cangkang kepiting dan karapas udang, sedangkan kolagen dan gelatin dibuat dari limbah tulang dan kulit ikan kakap.

Analisa Asam Amino

Hidrolisa protein daging kerang mutiara, kitin, kitosan, kolagen dan gelatin, produk dari limbah industri pengolahan dilarutkan dalam 6N HCl pada suhu 110°C selama 20 jam, kemudian dianalisa dengan HPLC JLC. 300 *Nihon Electric Industries Inc*, Sagamihara, Kanagawa Japan. Berat molekul dari berbagai preparat dianalisa dengan gel *filtration chromatography* dalam *Sephadex G-25 (Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden)* column (*inner diameter 2.2cm x 60 cm*). Berat molekul dihitung dan dibandingkan dengan standar Cytochrom C (Mw 12500), aprotinin (Mw 6511), bacitracin (Mw 1411), Glutathione (reduce) (Mw 307), Glycyl-L-phenylalanine (Mw 222), L-phenylalanine (Mw 165).

Preparasi hidrolisa daging kerang mutiara

Preparasi hidrolisa protein daging kerang mutiara dengan metode Iwamoto *et al.*, (1991), dengan berbagai modifikasi. Limbah daging kerang mutiara dihidrolisa dengan penambahan enzim *Bacillus subtilus* 0,1% dari berat daging kerang mutiara selama 30 menit pada suhu 90°C dan pH 8. Setelah itu dilakukan hidrolisa kedua dengan enzim *Aspergillus* 0,1% dari berat daging kerang mutiara, dihidrolisa selama 30 menit pada suhu 90°C pada pH 6. Tahap selanjutnya larutan dicentrifuge dengan 3000 rpm, kemudian supernatan dipanaskan pada suhu 80°C selama 10 menit. Larutan cair dirubah menjadi poudrer dengan *spray dryer*.

Preparasi kitin dan kitosan

Proses pembuatan chitin dan chitosan menggunakan metode Austin (1988). Proses pembuatan chitin dilakukan dua tahap yaitu deproteinisasi dengan merendam 2 N HCl selama 48 jam, dan diatur menjadi pH 7. Tahap ke dua larutan yang dihasilkan di demineralisasi direndam dengan 1 N NaOH selama 6 jam. Kemudian dipanaskan dengan suhu 98°C selama 36 jam. Setelah larutan dicuci sampai menjadi pH 7, kemudian diangin-anginkan. Untuk membuat chitosan, chitin dihilangkan asetilnya dengan 60% NaOH dan dipanaskan pada suhu 130°C selama 3 jam. Setelah itu larutan diatur menjadi pH 7, kemudian dilarutkan dengan larutan asam asetat 10%, dicentrifuge 3800 rpm, supernatan diatur menjadi pH 7 dengan 20% NaOH. Kemudian dicentrifuge 3800 rpm selama 30

menit kemudian supernatan diatur menjadi pH 7 dengan air destilasi. Larutan yang dihasilkan diangin-anginkan sehingga menjadi kitosan.

Preparasi kolagen (Junianto *et al.*, 2006)

Tulang setelah dicuci untuk menghilangkan sisa lemak dan daging yang masih tertinggal, dipanaskan dan setelah kering tulang di potong-potong atau di blender. Kemudian langsung direndam dengan 4% NaCl 1 N selama 96 jam, setiap 24 jam *reagen* diganti, setelah terjadi pengerasan tulang diatur menjadi pH 7. Setelah tulang kering dihaluskan dengan mortal.

Preparasi gelatin (Irwandi *et al.*, 2009)

Kulit ikan Kakap merah direbus dalam air dengan suhu 90°C selama 1 menit, setelah dibersihkan selanjutnya dipotong-potong, kemudian direndam dalam asam sitrat 1% pH 3 selama 12 jam. Setelah dinetralkan kulit diekstrak dalam *water bath* pada suhu 90°C selama 2 jam. Setelah disaring hasilnya dicetak dan dikeringkan dalam *autoclave* pada suhu 55°C selama 24 jam. Kemudian ditumbuk dengan mortal sehingga menjadi serbuk gelatin.

Preparasi miofibril protein (Darmanto, 1999)

Daging ikan dicuci dengan reagen 0,1 M KCl, 20 mM *trismaelate buffer* (pH 7,0) sebanyak 3 kali, kemudian daging ikan dihilangkan kadar airnya sampai mencapai 80%. Larutan daging ikan yang dihasilkan ditambahkan dengan 1% triton X-100 dan didiamkan selama 30 menit dalam ruangan bersuhu 5°C. Langkah selanjutnya larutan daging ikan disentrifuge dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Substrat yang dihasilkan diencerkan dengan *reagen* 0,1 M KCl, 20 mM *trismaelate buffer* (pH 7,0) dan disentrifuse dengan 3000 rpm selama 10 menit. Terakhir, substrat yang dihasilkan disentrifuge lagi dengan kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit, endapan yang dihasilkan adalah miofibril protein.

