

KR  
338.3727  
Sup

**DISERTASI**

**PENINGKATAN RENDEMEN DAN KUALITAS MINYAK  
HATI IKAN CUCUT (*Centrophorus squamosus*)**

Studi optimasi kondisi kerja enzim papain dan bromelin kasar

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK**

3000006963151



MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

**EDDY SUPRAYITNO**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1995**

Sc an Disertasi - Eddy

**PENINGKATAN RENDEMEN DAN KUALITAS MINYAK  
HATI IKAN CUCUT (*Centrophorus squamosus*)**

**Studi optimasi kondisi kerja enzim papain dan bromelin kasar**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK**



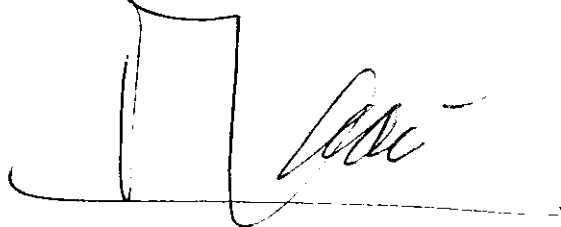
**EDDY SUPRAYITNO**

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
1995**

**Lembar pengesahan**

**Karya tulis ilmiah ini  
telah disetujui  
pada tanggal 5 Desember 1995**

oleh  
Promotor



**Prof. Soemadi, Drs, Apt**

**NIP. 130 189 849**

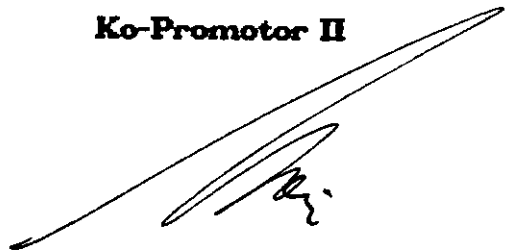
**Ko-Promotor I**



**Dr. Sri Kumalaningsih, Ir, MAppSc**

**NIP. 030 117 927**

**Ko-Promotor II**



**Dr. M. Zainuddin, Apt.**

**NIP. 130 517 154**

**PENINGKATAN RENDEMEN DAN KUALITAS MINYAK  
HATI IKAN CUCUT (*Centrophorus squamosus*)  
Studi optimasi kondisi kerja enzim papain dan bromelin kasar**

**PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIK**

**DISERTASI**

**Untuk memperoleh gelar Doktor  
dalam ilmu Matematika dan Sains  
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga  
di bawah pimpinan Rektor Universitas Airlangga**

**Prof. H. Bambang Rahino Setokoesoemo, dr**

**telah dipertahankan di hadapan  
Rapat Terbuka Senat Universitas Airlangga  
pada hari Selasa  
tanggal 21 November 1995  
pukul 10.00 wib**

**oleh :  
EDDY SUPRAYITNO  
NIM 099 110 996 D**

**Telah diuji tanggal 31 Juli 1995**

**PANITIA PENGUJI DISERTASI**

**KETUA : Prof. IGB. Amitaba, Drh.**

**ANGGOTA : 1. Prof. Soemadi, Drs, Apt.**

**2. Dr. Sri Kumalaningsih, Ir, MAppSc.**

**3. Dr. M. Zainuddin, Apt.**

**4. Prof. H. A. Soeparma, Drs, MSc.**

**5. Prof. Dr. H. Soetarjadi, Drs, Apt.**

**6. Prof. Dr. H. Aziz Hubeis, Drs, Apt.**

**Ditetapkan dengan  
SURAT KEPUTUSAN  
REKTOR UNIVERSITAS AIRLANGGA  
NOMOR : 6746/PT.03.H/I/1995  
Tanggal 19 Agustus 1995**

## RINGKASAN

EDDY SUPRAYITNO. PENINGKATAN RENDEMEN DAN KUALITAS MINYAK HATI IKAN CUCUT (*Centrophorus squamosus*) DENGAN TEKNIK EKSTRAKSI ENZIMATIS. Studi optimasi kondisi kerja enzim papain dan bromelin kasar. Di bawah bimbingan Soemadi sebagai promotor, Sri Kumalaningsih sebagai kopromotor I, M. Zainuddin sebagai kopromotor II.

Percobaan ini dilakukan di Laboratorium Sentral Ilmu dan Teknologi Pangan, Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Laboratorium Teknik Kimia Politeknik Universitas Brawijaya Malang.

Tujuan percobaan ini adalah untuk meningkatkan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut (*Centrophorus squamosus*) dengan teknik ekstraksi menggunakan enzim papain dan bromelin kasar.

Metode penelitian yang digunakan adalah metode eksperimental. Pengumpulan data dilakukan dengan statistik menggunakan rancangan petak terbagi atau " *Split Plot* ". Sebagai plot (petak) adalah kadar garam, sedangkan sebagai split (pembagi) adalah pH dan suhu. Dalam percobaan ini ekstraksi minyak hati ikan cucut menggunakan teknik enzimatis papain dan bromelin kasar serta teknik tradisional. Sebagai perlakuan kadar garam (15,20,25,30 %), pH (5,6,7,8) dan suhu inkubasi (35,45,55,65°C). Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh kadar garam, pH dan suhu inkubasi terhadap rendemen, kadar skualen, kadar peroksida, kadar asam lemak bebas, kadar air, kadar asam lemak linoleat

kadar asam lemak linolenat, kadar asam lemak arakhidonat, kadar vitamin A yang diperoleh dianalisis menggunakan program analisis variansi. Sedangkan untuk menentukan kriteria kondisi optimal dilakukan dengan teknik skoring.

Hasil percobaan menunjukkan bahwa perlakuan garam 25 %, pH 7, suhu 45°C dengan teknik ekstraksi menggunakan enzim papain kasar menunjukkan optimal dengan rendemen minyak 85,77 %, kadar skualen 89,27 %, kadar peroksida 5,66 meq/kg, kadar asam lemak bebas 0,10 %, kadar air 7,48 %, kadar asam lemak linoleat 1,15 %, kadar asam lemak linolenat 0,43 %, kadar asam lemak arakhidonat 0 %, kadar vitamin A 6.050 IU/g minyak.

Sedangkan ekstraksi menggunakan enzim bromelin kasar perlakuan garam 30 %, pH 6, suhu 55°C menunjukkan optimal dengan rendemen minyak 82,69 %, kadar skualen 77,46 %, kadar peroksida 6,65 meq/kg, kadar asam lemak bebas 0,16 %, kadar air 5,41 %, kadar asam lemak linoleat 1,66 %, kadar asam lemak linolenat 0,29 %, kadar asam lemak arakhidonat 0,48 %, kadar vitamin A 7.040 IU/g minyak.

Teknik ekstraksi tradisional menghasilkan rendemen 70 %, kadar skualen 69,32 %, kadar peroksida 9,14 meq/kg, kadar asam lemak bebas 0,51 %, kadar air 6,32 %, kadar asam lemak linoleat 1,42 %, kadar asam lemak linolenat 0,40 %, kadar asam lemak arakhidonat 1,43 %, kadar vitamin A 7.240 IU/g minyak.

## ABSTRACT

The low yield and quality of crude oil extracted traditionally from shark liver by most farmers at rural region become the main hinderance in its development as raw material for the production of high quality oil.

Under such circumstances, the use of crude plant proteolytic enzymes namely Papain and Bromelain under optimum condition were studied

Shark liver containing 25 % (w/w) salt, hydrolyzed by 18 % (w/w) crude Papain at pH level of 7, incubated at 45°C for 24 hours, showed the best result. The yield of oil was 85.77 %, squalene 89.27 %, peroxide value 5.66 meq/kg, free fatty acid 0.10 %, water content 7.48 %, linoleic acid 1.15 %, linolenic acid 0.43 %, arachidonic acid 0.00 % and vitamin A 6.050 IU/g.

Further study indicated that the addition of 30 % (w/w) salt on shark liver mixed with 24 % (w/w) crude Bromelain enzyme at pH level of 6 and incubated at 55°C for 24 hours could produce 82.69 % oil, squalene 77.48 %, peroxide value 6.65 meq/kg, free fatty acid 0.16 %, water content 5.41 %, linoleic acid 1.66 %, linolenic acid 0.29 %, arachidonic acid 0,48 % and vitamin A 7.040 IU/g.

The yield of oil extracted using traditional method (sun drying and steaming) was 70 % (w/w) and the oil consisting of squalene 69.32 %, peroxide value 9.14 meq/kg, free fatty acid 0.51 %, water content 6.32 %, linoleic acid 1.42 %, linolenic acid 0.40 %, arachidonic acid 1.43 % and vitamin A 7.240 IU/g.

---

Additional key words : Extraction, Enzyme, Papain, Bromelain Traditional, Shark Liver, *Centrophorus squamosus*.



### UCAPAN TERIMA KASIH

Dengan telah selessinya penulisan disertasi ini, dengan segala kerendahan hati saya ingin menyampaikan rasa terima kasih yang setulus-tulusnya kepada :

1. Prof. H. Bambang Rahino Setokoesoemo, dr., selaku Rektor Universitas Airlangga, dan Prof. Soedarso Djojonegoro, dr., mantan Rektor Universitas Airlangga, yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk melanjutkan pendidikan di Program Pasca Sarjana serta menyetujuinya untuk memperoleh beasiswa melalui Tim Manajemen Program Doktor (TMPD).
2. Prof. DR. H. Soedijono, dr., selaku direktur, Prof. DR. H. Soetarjadi, Drs, Apt., mantan direktur, dan para asisten Direktur Program Pasca Sarjana Universitas Airlangga atas kemudahan dan fasilitas yang disediakan sehingga kami dapat menyelesaikan pendidikan ini.
3. Prof. H. M. Hasyim Baisoeni, Drs., selaku rektor, Prof. H. Z. A. Achmady, Drs, MPA., mantan rektor Universitas Brawijaya. H. Sahri Muhammad, Ir, MS dekan, H. M. Roedhi. H. M. Ir. MS (alm) mantan dekan Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang sebagai atasan penulis atas ijin, perkenan dan bantuan beliau penulis mendapat kesempatan menyelesaikan pendidikan Program Doktor ini.
4. Prof. Soemadi, Drs, Apt., selaku pembimbing utama yang telah dengan tekun dan penuh kesabaran memberikan bimbingan di sela-sela kesibukan beliau. Beliau pula yang

selalu memberikan dorongan semenjak sebelum dan pada masa-masa awal memasuki program Doktor sampai saat-saat terakhir penulisan disertasi ini. Nasehat dan bimbingan yang diberikan selama penulis menempuh program doktor telah memberikan banyak bekal dan suri tauladan kepada penulis. Kesabaran dan ketelatenan beliau dalam memberikan bimbingan merupakan contoh yang patut diteladani.

5. DR. Sri Kumalaningsih, Ir, M. App. Sc dan DR. M. Zainuddin, Drs, Apt. selaku pembimbing pertama dan kedua yang diantara kesibukannya sehari-hari dengan sabar telah meluangkan waktu untuk memberikan dorongan, bahan-bahan, saran dan petunjuk yang sangat berharga dalam menyelesaikan dan menyempurnakan disertasi ini.
6. DR. Poerwanto, Drs, Apt. Dekan Fakultas Farmasi dan Kepala Laboratorium Instrumen Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas bantuannya untuk meminjam alat kolom kromatografi selama penelitian.
7. Pimpinan dan para teman sejawat di Fakultas Perikanan atas perkenan dan bantuan fasilitas Laboratorium serta kerjasama yang memungkinkan disertasi ini dapat diselesaikan dengan sebaik-baiknya.
8. Perpustakaan Universitas Brawijaya Malang, Perpustakaan Universitas Airlangga Surabaya, serta Perpustakaan PDII-LIPI Jakarta atas bantuannya untuk memperoleh informasi yang mutlak diperlukan dalam penyusunan disertasi ini.

9. Laboratorium Instrumen Jurusan Teknik Kimia POLTEK Universitas Brawijaya Malang.
10. Laboratorium Sentral Ilmu dan Teknologi Pangan Universitas Brawijaya Malang.
11. Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang.

Akhirnya peneliti juga mengucapkan terima kasih yang setulus-tulusnya, kepada semua pihak yang telah menunjukkan rasa simpatinya sehingga turut membesarkan hati, serta memberikan semangat untuk menyelesaikan disertasi ini. Tak lupa peneliti ucapkan pula terima kasih yang sebesar-besarnya kepada kedua orang tua, mertua, saudara-saudara saya atas nasehat-nasehatnya, isteri dan kedua anak saya Editya Wijanarko dan Editya Meshita yang dengan sabar dan penuh pengertian ikut pula memberikan semangat dan dorongan kepada penulis sejak awal hingga selesainya disertasi ini.

Malang, Maret 1995

Penulis,

Eddy Suprayitno

## DAFTAR ISI

ISI	Hal
UCAPAN TERIMA KASIH .....	v
DAFTAR ISI...	viii
DAFTAR TABEL .....	xii
DAFTAR GAMBAR .....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SINGKATAN.....	xviii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	7
1.3.1 Tujuan Umum.....	7
1.3.2 Tujuan Khusus.....	7
1.4 Kegunaan Penelitian .....	7
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>8</b>
2.1 Ikan Cucut .....	8
2.1.1 Ciri-Ciri Ikan Cucut.....	8
2.1.2 Komposisi Kimia Ikan Cucut.....	10
2.2 Minyak Hati Ikan Cucut.....	11
2.2.1 Asam Lemak.....	14
2.2.2 Komponen Non Asam Lemak .....	18
2.3 Faktor Yang Mempengaruhi Kualitas Minyak .	21
2.4 Penurunan Kualitas Minyak.....	21
2.4.1 Peningkatan Asam Lemak Bebas .....	22
2.4.2 Peningkatan Ketengikan Karena Oksidasi.....	23
2.5 Kualitas Minyak Hati Ikan Cucut.....	26
2.5.1 Rendemen .....	27
2.5.2 Kadar Skualen .....	27
2.5.3 Kadar Peroksida.....	27
2.5.4 Kadar Asam Lemak Bebas.....	28
2.5.5 Kadar Air.....	29
2.5.6 Kadar Asam Lemak Linoleat.....	29
2.5.7 Kadar Asam Lemak Linolenat.....	29
2.5.8 Kadar Asam Lemak Arachidonat.....	30
2.5.9 Kadar Vitamin A.....	31

		ix
2.6	Ekstraksi Minyak Hati Ikan Cucut .....	31
2.7	Enzim Proteolitik.....	35
2.7.1	Pengertian Enzim.....	35
2.7.2	Sifat Enzim Proteolitik.....	37
2.7.3	Cara Kerja Enzim Proteolitik.....	37
2.7.4	Faktor Yang Mempengaruhi Enzim Proteolitik.....	40
2.8	Enzim Papain.....	44
2.9	Enzim Bromelin.....	45
2.10	Penggaraman.....	46
2.10.1	Pengaruh Garam Terhadap Jaringan Hati Ikan Cucut.....	47
2.10.2	Pengaruh Garam Terhadap Enzim Proteolitik.....	48
<b>BAB 3</b>	<b>KERANGKA TEORI DAN HIPOTESIS .....</b>	<b>50</b>
3.1	Kerangka Teori .....	50
3.2	Hipotesis .....	53
<b>BAB 4</b>	<b>METODE PENELITIAN .....</b>	<b>54</b>
4.1	Bahan .....	54
4.1.1	Ikan Cucut .....	54
4.1.2	Hati Ikan Cucut.....	55
4.1.3	Garam.....	56
4.1.4	Enzim Papain .....	56
4.1.5	Enzim Bromelin .....	57
4.2	Alat .....	57
4.3	Rancangan Percobaan .....	58
4.4	Ekstraksi Minyak Hati Ikan Cucut Mengguna kan Papain, Bromelin dan Teknik Tradisional	59
4.4.1	Ekstraksi Dengan Papain.....	61
4.4.2	Ekstraksi Dengan Bromelin.....	62
4.4.3	Ekstraksi Dengan Cara Tradisional..	63
4.5	Penentuan Rendemen Dan Kualitas Minyak....	64
4.5.1	Penentuan Rendemen.....	64
4.5.2	Penentuan Kadar Skualen.....	65
4.5.3	Penentuan Kadar Peroksida.....	66
4.5.4	Penentuan Kadar Asam Lemak Bebas...	66
4.5.5	Penentuan Kadar Air.....	67
4.5.6	Penentuan Kadar Asam Lemak Esensial (linoleat, Linolenat, Arakhidonat).	67
4.5.7	Penentuan Kadar Vitamin A.....	69
4.6	Analisis Data.....	70
4.6.1	Anava.....	70
4.6.2	Skoring.....	71

<b>BAB 5</b>	<b>HASIL PENELITIAN</b>	<b>72</b>
5.1	Ekstraksi Dengan papain	72
5.1.1	Rendemen	72
5.1.2	Kadar Skualen	74
5.1.3	Kadar Peroksida	77
5.1.4	Kadar Asam Lemak Bebas	79
5.1.5	Kadar Air	81
5.1.6	Kadar Asam lemak Linoleat	83
5.1.7	Kadar Asam Lemak Linolenat	85
5.1.8	Kadar Asam lemak Arakhidonat	87
5.1.9	Kadar Vitamin A	89
5.2	Ekstraksi Dengan Bromelin	91
5.2.1	Rendemen	91
5.2.2	Kadar Skualen	93
5.2.3	Kadar Peroksida	94
5.2.4	Kadar Asam Lemak Bebas	96
5.2.5	Kadar Air	100
5.2.6	Kadar Asam lemak Linoleat	102
5.2.7	Kadar Asam Lemak Linolenat	104
5.2.8	Kadar Asam lemak Arakhidonat	106
5.2.9	Kadar Vitamin A	108
5.3	Ekstraksi Cara Tradisional	110
5.4	Komparasi Hasil Ekstraksi Enzimatis Dan Tradisional	110
<b>BAB 6</b>	<b>PEMBAHASAN</b>	<b>113</b>
6.1	Bahan Penelitian	113
6.2	Rendemen Dan Kualitas Minyak Diekstraksi Dengan Papain	115
6.2.1	Rendemen	115
6.2.2	Kadar Skualen	117
6.2.3	Kadar Peroksida	119
6.2.4	Kadar Asam Lemak Bebas	122
6.2.5	Kadar Air	124
6.2.6	Kadar Asam lemak Linoleat	125
6.2.7	Kadar Asam Lemak Linolenat	129
6.2.8	Kadar Asam lemak Arakhidonat	130
6.2.9	Kadar Vitamin A	132
6.3	Rendemen Dan Kualitas Minyak Diekstraksi Dengan Bromelin	135
6.3.1	Rendemen	135
6.3.2	Kadar Skualen	137
6.3.3	Kadar Peroksida	140
6.3.4	Kadar Asam Lemak Bebas	142
6.3.5	Kadar Air	144
6.3.6	Kadar Asam lemak Linoleat	146
6.3.7	Kadar Asam Lemak Linolenat	148
6.3.8	Kadar Asam lemak Arakhidonat	149
6.3.9	Kadar Vitamin A	151

6.4	Rendemen Dan Kualitas Minyak Diekstraksi	153
6.4.1	Rendemen.....	153
6.4.2	Kadar Skualen.....	154
6.4.3	Kadar Peroksida .....	155
6.4.4	Kadar Asam Lemak Bebas .....	156
6.4.5	Kadar Air .....	157
6.4.6	Kadar Asam lemak Linoleat .....	158
6.4.7	Kadar Asam Lemak Linolenat .....	169
6.4.8	Kadar Asam lemak Arakhidonat .....	160
6.4.9	Kadar Vitamin A.....	161
BAB 7	KESIMPULAN DAN SARAN .....	163
7.1	Kesimpulan .....	163
7.2	Saran .....	164
DAFTAR PUSTAKA	.....	165
LAMPIRAN	.....	175

## DAFTAR TABEL

Tabel	Hal
1. Komposisi Kimia Daging Ikan Cucut.....	10
2. Perbandingan Komposisi Kimia Hati Ikan Cucut dengan Bagian Tubuh Lainnya .....	14
3. "Dummy Table" dan Rancangan Percobaan Petak Terbagi Ekstraksi dengan Teknik Enzimatis (Papain atau Bromelin.....	59
4. Harga Rata-Rata Rendemen Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain.....	73
5. Sidik Ragam Rendemen Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain.....	74
6. Harga Rata-Rata Kadar Skualen Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain ...	74
7. Sidik Ragam Kadar Skualen Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain.....	76
8. Harga Rata-Rata Kadar Peroksida Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi dengan Enzim Papain .....	77
9. Sidik Ragam Kadar Peroksida Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain ...	78
10. Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Bebas Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain.....	79
11. Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Bebas Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain.....	80
12. Harga Rata-Rata Kadar Air Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain.....	81
13. Sidik Ragam Kadar Air Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain .....	82
14. Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Linoleat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain.....	83