Proses dehidrasi miofibril protein

Sejumlah 100 g miofibril protein ditambah 3 % hidrolisa protein ikan, chitin, chitosan, kolagen dan gelatin. Kemudian diatur sedemikian rupa sehingga pH 6,8, dengan menambahkan NaOH atau HCl. Kemudian hasil olahan limbah dan miofibril protein dilumatkan dengan menggunakan mortal selama 10 menit dalam suhu ruangan 5°C. Supaya terjadi dehidrasi, lumatan tersebut dimasukkan dalam silika gel, dengan interval waktu 2 jam pada suhu 70°C. Miofibril protein dianalisa kadar air, Aw dan aktivitas enzim Ca-ATP.

Analisis aktivitas Air (Aw) (SNI 01-2368-1991)

Prosedur pengujian Aw berdasarkan SNI 01-2368-1991 dalam Dirjen perikanan (1994). sampel dicacah sampai halus kemudian dimasukkan kedalam wadah plastik khusus untuk pengukuran Aw. Setelah itu wadah tersebut ditutup dan dimasukkan kedalam wadah plastik yang dilapisi *chrom* pada Aw meter kemudian dikencangkan penutupnya sampai nilai yang tertera pada alat telah konstan.

Analisis kadar air (Sikrosi, 1989)

Menghitung kadar air dalam suatu sampel, dengan menghitung perbandingan berat awal dan akhir pada miofibril protein setelah dioven pada suhu 105⁰C selama 18 jam atau berat miofibril protein menjadi konstan.

Analisis aktivitas enzim Ca-ATP (Kato et al., 1977)

Miofibril protein sebanyak 1 g dilarutkan dalam 19 ml reagen 0,1 M KCl, 20 mM *tris-maleate buffer* (pH 7,0), kemudian sampel dihomogenkan dengan *waring blender*. Larutan yang dihasilkan selanjutnya sebagian dianalisa konsentrasi protein dan lainnya dianalisa aktivitas enzim Ca-ATP.

Sebanyak 5 ml *reagen* campuran terdiri dari 3,5 ml *reagen* Ca-ATP, 1 ml sampel dan 0,5 ml M ATP, dimasukkan dalam pemanas air selama 5 menit dengan suhu 25⁰C, setelah terjadi reaksi beberapa saat kemudian reaksi dihentikan dengan menambah 1 ml TCA 30%. Proses selanjutnya reagen diambil 1 ml, ditambah dengan 2 ml ammonium molidate dan 0,5 ml *reagen elon*, setelah dibiarkan selama 45 menit, kemudian disaring dan filtratnya diperiksa dengan spektrofotometer 640 nm. Besarnya aktivitas enzim Ca-ATP dihitung dengan satuan micro moles per menit inorganik pospat (Pi μ mol/menit/mg).

Analisis data aktivitas enzim Ca-ATP (Kato et al., 1977)

Miofibril protein adalah salah satu protein pada ikan, oleh aktivitas enzim Ca-ATP, miofibril dipecah menjadi ATP (Suzuki, 1981). Besarnya aktivitas enzim Ca-ATP selama proses dehidrasi dihitung dengan persamaan adalah sebagai berikut (Kato et al., 1977) :

$$\text{Aktivitas enzim Ca-ATP} = L_n \{ (1 - p_i) \times (6/5) \times (1/31) \times (1/5) \times 1 (5/A) \}$$

Analisis gel strength (SNI 2372.6-2009)

Kekuatan gel dari pencampuran hasil pengolahan limbah dan miofibril protein diukur dengan menggunakan alat *texture analyzer* tipe TA-TX² prosedurnya adalah sampel dipotong dengan tinggi 2,5 cm dan diameter 2,5 cm kemudian sampel diletakkan diatas plat pengujian sehingga tepat berada di bawah *probe*. *Probe* dioperasikan dengan *software texture analyzer*. Kekuatan gel dihitung dengan cara mengalikan nilai yang dicapai pada saat *peak force* sampai kembali ke titik nol. Satuan yang digunakan kekuatan gel adalah g.cm.

Perhitungan :

$$\text{Kekuatan gel} = F \times D \text{ (g.cm)}$$

Keterangan :

F (*Force*): tekanan untuk memecah produk, dinyatakan dalam g

D (*Distance*): jarak ketika produk pecah, dinyatakan dalam cm

Viskositas miofibril protein (Migata dan Suzuki, 1989)

Miofibril protein diencerkan dengan *reagen* 0,6 M KCl, 20 mM *tris-maleate buffer* (pH : 7,00) setelah disentrifuge supernatannya diambil sebanyak 2 mg/ml kemudian diukur dengan Ostwald Viscometer pada suhu 25⁰C.

Analisis water holding capacity (WHC) (Hamm, 1986)

Sampel dari pencampuran hasil pengolahan limbah dan miofibril protein masing-masing diambil sebanyak 0,3 gram kemudian dipres pada kertas saring Whatman no. 42 dengan beban 35 kg selama 5 menit. Luas daerah area basah pada kertas saring dihitung dengan cara mengurangi luas area total dengan area yang tertutupi daging.

Rumus WHC :

$$\% \text{ kadar air area basah} = X / \text{berat sampel} \times 100\%$$

$$\% \text{WHC} = \% \text{ kadar air sampel} - \% \text{ kadar air area basah}$$

Analisis folding test (Matsumoto *et al.*, 1997)

Sejumlah 100 g miofibril protein ditambah 0,3% NaCl dan berbagai hasil olahan limbah kemudian dilumatkan, dicetak dan dipanaskan pada suhu 60°C selama 1 jam. Setelah dingin dipotong dengan ukuran diameter 2 cm ketebalan 0,5 cm, kemudian dilipat menjadi setengah dan seperempat lingkaran dengan kriteria hasil sebagai berikut:

AA : tidak retak bila dilipat menjadi seperempat lingkaran

A : tidak retak bila dilipat menjadi setengah lingkaran

B : retak bila dilipat menjadi setengah lingkaran

C : Pecah menjadi 2 bagian bila dilipat menjadi setengah lingkaran

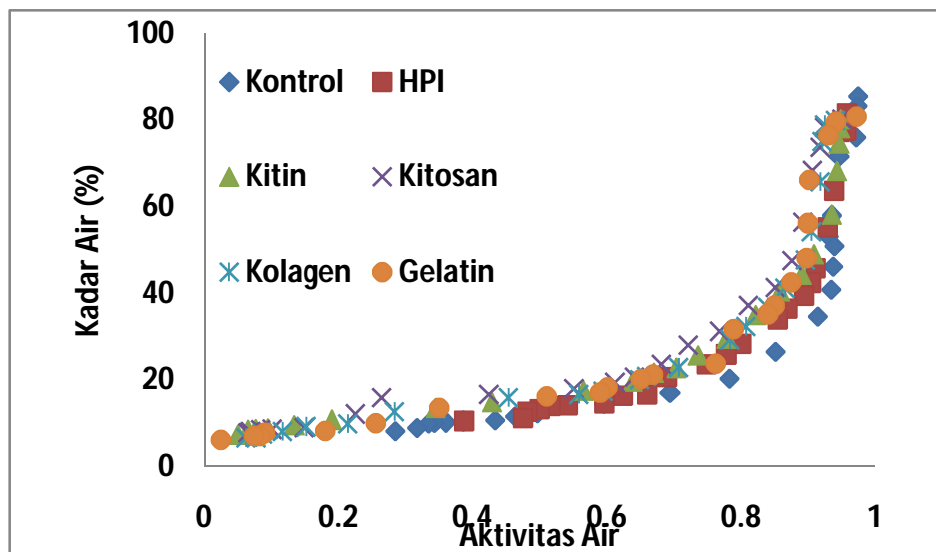
HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi asam amino hasil pengolahan limbah dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Asam Amino Hidrolisa Protein dari Daging Mutiara, Kitin Cangkang Kepiting, Kitosan Cangkang Kepiting, Kolagen Tulang Ikan Kakap dan Gelatin Kulit Ikan Kakap.

Asam Amino	Komposisi (g/ 100 g bahan kering)				
	HPI	Kt	Kito	Kol	Gel
Gly	4.59	3.64	3.01	16.03	15.17
Ala	6.40	3.74	3.70	9.61	9.70
Val	3.90	3.78	3.74	0.28	0.34
Leu	3.29	3.80	3.26	0.47	0.61
Ile	4.31	3.48	3.20	0.56	0.42
Ser	3.61	3.81	3.80	0.42	0.54
Thr	3.58	4.35	4.21	1.26	1.35
Met	2.42	2.67	2.46	0.78	0.79
Asp	9.76	3.40	3.80	0.61	0.68
Gln	14.96	3.60	3.02	0.20	0.16
Tyr	3.40	3.36	3.18	0.26	0.34
Phe	3.20	3.37	2.64	0.18	0.24
Pro	4.16	3.72	3.66	6.21	7.46
Arg	3.31	3.06	3.26	1.04	0.98
Lys	4.76	3.38	3.96	0.26	0.32
His	1.82	2.70	2.86	0.36	0.40
Hyp	-	-	-	3.06	3.78