15.	Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Linoleat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain.....	84
16.	Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Linolenat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain.....	85
17.	Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Linolenat Minyak Hati Ikan Cucut dengan Enzim Papain.....	86
18.	Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Arakhidonat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain.....	87
19.	Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Arakhidonat Minyak yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain .....	88
20.	Harga Rata-Rata Kadar Vitamin A Minyak yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain.....	89
21.	Sidik Ragam Kadar Vitamin A Minyak yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain .....	90
22.	Harga Rata-Rata Rendemen Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin.....	91
23.	Sidik Ragam Rendemen Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin.....	93
24.	Harga Rata-Rata Kadar Skualen Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin..	93
25.	Sidik Ragam Kadar Skualen Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin.....	95
26.	Harga Rata-Rata Kadar Peroksida Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin .	96
27.	Sidik Ragam Kadar Peroksida Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin ..	97
28.	Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Bebas Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin.....	97
29.	Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Bebas Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin.....	99

30.	Harga Rata-Rata Kadar Air Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin.....	100
31.	Sidik Ragam Kadar Air Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin .....	101
32.	Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Linoleat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin.....	102
33.	Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Linoleat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin.....	103
34.	Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Linolenat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin.....	104
35.	Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Linolenat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin.....	105
36.	Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Arachidonat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin.....	106
37.	Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Arachidonat Minyak yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin .....	107
38.	Harga Rata-Rata Kadar Vitamin A Minyak yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin.....	108
39.	Sidik Ragam Kadar Vitamin A Minyak yang diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin .....	109
40.	Komparasi Hasil Ekstraksi Enzimatis (Papain, Bromelin) dan Tradisional.....	112

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Hal
1. Ikan Cucut ( <i>Centrophorus squamosus</i> ) .....	9
2. Konsep Lipoprotein Dalam Membran Sel .....	13
3. Konsep Lipoprotein Dalam Liposom .....	13
4. Struktur Kimia Skualen .....	20
5. Ikatan Enzim Substrat Menurut Teori "Lock & Key" .....	38
6. Ikatan Enzim Substrat Menurut Teori "Induced Fit" .....	38
7. Cara Membelah Perut Ikan Cucut .....	55
8. Bentuk Hati Ikan Cucut .....	56
9. Skema Ekstraksi Minyak Teknik Enzimatis dan Teknik Tradisional .....	60
10. Wadah Bertutup Terbuat Dari Plastik Untuk Teknik Ekstraksi Enzimatis .....	62
11. Wadah Untuk Penjemuran Hati Ikan Cucut Pada Ekstraksi Tradisional .....	63
12. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Secara Tradisional .....	175
13. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain (garam 25%, pH 8, suhu 45°C) .....	176
14. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain (garam 15%, pH 8, suhu 55°C) .....	177
15. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain (garam 25%, pH 6, suhu 35°C) .....	178
16. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin (garam 15 %, pH 6, suhu 45°C) .....	179
17. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin (garam 25 %, pH 7, suhu 55°C) .....	180

18. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin (garam 25 %, pH 7, suhu 45°C).....181
19. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain (garam 30 %, pH 7, suhu 45°C).....182
20. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin (garam 30 %, pH 6, suhu 55°C).....183

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Hal.
1. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Secara Tradisional.....	175
2. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain (garam 25%, pH 8, suhu 45°C).....	176
3. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain (garam 15%, pH 8, suhu 55°C).....	177
4. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain (garam 25%, pH 6, suhu 35°C).....	178
5. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin (garam 15 %, pH 6, suhu 45°C).....	179
6. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin (garam 25 %, pH 7, suhu 55°C).....	180
7. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin (garam 25 %, pH 7, suhu 45°C).....	181
8. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain (garam 30 %, pH 7, suhu 45°C).....	182
9. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin (garam 30 %, pH 6, suhu 55°C).....	183
10. Standar Kualitas Garam Meja.....	184
11. Perhitungan Aktivitas dan Cara Isolasi Enzim Papain	185
12. Perhitungan Aktivitas dan Cara Isolasi Enzim Bromelin.....	189
13. Cara Perhitungan Skoring.....	195

**DAFTAR SINGKATAN**

<b>BF<sub>3</sub></b>	<b>: Boron Tri Fluoride</b>
<b>Ca</b>	<b>: Calcium</b>
<b>Cu</b>	<b>: Cupric</b>
<b>Co</b>	<b>: Cobalt</b>
<b>db</b>	<b>: Derajad Bebas</b>
<b>DEGS</b>	<b>: Diethylene Glycol Succinat</b>
<b>EDTA</b>	<b>: Etylene Diamine Tetra Acetic Acid</b>
<b>E</b>	<b>: Enzim</b>
<b>ES</b>	<b>: Enzim substrat</b>
<b>FID</b>	<b>: Flame Ionization Detector</b>
<b>Fe</b>	<b>: Ferro</b>
<b>FAO</b>	<b>: Food and Agriculture Organization</b>
<b>GC</b>	<b>: Gas Chromatographi</b>
<b>IU</b>	<b>: International Unit</b>
<b>JK</b>	<b>: Jumlah Kuadrat</b>
<b>KT</b>	<b>: Kuadrat Tengah</b>
<b>KV</b>	<b>: Koevisien Variasi</b>
<b>Mg</b>	<b>: Magnesium</b>
<b>Meq</b>	<b>: Miliequivalent</b>
<b>Mn</b>	<b>: Mangan</b>
<b>NaCl</b>	<b>: Natrium Chloride</b>
<b>P</b>	<b>: Produk</b>
<b>PAU</b>	<b>: Pusat Antar Universitas</b>
<b>SII</b>	<b>: Standar Industri Indonesia</b>

**SK : Sumber Keragaman**

**TCA : Tri Chlor Acetic Acid**

## 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara kepulauan dan sebagian besar wilayahnya merupakan lautan yang mempunyai potensi besar sebagai sumber hasil perikanan Indonesia. Ikan cucut merupakan salah satu hasil perikanan yang mudah ditangkap dan tersedia sepanjang tahun dalam jumlah yang besar. Ikan cucut merupakan salah satu jenis ikan bertulang rawan yang terdapat hampir di seluruh perairan Indonesia sebagai hasil samping penangkapan ikan tuna (Irianto, Yusro dan Nasran, 1987). Sebagai salah satu sumber protein hewani ikan cucut sangat potensial untuk konsumsi manusia, karena kandungan protein daging ikan cucut dapat mencapai 26 % (Bykov, 1986).

Jenis ikan cucut yang banyak tertangkap di perairan Indonesia antara lain cucut palu (*Zygaena* sp), cucut caping (*Galeorhinus australis*), cucut gergaji (*Lamna nasus*), cucut parang (*Alopias vulpius*), cucut biru (*Preonace glauca*) dan cucut botol (*Centrophorus squamosus*).

Produksi ikan cucut di Jawa Timur pada tahun 1992 adalah sebesar 2.826,20 ton. Dari jumlah tersebut Kabupaten Malang merupakan penyumbang terbesar yang mencapai 292,80 ton (Anonymous, 1993).

Hampir semua bagian tubuh ikan cucut mempunyai potensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku industri



untuk produk pangan maupun non pangan (Murtini, Nasran, Erlina dan Yunizal, 1985). Menurut Rachmat dan Yunizal (1988) daging ikan cucut dapat dimanfaatkan untuk abon, dendeng, pindang diasin, diasap dan dibuat bakso, sosis atau dicampur dengan daging ikan lainnya dan diolah menjadi tepung ikan, sedangkan siripnya untuk bahan masakan sup yang mahal harganya. Selanjutnya tulang ikan cucut dapat dijadikan bahan perekat. Bahkan giginya dapat dijadikan bahan perhiasan, ususnya dapat dijadikan sarung tangan, isi perut dan insangnya dijadikan tepung ikan demikian juga kulitnya dapat disamak untuk dijadikan bahan baku tas, sepatu dan lain-lain. Sedangkan hatinya dapat dibuat pindang atau diambil minyaknya.

Dari berbagai macam produk olahan yang sampai saat ini banyak dihasilkan oleh nelayan di daerah produksi adalah minyak hati ikan cucut (Anonymous, 1988). Ekstraksi minyak hati ikan cucut dilakukan oleh banyak nelayan, karena disamping teknologinya sederhana, mudah dilakukan, tidak membutuhkan modal besar dan dapat meningkatkan pendapatan keluarga juga mempunyai nilai ekonomis tinggi. Namun demikian berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suprayitno (1988) diperoleh informasi bahwa dengan teknologi sederhana tersebut, rendemen dan kualitas minyak yang dihasilkan masih rendah.

Upaya-upaya untuk meningkatkan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut sebenarnya telah dilakukan dengan cara ekstraksi menggunakan kombinasi proses yaitu mikrobio

logis dan kimiawi yang lebih dikenal dengan cara silase asam (Abdurachman *et al.*, 1976 dan Yunizal *et al.*, 1982). Upaya tersebut pada umumnya dapat meningkatkan rendemen, namun dari aspek teknis maupun ekonomis sulit diterapkan karena pemakaian teknik kimiawi dapat menghasilkan warna maupun bau minyak yang dapat mempengaruhi kualitas hasil akhir. Sedangkan teknik mikrobiologis walaupun dapat meningkatkan rendemen namun demikian mempunyai kelemahan yaitu sulit untuk dikendalikan serta menghasilkan metabolit yang dapat mempengaruhi kualitas hasil akhir (Frazier, 1978). Disamping itu juga ada peneliti dengan teknik ekstraksi fisik saja misalnya perebusan, pengaliran dengan uap air panas dan penambahan garam. Cara tersebut ternyata tidak hanya merusak protein jaringan hati tetapi juga merusak minyak yang dihasilkan, sehingga hasil yang diperoleh kurang memuaskan dalam hal warna dan bau. Penelitian-penelitian yang dikemukakan di atas umumnya dapat meningkatkan rendemen tetapi kualitas hasil akhir lebih rendah dari produk tradisional. Kualitas minyak hati ikan cucut dikemukakan oleh Budiarmo (1992) sangat ditentukan antara lain oleh kandungan skualen yang mempunyai manfaat selain untuk makanan sehat alami juga sebagai bahan dasar kosmetik. Hingga saat ini belum banyak

diungkap hubungan antara teknik ekstraksi dengan kandungan skualen di dalam hati ikan cucut.

Seperti dikemukakan di atas teknik ekstraksi minyak hati ikan cucut yang dilakukan secara tradisional mempunyai banyak kelemahan khususnya rendemen dan kadar skualen serta komponen yang lain. Perlakuan suhu tinggi ( $100^{\circ}\text{C}$ ) menurut Gunstone (1983) dapat mengoksidasi minyak maupun skualen sehingga warna minyak maupun skualen menjadi coklat tua. Selain itu banyak dijumpai senyawa-senyawa mudah menguap seperti amonia, mono, di, tri methylamin akibat kerja mikroorganismenya, sehingga minyak berbau busuk dan kurang disukai oleh konsumen bila minyak hasil tradisional akan dikembangkan sebagai bahan baku untuk pembuatan skualen yang diperdagangkan.

Memperhatikan pada kenyataan di atas maka permasalahan utama adalah bagaimana teknik ekstraksi yang tepat untuk meningkatkan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut dengan kandungan skualen yang lebih tinggi dibanding teknik ekstraksi tradisional.

Minyak dalam hati ikan cucut berada dalam bentuk bebas atau terikat dengan protein disebut juga lipoprotein (Zaitzev *et al.*, 1969). Lebih lanjut dikatakan bahwa lipoprotein terdapat dalam membran sel dan liposom (Karel, 1973; Stryer, 1981; Mayes, 1988; Darnell *et al.*, 1990). Pemecahan atau hidrolisis terhadap protein merupakan langkah kunci untuk melepaskan minyak yang terikat dengan protein membran atau liposom.

Menurut Reed (1975) hidrolisis protein dapat dilakukan dengan menggunakan enzim proteolitik misalnya enzim papain maupun bromelin kasar. Menurut Kumalaningsih (1990) dua enzim tersebut banyak digunakan karena dari segi ekonomis bahan baku kedua enzim tersedia sepanjang tahun. Lebih lanjut dikatakan bahwa sifat-sifat enzim sangat spesifik sehingga akan diperoleh hasil tertentu jika dilakukan pada kondisi yang optimal misalnya pengaturan pH dan suhu inkubasi (Kumalaningsih, 1990). Selanjutnya Lehninger (1975) mengemukakan bahwa enzim proteolitik papain dan bromelin termasuk endopeptidase, yang akan mengubah protein menjadi senyawa peptida sederhana.

Hidrolisis protein pada lipoprotein membran sel akan mengakibatkan membran sel berlubang atau "invaginasi" dengan demikian enzim akan dapat masuk ke dalam sel, yang seterusnya merusak membran liposom sehingga lemak yang ada di dalamnya akan keluar dari dalam sel. Oleh karena itu makin tinggi aktivitas enzim proteolitik makin banyak lemak yang dihasilkan, sehingga diharapkan rendemen dapat meningkat. Namun demikian senyawa-senyawa peptida sederhana tersebut cenderung dimanfaatkan oleh mikroorganisme liar untuk diubah menjadi senyawa berbau busuk (Frazier, 1978). Pencegahan aktivitas mikroorganisme menurut Ingram dan Kitchell (1967) dapat dilakukan dengan penambahan garam.

Atas dasar uraian di atas, maka kombinasi proses yaitu penambahan garam dan enzim papain atau bromelin kasar serta pengaturan pH dan suhu inkubasi yang optimal diharapkan dapat meningkatkan rendemen maupun kualitas minyak yang dihasilkan.

### 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka permasalahan penelitiannya adalah :

1. Seberapa jauh peningkatan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut yang diperoleh melalui ekstraksi dengan penambahan enzim papain kasar pada kondisi garam, pH dan suhu yang optimal dibanding teknik ekstraksi tradisional ?
2. Seberapa jauh peningkatan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut yang diperoleh melalui ekstraksi dengan penambahan enzim bromelin kasar pada kondisi garam, pH dan suhu yang optimal dibanding teknik ekstraksi tradisional ?.

### 1.3 Tujuan Penelitian

#### 1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk meningkatkan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut dengan ekstraksi menggunakan enzim papain dan bromelin kasar.

#### 1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui kadar garam, pH dan suhu pada kerja enzim papain kasar yang dapat menghasilkan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut yang optimal dibanding teknik ekstraksi tradisional.
2. Mengetahui kadar garam, pH dan suhu pada kerja enzim bromelin kasar yang dapat menghasilkan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut yang optimal dibanding teknik ekstraksi tradisional.

### 1.4 Kegunaan Penelitian

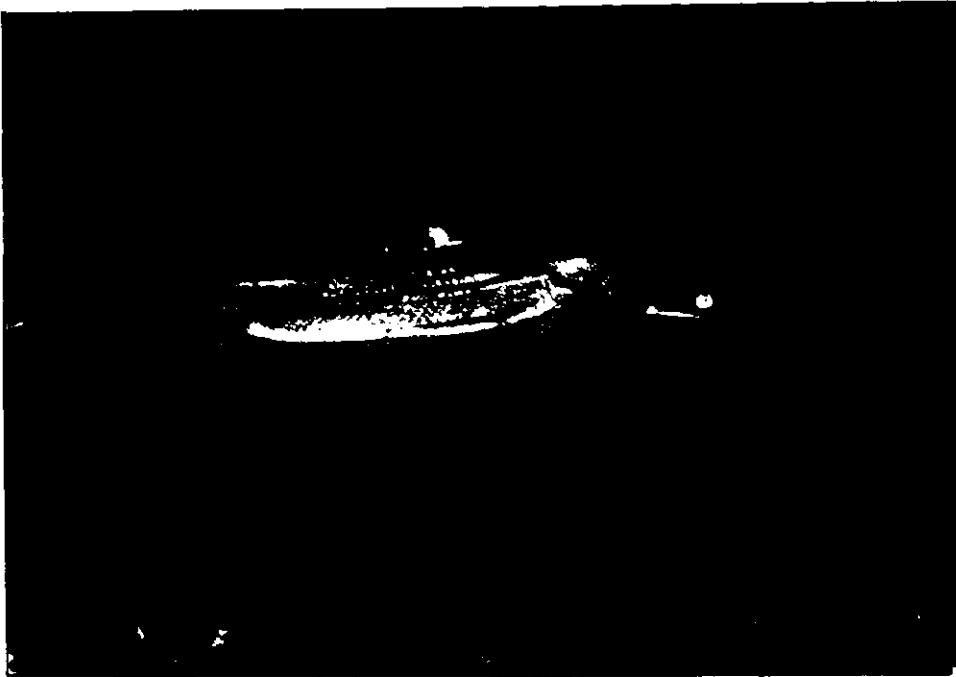
Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan teknologi tepat guna, sebagai pegangan untuk ekstraksi minyak hati ikan cucut dalam rangka meningkatkan rendemen maupun kualitasnya.

## 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Cucut

#### 2.1.1 Ciri Ciri Ikan Cucut

Ikan cucut yang hidup saat ini kurang lebih ada 350 spesies. Tujuh persen dari jumlah tersebut merupakan spesies yang penting dalam perikanan (Compagno, 1984). Menurut Panjaitan (1986) dari berbagai jenis ikan cucut botol yang ada genus *Centrophorus* merupakan penghasil minyak dalam jumlah besar dengan kualitas yang tinggi. Habitat biasanya terletak pada kedalaman 229-2359 meter dan rata-rata di atas 1000 meter walaupun bisa juga bersifat pelagis. Ukuran maksimal panjang total 158 cm, ikan cucut jantan matang pada saat mencapai ukuran panjang 103 cm sedangkan ikan cucut betina matang telur pada saat mencapai panjang 137-158 cm. Ikan cucut jantan mempunyai clasper yang berguna untuk menyemburkan spermanya. Bernafas dengan insang yang mempunyai celah insang 5-7 buah. Untuk lebih jelasnya bentuk ikan cucut (*Centrophorus squamosus*) atau lebih dikenal dengan nama lokal cucut botol, dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ikan cucut (*Centrophorus squamosus*)

Klasifikasi ikan cucut (*Centrophorus squamosus*) menurut Saanin (1968); Lagler *et al.*, (1977) dan Compagno (1984) adalah sebagai berikut :

Phylum : Chordata  
Sub-phylum : Vertebrata  
Klas : Pisces  
Sub-klas : Elasmobranchii  
Ordo : Squaliformes  
Famili : Squalidae  
Genus : *Centrophorus*  
Species : *Centrophorus squamosus*  
Nama lokal : Cucut botol



### 2.1.2 Komposisi Kimia Daging Ikan Cucut

Komposisi kimia daging ikan hampir sama dengan hewan darat lainnya. Menurut Rahardjo dan Suharto (1972) hati ikan cucut yang ditangkap di perairan Indonesia mengandung 20 - 60 % minyak dengan kadar vitamin A 3.000 sampai dengan 153.000 IU (International Unit) setiap gram minyaknya. Hal yang sama dilaporkan dari hasil penelitian-penelitian yang telah dilakukan Kho Teng Hik (1960), Zaitzev *et al.*, (1969), Tanikawa (1969) dan Abdurrachman *et al.*, (1976) bahwa hati ikan cucut dari berbagai jenis mengandung potensi vitamin A yang tinggi. Seluruh bagian dari tubuh ikan cucut dapat dimanfaatkan untuk kepentingan manusia. Salah satu bagian tubuh ikan cucut yang sangat bermanfaat adalah hatinya. Komposisi kimia daging ikan secara umum dibanding ikan cucut dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia daging ikan

Komponen	ikan secara umum	ikan cucut
Air	66-84 %	43 %
Protein	15-24 %	26 %
Lemak	0,1-22 %	20 %
Mineral	0,6-2 %	11 %

Sumber : Saleh (1987) dan Bykov (1986).

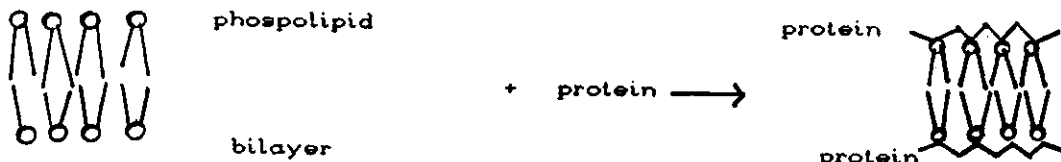
Komposisi kimiawi ikan dipengaruhi oleh jenis, musim, umur, seks dan habitat di mana ikan itu hidup (Zaitzev *et al.*, 1969). Selanjutnya dikatakan bahwa komposisi kimiawi ikan dan keadaan biologis mempunyai hubungan yang erat.

## 2.2 Minyak Hati Ikan Cucut

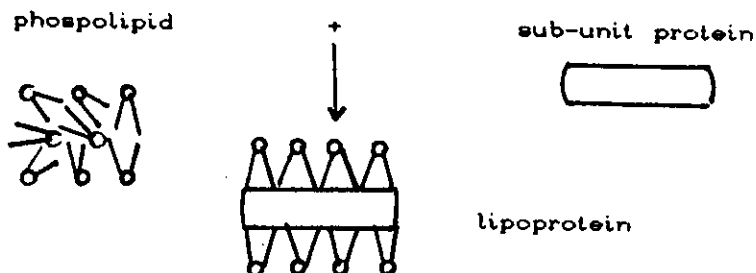
Minyak hati ikan cucut merupakan golongan minyak yang berasal dari binatang laut, yang penyusun gliseridanya terdiri dari berbagai asam lemak di antaranya adalah asam lemak dengan atom  $C_{16}$ ,  $C_{20}$ ,  $C_{22}$  dan asam-asam lemak tidak jenuh yang lebih panjang (Tranggono dan Setyadji, 1986). Asam lemak tidak jenuh tersebut memiliki ikatan rangkap lebih dari tiga termasuk minyak hati ikan cucut dan paus (Miwa, 1972).