Hasil analisa menunjukkan bahwa masing-masing produk limbah mempunyai kandungan asam amino yang berbeda-beda, akan tetapi asam amino kitin dan kitosan ada kemiripan, demikian juga asam amino pada produk kolagen dan gelatin. Hal ini disebabkan karena kitosan merupakan turunan dari kitin (Hirano, 1988), sedangkan gelatin turunan dari kolagen (Cheow *et al.*, 2007). Asam amino pada hidrolisa protein daging kerang mutiara menunjukkan bahwa glutamin, asam aspartat dan alanin paling tinggi jika dibandingkan dengan asam amino yang lain. Sesuai dengan penelitian Ruttanapornvareesakul *et al.*, (2005), menyatakan bahwa hidrolisa dari udang galah (*black tiger*) mempunyai komposisi asam amino paling tinggi adalah glutamin, asam aspartat, dan alanin. Sedangkan kandungan asam amino pada kitin dan kitosan praktis tidak ada perbedaan yang sangat mencolok, hampir berkisar antara (2.46 – 4.35). akan tetapi berbeda kandungan asam amino pada kolagen dan gelatin dari tulang maupun kulit Ikan Kakap. Kandungan asam amino glisin kolagen 16.03, sedangkan gelatin 15.17. asam amino alanin kolagen 9.61, gelatin 9.70, kandungan asam amino prolin kolagen 6.21, gelatin 7.46. Oleh Gomez *et al.*, (2002), menerangkan bahwa gelatin dari berbagai jenis kulit ikan (*Lepidorhombus boscii*, *Solea vulgaris*, *Gadus morhua*, *Merluccius merluccius* dan cumi-cumi) kandungan asam amino tertinggi berturut-turut glisin, prolin-hidro, alanin dan prolin. Sedangkan Jongjareonrak *et al.*, (2010), meneliti gelatin kulit ikan *Giant catfish* dimana posisi asam amino yang paling tinggi berturut-turut glisin, prolin dan alanin.



Gambar 1. Sorbsi Isotermis Air dari HPI, Kitin, Kitosan, Kolagen dan Gelatin (3%)

Isotherm sorbsi air dalam suatu bahan merupakan hubungan antara kadar air dan aktivitas air. Oleh Soekarto dan Adawiyah (2012), menyatakan bahwa isotherm sorbsi air dibagi tiga bagian yaitu air terikat primer (ATP) atau disebut *monolayer water*, air terikat sekunder (ATS) atau disebut *multilayer water* dan air terikat tersier (ATT) atau disebut air kapiler. Isotherm sorbsi air ini berbentuk sigmoid. Gambar 1. menyatakan hubungan isotherm sorbsi air dari hidrolisa protein daging kerang mutiara, kitin, kitosan, kolagen, gelatin dan kontrol pada miofibril selama proses dehidrasi. Gambar 1. terlihat bahwa masing-masing garis mempunyai 2 titik sigmoid yang posisinya berbeda beda. Setelah dianalisa dalam

tabel 2, kontrol (miofibril tanpa penambahan) posisi air terikat pada (6.36–15.40), hidrolisa protein daging kerang mutiara (10.18–17.26), kitin (10.36–19.70), kitosan (10.88–19.50), kolagen (11.04–20.02) dan gelatin (11.68–20.47). dengan penambahan hasil olahan limbah tersebut ternyata mampu merubah posisi titik air yang ditunjukkan besar kecilnya nilai *monolayer* dan *multilayer water*.

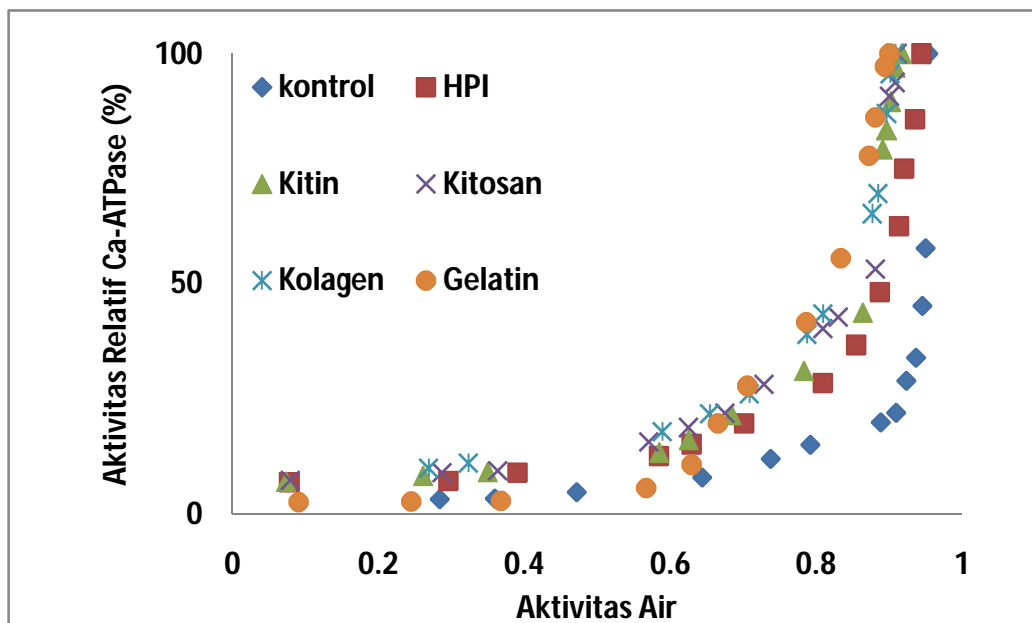
Menurut Nozaki *et al.*, (1991), melaporkan bahwa dari berbagai jenis asam amino mempunyai efek yang berbeda-beda terhadap *monolayer water* dan *multilayer water* pada miofibril protein selama proses dehidrasi dan pembekuan. *Monolayer water* pada asam amino lisin berturut-turut lebih tinggi dari alanin, tirosin dan metylalanin, sedangkan *multilayer water* berturut-turut asam amino histidin lebih tinggi dari treonin, valin dan triptopan (Chirife dan Iglesias, 1978). Oleh Nakano *et al.*, (1979), menerangkan bahwa perubahan posisi air pada berbagai produk pangan diindikasikan perubahan *monolayer* dan *multilayer water*, sedangkan Sukarto dan Adawyah (2012), menerangkan bahwa karbohidrat dan protein termasuk pangan polar mempunyai sifat yang sangat kuat mengikat molekul air.