Menurut Zaitzev *et al.*, (1969) lemak di jaringan hati ikan terdapat dalam keadaan bebas dan terikat dengan protein. Komponen lemak yang berikatan dengan protein disebut lipoprotein. Lebih lanjut dikatakan bahwa lipoprotein terdapat dalam membran sel dan liposom. Untuk lebih jelasnya konsep lipoprotein dalam membran sel dapat dilihat pada Gambar 2. Sedangkan konsep lipoprotein dalam liposom dapat dilihat pada Gambar 3 berikut ini.

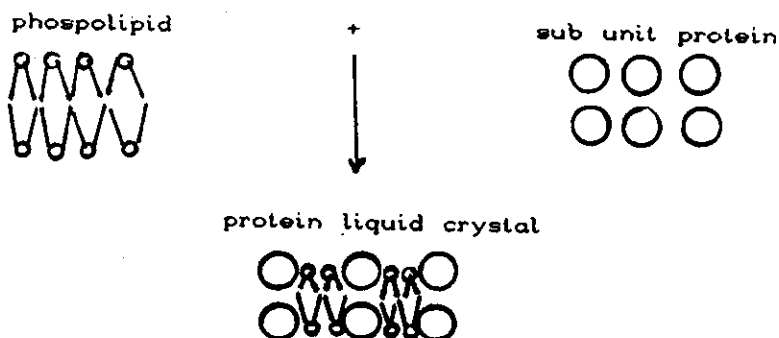
1. Konsep bilayer :



2. Konsep globular :

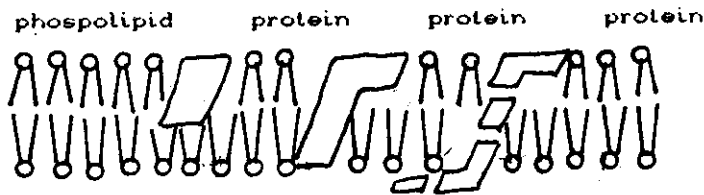


3. Konsep protein liquid crystal :



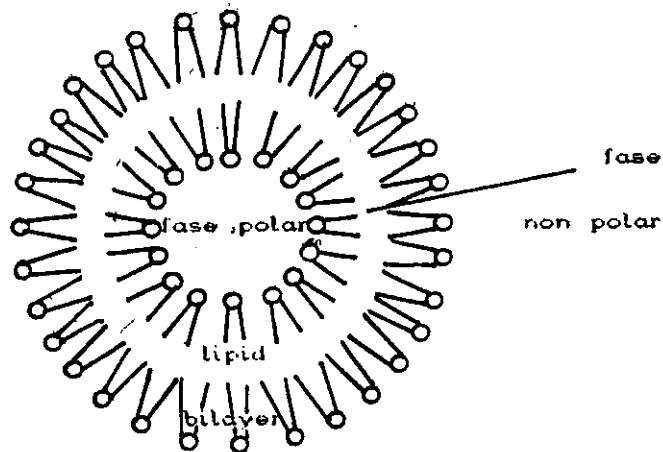
MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA

4. Konsep mosaic :



Gambar 2. Konsep Lipoprotein dalam Membran Sel (Karel, 1973)

5. Liposom



Liposom

Gambar 3. Konsep Lipoprotein dalam Liposom (Stryer, 1981., Meyes, 1988., Darnell et al., 1990).

Minyak hati ikan cucut yang telah dipisahkan dari jaringan asalnya mengandung sejumlah kecil komponen selain trigliserida yaitu hidrokarbon yang disebut dengan skualen (Moelyanto, 1982). Perbandingan komposisi kimia hati ikan cucut dibandingkan dengan bagian tubuh lainnya dapat dilihat pada Tabel 2. Dari tabel tersebut terlihat bahwa lemak pada ikan banyak terdapat pada hati.

Tabel 2. Perbandingan komposisi kimia hati ikan cucut dengan bagian tubuh lainnya

Bagian tubuh	Air	Protein	Lemak	Abu
Daging	71,9	17,3	9,4	1,3
Hati	32,3	7,3	58,0	0,6
Kepala	81,0	12,5	0,8	5,7
Tulang rawan	73,7	18,1	2,5	5,7

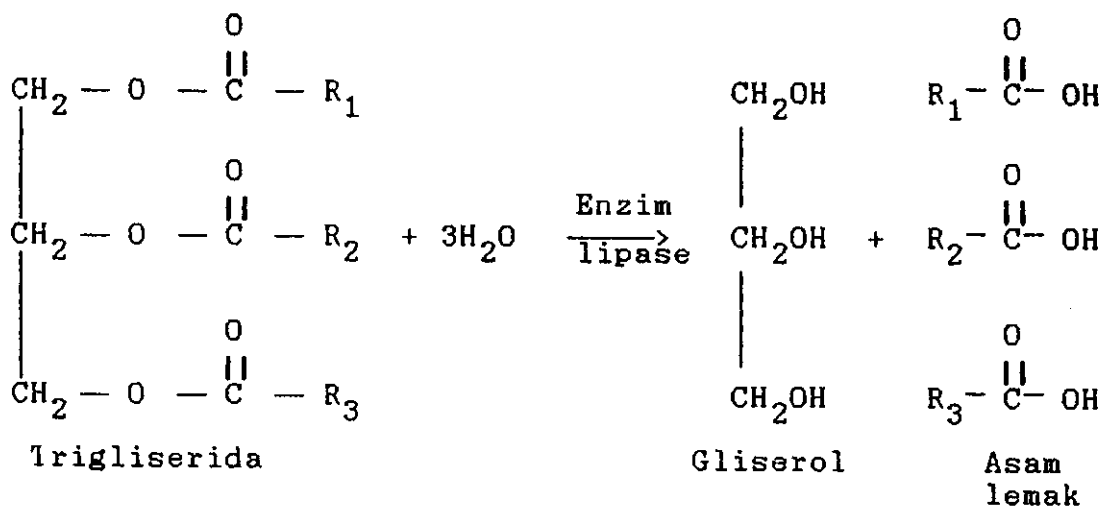
Sumber : Bykov (1986)

Malins (1967) membagi minyak hati ikan ke dalam dua kelompok utama.

### 2.2.1 Asam Lemak

Komponen utama dari minyak ikan dan minyak hati ikan

adalah trigliserida yang merupakan ester asam lemak dan gliserol. Miwa (1972) mengatakan bahwa minyak apabila mengalami hidrolisis akan menghasilkan tiga molekul asam lemak dan satu molekul gliserol. Menurut Ketaren (1986) reaksi hidrolisis dari trigliserida tersebut adalah :



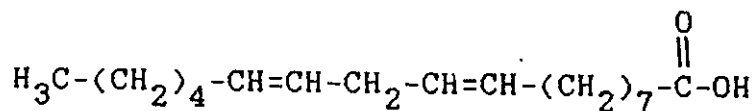
Selanjutnya Tranggono dan Setyadji (1986) mengatakan bahwa komposisi asam lemak pada minyak hati ikan tersebut berhubungan dengan berbagai faktor biologis seperti

spesies ikan, makanan, kebiasaan makan, siklus pemijahan dan suhu. Asam lemak tersebut terdiri dari asam lemak jenuh dan asam lemak tidak jenuh dengan jumlah atom  $C_{14} - C_{24}$  (Miwa, 1972). Kandungan lemak jenuh bervariasi antara 10 - 30% dari asam lemak yang ada, sedangkan yang lain merupakan asam lemak tidak jenuh.

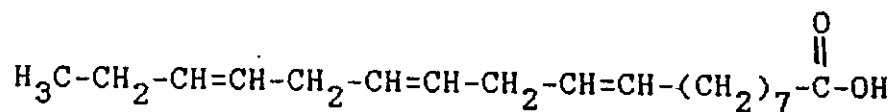
Asam lemak jenuh disusun terutama oleh asam palmitat dan asam miristat, sedangkan asam stearat terdapat dalam jumlah yang kecil begitu juga untuk asam lemak dengan atom  $C_{20}, C_{22}$  dan  $C_{24}$  sangat kecil persentasenya. Asam lemak tidak jenuh pada minyak ikan umumnya mempunyai ikatan rangkap lebih dari 3 buah.

Dalam minyak hati ikan cucut terdapat sejumlah asam lemak esensial yaitu asam lemak linoleat, asam lemak linolenat dan asam lemak arachidonat (Gunstone dan Norris, 1983). Senyawa tersebut mempunyai rumus molekul, asam lemak linoleat ( $C_{18}H_{32}O_2$ ), asam lemak linolenat ( $C_{18}H_{30}O_2$ ), asam lemak arachidonat ( $C_{20}H_{38}O_2$ ) dan strukturnya dapat dilihat seperti berikut ini.

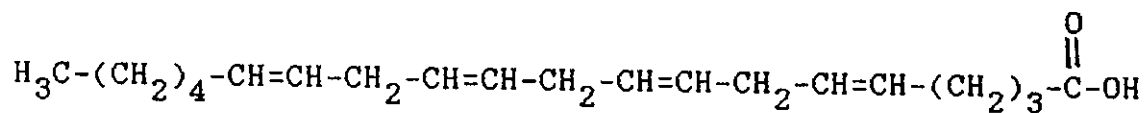
Asam lemak linoleat =  $C_{18}(9,12)$  Octadecadienoic acid



Asam lemak alfa linolenat =  $C_{18}(9,12,15)$  Octadecatrienoic acid



Asam lemak Arachidonat =  $C_{20}(5,8,11,14)$  Eicosatetraenoic acid





### 2.2.2 Komponen Non Asam Lemak

Minyak ikan selain disusun oleh trigliserida juga mengandung komponen non asam lemak yang dikenal sebagai komponen tidak tersabunkan. Pada genus *Centrophorus* komponen tersebut mencapai 50-80 persen dari minyak (Miwa, 1972).

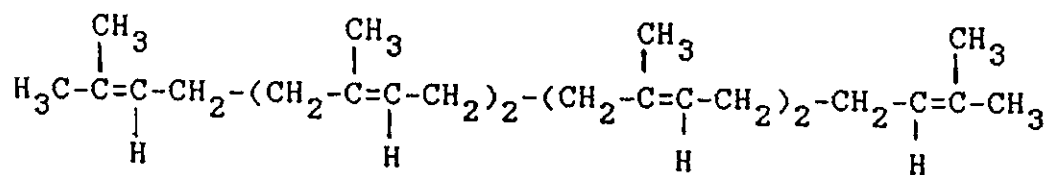
Komponen non asam lemak yang penting pada hati ikan cucut adalah vitamin A dan skualen ( $C_{30}H_{50}$ ). Kandungan vitamin A pada ikan dipengaruhi oleh umur, ukuran, musim dan kebiasaan makan. Kandungan vitamin A pada sub-klas *Elasmobranchii* sangat bervariasi antara spesies satu dengan spesies yang lainnya (Cruickshank, 1961).

Hidrokarbon yang penting dalam minyak hati ikan cucut adalah skualen ( $C_{30}H_{50}$ ) yang mempunyai 6 ikatan rangkap (Toyama and Kaneda, 1965). Minyak hati ikan yang kandungan komponen non lemaknya tinggi biasanya mengandung skualen (Brody, 1965). Kandungan skualen pada minyak hati ikan cucut dapat mencapai 85 persen. Skualen berbentuk cairan seperti minyak, tetapi bukanlah minyak seperti pengertian secara harafiah, di mana senyawa ini tidak mengandung asam lemak atau gugus karboksil. Cairan tersebut berwarna kuning muda sampai jernih, berbau khas, mempunyai titik beku  $-75^{\circ}C$  sedangkan titik didihnya  $330^{\circ}C$  sehingga pada suhu kamar

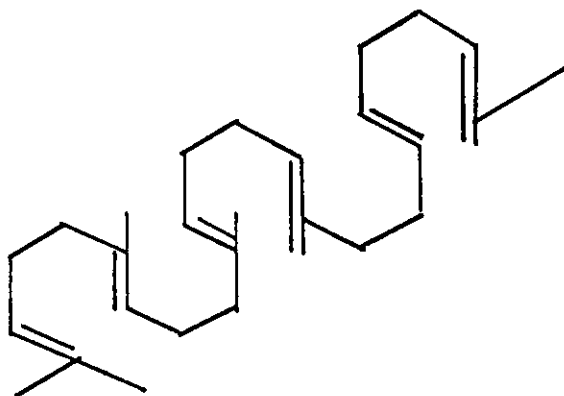
skualen berbentuk cair. Skualen bersifat non polar dan mudah larut dalam petroleum eter, dietil eter, karbon tetraklorida, aseton, n-heksan dan pelarut lemak lainnya (Newman, 1972). Skualen dapat dipisahkan dari fraksi tidak tersabunkan dalam minyak hati ikan cucut dengan kromatografi kolom menggunakan penyerap alumina berukuran 80 - 200 mesh dan eluen petroleum eter (Williams, 1989).

Skualen dapat digunakan sebagai pelumas dan bahan dasar kosmetik (Budiarso, 1992). Skualen bila mengalami proses hidrogenasi akan berubah komposisinya menjadi skualan  $C_{30}H_{62}$  (USP NF, 1995). Wujudnya berupa cairan jernih bening, tidak berbau, tidak mempunyai rasa, stabil dan mudah bercampur dengan lemak-lemak pada kulit manusia, karena alasan inilah maka skualan dapat digunakan sebagai bahan dasar kosmetik. Skualen terdapat dalam tubuh manusia dan tersebar di semua organ tubuh dan jaringan. Di dalam kulit berfungsi sebagai zat pelicin dan penghalus. Skualen yang terdapat di dalam hati bermanfaat sebagai salah satu bahan baku dalam pembuatan kolesterol dan steroid, di mana bahan ini sangat berguna dalam pembentukan hormon.

Skualen telah ditemukan oleh Mitsumaru Tsujimoto pada tahun 1906, kemudian pada tahun 1931 Kora menemukan struktur kimianya. Skualen atau 2,6,10,15,19,23 heksametil 2,6,10,14,18,22 - tetrakosaheksaena merupakan senyawa hidrokarbon tidak jenuh suku tinggi yang mengandung 6 ikatan rangkap. Skualen termasuk golongan senyawa triterpenoid, sehingga senyawa ini mengandung enam unit isopren dan semuanya dalam bentuk transisoprenoid. Untuk lebih jelasnya struktur skualen dapat dilihat seperti berikut ini.



Atau :



Gambar 4 . Struktur Kimia Skualen

### **2.3 Faktor Yang Mempengaruhi Kualitas Minyak**

Kualitas minyak dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu kondisi hati, cara ekstraksi yang digunakan, kondisi penyimpanan dan cara distribusinya (Brody, 1965). Minyak hati ikan harus diekstraksi dari hati yang segar, bersih dari darah dan empedu.

Cara ekstraksi yang dikenakan pada hati akan mempengaruhi kualitas minyak. Potensi vitamin A dari minyak yang diekstraksi dengan pelarut organik akan lebih tinggi satu persen dari minyak yang diekstraksi dengan memasak dalam air (Miyachi and Sanford, 1947).

Selama distribusi dan penyimpanan kualitas minyak dapat dipengaruhi oleh suhu penyimpanan, jenis wadah, uap atau zat-zat lain serta sinar matahari dan udara (Brody, 1965).

### **2.4 Penurunan Kualitas Minyak**

Minyak dapat mengalami penurunan kualitas sebelum proses, selama proses atau selama penyimpanan setelah proses. Menurut Brody (1965) ada 2 jenis penurunan kualitas minyak yaitu :

- 1). peningkatan kadar asam lemak bebas oleh lipase,
- 2). peningkatan ketengikan karena oksidasi.

Sedangkan menurut Bailey (1952) penurunan kualitas minyak yang utama selama pengolahan dan penyimpanan adalah ketengikan. Lebih lanjut dikatakan bahwa ketengikan dapat digolongkan menjadi 3 macam yaitu :

- 1). ketengikan oksidasi (*oxidative rancidity*),
- 2). oksidasi oleh enzim (*enzimatic rancidity*),
- 3). hidrolisis (*hydrolitic rancidity*).

Menurut Ketaren (1986) bahwa oksidasi lemak selain menyebabkan ketengikan juga menyebabkan rusaknya bau dan rasa. Salah satu cara untuk menghindari kerusakan tersebut dapat dilakukan penambahan senyawa antioksidan.

#### 2.4.1 Peningkatan Asam Lemak Bebas

Peningkatan kadar asam lemak bebas dalam minyak merupakan hasil reaksi hidrolisis antara trigliserida dengan air yang dikatalis enzim lipase (Winarno, 1988).

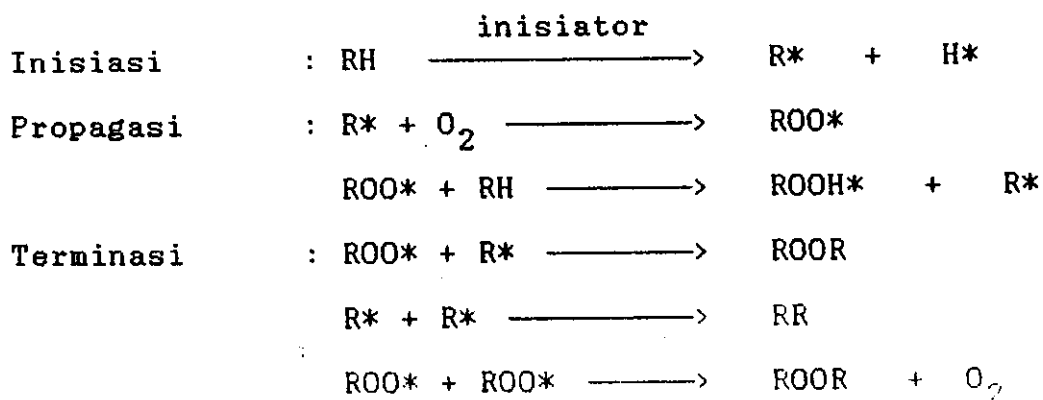
Peningkatan asam lemak bebas dalam minyak yang masih berada di dalam jaringan hati diakibatkan oleh peningkatan aktifitas lipase setelah ikan mati. Selain itu pembentukan asam lemak bebas ini juga dikatalis oleh enzim lipase yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang biasanya menyerang bahan pangan mengandung lemak atau minyak (Ketaren, 1986). Menurut Jay (1971) ; Frazier (1978) dan Mossel (1982) bakteri-bakteri yang dapat menghasilkan enzim lipase

adalah *Bacillus* sp; *Enterobacter* sp ; *Lactobacillus* sp ; *Serratia* sp ; *Staphylococcus* sp ; *Micrococcus* sp ; *Pseudomonas* sp dan *Achromobacter* sp. Lebih lanjut dikatakan bahwa kelompok bakteri *Bacillus* sp *Enterobacter* sp ; *Lactobacillus* sp *Serratia* sp dan *Staphylococcus* sp merupakan kelompok bakteri yang non halofilik. Bakteri-bakteri ini dapat dihambat pertumbuhannya dengan larutan garam 16-18 persen (Elliot, 1980). Di antara bakteri-bakteri penghasil lipase *Micrococcus* sp ; *Pseudomonas* sp dan *Achromobacter* sp merupakan bakteri yang bersifat halofilik. Bakteri ini dapat tahan hidup pada konsentrasi garam sampai 30 persen (Frazier, 1978).

#### 2.4.2 Peningkatan Ketengikan Karena Oksidasi

Proses oksidasi yang utama adalah reaksi radikal bebas yang berantai melalui tahap inisiasi, propagasi dan terminasi (Khayat dan Scwall, 1983). Lebih lanjut dikatakan bahwa mekanisme dari oksidasi minyak adalah pembentukan radikal bebas, hidroperoksida dan persenyawaan karbonil pada lemak tidak jenuh. Untuk lebih jelasnya mekanisme oksidasi dapat digambarkan dalam reaksi seperti berikut ini.

MILIK  
PERPUSTAKAAN  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA



dimana : RH = asam lemak tidak jenuh  
 ROO\* = lemak peroksida radikal  
 R\* = lemak radikal

Peningkatan ketengikan pada minyak terutama disebabkan oleh reaksi oksidasi pada asam-asam lemak tidak jenuh (Hardy, 1979). Reaksi ini dipercepat dengan adanya cahaya, panas, peroksida lemak, logam berat dan enzim lipoksigenase (Dugan, 1961). Lebih lanjut dikatakan bahwa oksidasi asam lemak tidak jenuh akan menghasilkan hidroperoksida. Menurut Khayat dan Schwall (1983); Ketaren (1986) senyawa hidroperoksida selanjutnya akan diuraikan menjadi senyawa ketone, aldehid, alkohol dan asam lemak yang menyebabkan perubahan bau pada minyak.