Tabel 2. Posisi *Monolayer Water* dan *Multilayer Water* pada Miofibril Protein dengan Penambahan HPI, Kitin, Kitosan, Kolagen dan Gelatin Selama Proses Dehidrasi.

Jenis	<i>Monolayer Water</i> (g/100g sampel)	<i>Multilayer Water</i> (g/100g sampel)
Kontrol	6,40	14,06
HPI	10,72	16,78
Kitin	10,85	17,20
Kitosan	10,94	18,20
Kolagen	8,30	14,40
Gelatin	9,10	15,04

Dari Tabel 2. tersebut terlihat bahwa semakin tinggi *monolayer water* dan *multilayer water* menyatakan bahwa pangan tersebut semakin awet dan rasanya lebih enak. Hal tersebut disebabkan bahwa bahan tambahan seperti HPI, kitin, kitosan, kolagen dan gelatin mampu mengikat air disekitarnya sehingga diperoleh dengan Aw yang sama kadar air produk tersebut lebih tinggi.

Berdasarkan kelarutannya protein dibagi menjadi 3 bagian yaitu protein sarkoplasma, stroma dan miofibril. Protein sarkoplasma larut dalam air, stroma tidak larut dalam air asam dan basa, tetapi miofibril larut terhadap larutan garam. Miofibril terdiri dari actin, myosin, actomyosin, tropomyosin dan actinin (Suzuki, 1981). Selama proses dehidrasi dan pembekuan miofibril mengalami denaturasi (Darmanto, 1999^a). Darmanto (1999^b), menambahkan bahwa denaturasi protein diindikasikan penurunan aktivitas enzim ATP. Penurunan aktivitas enzim ATP sangat drastis terjadi pada saat berbagai produk mempunyai kadar air > 80%. Kemudian terjadi penurunan secara perlahan (Darmanto, 2012). Lebih lanjut menurut Stangierski dan Kijowski (2008), selama proses pembekuan miofibril protein, terutama myosin mengalami denaturasi, diindikasikan penurunan solubilitas protein, viskositas dan makin lemahnya ikatan-ikatan air pada miofibril protein tersebut. Penurunan ini disebabkan bahwa golongan pangan senyawa polar termasuk hidrofilik seperti karbohidrat, protein, vitamin, fenolik, senyawa nukleat makin lemah untuk mengikat molekul air.



Gambar 2. Hubungan antara Aktivitas Air dan Aktivitas Relatif Ca-ATP dari HPI, Kitin, Kitosan, Kolagen dan Gelatin

Oleh Cao *et al.*, (2006), menyatakan bahwa salah satu indikator penurunan kualitas protein adalah aktivitas enzim Ca-ATP. Sedangkan menurut Hossain *et al.*, (2004), aktivitas enzim Ca-ATP yang rendah merupakan indikasi terjadinya denaturasi protein. Menurut Suzuki (1981), Selain aktivitas enzim Ca-ATP, bentuk mikroskopis, viskositas, solubilitas protein miofibril merupakan indikasi perubahan yang terjadi pada miofibril tersebut.

Dari gambar 2. terlihat bahwa selama proses dehidrasi pada miofibril baik ada penambahan atau tidak sejak awal penelitian sampai Aw 0,7 terjadi penurunan aktivitas enzim Ca-ATP yang sangat drastis. Hal ini disebabkan bahwa pada Aw 0,7- Aw 1 terjadi pada produk makanan dengan kadar air sangat tinggi dan segala jenis kehidupan baik bakteri, enzim serta ikatan molekul air lemah. Akan tetapi dari berbagai bahan tambahan hasil olahan limbah (HPI, kitin, kitosan, kolagen dan gelatin) dengan Aw yang sama aktivitas enzim Ca-ATP berbeda-beda.