Cahaya dan sensitisator dapat bersifat prooksidan, yaitu memacu terjadinya oksidasi asam lemak tidak jenuh. Senyawa-senyawa yang merupakan sensitisator antara lain

klorofil, riboflavin dan hemoglobin (Tranggono dan Setyadji, 1986). Suhu merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi reaksi oksidasi. Bila suhu meningkat maka kecepatan oksidasi lemak akan meningkat pula (Hardy, 1979).

Hidroperoksida merupakan hasil reaksi antara peroksida radikal dengan asam lemak tidak jenuh. Reaksi ini juga menghasilkan radikal bebas lain yang akan menyerang lemak tidak jenuh yang belum teroksidasi dan menimbulkan reaksi berantai yang mengakibatkan minyak semakin cepat teroksidasi. Reaksi berantai ini hanya berhenti bila terjadi reaksi antara radikal-radikal bebas yang menghasilkan senyawa-senyawa non radikal (Hardy, 1979).

Logam-logam berat yang dapat mempercepat oksidasi minyak adalah Fe (besi) dan Cu (tembaga). Logam tersebut mempunyai efektifitas yang berbeda sebagai katalis. Logam yang paling efektif menyerap oksigen adalah  $Fe^{2+}$  kemudian diikuti  $Cu^{2+}$  dan  $Fe^{3+}$  (Khayat dan Schwall, 1983).

Reaksi oksidasi juga dipengaruhi oleh heme dan heme protein. Heme dan heme protein berfungsi sebagai katalis bagi reaksi oksidasi pada konsentrasi rendah. Sedangkan pada konsentrasi tinggi, kedua senyawa tersebut berfungsi sebagai inhibitor reaksi oksidasi dan enzim lipoksigenase.



Logam Mangan (Mn) dan Kobalt (Co) dapat berfungsi sebagai inhibitor bagi aktivitas heme atau sebagai katalis enzim lipoksigenase (Hirano and Olcott, 1971).

Enzim lipoksigenase merupakan enzim yang dapat mempercepat atau membantu reaksi antara oksigen dengan asam lemak tidak jenuh membentuk hidroperoksida (Gunstone and Norris, 1983). Lebih lanjut dikatakan bahwa enzim lipoksigenase secara alami terdapat pada jaringan ikan. Selain itu lipoksigenase juga dihasilkan oleh bakteri (Brody, 1965).

## 2.5 Kualitas Minyak Hati Ikan Cucut

Kualitas suatu bahan didefinisikan sebagai gabungan sifat-sifat khas yang dapat membedakan tingkat kebaikan, tingkat kebusukan, kerusakan, perubahan selama penyimpanan, distribusi dan sifat yang dapat membahayakan kesehatan (Wijadi dan Fardiaz, 1974 ; Connel, 1980). Menurut Abdurachman dan Saleh (1976) ada dua cara yang digunakan untuk menilai kualitas minyak hati ikan cucut, yaitu secara subyektif dan penilaian obyektif. Penilaian subyektif atau organoleptik menggunakan pancaindra panelis untuk menilai cita rasa maupun bau suatu bahan. Sedangkan penilaian obyektif meliputi uji secara kimiawi yang meliputi rendemen, kadar skualen, kadar

peroksida, kadar asam lemak bebas, kadar air, kadar asam lemak linoleat, kadar asam lemak linolenat, kadar asam lemak arachidonat dan kadar vitamin A.

#### 2.5.1 Rendemen

Rendemen adalah jumlah minyak yang dihasilkan persatuan berat hati ikan cucut, dinyatakan dalam persen. Tujuan analisis rendemen adalah untuk mengetahui sampai sejauh mana hasil hidrolisis protein oleh enzim proteolitik pada ekstraksi minyak hati ikan cucut.

#### 2.5.2 Kadar Skualen

Analisis kadar skualen bertujuan untuk mengetahui sampai sejauh mana pengaruh proses ekstraksi terhadap kualitas minyak hati ikan cucut yang dinyatakan dalam persen. Menurut Budiarmo (1992) kualitas minyak hati ikan cucut ditentukan oleh kadar skualennya, makin besar kadar skualen kualitas minyak makin baik. Skualen adalah hidrokarbon tidak jenuh dengan ikatan rangkap, sehingga mudah sekali terjadi oksidasi.

#### 2.5.3 Kadar Peroksida

Kadar peroksida dinyatakan dalam miliequivalen per

kilogram minyak. Kerusakan minyak yang utama adalah karena proses oksidasi dan hidrolitik baik enzimatis maupun non enzimatis (Ketaren, 1986). Lebih lanjut dikatakan bahwa diantara kerusakan minyak yang perlu mendapat perhatian adalah oksidasi, karena oksidasi paling besar pengaruhnya terhadap cita rasa suatu bahan. Hasil oksidasi lemak antara lain adalah peroksida, asam lemak, aldehid dan keton (Khayat dan Schwall, 1983). Salah satu cara untuk mengetahui tingkat kerusakan minyak adalah mengetahui kadar peroksida. Semakin besar kadar peroksida, kualitas minyak makin rendah.

#### 2.5.4 Kadar Asam Lemak Bebas

Kadar asam lemak bebas yang dinyatakan dalam persen, merupakan salah satu parameter kualitas minyak hati ikan cucut. Tujuan analisis kadar asam lemak bebas yaitu untuk mengetahui sampai sejauh mana minyak hati ikan cucut mengalami hidrolisis sehingga dihasilkan asam lemak dan gliserol (Windsor dan Barlow, 1981). Semakin besar kadar asam lemak bebas pada minyak, maka kualitasnya makin rendah.

### 2.5.5 Kadar Air

Kadar air dalam minyak hati ikan cucut dinyatakan dalam persen. Tujuan analisis kadar air minyak adalah untuk mengetahui sejauh mana kandungan air dalam minyak hati ikan cucut akibat proses ekstraksi dengan enzimatis. Semakin tinggi kadar air minyak hati ikan cucut maka kualitasnya makin rendah, karena minyak mudah terjadi hidrolisis. Hidrolisis minyak akan terjadi apabila di dalamnya terdapat sejumlah air (Christie, 1982).

### 2.5.6 Kadar Asam Lemak Linoleat

Kadar asam lemak linoleat minyak hati ikan cucut dinyatakan dalam persen. Tujuan analisis asam lemak linoleat minyak hati ikan cucut adalah untuk mengetahui sampai sejauh mana pengaruh proses ekstraksi dengan enzimatis terhadap kandungan asam lemak esensial khususnya asam lemak linoleat atau dikenal dengan omega 6 (Gunstone dan Norris, 1983). Semakin besar kadar asam lemak linoleat maka kualitas minyak makin baik, karena terjadinya oksidasi dan hidrolisis minyak rendah.

### 2.5.7 Kadar Asam Lemak Linolenat

Kadar asam lemak linolenat dinyatakan dalam persen. Seperti dalam kadar asam lemak linoleat, penentuan kadar

asam lemak linolenat minyak ditujukan untuk mengetahui pengaruh proses ekstraksi minyak, terhadap kandungan asam lemak esensial khususnya asam lemak linolenat atau lebih dikenal omega 3 (Gunstone dan Norris, 1983). Lebih lanjut dikatakan bahwa asam lemak omega 3 mempunyai efek anti trombogenik yaitu pembentukan gumpalan trombosit yang merupakan faktor penting terjadinya penyumbatan pembuluh darah yang menyebabkan serangan jantung (Karjadi dan Muhilal, 1987). Kalau dibandingkan dengan asam lemak linoleat ( $C_{18}:9,12$ ), maka asam lemak linolenat ( $C_{18}:9,12,15$ ) kemungkinannya terjadi oksidasi lebih besar karena kandungan ikatan rangkapnya lebih banyak. Menurut Ketaren (1986) semakin banyak ikatan rangkap asam lemak, maka semakin reaktif terhadap oksigen.

#### 2.5.8 Kadar Asam Lemak Arachidonat

Kadar asam lemak arachidonat pada minyak hati ikan cucut dinyatakan dalam persen. Analisis kadar asam lemak arachidonat, sama seperti analisis kadar asam lemak linoleat dan linolenat yaitu, untuk mengetahui sampai sejauh mana pengaruh proses ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzimatis terhadap kerusakan asam lemak esensial khususnya asam lemak arachidonat. Menurut Karjadi dan Muhilal (1987) terlalu tingginya kandungan

asam lemak omega 6 dapat meningkatkan senyawa prostaglandin yang menyebabkan agregasi keping-keping darah. Kalau dibandingkan asam lemak linoleat dan linolenat, asam lemak arachidonat lebih mudah terjadi oksidasi karena kandungan ikatan rangkapnya lebih banyak yaitu empat ( $C_{20:5,8,11,14}$ ). Semakin besar kandungan asam lemak arachidonat, maka kualitas minyak makin baik.

#### 2.5.9 Kadar Vitamin A

Kadar vitamin A pada minyak dinyatakan dalam International Unit (IU) per gram minyak. Analisis kadar vitamin A minyak ditujukan untuk mengetahui sampai sejauh mana pengaruh proses ekstraksi minyak terhadap tingkat kerusakan minyak. Semakin besar kadar vitamin A berarti kerusakan minyak semakin kecil. Menurut Andarwulan dan Koswara (1992) kandungan 5 ikatan rangkap pada vitamin A menyebabkan vitamin A mudah teroksidasi.

#### 2.6 Ekstraksi Minyak Hati Ikan Cucut

Sampai sekarang proses pembuatan minyak hati ikan cucut dilakukan dengan cara ekstraksi (Brody, 1965). Menurut Ketaren (1986) ekstraksi adalah suatu cara untuk mendapatkan minyak atau lemak dari bahan yang diduga

mengandung minyak atau lemak. Cara ekstraksi minyak hati ikan cucut yang pernah dilakukan adalah dengan menggunakan pelarut organik, perebusan, pengukusan serta silase asam yaitu dengan menambahkan asam organik atau anorganik (Nasran *et al.*, 1981; Yunizal *et al.*, 1983; Anonymous 1987).

Menurut Buckle *et al.*, (1987) cara yang digunakan untuk memisahkan minyak atau lemak dari sumbernya baik tumbuh-tumbuhan maupun hewan sangat berbeda sesuai dengan sifat-sifat dari sumber itu. Pengambilan minyak dari bahan menurut Murdiyati, Hastuti dan Supriyanto (1980) secara umum bertujuan :

1. menghasilkan minyak yang berkualitas baik dan dalam keadaan yang semurni mungkin,
2. menghasilkan minyak sebanyak mungkin dalam batas prosesnya tetap ekonomis,
3. menghasilkan sisa atau residu yang bernilai tinggi atau dapat digunakan untuk beberapa keperluan.

Dahulu orang membuat minyak dari ikan dengan jalan membiarkan hati ikan rusak dan menjadi busuk, sehingga minyak dengan sendirinya terlepas dari jaringan hati ikan hingga minyak dapat dipisahkan. Pada saat ini untuk pembuatan minyak hati ikan terutama digunakan hati yang masih segar, dicuci dengan air bersih atau diawetkan dengan garam dan didinginkan dengan es. Lebih lanjut

dikatakan bahwa proses pembuatan minyak hati ikan melalui beberapa tahapan diantaranya adalah persiapan, ekstraksi, penyaringan dan pemerasan kemudian sentrifus (Anonymous, 1988).

Menurut Kho Teng Hik (1960) ekstraksi minyak hati ikan cucut dapat dilakukan dengan beberapa cara diantaranya adalah pertama, minyak hati ikan cucut dibuat dengan jalan memanaskan hati ikan di atas wajan langsung di atas api tetapi minyak hati ikan cucut yang didapat dengan cara ini sebagian telah rusak karena suhu terlalu tinggi ini menyebabkan kerusakan lemak, protein, dan vitamin (Winarno, 1980). Lebih lanjut dijelaskan bahwa dengan cara tersebut juga dapat mengakibatkan karat dan warna gelap jika digunakan wajan besi (Tranggono dan Setyadji, 1986).

Cara ekstraksi yang kedua, adalah dengan perebusan dalam ketel yang tertutup untuk menghindari pengaruh oksidasi. Pada temperatur  $70-90^{\circ}\text{C}$  minyak hati ikan cucut yang terlepas dari jaringan hati, selanjutnya disaring waktu dingin. Cara ekstraksi ketiga, hati ikan dihaluskan lebih dulu dengan suatu alat sampai menjadi bubur hati ikan, kemudian dalam waktu singkat dialirkan uap air kedalam bubur hati ikan, selanjutnya minyak dipisahkan dengan bantuan sentrifus. Cara ekstraksi keempat, cara



ini biasanya dilakukan di Canada yang dikenal dengan cara Hopkinson Flotation Methode. Dengan cara ini hati ikan dihaluskan lebih dulu kemudian di dalam tangki ditambahkan air dengan suhu mulai  $50^{\circ}\text{C}$  sampai emulsi pecah. Cara ekstraksi kelima berdasarkan prinsip osmosis, hati ikan yang sudah dihaluskan menjadi bubur dicampur dengan larutan garam pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$ . Karena terjadi plasmolisis maka sel-sel hati ikan pecah dan minyak terlepas dari jaringan. Selanjutnya campuran minyak dan air dipisahkan dengan sentrifus. Ekstraksi lain yaitu dengan cara pengepresan dimana setelah hati dipotong-potong kemudian dimasukkan ke dalam alat pengepres untuk dikeluarkan minyaknya. Minyak diperoleh dengan jalan melakukan sentrifus. Dengan cara ini minyak yang diperoleh masih kotor dan mudah tengik (Hadiwiyoto, 1983).

Selain cara ekstraksi tersebut juga telah dilakukan dengan cara silase asam yaitu dengan jalan menambah asam seperti formiat, asetat, campuran formiat dan asetat atau campuran asam formiat dan asam klorida sebanyak 2 persen.

Cara ekstraksi dengan pelarut organik biasanya dilakukan dalam skala besar. Untuk memisahkan minyak dari bahan, dilakukan pada suhu tinggi dengan pelarut heksan (Potter, 1978). Pelarut organik lain yang sering

digunakan dalam ekstraksi minyak hati ikan adalah eter, khloroform dan lain-lain (Susanto, 1987).

## 2.7 Enzim Proteolitik

### 2.7.1 Pengertian Enzim

Enzim adalah katalis organik yang dihasilkan oleh sel-sel hidup dari semua bentuk kehidupan baik hewan, tumbuh-tumbuhan maupun mikroorganisme (White *et al.*, 1968). Fungsi dari enzim adalah mempercepat terjadinya proses reaksi biokimia dalam semua sel dan jaringan hidup pada kondisi suhu, pH dan kandungan air yang sesuai dan memungkinkan enzim dapat bekerja aktif (Dixon dan Webb, 1958). Tanpa enzim reaksi-reaksi biokimia akan berlangsung sangat lambat.

Seperti halnya katalis-katalis lainnya, enzim hanya bekerja sebagai perantara saja tanpa bereaksi dengan produk hasil reaksi atau tidak habis dalam proses reaksi. Satu hal yang penting bahwa sejumlah kecil enzim sudah cukup untuk mengkatalis sejumlah substrat.

Selain mampu mempercepat reaksi biokimia, enzim mempunyai kemampuan untuk memulai reaksi dan mengarahkan reaksi. Karena enzim-enzim ini reaksinya sangat spesifik, maka aktivitas enzim diibaratkan sebagai sepasang kunci dengan gemboknya yang hanya dapat bekerja bila bertemu

dengan pasangannya. Misalnya enzim yang menghidrolisis protein tidak dapat menghidrolisis lemak atau karbohidrat (Rochnadi, 1977).

Winarno (1986) menggolongkan enzim proteolitik menjadi 2 kelompok besar yaitu eksopeptidase dan endopeptidase. Golongan eksopeptidase memecah protein atau ikatan peptida dari luar. Golongan eksopeptidase dapat dibagi lagi menjadi 2 yaitu karboksi eksopeptidase dan amino eksopeptidase yang berturut-turut memecah protein dari arah gugus karboksil terminal dan gugus amino terminal. Sedangkan endopeptidase memecah protein atau ikatan peptida dari dalam. Menurut Reed (1975) enzim yang termasuk endopeptidase mempunyai kekhususan yaitu memecah ikatan peptida yang karbonilnya mempunyai asam amino aromatis seperti tirosin, fenilalanin dan triptophan. Golongan endopeptidase ini dibagi 2 kelompok, pertama yang berasal dari hewan seperti pepsin, renin dan tripsin. Kedua, berasal dari tumbuh-tumbuhan seperti papain, bromelin dan ficin. Menurut Kumalaningsih (1990) kedua enzim tersebut banyak digunakan karena dari segi ekonomis bahan baku dari kedua enzim tersebut tersedia sepanjang tahun.

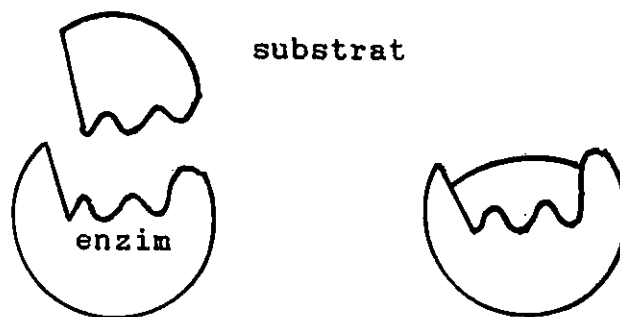
### 2.7.2 Sifat Enzim Proteolitik

Sebagaimana semua katalis, enzim proteolitik mempunyai sifat-sifat akan muncul tetap utuh dari suatu reaksi, berfungsi merubah atau mempercepat laju reaksi tetapi tidak akan mempengaruhi keseimbangan akhir, berperan dalam jumlah sangat sedikit atau kecil, memiliki spesifitas yang sangat sempit yaitu hanya dapat menguraikan protein yang tak dapat menguraikan lemak atau karbohidrat (Tranggono, 1989).

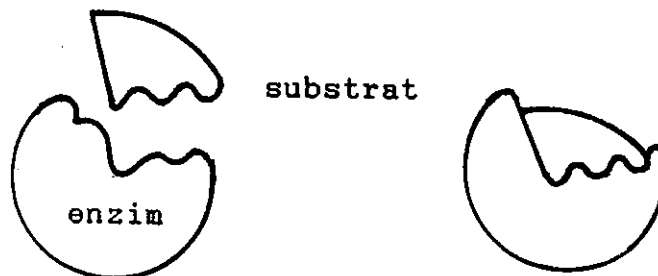
### 2.7.3 Cara Kerja Enzim Proteolitik

Enzim mempunyai berat molekul yang berkisar antara 12.000 sampai satu juta sehingga ukuran enzim jauh lebih besar dibandingkan substratnya. Namun demikian substrat hanya akan terikat pada bagian tertentu yang sangat spesifik dari enzim yaitu sisi aktif enzim membentuk komplek enzim substrat, sedang bagian asam amino yang lain akan membantu terbentuknya struktur tiga dimensi sedemikian rupa sehingga sisi aktif dapat mengikat substrat (Martin *et al.*, 1983). Ada dua teori tentang pengikatan enzim dengan substrat pertama teori Emil Fischer yang mengajukan hipotesis kunci dan gembok "Lock and Key" dimana substrat harus mempunyai bentuk yang tepat dengan bagian aktif enzim. Teori kedua adalah "Induced Fit

model" yang menyatakan bahwa lokasi aktif enzim mempunyai konfigurasi yang tidak kaku (Winarno, 1982). Menurut Stryer (1981) kedua teori tersebut dapat digambarkan sebagai berikut.



Gambar 5. Ikatan Enzim-Substrat Menurut Teori Lock & Key



Gambar 6. Ikatan Enzim-substrat Menurut Teori Induced Fit

Selanjutnya Muchtadi *et al.*, (1989) mengatakan bahwa lokasi aktif enzim mempunyai sifat sebagai berikut :

1. Sisi aktif merupakan bagian yang sangat kecil dibandingkan dengan seluruh molekul enzim.
2. Sisi aktif enzim merupakan bentuk tiga dimensi yang

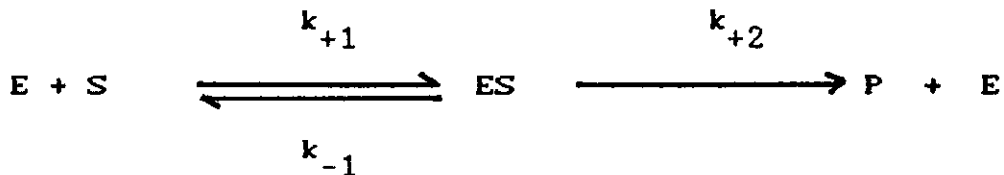
terdiri dari kelompok-kelompok yang berasal dari beberapa asam amino.

3. Substrat harus mempunyai bentuk yang sangat tepat dengan sisi aktif, agar kompleks enzim substrat terjadi.

Sebelum terjadi suatu hasil reaksi terlebih dahulu akan terbentuk suatu kompleks antara katalisator dengan substrat yaitu kompleks enzim-substrat. Pembentukan enzim-substrat ini terjadi karena enzim pada permukaannya mempunyai satu bagian yang reaktif sehingga dapat mengikat substrat. Setelah terbentuk kompleks enzim-substrat maka ikatan-ikatan di dalam substrat cenderung untuk pecah menjadi beberapa bentuk hasil reaksi dimana enzim didapatkan kembali untuk selanjutnya mengkatalis substrat yang baru dan mengulangi reaksi seperti semula (Winarno dan Fardiaz, 1979).

Reaksi pembentukan kompleks (ES) dan penguraiannya berlangsung bolak balik, kecepatan reaksi dinyatakan dengan  $k$  dan tanda positif atau negatif menyatakan sifat bolak balik. Komplek enzim substrat (ES) mengalami dua kemungkinan penguraian yaitu terjadi enzim (E) dan substrat (S) atau melanjutkan reaksi dengan menghasilkan produk (P) dan enzim (E) dengan asumsi tidak ada produk yang dapat diubah lagi menjadi substrat (Winarno, 1986).

Untuk lebih jelasnya mekanisme reaksi tersebut dapat dilihat seperti berikut ini.



Dimana :

$k_{+1}$  : tetapan kecepatan reaksi pembentukan ES

$k_{-1}$  : tetapan kecepatan reaksi penguraian ES menjadi E dan S

$k_{+2}$  : tetapan kecepatan reaksi pembentukan P dan S dari ES

$k_{+1} > k_{-1}$

#### 2.7.4 Faktor Yang Mempengaruhi Enzim Proteolitik

Menurut Lehninger (1975) beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim proteolitik adalah suhu, pH, konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, aktifator dan inhibitor.

##### 1. Suhu

Pada umumnya semakin tinggi suhu, semakin naik laju reaksi kimia baik yang tak berkatalis maupun yang dikatalis oleh enzim. Tetapi perlu diingat bahwa enzim

adalah protein, jadi semakin tinggi suhu proses inaktivasi enzim juga meningkat. Keduanya mempengaruhi laju reaksi enzimatik secara keseluruhan (Suharsono, 1984). Setiap enzim memiliki suhu optimum untuk aktivitasnya, di atas dan di bawah suhu tersebut kenaikan enzim akan menurun. Lehninger (1975) mengatakan bahwa enzim inaktif pada temperatur di atas 55-60°C. Pada temperatur yang lebih rendah reaksi berlangsung spontan tetapi lambat, pada temperatur yang lebih tinggi spontan dan cepat (Rodwell, 1988).

## 2. Keasaman (pH)

Enzim menunjukkan aktivitas maksimal pada suatu kisaran pH yang disebut pH optimum yaitu antara 4,5- 8,0. Suatu enzim tertentu mempunyai kisaran pH optimum yang sangat kecil. Di sekitar pH optimum enzim mempunyai stabilitas yang tinggi (Winarno, 1986). Masing-masing enzim mempunyai pH karakteristik baik bentuk maupun kisarannya (range). Baik besarnya pH optimal, bentuk maupun lingkup daerah pH dipengaruhi oleh suhu, sifat, dan kadar substrat, sifat dan kadar penyangga, kuat ionik pelarut, kemurnian enzim dan lain-lain (Suharsono dan Kapti, 1977). Keasaman (pH) selain berpengaruh terhadap enzim sendiri juga pada substrat enzim tersebut. Oleh



karena enzim adalah protein maka kemungkinan besar pH akan mempengaruhi struktur sekunder, tersier maupun kuartener. Denaturasi adalah salah satu proses perubahan struktur yang terjadi pada protein bilamana pH media terlalu asam atau basa.

### 3. Konsentrasi Enzim

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

Ismail (1977) dalam pembuatan kecap menggunakan enzim papain untuk menghidrolisis protein daging ikan dan melaporkan bahwa papain murni dengan konsentrasi 0,2 % pada suhu 55°C dapat menghidrolisis 80 % protein ikan dalam waktu 4 jam. Sedangkan enzim bromelin dapat menghidrolisis 71,5 % protein ikan pada kondisi yang sama. Sementara itu Sukardi (1985) dalam penelitiannya yang menghidrolisis protein daging ikan lemuru menggunakan konsentrasi 0 %, 2 %, 4 % dan 6 % ternyata diperoleh hasil tertinggi pada konsentrasi 6%.

#### 4. Konsentrasi Substrat

Pada reaksi enzimatis umumnya makin tinggi konsentrasi substrat makin besar pula kecepatan reaksinya sampai batas-batas tertentu kecepatan reaksi tersebut akan konstan karena pengikatan enzim terhadap substrat sudah mencapai batas maksimum (Winarno, 1988). Lebih lanjut dikatakan bahwa, pada konsentrasi substrat yang rendah tidak semua enzim dapat mengikat substrat, oleh karena itu banyaknya substrat yang diubah per-satuan waktu oleh enzim tersebut juga rendah atau kecepatan reaksinya rendah bila kadar substratnya menjadi naik. Demikian berlangsung seterusnya sampai, mencapai kecepatan maksimum. Hal ini berarti bahwa semua enzim yang berada dalam sistem tersebut telah mengikat substrat atau semua enzim telah dijenuhi oleh substrat.

#### 5. Aktifator

Beberapa enzim memerlukan aktifator dalam reaksi katalisnya. Aktifator adalah suatu senyawa atau ion yang dapat meningkatkan kecepatan reaksi enzimatis, bahkan ada beberapa enzim yang tak dapat bekerja tanpa adanya aktifator. Senyawa aktifator tersebut adalah ko-enzim, gugus prostetik, ion logam serta senyawa pereduksi (Lehninger, 1975).

## 6. Inhibitor

Inhibitor adalah suatu senyawa atau metabolik produk yang menghambat reaksi enzimatis. Senyawa ini dibedakan atas inhibitor kompetitif dan inhibitor non kompetitif (Lehninger, 1975). Disebut inhibitor kompetitif apabila mampu berkompetisi dengan substrat (memiliki struktur yang hampir sama dengan substrat) dan disebut inhibitor non kompetitif apabila senyawa ini mampu bereaksi dengan sisi aktif dari enzim (Reed, 1975).

### 2.8 Enzim Papain

Enzim papain dapat diisolasi dari getah tanaman pepaya (*Carica papaya*) yang terdapat pada daun, batang, bunga dan buah yang masih muda (Kuswanto, 1988). Reed (1975) mengatakan bahwa getah pepaya mengandung papain, kemopapain dan lizozim sehingga mempunyai daya katalitik cukup besar. Secara umum yang disebut papain adalah papain yang telah dimurnikan maupun yang masih kasar yang diperoleh dari getah pepaya. Lebih lanjut dikatakan bahwa enzim papain mempunyai gugus aktif asam amino sistein nomor 25, asam amino histidin nomor 158. Papain mempunyai kemampuan hidrolisis yang lebih tinggi dibandingkan proteolitik lainnya karena mampu menghidrolisis substratnya tripsin atau pepsin.

Menurut Jacob (1951) papain merupakan protein kelompok prolamin yang larut dalam alkohol 70%, mempunyai berat molekul 27.000-30.000, tidak stabil dan mudah teroksidasi. Kestabilan enzim papain baik sekali pada pH 5-7 dan suhu 70°C (Winarno, 1988). Kestabilan papain menurun pada pH dibawah 3 atau di atas 11 (Reed, 1975).

Penggunaan enzim papain banyak dilakukan untuk beberapa tujuan misalnya untuk mengempukkan daging (Winarno *et al.*, 1984) dan pembuatan bir tahan dingin (chilled proof beer), karena papain mampu menghidrolisis protein yang terbentuk bila bir disimpan pada suhu dingin. Disamping itu papain juga digunakan sebagai bahan penyamak kulit yaitu melemaskan kulit yang tegang dengan cara perendaman sehingga mudah untuk disamak. Sebagai obat tradisional yaitu membunuh cacing, obat luka bakar yang dicampur dengan minyak, mineral, asam lemak oleat dan stearat.

## 2.9 Enzim Bromelin

Bromelin adalah enzim yang dapat diisolasi dari buah atau batang nanas (*Ananas comosus* dan *Ananas bractratus*). Bromelin diperoleh dengan menghancurkan jaringan buah untuk mendapatkan cairan buahnya. Perlu diketahui bahwa

pada bagian bonggol buah nanas terdapat aktivitas enzim bromelin yang hampir sama dengan bagian daging buahnya (Kuswanto, 1988). Baik buah nanas yang masih muda maupun yang tua mengandung bromelin. Aktivitas bromelin dari buah yang masih muda lebih tinggi bila dibandingkan buah yang tua (Winarno, 1986).

Enzim ini banyak digunakan dalam proses pembuatan bir tahan dingin seperti halnya papain. Enzim bromelin juga banyak digunakan untuk mempercepat proses fermentasi kecap ikan, yang apabila dilakukan secara tradisional memakan waktu sampai berbulan-bulan yang disebabkan jumlah enzim proteolitik alami dalam tubuh ikan sangat terbatas (Afrianto dan Liviawaty, 1989).

Bromelin termasuk enzim proteolitik sulfhydryl, yang dalam menghidrolisis ikatan peptida dari protein dihasilkan pepton, polipeptida, dipeptida serta asam amino yang bersifat larut (Beddows *et al.*, 1976). Enzim bromelin terdiri dari glukoprotein, yaitu mengandung polisakarida pada rantai polipeptidanya. Bromelin aktif pada pH netral dan optimal antara pH 6-8, suhu 50°C (Reed, 1975).

## 2.10 Penggaraman

Secara umum penggaraman ikan ada tiga macam, pertama

penggaraman kering (*dry salting*) yaitu mencampur ikan dengan kristal garam. Cara kedua penggaraman basah (*brine salting*) yaitu merendam ikan dalam larutan garam. Cara ketiga adalah kombinasi (*modified brine salting*) yaitu mencampur ikan dengan kristal garam dan cairan yang keluar dari ikan akan melarutkan garam tersebut.

Noguchi (1972) dan Florian (1978) mengatakan bahwa kecepatan penetrasi garam ke dalam daging ikan dipengaruhi oleh konsentrasi garam, kemurnian garam dan kandungan lemak daging ikan. Kecepatan penetrasi garam kedalam daging ikan sebanding dengan konsentrasi garam yang digunakan. Penggunaan garam yang mengandung garam Ca dan Mg akan mengakibatkan kecepatan penetrasi garam menurun. Florian (1978) mengatakan bahwa garam tidak murni kalau kandungan garam  $\text{CaSO}_4=1,36 \%$ ,  $\text{MgSO}_4=3,9 \%$  dan  $\text{MgCl}_2=2,7 \%$ . Sedangkan kandungan lemak dalam daging berbanding terbalik dengan kecepatan penetrasi garam kedalam daging ikan.

### 2.10.1 Pengaruh Garam Terhadap Jaringan Hati Ikan

Garam NaCl yang ditambahkan kedalam hati ikan mempunyai sifat osmotik dan penarikan air dari sel-sel jaringan hati. Menurut Florian (1978) perubahan air dari jaringan ikan oleh osmotik melalui tiga tahapan

yaitu pertama perbedaan tekanan osmotik yang tinggi pada jaringan dan larutan garam. Tahap kedua terjadinya difusi air dan komponen terlarut lainnya kedalam larutan garam. Sedangkan tahap ketiga adalah terjadinya keseimbangan antara air dalam jaringan ikan dan larutan garam.

### 2.10.2 Pengaruh Garam Terhadap Enzim Proteolitik

Katepsin yang ditambahkan untuk menghidrolisis jaringan daging ikan terhambat oleh konsentrasi garam 15 %. Aktivitas enzim endopeptidase dan eksopeptidase berbeda dengan adanya penambahan pelan-pelan konsentrasi garam selama proses penggarangan. Enzim yang berasal dari isi perut ikan cenderung tahan pada konsentrasi garam tinggi tapi lebih kecil tingkatannya dibanding katepsin.

Kandungan garam dengan ratio lebih dari 1:1 (ikan :garam) dapat menghambat aktivitas bakteri atau aktivitas enzim dalam banyak makanan. Kadar garam kurang dari 4 % aktivitas proteolitik dari Micrococci bertambah, tapi kadar garam kurang 2 % aktivitas Micrococci maksimal. Aktivitas mulai berkurang pada kadar garam 6 % sampai berhenti sempurna pada kadar garam 12 %.

Menurut Florian (1978) pertumbuhan mikroorganisme

membutuhkan lingkungan yang sesuai di mana pada kadar garam lebih dari 7 % dia sudah tidak dapat tumbuh kecuali yang bersifat halophilik.



### 3 KERANGKA TEORI DAN HIPOTESIS

#### 3.1 Kerangka Teori

Cara ekstraksi minyak hati ikan cucut yang dilakukan nelayan selama ini adalah tradisional yaitu dengan penjemuran dan pengukusan. Prinsip yang digunakan pada cara ini adalah membebaskan sejumlah minyak dari jaringan hati ikan cucut dengan menggunakan pemanasan. Dengan pemanasan akan mengakibatkan mencairnya komponen lemak dalam hati ikan cucut sehingga dihasilkan minyak. Namun demikian pemanasan juga mengakibatkan kerusakan pada komponen-komponen penting dalam minyak, sehingga akan menghasilkan minyak dengan kualitas rendah.

Lemak di dalam jaringan terdapat dalam keadaan bebas dan terikat dengan protein. Komponen lemak yang berikatan dengan protein disebut lipoprotein. Lipoprotein terdapat dalam membran sel dan membran liposom. Sedangkan lemak bebas terbungkus di dalam organela liposom. Dengan terikatnya atau terbungkusnya lemak dengan protein maka untuk melepaskan lemak, protein pembungkus tersebut perlu dipecah melalui proses hidrolisis.

Untuk menghidrolisis protein dapat dilakukan dengan menggunakan enzim proteolitik papain atau bromelin karena kedua enzim ini mampu menghidrolisis protein.

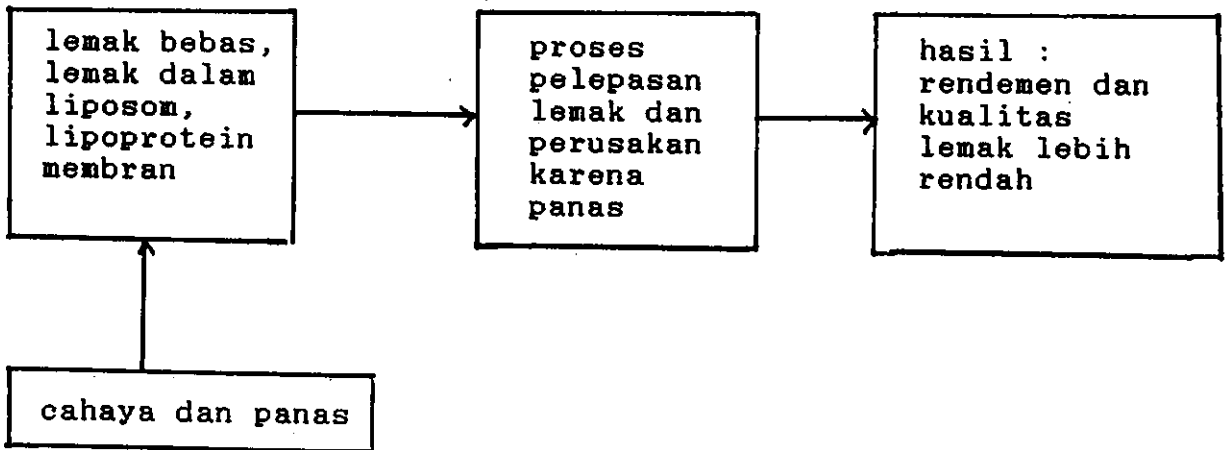
Suatu reaksi enzimatik dipengaruhi oleh pH. Agar reaksi enzimatik tersebut berjalan maksimal maka diperlukan pH yang optimal.

Selain dipengaruhi pH kecepatan reaksi enzimatik juga dipengaruhi oleh suhu, karena kenaikan suhu dapat meningkatkan kecepatan reaksi enzimatik.

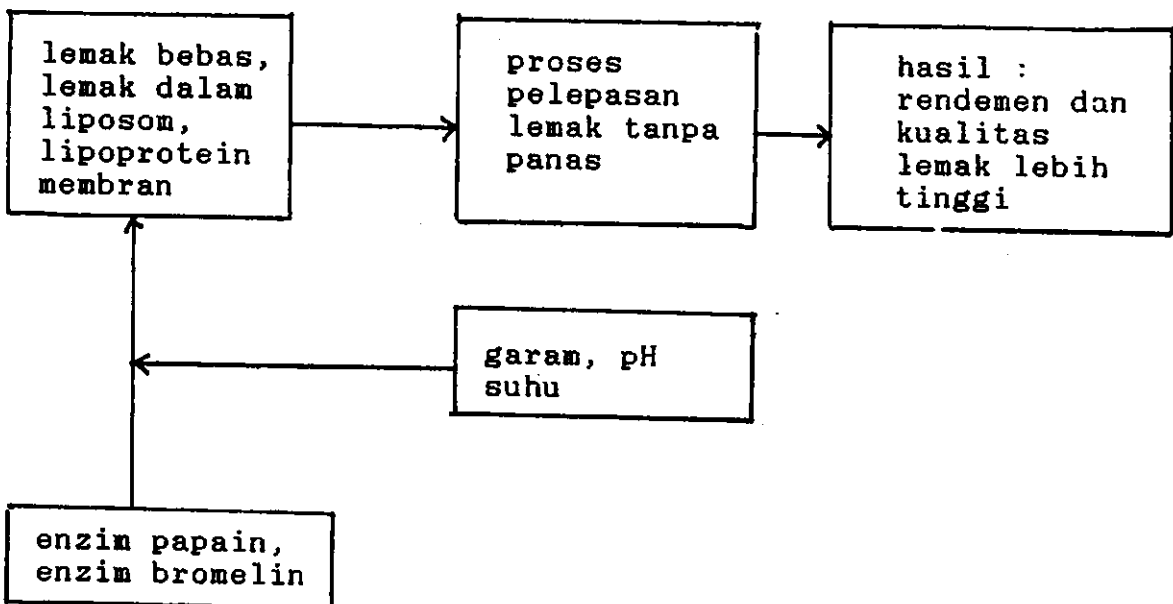
Di dalam bahan baku hati ikan cucut untuk menghasilkan minyak, terdapat juga bakteri yang dapat menurunkan kualitas minyak hati ikan cucut. Untuk mencegah aktivitas bakteri maupun penarikan air dari jaringan hati ikan cucut diperlukan penambahan garam.

Dengan terhidrolisisnya protein oleh aktivitas enzim proteolitik diharapkan minyak yang terikat dengan protein akan lepas. Demikian juga bila protein penyusun membran liposom mengalami hidrolisis maka membran akan rusak sehingga minyak akan keluar. Kedua proses tersebut akan menghasilkan minyak tanpa melalui proses pemanasan. Maka dari itu makin tinggi aktivitas enzim proteolitik, lemak yang dihasilkan makin banyak, sehingga diharapkan rendemen minyak meningkat. Proses pelepasan minyak tersebut akan lebih efektif dibanding dengan teknik pemanasan. Secara skematis kerangka teori teknik ekstraksi tradisional dan penambahan enzim papain atau bromelin adalah sebagai berikut.

Teknik Ekstraksi Tradisional



Teknik Ekstraksi Enzimatis



### 3.2 Hipotesis

- 1). Teknik ekstraksi dengan penambahan enzim papain kasar pada kadar garam, pH dan suhu optimal akan meningkatkan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut dibanding teknik ekstraksi tradisional.
  
- 2). Teknik ekstraksi dengan penambahan enzim bromelin kasar pada kadar garam, pH dan suhu optimal akan meningkatkan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut dibanding teknik ekstraksi tradisional.

## 4 METODE PENELITIAN

### 4.1 Bahan

#### 4.1.1 Ikan Cucut

Ikan cucut yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Sendang Biru Kabupaten Malang yang telah memenuhi kriteria dari ikan cucut botol *Centrophorus squamosus* yaitu tidak mempunyai sirip anal, mempunyai dua sirip dorsal dengan duri yang besar, rahang bawah lebih besar dari rahang atas dengan gigi taring seperti mata pisau, hidung memanjang, sirip dorsal pertama lebih besar dibanding sirip kedua, sirip pectoral berdekatan berbentuk siku dan sangat panjang, sirip ekor berbentuk heterocercal. Sisik berbentuk placoid, mempunyai 5 celah insang, tidak mempunyai tutup insang, mulut terletak dibawah. Bentuk badan bulat silinder mirip terpedo, berwarna keabu-abuan di bagian punggungnya dengan panjang total mencapai 69-98 cm dan berat total 1680-3740 gram. Sedangkan berat hati berkisar antara 18-25 %.

#### 4.1.2 Hati Ikan

Hati ikan cucut (*Centrophorus squamosus*) diperoleh dengan cara membelah perut ikan cucut yang masih segar. Hati ikan cucut yang digunakan berwarna putih kekuning-kuningan. Untuk lebih jelasnya cara membelah perut ikan cucut dapat dilihat pada Gambar 7. Sedangkan bentuk hati ikan cucut dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 7. Cara Membelah Perut Ikan Cucut



Gambar 8. Bentuk Hati Ikan Cucut (*Centrophorus squamosus*)

#### 4.1.3 Garam NaCl

Garam NaCl yang digunakan dalam penelitian ini adalah garam rakyat atau dikenal dengan garam meja yang biasa digunakan oleh nelayan dalam pengolahan produk-produk perikanan. Garam yang digunakan telah memenuhi Standar Industri Indonesia (SII) No. 0141-76. Hasil analisis garam dapat dilihat pada Lampiran 10.