Gambar 2. terlihat bahwa pada kontrol posisi Aw 0,8 aktivitas enzim Ca-ATP 87,5%, sedangkan HPI, kitin, kitosan, kolagen dan gelatin kurang dari 62-75%. Dengan demikian bahwa dengan penambahan berbagai produk tersebut mampu mennekan laju penurunan aktivitas enzim Ca-ATP, ini disebabkan bahwa HPI, kitin, kitosan, kolagen dan gelatin mampu mengikat molekul air dengan sangat kuat pada miofibril protein selama proses dehidrasi.

Hasil penelitian *gel strength*, viskositas, WHC dan *folding test* dari berbagai jenis hasil olahan limbah tersaji dalam Tabel 3.

Tabel 3. Efek Penambahan Hidrolisa Daging Kerang Mutiara, Kitin, Kitosan, Kolagen dan Gelatin pada Miofibril Protein

Komponen	K	HPI	Ki	Kito	Kol	Gel
GS	247	276	296	298	338	346
Vc	15,6	18,28	19,60	19,8	20,46	21,7
WH	16,9	22,4	28,16	31,02	38,7	44,2
FT	B	A	A	A	AA	AA

Miofibril protein selama proses dehidrasi maupun pembekuan mengalami denaturasi. Matsumoto (1979), menyatakan bahwa denaturasi protein menyebabkan daya ikat air lemah, kekuatan gel menurun dan ikatan lemak berkurang. Lebih lanjut menurut Matsumoto (1980), bahwa denaturasi protein mengakibatkan protein cepat larut atau tidak dapat diekstraksi dalam larutan garam serta tidak mudah mengendap.

Dari hasil penelitian ternyata *gel strength* dari kelima bahan tersebut mempunyai nilai *gel strength* yang berbeda-beda, namun bila dicermati lebih jauh antara kitin (296) dan kitosan (298) hampir tidak berbeda, demikian juga antara kolagen (338) dan gelatin (346) perbedaan ini diduga karena aktivitas enzim ATP yang ada pada miofibril protein berbeda. Nozaki *et al.*, (1993), menyatakan bahwa semakin tinggi aktivitas enzim ATP pada miofibril paralel dengan kekuatan gel pada miofibril protein tersebut. Oleh Migata *et al.*, (1960) mengatakan bahwa viskositas, solubilitas, kekuatan gel dan aktivitas enzim ATP merupakan parameter tingkat kualitas protein. Dari hasil penelitian ternyata kolagen dan gelatin mempunyai viskositas lebih tinggi daripada HPI, kitin dan kitosan. Menurut Songchotikunpan *et al.*, (2008), menyatakan kolagen dan gelatin berfungsi sebagai pengental, pengemulsi, penstabil, pengikat air dan memperbaiki konsistensi.

Demikian juga hasil penelitian tentang WHC (*Water Holding Capacity*) menurun identik dengan penurunan kualitas miofibril protein, hal ini disebabkan karena ikatan molekul air pada miofibril protein sangat lemah. Hal ini juga terjadi pada penurunan *folding test* pada miofibril protein.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian limbah pengolahan hasil perikanan (hidrolisa protein ikan, kitin, kitosan, kolagen dan gelatin) mampu meningkatkan isotherm sorpsi air dengan indikasi meningkatnya *monolayer* dan *multilayer water*. Limbah pengolahan hasil perikanan mampu menekan laju penurunan aktivitas enzim Ca-ATP terutama pada area air kapiler, dengan indikasi kadar air yang sama pada miofibril protein diperoleh nilai aktivitas air lebih kecil. Namun aktivitas enzim Ca-ATP menurun secara perlahan-lahan ketika aktivitas air mencapai $< 0,75$. Limbah pengolahan hasil perikanan mampu meningkatkan *gel strength*, viskositas, kemampuan mengikat air (WHC) dan *folding test* pada miofibril, akan tetapi dari berbagai bahan limbah yang berbeda mempunyai besaran yang berbeda pula.

DAFTAR PUSTAKA

- Austin, P.R. 1988. Chitin Solution and Purification of chitin Methods in Enzymology. Vol. 161 Biomass Part B p. 403. Wood, W.A and Kellog, S.T. (ed) Academic Press Inc. San Diego. New York.
- Badan Standarisasi Nasional. 2009. Cara Uji Fisika Bagian 6: Penentuan Mutu Pasta pada Produk Perikanan. SNI 2372.6-2009. Badan Standarisasi Nasional. Jakarta.
- Belange, A. K. And S. Benjakul. 2009. Effect of Oxidised Tannic Acid on The Gel Properties of Mackerel (*Rastrelliger kanagurta*) Mince and Surimi Prepared by Different Washing Processes. Food Hyd. 23:1693-1701.