#### 4.1.4 Papain

Papain yang digunakan dalam penelitian ini adalah papain kasar yang diisolasi dari buah pepaya jenis

Thailand berumur 3 bulan. Pepaya diperoleh dari kebun Dinas Pertanian Tanaman Pangan Kabupaten Malang di Kecamatan Tumpang. Papain yang digunakan telah ditera menurut metode Colowick dan Kaplan (1970). Aktivitas enzim adalah 5784 unit/mg. Adapun cara isolasi dan penentuan aktivitas papain dapat dilihat pada Lampiran 11.

#### 4.1.5 Bromelin

Bromelin yang digunakan dalam penelitian ini adalah bromelin kasar yang diisolasi dari buah nanas jenis Bali berumur 2 bulan 10 hari. Buah nanas diperoleh dari Desa Njagoran Kecamatan Ponggok Kabupaten Blitar. Bromelin yang digunakan telah ditera menurut metode Colowick Kaplan (1970). Aktivitas enzim adalah 3940,53 g tirosin/menit)  $\times 10^{-7}$ . Cara isolasi dan penentuan aktivitas enzim bromelin dapat dilihat pada Lampiran 12.

#### 4.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah

1. Inkubator merek Memmert dengan skala 0 - 250°C
2. Sentrifus merek Heraeus dengan RPM 5 X 1000



3. Oven merek Heraeus type D.6450 skala 0 - 250°C
4. Spektrofotometer Diode Array merek Hewlett Packard (HP) type 8452 A
5. pH meter merek Schott Gerate type CG.832
6. Kromatografi Gas merek Hewlett Packard (HP) type 5890 A yang dilengkapi integrator merek Hewlett Packard type 3390 A.

Alat-alat yang digunakan dalam percobaan ini terdapat di lingkungan Universitas Brawijaya yaitu Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan, Laboratorium Sentral Ilmu dan Teknologi Pangan, Laboratorium Teknik Kimia Poli Teknik.

#### 4.3 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Faktorial " Split Plot " atau Faktorial Petak Terbagi (Steel and Torrie, 1989 dan Nugroho, 1990). Sebagai faktornya adalah kadar garam, pH dan suhu. Sebagai plot (petak) adalah kadar garam, sedangkan sebagai split (pembagi) adalah pH dan suhu. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada " Dummy table " dan rancangan percobaan ekstraksi dengan teknik enzimatis (papain atau bromelin) yang disajikan pada Tabel 3 berikut ini.

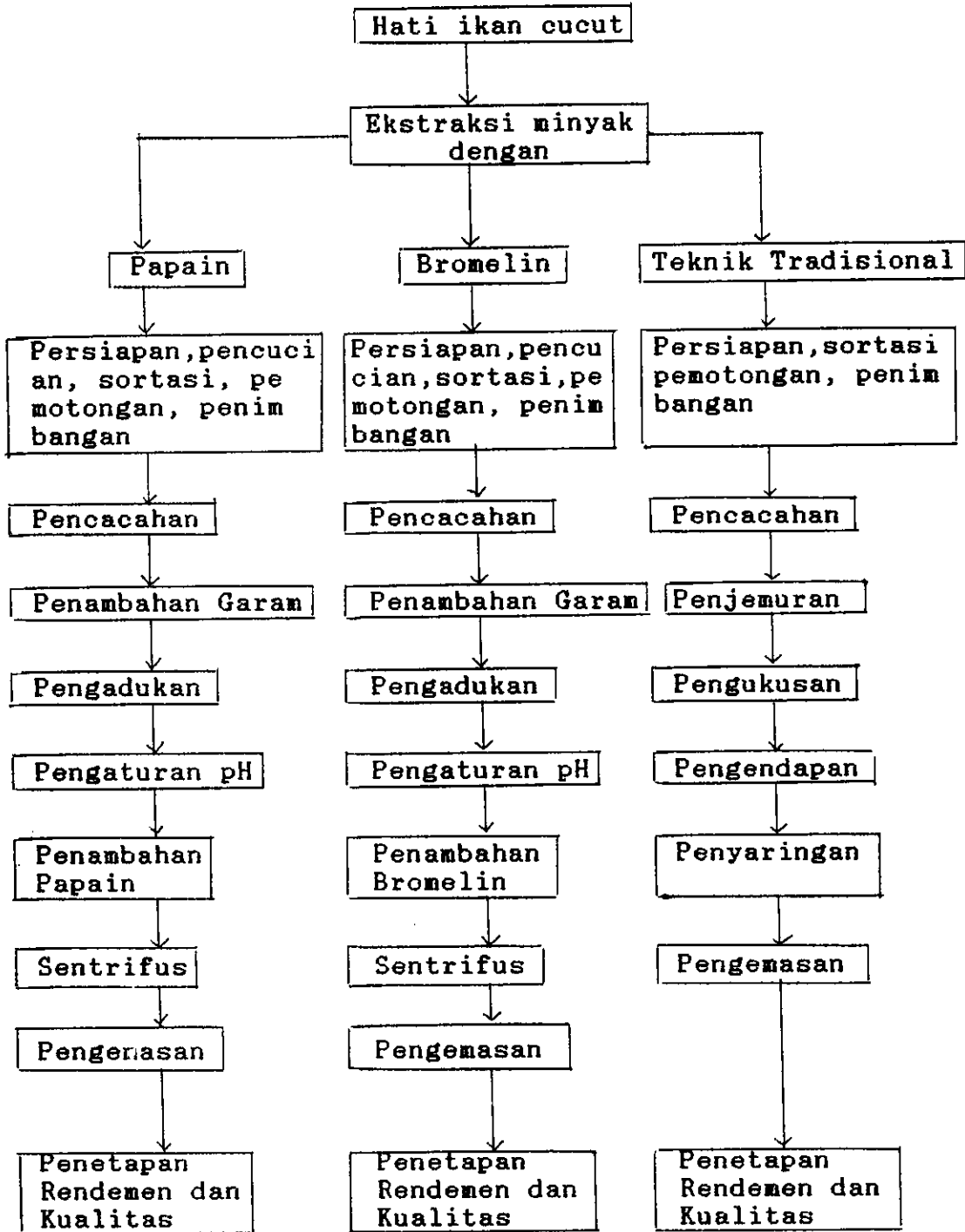
Tabel 3. "Dummy Table" dari Rancangan Percobaan Petak Terbagi pada Ekstraksi dengan Teknik Enzimatis (papain atau Bromelin)

Garam (%)	pH	suhu (°C)			
		35	45	55	65
15	5	xx	xx	xx	xx
	6	xx	xx	xx	xx
	7	xx	xx	xx	xx
	8	xx	xx	xx	xx
20	5	xx	xx	xx	xx
	6	xx	xx	xx	xx
	7	xx	xx	xx	xx
	8	xx	xx	xx	xx
25	5	xx	xx	xx	xx
	6	xx	xx	xx	xx
	7	xx	xx	xx	xx
	8	xx	xx	xx	xx
30	5	xx	xx	xx	xx
	6	xx	xx	xx	xx
	7	xx	xx	xx	xx
	8	xx	xx	xx	xx
Tradisional		xx			

Keterangan : xx) data rendemen, kadar skualen, kadar peroksida kadar asam lemak bebas, kadar air, kadar asam lemak linoleat, kadar asam lemak linolenat, kadar asam lemak arachidonat dan kadar vitamin A.

#### 4.4 Ekstraksi Minyak Hati Ikan Cucut Menggunakan Papain, Bromelin dan Teknik Tradisional

Secara skematis ekstraksi minyak hati ikan cucut menggunakan papain, bromelin dan teknik tradisional disajikan pada Gambar 8.



Gambar 9 . Skema Ekstraksi Minyak Teknik Enzimatis dan Teknik Tradisional

#### 4.4.1 Ekstraksi dengan Papain

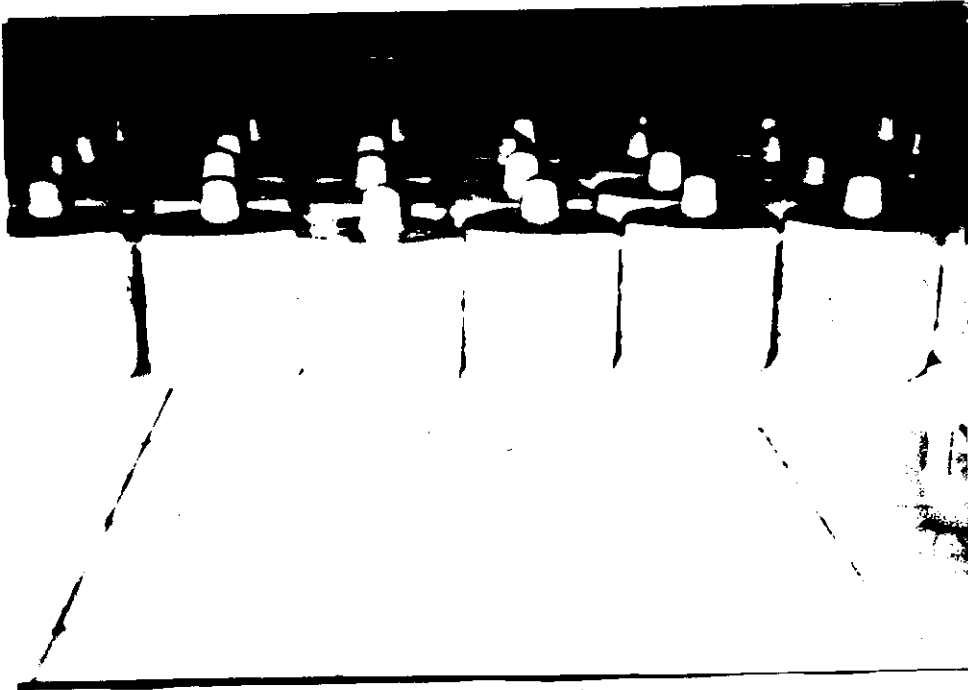
Proses ekstraksi minyak hati ikan cucut menggunakan papain dilakukan dengan mengikuti alur : persiapan, inkubasi, penyaringan, sentrifus, penentuan rendemen dan kualitas.

Hati ikan cucut dicuci dengan air, kemudian disortasi bagian yang mengandung gumpalan darah. Kemudian ditimbang dengan teliti kurang lebih 1600 g dalam wadah bertutup terbuat dari plastik.

Selanjutnya hati ikan dicacah sehingga diperoleh cacahan dengan ukuran  $\pm$  1 cm. Kemudian dibagi secara acak menjadi 16 bagian melalui penimbangan masing-masing kurang lebih 100 g dan dimasukkan dalam wadah bertutup yang terbuat dari plastik seperti pada Gambar 9.

Kelompok pertama, diberi garam 15 g (15 % b/b), diaduk dan diatur pHnya menjadi pH 5 dengan menambahkan 0,1 N asam formiat, kemudian diinkubasikan pada suhu 35°C selama 24 jam. Setelah inkubasi dilakukan penyaringan dengan kain kasa, selanjutnya disentrifus selama 15menit dengan kecepatan 3.000 rpm. Minyak yang dihasilkan didekantasi kemudian dimasukkan ke dalam botol berwarna coklat. Selanjutnya ditentukan rendemen dan kualitas minyaknya.

Untuk kadar garam 20 %, 25 % dan 30 % dilakukan seperti pada kadar garam 15 %, tetapi dengan pH dan suhu berbeda seperti yang tercantum pada "dummy table".



Gambar 10. Wadah Tertutup Terbuat dari Plastik Untuk Teknik Ekstraksi Enzimatis

#### 4.4.2 Ekstraksi Dengan Bromelin

Proses ekstraksi dengan bromelin dilakukan sama dengan proses ekstraksi menggunakan papain. Perbedaan hanya terletak pada persentase penggunaan enzim. Pada ekstraksi dengan bromelin digunakan 24 % (b/b) sedangkan papain 16 % (b/b).

#### 4.4.3 Ekstraksi Cara Tradisional

Ekstraksi cara tradisional digunakan sebagai pembanding ekstraksi dengan papain dan bromelin. Ekstraksi tradisional mengikuti cara yang dilakukan oleh nelayan pengolah minyak hati ikan cucut di Sendang Biru Kabupaten Malang. Adapun cara tersebut mengikuti alur : persiapan, pencacahan, penjemuran, pengukusan, pengendapan, penyaringan, pengemasan, penentuan rendemen dan kualitas.

Pada ekstraksi tradisional tanpa dilakukan pencucian air bersih, sehingga persiapannya langsung sortasi bagian hati yang masih mengandung gumpalan darah. Kemudian hati ikan cucut ditimbang dengan teliti kurang lebih 100 g dalam wadah yang terbuat dari seng. Wadah untuk penjemuran minyak dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 11. Wadah Untuk Penjemuran Hati pada Ekstraksi Tradisional

Setelah ditimbang hati ikan cucut dicacah kemudian dijemur. Penjemuran dilakukan selama 3 hari yang dimulai pukul 9.00 sampai 16.00 WIB. Minyak yang telah terpisah segera dilakukan dekantasi kemudian dimasukkan botol berwarna coklat. Selanjutnya hasil residu karena masih mengandung minyak maka proses ekstraksi diteruskan dengan pengukusan. Pengukusan dilakukan selama 2 jam dihitung setelah air mendidih.

Setelah dilakukan pengukusan minyak dibiarkan dingin dan mengendap. Setelah itu minyak yang terpisah diambil dengan cara dekantasi. Setelah dekantasi residu yang dihasilkan disaring dengan menggunakan kain kasa.

Hasil penyaringan dan pemisahan saat pengendapan dimasukkan dalam botol yang berwarna coklat, kemudian dilakukan perhitungan rendemen dan analisis kualitasnya.

#### **4.5 Penentuan Rendemen Dan Kualitas Minyak**

##### **4.5.1 Penentuan Rendemen**

Rendemen dihitung dari prosentase minyak yang dihasilkan terhadap 100 g hati ikan cucut yang digunakan (% b/b).

#### 4.5.2 Penentuan Kadar Skualen (Rothblat et al., 1962)

##### Cara Kerja :

Ditimbang dengan teliti kurang lebih 1 gram minyak hati ikan cucut yang telah dipisahkan dari senyawa dapat tersabunkan, dimasukkan dalam kolom kromatografi yang telah berisi 30 gram florisil dengan pelarut n-heksan. Jika larutan yang telah terkumpul mencapai 100 ml penetesan larutan dari kolom dihentikan. Larutan tersebut dipipet 1 ml kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi dan dikeringkan dengan gas Nitrogen. Selanjutnya ditambah 1 ml asam sulfat pekat dan dipanaskan di atas penangas air bersuhu 70 °C selama 5 menit.

Setelah itu ditambahkan 0,5 ml formaldehid, dikocok sampai homogen dan dipanaskan dalam air mendidih selama 10 menit. Kemudian ditambah asam asetat glasial sampai volume 10 ml. Selanjutnya dikocok hingga homogen dan diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 400 nm. Selain itu dilakukan pengukuran terhadap larutan blanko pelarut yang digunakan.

Cara perhitungan skualen menggunakan kurva standar skualen murni. Kadar skualen sampel dihitung dengan cara memasukkan data absorbansi sampel ke dalam persamaan kurva standar yang telah dibuat sebelumnya dengan cara yang sama.



#### 4.5.3 Penentuan Kadar Peroksida (AOAC, 1984)

##### Cara Kerja

Ditimbang dengan teliti kurang lebih 5 gram minyak dalam 250 ml erlenmeyer. Ditambahkan 30 ml campuran asam asetat : kloroform (3:2) dan digoyang. Ditambahkan 0,1 ml larutan KI jenuh. Didiatkan selama 1 menit dan kadang kala digoyang, kemudian ditambah 30 ml aquades. Setelah itu dititrasi dengan larutan 0,1 N  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  sampai warna kuning hampir hilang. Ditambahkan larutan 0,5 ml pati 1%. Kemudian dititrasi sampai warna biru hilang. Angka peroksida dihitung dengan rumus berikut ini.

$$\text{Kadar peroksida} = \frac{\text{ml Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times \text{N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 1000}{\text{berat sampel (gram)}} \text{ meq/kg}$$

#### 4.5.4 Penentuan Kadar Asam Lemak Bebas (AOAC, 1984)

##### Cara Kerja :

Ditimbang dengan teliti kurang lebih 5 gram minyak, kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer. Kedalam erlenmeyer ditambahkan 10 ml alkohol 95 % dan indikator fenol ftalin sebanyak 3 tetes. Selanjutnya dititrasi dengan larutan

KOH 0,1N sampai timbul warna merah muda. Kadar asam lemak bebas dihitung dengan rumus berikut ini.

$$\text{Kadar asam lemak bebas} = \frac{\text{ml KOH} \times \text{N KOH} \times 282 \times 100}{\text{berat sampel(gram)} \times 1000} \%$$

#### 4.5.5 Penentuan Kadar Air (Sudarmadji, 1989)

##### Cara Kerja

Ditimbang dengan teliti kurang lebih 10 gram minyak dalam botol timbang (berat awal). Dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C sampai tercapai berat konstan. Kemudian ditimbang berat konstan (berat akhir). Kadar air minyak dihitung dengan rumus di bawah ini.

$$\text{Kadar air} = \frac{\text{berat awal (gram)} - \text{berat akhir (gram)} \times 100}{\text{berat sampel}} \%$$

#### 4.5.6 Penentuan Kadar Asam Lemak esensial (linoleat, linolenat, arachidonat (Pelick dan Mahadevan, 1975))

##### Cara Kerja Metilasi :

Ditimbang dengan teliti kurang lebih 150 mg sampel minyak kemudian dilarutkan dalam 2 ml KOH 0,5 N dalam methanol. Selanjutnya direflux selama 5 menit. Ditambahkan

2 ml  $\text{BF}_3$  methanol 15% Direfluk selama 5 menit kemudian ditambahkan 4 ml heptan selanjutnya direfluk lagi selama 2 menit. Ditambahkan 5 ml larutan NaCl jenuh dan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat secukupnya kemudian didinginkan pada suhu ruang. Setelah dingin larutan dimasukkan labu pisah, dikocok, dibiarkan sebentar sehingga terjadi pemisahan heptan dan diambil kemudian dimasukkan tabung reaksi bertutup untuk diinjeksikan dalam GC.

Kondisi GC :

1. Kolom : DEGS 15 %
2. Detektor : FID
3. Gas pembawa :  $\text{N}_2$  50 ml /detik
4. Suhu injektor : 240 °C
5. Suhu kolom (isothermal) : 200 °C
6. Gas hidrogen tekanan : 0,9 kg/ $\text{Cm}^2$
7. Udara tekanan : 1,8 kg/ $\text{Cm}^2$
8. Atenuation : 8
9. Kecepatan kertas : 10 mm/menit
10. Sampel : 1 ul

Dasar analisis asam lemak adalah waktu retensi sampel dibandingkan waktu tetensi standar asam lemak. Perhitungan % berat setiap komponen sampel dihitung dengan rumus berikut ini.

$$\% \text{ berat komponen} = \frac{\text{LPS} \times \text{BST} \times 100}{\text{LPST} \times \text{BS}} \%$$

Dimana :

LPS : Luas puncak senyawa

LPST : Luas puncak standar

BS : Berat sampel

BST : Berat standar

#### 4.5.7 Penentuan Kadar Vitamin A Metode Carr Price (Apriantono, et.al., 1989)

Cara kerja :

##### 1. Pembuatan Larutan Antimon Triklorida

Pembuatan larutan antimon triklorida ( $\text{SbCl}_3$ ), kloroform dicuci dengan sejumlah volume air yang sama dua atau tiga kali, kemudian air dibebaskan dengan potasium karbonat anhidrat.

Selanjutnya didestilasi, 10 % destilat pertama dibuang. Selama pengeringan dengan potasium karbonat dan destilasi kloroform dihindarkan dari cahaya. Antimon triklorida dicuci dengan kloroform murni bebas air sampai bersih.

Dibuat larutan jenuh antimon triklorida yang sudah dicuci dalam kloroform murni bebas air. Larutan ini

mengandung 21-23% (w/v) antimon triklorida. Kemudian disimpan dalam botol berwarna coklat bertutup rapat.

## 2. Penentuan Vitamin A

Minyak dilarutkan dalam kloroform sehingga konsentrasinya 20 % (w/v). Dicampurkan hingga rata 4 ml antimon triklorida dengan 1 ml kloroform (sebagai blanko).

Dicampurkan sampai rata 0,5 ml larutan yang mengandung vitamin A (tahap 1) dengan 2 ml pereaksi antimon triklorida. Absorbansinya diukur dengan spektrofotometer panjang gelombang 620 nm.

Kadar vitamin A dalam sampel ditentukan berdasarkan kurva standar vitamin A murni yang telah dibuat sebelumnya.

## 4.6 Analisis Data

### 4.6.1 Anava

Untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh kadar garam, pH dan suhu inkubasi terhadap rendemen, kadar skualen, kadar peroksida, kadar asam lemak bebas, kadar air, kadar asam lemak linoleat, kadar asam lemak linolenat, kadar asam lemak arachidonat dan kadar vitamin A yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan program analisis variansi.

#### 4.6.2 Skoring

Rendemen dan kadar skualen merupakan hal terpenting dalam penelitian ini. Dalam hati ikan cucut secara umum mengandung minyak kurang lebih 50 % sehingga rendemen diberi nilai skor 5. Kadar skualen minyak hati ikan cucut secara umum kurang lebih 85 % sehingga kadar skualen diberi nilai 10, sedangkan variabel yang lain diberi nilai 1.

Setelah semua parameter diberi nilai skor kemudian dijumlahkan. Dari jumlah nilai skor akan dapat ditentukan kondisi optimal, yaitu kadar garam, pH dan suhu yang memberi jumlah nilai skor tertinggi.

## 5 HASIL PENELITIAN

### 5.1 Ekstraksi Dengan Papain

Peningkatan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut (*Centrophorus squamosus*) dengan teknik ekstraksi enzimatik. Studi optimasi kondisi kerja enzim papain.

Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan enzim papain kasar 16 % (b/b) yang dicampur dengan hati ikan cucut, kemudian ditambahkan garam (15, 20, 25, 30) % dan diatur pH awalnya (5,6,7,8) menghasilkan rendemen dan kualitas minyak seperti berikut ini.

#### 5.1.1 Rendemen (%)

Hasil analisis rendemen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Harga Rata-Rata Rendemen Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	80,71±0,00	84,06±0,54	85,30±0,00	82,74±0,00
	6	82,32±0,32	79,88±0,00	86,46±0,09	81,91±0,00
	7	82,66±0,00	81,52±0,01	85,40±0,00	82,63±0,31
	8	85,74±0,00	85,48±0,00	86,64±0,00	82,43±0,00
20	5	82,17±0,00	81,80±0,00	83,45±0,09	82,49±0,17
	6	80,59±0,00	80,79±0,00	85,74±0,00	82,85±0,00
	7	84,40±0,06	83,28±0,00	85,27±0,03	82,80±0,03
	8	83,03±0,00	83,22±0,00	83,79±0,03	82,11±0,00
25	5	80,81±0,00	77,31±0,00	81,54±0,01	74,34±0,00
	6	86,53±0,00	85,30±0,00	85,86±0,01	79,90±0,36
	7	85,45±0,01	85,77±0,00	80,16±0,47	75,71±0,00
	8	77,63±0,00	**86,90±0,00	80,74±0,00	74,80±0,37
30	5	73,80±0,00	82,38±0,12	83,33±0,46	82,30±0,00
	6	81,17±0,00	82,42±0,00	80,58±0,07	77,15±0,00
	7	81,44±0,10	79,35±0,01	80,23±0,04	79,01±0,41
	8	*73,33±0,00	80,33±0,00	81,34±0,34	80,26±0,00
Tradisional		70,00±1,42			

Keterangan :  $\bar{X}$  : harga rata-rata 3 ulangan  
 KV : koefisien variasi  
 \* : rendemen terendah  
 \*\* : rendemen tertinggi

Berdasarkan hasil pengamatan tabel di atas perlakuan yang menghasilkan rendemen tinggi adalah, kadar garam 15 %, pH 6, suhu 55°C (86,46 %), kadar garam 15 %, pH 8, suhu 55°C (86,64 %) dan kadar garam 25 %, pH 8, suhu 45°C (86,90 %)



Hasil sidik ragam rendemen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada tabel 5.

Tabel 5. Sidik Ragam Rendemen Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	396,170	132,060	2211,54	0,0000
pH (P)	3	47,573	15,858	265,57	0,0000
Suhu(S)	3	286,930	95,643	1601,73	0,0000
G * P	9	261,930	29,104	487,40	0,0000
G * S	9	384,750	42,750	715,94	0,0000
P * S	9	169,810	18,868	315,98	0,0000
G * P * S	27	378,350	14,013	234,68	0,0000**
Acak	128	7,6432	0,0597		
Total	191	1933,2			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap rendemen minyak

### 5.1.2 Kadar Skualen (%)

Hasil analisis kadar skualen minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada tabel 6.

Tabel 6. Harga Rata-Rata Kadar Skualen Minyak Hati Ikan cucut Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	72,88±0,13	82,06±0,00	85,74±0,21	79,24±0,00
	6	73,37±0,31	85,46±0,31	79,88±0,00	61,55±0,00
	7	73,54±0,40	73,83±0,00	73,83±0,00	73,97±0,06
	8	63,53±0,02	85,84±0,05	64,97±0,73	64,44±0,00
20	5	62,39±0,06	62,26±0,08	80,40±0,00	67,49±0,16
	6	64,42±0,00	84,21±0,00	81,19±0,00	73,83±0,00
	7	*58,67±0,01	71,95±0,00	63,44±0,00	73,67±0,00
	8	63,29±0,00	85,15±0,00	73,86±0,00	61,77±0,00
25	5	88,05±0,00	72,34±0,00	83,16±0,00	66,15±0,00
	6	66,65±0,00	83,24±0,00	60,91±0,54	62,74±0,00
	7	62,94±0,00	**89,27±0,00	81,84±0,00	61,55±0,00
	8	64,64±0,00	75,65±0,00	80,15±0,02	60,44±0,00
30	5	82,68±0,00	82,01±0,41	81,83±0,00	79,56±0,00
	6	73,50±0,05	76,65±0,00	83,59±0,11	66,33±0,00
	7	84,75±0,00	85,15±0,00	65,92±0,00	80,44±0,00
	8	68,54±0,00	82,54±0,00	78,34±0,00	66,65±0,00
Tradisional		69,32±0,66			

Keterangan :  $\bar{X}$  = rata-rata dari 3 ulangan  
 KV = koefisien variasi  
 \* = kadar skualen terendah  
 \*\* = kadar skualen tertinggi

Dari Tabel 6 di atas nampak bahwa perlakuan dengan kadar garam 25 %, pH 8, suhu 45°C kadar skualennya tidak optimal (75,65 %), tetapi justru perlakuan dengan kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C yang menghasilkan kadar skualen tertinggi (89,27 %) Sehingga tidak ada korelasi antara rendemen dan kadar skualen minyak hati ikan cucut.

Bila dikaitkan dengan rendemen tampaknya perlakuan dengan kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C meskipun rendemennya lebih rendah (85,77 %) tetapi lebih baik. Hal ini disebabkan karena kadar skuallennya lebih tinggi (89,27 %) sebagai tolok ukur kualitas minyak hati ikan cucut dan rendemennya hanya berbeda 1,2 % dari perlakuan kadar garam 25 %, pH 8, suhu 45°C (86,90 %).

Hasil sidik ragam kadar skuallen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 7.

Tabel 7. Sidik Ragam Kadar Skuallen Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	1263,50	420,83	10465,37	0.0000
pH (P)	3	745,54	248,51	6180,14	0.0000
Suhu (S)	3	3870,90	1290,30	32087,50	0.0000
G * P	9	1498,70	166,52	4141,08	0.0000
G * S	9	1140,60	126,73	3151,55	0.0000
P * S	9	2210,80	245,64	6108,64	0.0000
G * P * S	27	3957,60	146,58	3645,13	0.0000**
Acak	128	5,1471	0,040212		
Total	191	0,0004692			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar skuallen minyak

Walaupun kadar skuallen merupakan penentu kualitas minyak hati ikan cucut, namun demikian perlu dilihat lebih lanjut tentang kadar peroksidanya karena makin tinggi kadar peroksida, minyak hati ikan cucut makin cepat rusak.

### 5.1.3 Kadar Peroksida (meq/kg minyak)

Hasil analisis kadar peroksida minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Harga Rata-Rata Kadar Peroksida Minyak Hati Ikan cucut Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (meq/kg)	$\bar{X} \pm KV$ (meq/kg)	$\bar{X} \pm KV$ (meq/kg)	$\bar{X} \pm KV$ (meq/kg)
15	5	7,25±0,00	6,25±0,01	7,15±0,00	8,23±0,01
	6	7,43±0,00	7,11±0,00	7,75±0,45	7,43±0,00
	7	7,36±0,00	7,43±0,00	**8,64±0,00	8,27±0,04
	8	5,64±0,01	5,79±0,00	6,24±0,47	7,78±0,00
20	5	4,46±0,00	6,75±0,00	6,87±0,00	7,56±0,00
	6	5,46±0,00	6,44±0,00	6,46±0,00	7,57±0,00
	7	4,86±0,00	5,63±0,00	6,47±0,00	7,73±0,38
	8	4,74±0,00	6,66±0,00	6,77±0,00	7,34±0,00
25	5	*3,96±0,00	5,67±0,00	7,74±0,00	8,36±0,00
	6	5,43±0,00	6,64±0,00	6,87±0,00	7,76±0,00
	7	4,47±0,00	5,66±0,00	6,67±0,00	7,56±0,00
	8	4,76±0,00	6,64±0,00	6,78±0,00	7,65±0,00
30	5	5,45±0,00	6,12±0,00	6,23±0,00	7,45±0,00
	6	5,55±0,00	6,46±0,00	6,76±0,00	7,56±0,00
	7	5,67±0,00	6,77±0,00	7,84±0,00	7,87±0,00
	8	6,12±0,00	6,57±0,00	6,87±0,00	7,78±0,00
Tradisional		9,14±0,21			

Keterangan :  $\bar{X}$  = rata-rata dari 3 ulangan  
 KV = koefisien variasi  
 \* = kadar peroksida terendah  
 \*\* = kadar peroksida tertinggi

Pada tabel di atas terlihat bahwa perlakuan kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C kadar peroksidanya 5,66 meq/kg minyak.

Sebenarnya kadar peroksida yang terendah adalah 3,96 meq/kg minyak untuk kadar garam 25 %, pH 5, suhu 35°C. Tetapi kadar peroksida 5,66 meq/kg minyak meskipun lebih tinggi namun masih di bawah standar yang ditetapkan oleh FAO.

Hasil sidik ragam kadar peroksida minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 9.

Tabel 9. Sidik Ragam Kadar Peroksida Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	23,029	7,6763	1384,97	0,0000
pH (P)	3	3,141	1,047	188,90	0,0000
Suhu (S)	3	125,320	41,775	7537,08	0,0000
G * P	9	18,464	2,0516	370,15	0,0000
G * S	9	21,299	2,3666	426,98	0,0000
P * S	9	6,0828	0,67587	121,94	0,0000
G * P * S	27	14,667	0,54320	98,01	0,0000**
Acak	128	0,70945	0,0055426		
Total	191	212,72			

Keterangan :\*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar peroksida minyak.

Untuk mengetahui tingkat kerusakan minyak, selain kadar peroksida juga dapat dilihat kadar asam lemak bebasnya.

#### 5.1.4 Kadar Asam Lemak Bebas (%)

Hasil analisis kadar asam lemak bebas minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 10.

Tabel 10. Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Bebas Minyak Hati ikan Cucut Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	0,10±0,04	0,10±0,12	0,13±0,12	0,13±0,09
	6	*0,09±0,17	0,12±0,03	0,13±0,09	0,15±0,08
	7	0,10±0,12	0,13±0,03	0,12±0,24	0,16±0,10
	8	0,10±0,28	0,11±0,01	0,15±0,21	0,13±0,09
20	5	0,24±0,35	0,11±0,11	0,12±0,03	0,15±0,02
	6	0,13±0,03	0,10±0,03	0,11±0,03	0,10±0,03
	7	0,15±0,08	0,14±0,08	0,24±0,08	0,15±0,08
	8	0,11±0,03	0,11±0,11	0,13±0,12	0,12±0,00
25	5	0,14±0,04	0,21±0,05	0,22±0,07	0,35±0,08
	6	0,16±0,01	0,18±0,00	0,32±0,01	0,21±0,00
	7	0,16±0,04	0,10±0,03	0,25±0,06	0,20±0,01
	8	**0,68±0,14	0,11±0,05	0,17±0,02	0,33±0,01
30	5	0,17±0,06	0,22±0,03	0,32±0,05	0,34±0,30
	6	0,19±0,06	0,22±0,05	0,28±0,05	0,35±0,04
	7	0,13±0,09	0,22±0,05	0,24±0,03	0,34±0,03
	8	0,15±0,05	0,22±0,05	0,18±0,01	0,22±0,16
Tradisional		0,51±0,07			

Keterangan :  $\bar{X}$  : harga rata-rata 3 ulangan  
 KV : koefisien variasi  
 \* : kadar asam lemak bebas terendah  
 \*\* : kadar asam lemak bebas tertinggi

Hasil pengamatan terhadap kadar asam lemak bebas minyak hati ikan cucut menunjukkan bahwa perlakuan dengan kadar

garam 25 %, pH 7, suhu 45°C kadar asam lemak bebasnya 0,10 % yang sebenarnya cukup rendah karena menurut standar yang ditetapkan FAO adalah 0,4 %.

Hasil sidik ragam kadar asam lemak bebas minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 11.

Tabel 11. Sidik Ragam Kadar Asam Lemak bebas Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	0,55065	0,18355	43,10	0,0000
pH (P)	3	0,005716	0,0019053	0,45	0,0000
Suhu (S)	3	0,10598	0,035325	8,30	0,0000
G * P	9	0,19482	0,021646	5,08	0,0001
G * S	9	0,19729	0,021921	5,15	0,0000
P * S	9	0,15293	0,016992	3,99	0,0002
G * P * S	27	0,53289	0,019736	4,63	0,0000**
Acak	128	0,54508	0,0042585		
<b>Total</b>	<b>191</b>	<b>2,2853</b>			

Keterangan : \*\* hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak bebas minyak.

Kualitas minyak selain ditentukan kadar peroksida, kadar asam lemak bebas juga dipengaruhi oleh kadar air dalam minyak karena selama penyimpanan kadar air dapat menghidrolisis minyak.

### 5.1.5 Kadar Air (%)

Hasil analisis kadar air minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12. Harga Rata-Rata Kadar Air Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	10,63±0,00	9,77±0,00	8,24±0,00	8,34±0,00
	6	10,23±0,00	9,41±0,00	8,85±0,01	7,28±0,00
	7	8,84±0,01	7,67±0,00	7,26±0,00	6,43±0,03
	8	8,46±0,01	7,23±0,00	7,22±0,01	4,44±0,00
20	5	8,16±0,02	8,18±0,00	7,03±0,00	5,35±0,00
	6	**10,86±0,00	10,25±0,01	5,84±0,00	5,67±0,01
	7	9,77±0,00	8,58±0,00	7,74±0,01	7,35±0,00
	8	8,56±0,01	8,05±0,01	7,66±0,00	6,42±0,00
25	5	8,57±0,06	8,36±0,01	8,16±0,00	7,65±0,02
	6	7,43±0,00	7,30±0,02	7,25±0,00	6,24±0,00
	7	8,33±0,00	7,48±0,00	7,47±0,00	6,24±0,01
	8	8,47±0,26	8,25±0,02	7,22±0,00	7,20±0,00
30	5	7,75±0,00	7,44±0,00	7,37±0,00	7,31±0,00
	6	6,64±0,00	6,44±0,01	5,45±0,01	4,90±0,00
	7	6,27±0,00	5,26±0,00	5,23±0,00	4,32±0,00
	8	5,34±0,00	4,55±0,00	4,32±0,01	*4,20±0,00
Tradisional		6,32±0,51			

Keterangan :  $\bar{X}$  : harga rata-rata 3 ulangan  
 KV : koefisien variasi  
 \* : kadar air terendah  
 \*\* : kadar air tertinggi

Kadar air dari semua perlakuan rata-rata 4 % dan dibawah 11 %. Perlakuan kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C kadar airnya 7,48 %. Sebenarnya kadar air terendah adalah



perlakuan dengan kadar garam 30 %, pH8, suhu 65°C yaitu 4,20 % tetapi kadar skualennya rendah 66,65 %.

Hasil sidik ragam kadar air minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 13.

Tabel 13. Sidik Ragam Kadar Air Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	158,740	52,9120	11784,78	0,0000
pH (P)	3	43,792	14,5970	3251,21	0,0000
Suhu (S)	3	126,390	42,1290	9383,29	0,0000
G * P	9	76,680	8,5200	1897,61	0,0000
G * S	9	24,404	2,7452	611,42	0,0000
P * S	9	9,638	1,0709	238,51	0,0000
G * P * S	27	31,059	1,1503	256,21	0,0000**
Acak	128	0,5747	0,0044898		
Total	191	471,57			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar air pada minyak.

Untuk mengetahui kualitas minyak selain kadar skualen, kadar peroksida, kadar asam lemak bebas dan kadar air juga bisa dilihat kadar asam lemak esensial yaitu asam lemak linoleat, asam lemak linolenat dan asam lemak arachidonat.

### 5.1.6 Kadar Asam Lemak Linoleat (%)

Hasil analisis kadar asam lemak linoleat minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 14.

Tabel 14. Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Linoleat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

Garam (%)	pH awal	Suhu (°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	2,15±0,09	1,78±0,05	1,47±0,14	1,45±0,30
	6	1,35±0,01	1,45±1,14	1,44±0,09	1,21±0,32
	7	1,07±0,55	1,06±0,02	0,90±0,17	0,79±0,08
	8	0,64±0,37	0,38±0,01	0,44±0,05	*0,17±0,00
20	5	1,55±0,10	**2,35±0,04	0,22±0,02	0,36±0,03
	6	0,50±0,07	0,60±0,06	0,72±0,04	0,89±0,04
	7	0,34±0,12	0,37±0,10	0,74±0,16	0,62±0,50
	8	0,74±0,18	0,53±0,47	0,86±0,15	0,76±0,23
25	5	0,64±0,02	0,77±0,07	0,89±0,10	1,12±0,12
	6	1,00±0,01	0,84±0,57	0,74±0,08	1,07±0,49
	7	0,64±0,51	1,15±4,36	1,21±4,26	1,18±0,27
	8	1,18±0,14	1,57±4,10	1,16±0,07	1,57±1,09
30	5	1,27±1,30	0,37±4,76	1,18±0,86	1,47±0,14
	6	0,44±0,24	1,36±1,02	1,42±0,03	1,43±0,13
	7	0,45±0,19	0,44±0,21	1,35±0,01	1,44±0,01
	8	0,68±0,52	1,40±0,50	1,84±0,22	2,13±1,10
Tradisional		1,42±0,02			

Keterangan :  $\bar{X}$  : harga rata-rata 3 ulangan  
 KV : koefisien variasi  
 \* : kadar asam lemak linoleat terendah  
 \*\* : kadar asam lemak linoleat tertinggi

Harga rata-rata kadar asam lemak linoleat antara 0,17 % sampai dengan 2,35 %. Minyak yang baik adalah yang kadar

asam lemak linoleatnya tertinggi. Pada perlakuan dengan kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C kadar asam lemak linoleat 1,15 % dan yang tertinggi adalah 2,35 % pada perlakuan kadar garam 20 %, pH 5, suhu 45°C. Tetapi pada perlakuan yang kadar asam lemak linoleatnya tertinggi, kadar skualennya rendah yaitu 62,26 %, disamping resiko pembusukan dapat terjadi pada kadar garam 20 %.

Hasil sidik ragam kadar asam lemak linoleat minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 15.

Tabel 15. Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Linoleat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	4,6974	1,5658	47,79	0,0000
pH (P)	3	2,6617	0,89725	27,08	0,0000
Suhu (S)	3	0,8766	0,29222	8,92	0,0000
G * P	9	15,1570	1,6841	51,40	0,0000
G * S	9	8,5713	0,9524	29,07	0,0000
P * S	9	3,7218	0,41353	12,62	0,0000
G * P * S	27	10,6410	0,39412	12,03	0,0000**
Acak	128	4,1939	0,032765		
Total	191	50,521			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak linoleat minyak.

Selain asam lemak linoleat, asam lemak linolenat minyak hati ikan cucut dapat menjadi indikator kualitas minyak.

### 5.1.7 Kadar Asam Lemak Linolenat (%)

Hasil analisis kadar asam lemak linolenat minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 16.

Tabel 16. Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Linolenat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	**0,43±0,04	0,36±0,09	0,33±0,70	0,41±0,04
	6	0,32±0,06	0,38±0,10	0,33±0,14	0,34±0,03
	7	0,38±0,07	0,34±0,09	0,36±0,14	0,34±0,05
	8	0,34±0,04	0,36±0,13	0,32±0,13	0,37±0,12
20	5	0,35±0,04	0,28±0,05	0,27±0,11	0,35±0,22
	6	0,35±0,15	0,33±0,10	0,26±0,06	0,36±0,13
	7	0,25±0,16	0,33±0,15	0,17±0,07	*0,00±0,00
	8	0,25±0,04	0,29±0,05	0,30±0,08	0,31±0,23
25	5	0,00±0,00	0,00±0,00	0,37±0,20	0,21±0,06
	6	0,24±0,04	0,23±0,12	0,22±0,21	0,30±0,14
	7	0,26±0,06	0,43±0,07	0,22±0,08	0,37±0,12
	8	0,41±0,10	0,37±0,06	0,36±0,12	0,28±0,05
30	5	0,31±0,07	0,00±0,00	0,22±0,11	0,33±0,07
	6	0,00±0,00	0,00±0,00	0,28±0,03	0,28±0,03
	7	0,00±0,00	0,25±0,06	0,36±0,09	0,32±0,06
	8	0,00±0,00	0,00±0,00	0,38±0,10	0,31±0,13
Tradisional		0,40±0,10			

Keterangan :  $\bar{X}$  = rata-rata dari 3 ulangan  
 KV = koefisien variasi  
 \* = kadar asam lemak linolenat terendah  
 \*\* = kadar asam lemak linolenat tertinggi

Berdasarkan hasil pengamatan tabel di atas nampak bahwa kadar asam lemak linolenat berkisar antara 0 % sampai dengan 0,43 %. Untuk kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C selain kadar skuallennya tinggi ternyata kadar asam lemak linolenatnya juga tinggi yaitu 0,43 %.