- Benjakul, S and Khantaphant, S. 2010. Antioxsidative Activities of Protein Hydrolysate from Fish Muscle prepared Using Fish Protease in Combination with Commercial Protease. The FFTC Seminar : “Improved Utilization of Fishery by-Product as Potential Nutraceuticals and Functional Foods”. Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. 59-75p.
- Cao M.J, Xin-Jin Jiang, Hui-Chang Zhong, Zhi-Jun Zhang, We-Jin Su. 2006. Degradation of Myofibrilar Proteins by a Myofibril-Bound Serine Proteinase in the Skeletal Muscle of Crucian Carp (*Carasitus auratus*). J Food Chem 94: 7-13.
- Cheow C.S, Norizah, M.S, Kyaw, Z.Y, Howell, N.K. 2007. Preparation and Charaterisation of Gelatins from the Skins of Sin Croaker (*Johnius dussumieri*) and Shortfin Scad (*Decapterus macrosoma*). Food Chemistry 101: 386-391.
- Chirife, J., and Iglesias, H.A. 1978. Equations for Fitting Water Sorption of Food. I.A. review. J. Food Technol., 13: 159-174.
- Darmanto, Y. S. 1996. Effect of Protein Hydrolysate of Pearl Oyster meat on the State of Water and Denaturation of Myofibril. Dessertation. Graduate School of Marine Science and Engineering. Nagasaki University. (unpublished).
- Darmanto, Y. S. 1999^a. Efek Hidrolisa Protein Ikan Rucah terhadap “State of Water” pada Miofibril Protein Selama Proses Dehidrasi. Majalah Ilmiah Perikanan Ilmu Kelautan ISSN: 1410-7155. 2: 17-21.
- Darmanto, Y. S. 1999^b. Effect of Shellfish Protein Hydrolysate (SPH) of Pearl Oester Meat, on The State of Water and Denaturation of Myofibrils During Dehydration Process. Jurnal of Coastal Development ISSN: 1410-5217. Volume 2 No.6 Maret 1999.
- Darmanto, Y. S. 2001. Upaya Peningkatan Komoditas Ekspor Industri Hasil Perikanan dengan Rekayasa Teknologi. `Pidato Pengukuhan. Badan Penerbit Universitas Diponegoro. Semarang.
- Darmanto, Y, S., Agustini, T, W. and Swastawati, F. 2012. Efek Kolagen dari Berbagai Jenis Tulang Ikan Terhadap Kualitas Miofibril Protein Ikan Selama Proses Dehidrasi. Jurnal Teknologi dan Industri Pangan, Vol. XXIII No. 1 Th. 2012.
- Direktorat Jendral Perikanan. 1994. Standar Nasional Indonesia (SNI) Kumpulan Standar Metode Pengujian Mutu Hasil Perikanan. Direktorat Bina Usaha Tani dan Pengolahan Hasil. Jakarta.
- FAO, FAO yearbook, Fisheries statistics, Vol. 100/2 (2005), 2007. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Gomez-Guillen, M.C., Turnay, J., Fernandez-Diaz, M.D., Ulmo, N., Lizarbe, M. A., Montero, P. 2002. Structural and Physical Properties of Gelatin Extracted from Different Marine Species: a Comparative Study. Food Hydrocolloids 16: 25-34.
- Hamm, R. 1986. Functional Properties of The Myofibrillar System Their Maesurement. In. P. J. Bechtel (Ed), Muscle as food pp.135-199. New York, Academy Press, Inc

- Hirano, S. 1988. Production and Application of Chitin and Chitosan in Japan. Tottori University, Departement of Agricultural Biochemistry Tottori 680, Japan.
- Hossain, A. Md, Abu Alikhan, M, Tadashi Ishihara, Kenji Hara, Kiyoshi Osatomi, Kazufumi Osaka, Yukiharo Nazaki. 2004. Effect of Proteolytic Squid Protein Hydrolysate on the State of Water and Denaturation of Lizardfish (*Saurida wanieso*) Myofibrilar Protein During Freezing. J Innovative Food Sci and Emerging Technol 5: 73-79.
- Irwandi, J., Faridayanti, S., Hamzah, M.S., Torla, H.H., Che Man Y.B. 2009. Extraction and Characterzation of Gelatin from Different Marine Fish Species in Malaysia. International Food Research., Journal., 16: 381-389.
- Iwamoto, M., Fujiwara, R., Yokohama, M. 1991. Immonological Effect of BM-2, An Enzymatic Digestive Extract of Chub Mackerel. J. Jpn. Soc. Cancer Ther. 26 : 939-947.
- Junianto., Kiki, H., Ine, M. 2006. Produksi Gelatin dari Tulang Ikan dan Pemanfaatannya Sebagai Bahan Dasar Pembuatan Cangkang Kapsul. Laporan Penelitian Hibah Bersaing IV Tahun I. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjajaran. Bandung.
- Jongjareonrak, A., Rawdkuen, S., Chaijan, M., Benjakul, S., Osako, K. 2010. Chemical Compositions and Characterisation of Skin Gelatin from Farmed Giant Catfish (*Pangasianodon gigas*). Food Science and Tecnology 43: 161-165.
- Katoh, N., Uchiyama, H., Tsukamoto, S., Arai, K. 1977. A Biochemical Study on Fish Myofibrils ATPase. Bull, Jap, Soc. Fish. 43 (7): 857-867.
- Matsumoto, J. J. 1979. Denaturation of Fish Muscle Protein During Frozen Storage, in Protein at Low Temperatures. (Adv. Chem. Ser., 180) Fennema, O., (Eds.), J. Am. Chem. Soc., Washington.
- Matsumoto, J. J. 1980. Chemical Deterioration of Protein. Whitaker JR, Fujimaki M, (Ed), J Am Chem Soc ACS Symposium series 7: 95-124.
- Matsumoto, I. Tooru, O and Ken-ichi, A. 1985. Protective Effect of Sugar of Freeze denaturation of Carp MyOfibrial Protein. Laboratory of Biochemical. Hokkaido University, Hakodate 041, Japan.
- Migita, M., Matsumoto, J., Suzuki, T. 1960. On the Denaturatin of Fish Muscle Protein by Dehydration-II. Changes in Viscosity and Sreaming Berefringence of Extractable Protein. Bull Jap. Soc. Sic. Fish. 36 (3): 303-316.
- Migita, M., Suzuki, T. Study on the Viscosity of Fish Actomyosin II, Viscosity Change of Carp Actomyosin Solution on Storage. Bull. Jap. Soc. Fish.
- Mohtar, N, F., Perera, C and Quek, S, Y. 2010. Optimisation of Gelatine Extraction from Hoki (*Macruronus novaezelandiae*) skins and Measurement Gel Strength and SDS-PAGE. Food Chemistry 122 (2010), 307-313.
- Mori, K. 2010. Recycling of Waste Oyster Shells: Production of Clean and Batericidal Drinking Water. The FFTC Seminar : "Improved Utilization of Fishery by-Product as Potential Nutraceuticals and Functional Foods". Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. 2-7p.
- Nakano, H, Akiba, M, Yasui, T. 1979. The Water State of Myosin Gel During Dehydration. J Nippon Suisan Gakkaishi 59: 1209-1211.

- Nozaki, Y., Ichikawa, H., and Tabata, Y. 1991. Effect of Amino Acids on the State of Water and Ca-ATPase Activity Accompanying Dehydration of Fish Myofibrils. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 57 (8): 1531-1537.
- Nozaki, Y., Ichikawa, H., Tabata, Y. 1993. Effect of Amino Acids Addition on the Isothermic Sorption Heat during Dehydration of Myofibril. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 59 (7): 1209-1211.
- Poedjiadi, A. 1994. *Dasar-Dasar Biokimia*. Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Poppe, J. 1997. Gelatin. In: Imeson A (Ed). *Thickening and Gelling Agents for Food*. Blackie Academic and Profesional, London. P 123.
- Ruttanapornvareesakul, Y., Somjit, K., Otsuka, A., Hara, K., Osatomi, K., Osako, K., Kongpun, O dan Nozaki, Y. 2005. Cryoprotective Effect of Shrimp Head Protein Hydrolysate on Gel Forming Ability and Protein Denaturation of Lizardfish Surimi during Frozen Storage. *Fisheries Science* 2006; 421-428.
- Sikorsi, Z. E. 1989. *Seafood Resources, Nutritional Composition and Preservation*. Crc Press, Inc. Boca Raton, Florida.
- Soekarto, S.T., dan Adawiyah, R.D. 2012. Keterkaitan Berbagai Konsep Interaksi Air dalam Produk Pangan. *J. Teknologi dan Industri Pangan*, Vol.23 (1): 107-116.
- Songchotikunpan, P., Tattiyakul, J., Supaphol, P. 2008. Extraction and Electrospinning of Gelatin from Fish Skin. *IJ of Biological Macromolecules* 42 : 247-255.
- Stangierski, J., Kijowski, J. 2008. Effect of Selected Substances on the Properties of Frozen Myofibril Preparation Obtained from Mechanically Recovered Poultry Meat. *Eur Food Res Technol* 226 : 1415-1420.
- Suzuki, T. 1981. *Fish and Krill Protein: Processing Tehnology*. London. Applied Science Publisers.Ltd. 260p.
- Tabarestani, H, S., Maghsoudlou, Y., Motamedzadegan, A. And Mahoonak, Sadeghi, A, R. 2010. Optimization of Physico-Chemical Properties of Gelatin Extracted from Fish Skin of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Bioresource Technology* 101 (2010), 6207-6214.
- Trung, T, S. 2010. The Innovative utilization of Fishery by-products in Vietnam. The FFTC Seminar : "Improved Utilization of Fishery by-Product as Potential Nutraceuticals and Functional Foods". Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. 76-85p.