Hasil sidik ragam kadar asam lemak linolenat minyak yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada

Tabel 17.

Tabel 17. Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Linolenat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	0,68112	0,22704	37,66	0,0000
pH (P)	3	0,024859	0,0082195	1,36	0,0000
Suhu (S)	3	0,16061	0,053538	8,88	0,0000
G * P	9	0,51348	0,057053	9,46	0,0000
G * S	9	0,64688	0,071876	11,92	0,0000
P * S	9	0,26955	0,029950	4,97	0,0000
G * P * S	27	0,69088	0,025588	4,24	0,0000**
Acak	128	0,77163	0,0060284		
Total	191	3,7588			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak linolenat minyak.

Selain kadar asam lemak linoleat, asam lemak linolenat, yang termasuk dalam golongan asam lemak esensial adalah asam lemak arachidonat yang juga menentukan kualitas minyak.

### 5.1.8 Kadar Asam Lemak Arachidonat (%)

Hasil analisis kadar asam lemak arachidonat minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 18.

Tabel 18. Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Arachidonat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi menggunakan enzim papain

Garam (%)	pH awal	Suhu (°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	1,49±0,90	**2,30±0,63	1,49±0,90	1,50±0,21
	6	1,41±0,64	1,44±0,70	1,24±0,30	1,79±0,50
	7	1,86±0,09	0,23±0,58	0,57±0,09	1,36±0,64
	8	1,49±0,76	1,79±0,05	0,62±0,24	*0,00±0,00
20	5	1,84±0,01	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
	6	0,00±0,00	0,00±0,00	1,49±0,03	0,00±0,00
	7	0,00±0,00	1,58±0,24	0,00±0,00	1,79±0,20
	8	0,00±0,00	1,46±0,55	0,00±0,00	1,36±0,65
25	5	1,70±0,20	0,00±0,00	0,00±0,00	0,29±0,17
	6	1,57±0,68	0,00±0,00	0,00±0,00	0,38±0,30
	7	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,70±0,24
	8	0,00±0,00	1,32±0,18	0,00±0,00	0,00±0,00
30	5	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1,49±0,19
	6	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	2,24±0,01
	7	0,00±0,00	0,00±0,00	1,54±0,27	0,00±0,00
	8	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	1,24±0,80
Tradisional		1,43±0,34			

Keterangan :  $\bar{X}$  = rata-rata dari 3 ulangan

KV = koefisien variasi

\* = kadar asam lemak arachidonat terendah

\*\* = kadar asam lemak arachidonat tertinggi

Dari tabel di atas nampak bahwa kadar asam lemak arachidonat berkisar antara 0 % sampai 2,3 %. Perlakuan

dengan kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C kadar asam lemak arachidonat justru rendah yaitu 0 %, tetapi kadar skualennya tertinggi 89,27 %. Walaupun kadar asam lemak arachidonat tertinggi 2,3 % perlakuan kadar garam 15 %, pH 5, suhu 45°C kandungan skualennya 82,06 %.

Hasil sidik ragam kadar asam lemak arachidonat minyak yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 19.

Tabel 19. Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Arachidonat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

SK	db	JK	KT	F hitung	P
Garam (G)	3	26,287	8,7625	416,70	0,0000
pH (P)	3	1,098	0,3662	17,42	0,0000
Suhu (S)	3	5,041	1,6805	79,92	0,0000
G * P	9	6,428	0,7138	33,95	0,0000
G * S	9	15,630	1,7367	82,59	0,0000
P * S	9	12,232	1,3591	64,63	0,0000
G * P * S	27	48,600	1,8000	85,60	0,0000**
Acak	128	2,6916	0,021028		
Total	191	118,01			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak arachidonat minyak

Sebagai penunjang kualitas minyak selain asam lemak esensial juga bisa digunakan kadar vitamin A.

### 5.1.9 Kadar Vitamin A ( 1000 IU/g minyak)

Hasil analisis kadar vitamin A minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 20.

Tabel 20. Harga Rata-Rata Kadar Vitamin A Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (1000 IU/g)	$\bar{X} \pm KV$ (1000 IU/g)	$\bar{X} \pm KV$ (1000 IU/g)	$\bar{X} \pm KV$ (1000 IU/g)
15	5	10,23±0,00	10,22±0,00	10,05±0,00	10,01±0,24
	6	**10,80±0,00	10,26±0,00	10,22±0,00	10,16±0,00
	7	10,26±0,00	10,26±0,00	10,17±0,00	10,13±0,00
	8	10,62±0,00	10,31±0,00	10,28±0,00	10,26±0,00
20	5	10,22±0,00	10,11±0,00	10,09±0,00	10,05±0,00
	6	10,27±0,00	10,25±0,00	10,22±0,00	10,11±0,00
	7	10,25±0,00	10,25±0,00	10,23±0,00	10,22±0,00
	8	10,27±0,00	10,22±0,00	10,17±0,00	10,13±0,00
25	5	8,90±0,04	7,04±0,01	6,07±0,01	5,14±0,00
	6	8,76±0,11	7,79±0,00	5,96±0,01	5,04±0,01
	7	8,95±0,00	6,05±0,00	5,15±0,00	4,14±0,01
	8	8,77±0,41	8,05±0,00	7,15±0,00	6,15±0,00
30	5	8,11±0,00	7,92±0,02	6,84±0,16	4,88±0,38
	6	7,04±0,05	6,06±0,01	5,08±0,01	4,10±0,00
	7	8,88±0,06	7,11±0,00	6,07±0,00	5,15±0,00
	8	8,83±0,10	7,82±0,25	5,07±0,00	*4,06±0,00
Tradisional		7,24±0,02			

Keterangan :  $\bar{X}$  = rata-rata dari 3 ulangan  
 KV = koefisien variasi  
 \* = kadar vitamin A terendah  
 \*\* = kadar vitamin tertinggi

Berdasarkan hasil pengamatan tabel di atas nampak bahwa kadar vitamin A pada perlakuan kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C adalah 6,05 IU/g minyak. Sebenarnya kadar



vitamin A tertinggi adalah 10,01 IU/g minyak untuk perlakuan kadar garam 15 %, pH 6, suhu 35°C, tetapi kadar skualennya 73,37 %.

Hasil sidik ragam kadar vitamin A minyak yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 21.

Tabel 21. Sidik Ragam Kadar Vitamin A Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Papain

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	625,100	208,37	98258,28	0,0000
pH (P)	3	4,0294	1,3431	633,38	0,0000
Suhu (S)	3	104,590	34,865	16441,07	0,0000
G * P	9	23,120	2,5689	1211,40	0,0000
G * S	9	82,696	9,1885	4332,96	0,0000
G * P * S	27	13,853	0,51306	241,94	0,0000**
Acak	128	0,27144	0,0021206		
Total	191	855,96			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar vitamin A minyak

## **5.2 Ekstraksi Dengan Bromelin**

Peningkatan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut (*Centrophorus squamosus*) dengan teknik ekstraksi enzimatis. Studi optimasi kondisi kerja enzim bromelin.

Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan enzim bromelin kasar 24 % (b/b) yang dicampur dengan hati ikan cucut, kemudian ditambahkan garam (15,20,25,30)% dan diatur pH awalnya (5,6,7,8) sehingga menghasilkan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut seperti berikut ini.

### **5.2.1 Rendemen (%)**

Hasil analisis rendemen minyak hati ikan cucut di ekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 22.

Tabel 22. Harga Rata-Rata Rendemen Minyak Diekstraksi Menggunakan Enzim bromelin

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	79,23±0,00	80,66±0,00	79,20±0,00	75,32±0,00
	6	82,23±0,43	**85,65±0,16	82,21±0,00	77,45±0,00
	7	78,63±0,00	82,35±0,02	80,71±0,00	75,73±0,00
	8	77,67±0,00	78,64±0,00	77,66±0,01	74,65±0,11
20	5	75,58±0,00	80,61±0,04	82,37±0,00	*73,16±1,63
	6	83,76±0,00	82,19±0,00	85,28±0,00	80,71±0,00
	7	81,56±0,01	84,48±0,00	82,92±0,00	80,68±0,00
	8	80,47±0,00	81,66±0,00	83,61±0,00	78,46±0,00
25	5	75,70±0,00	78,69±0,00	84,32±0,00	81,62±0,00
	6	83,73±0,00	82,21±0,00	82,28±3,52	80,73±0,00
	7	84,58±0,00	85,31±0,00	85,42±0,00	80,65±0,00
	8	80,17±0,00	81,71±0,00	83,22±0,00	79,51±0,00
30	5	76,48±0,00	80,24±0,00	82,62±0,02	78,81±0,00
	6	79,41±0,00	82,68±0,00	82,69±0,00	77,51±0,00
	7	78,83±0,00	80,53±0,00	81,62±0,00	78,77±0,00
	8	79,18±0,00	80,49±0,00	82,05±0,37	79,78±0,00
Tradisional		70,00±1,42			

Keterangan :  $\bar{X}$  = rata-rata dari 3 ulangan  
 KV = koefisien variasi  
 \* = rendemen terendah  
 \*\* = rendemen tertinggi

Berdasarkan hasil pengamatan tabel di atas perlakuan yang menghasilkan rendemen tergolong tinggi adalah kadar garam 15 %, pH 6, suhu 45°C (85,65 %); kadar garam 20 %, pH 6, suhu 55°C (85,28 %); kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C (85,31 %) dan kadar garam 25 %, pH 7, suhu 55°C (85,42°C).

Sedangkan yang tertinggi adalah kadar garam 15 %, pH 6, suhu 45°C (85,65 %) dan terendah kadar garam 20 %, pH 5, suhu 65°C (73,16 %).

Hasil sidik ragam rendemen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 23.

Tabel 23. Sidik Ragam Rendemen Minyak Hati Ikan Cucut Yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	183,030	61,011	448,97	0,0000
pH (P)	3	236,760	78,921	580,77	0,0000
Suhu (S)	3	461,190	160,400	1180,35	0,0000
G * P	9	191,840	21,315	156,86	0,0000
G * S	9	113,610	12,315	92,89	0,0000
P * S	9	71,811	7,979	58,72	0,0000
G * P * S	27	181,000	6,7038	49,33	0,0000**
Acak	128	17,394	0,13589		
Total	191	1476,6			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap rendemen minyak

### 5.2.2 Kadar Skualen (%)

Hasil analisis kadar skualen minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 24.

Tabel 24. Harga Rata-Rata Kadar Skualen Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	60,45±0,00	70,83±0,00	62,32±0,08	67,84±0,00
	6	57,67±0,00	73,66±0,00	60,86±0,00	69,54±0,00
	7	64,05±0,00	69,55±0,00	75,59±0,00	64,24±0,00
	8	66,16±0,00	68,93±0,00	63,29±0,00	60,44±0,00
20	5	66,13±0,00	62,51±0,35	63,85±0,00	62,35±0,00
	6	65,73±0,00	62,36±0,00	60,45±0,00	63,85±0,02
	7	62,16±0,00	63,35±0,00	54,85±0,00	63,86±0,00
	8	66,33±0,18	61,39±0,00	60,46±0,00	54,35±0,10
25	5	64,64±0,00	68,57±0,00	64,75±0,00	56,65±0,00
	6	74,75±0,00	72,24±0,00	58,57±0,00	*51,96±0,00
	7	68,95±0,00	75,51±0,00	65,17±0,00	53,84±0,00
	8	69,54±0,00	55,76±0,00	67,08±0,00	53,15±0,00
30	5	68,86±0,00	76,47±0,00	77,35±0,00	67,06±0,00
	6	59,71±0,04	69,88±0,05	**77,46±0,00	67,05±0,00
	7	60,08±0,00	59,56±0,00	76,07±0,00	54,84±0,00
	8	65,71±0,02	69,87±0,00	71,97±0,00	67,63±0,00
Tradisional		69,32±0,66			

Keterangan :  $\bar{X}$  = rata-rata dari 3 ulangan  
 KV = koefisien variasi  
 \* = kadar skualen terendah  
 \*\* = kadar skualen tertinggi

Dari tabel di atas nampak bahwa perlakuan kadar garam 15 %, pH 6, suhu 45°C kadar skualennya tidak optimal (73,66 %), tetapi justru perlakuan kadar garam 30 %, pH 6, suhu 55°C yang menghasilkan kadar skualen tertinggi yaitu 77,46 %.

Bila dikaitkan dengan rendemen ternyata kadar garam 30, %, pH 6, suhu 55°C meskipun rendemennya lebih rendah (82,69

% ) lebih menguntungkan karena kadar skualen termasuk tolok ukur kualitas minyak hati ikan cucut dan rendemennya hanya berbeda 2,96 % dari perlakuan kadar garam 15 %, pH 6, suhu 45°C (85,65 %).

Hasil sidik ragam kadar skualen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 25.

Tabel 25. Sidik Ragam Kadar Skualen Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	968,97	322,990	27815,30	0,0000
pH (P)	3	159,09	53,031	4566,92	0,0000
Suhu (S)	3	1088,30	362,760	31240,31	0,0000
G * P	9	735,57	81,730	7038,34	0,0000
G * S	9	2461,80	273,530	23556,13	0,0000
P * S	9	463,82	51,758	4457,23	0,0000
G * P * S	27	1732,70	64,174	5526,48	0,0000**
Acak	128	1,4863	0,011612		
<b>Total</b>	<b>191</b>	<b>7613,7</b>			

Keterangan :\*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar skualen minyak

Walaupun kadar skualen merupakan penentu kualitas minyak hati ikan cucut, namun demikian perlu dilihat lebih lanjut kadar peroksida karena makin besar kadar peroksida minyak makin cepat rusak.

### 5.2.3 Kadar Peroksida (meq/kg minyak)

Hasil analisis kadar peroksida minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 26.

Tabel 26. Harga Rata-Rata Kadar Peroksida Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

Garam (%)	pH awal	Suhu (°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (meq/kg)	$\bar{X} \pm KV$ (meq/kg)	$\bar{X} \pm KV$ (meq/kg)	$\bar{X} \pm KV$ (meq/kg)
15	5	7,66±0,00	6,65±0,00	7,76±0,00	8,58±0,00
	6	6,33±0,00	6,66±0,00	6,73±0,00	7,75±0,00
	7	7,76±0,00	6,67±0,00	8,77±0,00	7,75±0,00
	8	6,46±0,00	6,77±0,00	7,78±0,00	8,44±0,00
20	5	5,65±0,00	6,45±0,00	7,73±0,00	**8,65±0,02
	6	7,75±0,00	6,56±0,00	6,65±0,00	7,67±0,00
	7	6,66±0,00	6,77±0,00	7,76±0,00	7,79±0,00
	8	4,56±0,02	5,67±0,00	6,76±0,00	7,56±0,00
25	5	5,45±0,00	6,46±0,00	6,77±0,00	7,58±0,00
	6	6,23±0,00	6,45±0,00	6,45±0,00	7,57±0,00
	7	5,55±0,00	6,76±0,00	6,87±0,00	7,56±0,00
	8	6,46±0,00	6,76±0,00	7,55±0,20	7,78±0,00
30	5	*4,45±0,00	4,46±0,00	6,67±0,00	7,55±0,00
	6	5,66±0,00	6,55±0,00	6,65±0,00	7,46±0,00
	7	6,55±0,00	6,77±0,00	7,56±0,00	7,78±0,00
	8	6,66±0,00	6,78±0,00	7,55±0,00	7,57±0,00
Tradisional		9,14±0,21			

Keterangan :  $\bar{X}$  = rata-rata dari 3 ulangan  
 KV = koefisien variasi  
 \* = kadar peroksida terendah  
 \*\* = kadar peroksida tertinggi

Pada tabel di atas terlihat bahwa perlakuan kadar garam 30 %, pH 6, suhu 55°C kadar peroksidanya 6,65 meq/kg minyak. Sebenarnya kadar peroksida yang terendah

adalah 4,45 meq/kg minyak untuk kadar garam 30 %, pH 5, suhu 35°C, tetapi kadar skualennya 68,86 %. Walaupun kadar peroksida 6,77 meq/kg minyak, namun demikian masih dibawah standar yang ditetapkan FAO.

Hasil sidik ragam kadar peroksida minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 27.

Tabel 27. Sidik Ragam Kadar Peroksida Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	10,305	3,4350	37905,61	0,0000
pH (P)	3	2,6532	0,88440	9759,37	0,0000
Suhu (S)	3	73,162	24,387	269112,52	0,0000
G * P	9	28,492	3,1658	34934,41	0,0000
G * S	9	6,4126	0,71251	7862,54	0,0000
P * S	9	11,760	1,3067	14419,60	0,0000
G * P * S	27	19,273	0,71382	7876,95	0,0000**
Acak	128	0,011599	0,00090621		
Total	191	152,07			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar peroksida minyak

Untuk mengetahui tingkat kerusakan minyak selain kadar peroksida juga dapat digunakan kadar asam lemak bebas.

#### 5.2.4 Kadar Asam Lemak Bebas (%)

Hasil analisis kadar asam lemak bebas minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 28.



Tabel 28. Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Bebas Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	0,24±0,04	0,34±0,03	0,44±0,03	0,37±0,00
	6	0,24±0,00	0,36±0,00	0,45±0,00	0,37±0,00
	7	0,24±0,02	0,35±0,00	**0,48±0,03	0,37±0,02
	8	0,24±0,05	0,37±0,05	0,45±0,01	0,37±0,01
20	5	0,21±0,03	0,22±0,01	0,14±0,13	0,23±0,01
	6	0,12±0,03	0,17±0,01	*0,09±0,05	0,12±0,00
	7	0,12±0,00	0,10±0,04	0,11±0,00	0,12±0,02
	8	0,18±0,00	0,18±0,02	0,12±0,04	0,11±0,03
25	5	0,34±0,00	0,25±0,00	0,17±0,01	0,16±0,00
	6	0,35±0,00	0,25±0,00	0,15±0,00	0,14±0,00
	7	0,35±0,00	0,25±0,03	0,14±0,00	0,11±0,00
	8	0,26±0,00	0,25±0,00	0,12±0,00	0,11±0,02
30	5	0,34±0,00	0,32±0,09	0,25±0,00	0,14±0,04
	6	0,25±0,00	0,25±0,00	0,16±0,01	0,16±0,01
	7	0,44±0,00	0,25±0,00	0,23±0,01	0,15±0,00
	8	0,45±0,00	0,37±0,00	0,16±0,00	0,14±0,00
Tradisional		0,51±0,07			

Keterangan :  $\bar{X}$  : harga rata-rata 3 ulangan  
 KV : koefisien variasi  
 \* : kadar asam lemak bebas terendah  
 \*\* : kadar asam lemak bebas tertinggi

Hasil pengamatan terhadap kadar asam lemak bebas minyak hati ikan cucut menunjukkan bahwa perlakuan dengan kadar garam 30 %, pH 7, suhu 55°C kadar asam lemak bebasnya 0,16 % yang sebenarnya cukup rendah karena menurut standar yang ditetapkan FAO adalah 0,4 %.

Hasil sidik ragam kadar asam lemak bebas minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 29.

Tabel 29. Sidik ragam kadar asam lemak bebas minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	1,0994	0,36648	4674,38	0,0000
pH (P)	3	0,025683	0,0085611	109,19	0,0000
Suhu (S)	3	0,17887	0,059622	760,46	0,0000
G * P	9	0,078988	0,0087765	111,94	0,0000
G * S	9	0,76902	0,085447	1089,84	0,0000
P * S	9	0,038197	0,0042441	54,13	0,0000
G * P * S	27	0,083243	0,0030831	39,32	0,0000**
Acak	128	0,010038	0,000078402		
<b>Total</b>	<b>191</b>	<b>2.2835</b>			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak bebas minyak.

Kualitas minyak selain ditentukan kadar peroksida dan kadar asam lemak bebas, juga dipengaruhi oleh kadar air dalam minyak karena selama penyimpanan kadar air dapat menghidrolisis minyak.

### 5.2.5 Kadar Air (%)

Hasil analisis kadar air minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 30.

Tabel 30. Harga Rata-Rata Kadar Air Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	10,28±0,04	9,87±0,00	8,37±0,05	7,68±0,00
	6	**10,72±0,02	10,04±0,00	8,56±0,00	8,38±0,05
	7	9,90±0,00	8,83±0,05	8,55±0,00	8,33±0,01
	8	8,45±0,00	8,37±0,03	7,47±0,03	7,36±0,00
20	5	9,46±0,00	9,33±0,00	8,75±0,00	8,55±0,00
	6	8,35±0,00	8,05±0,00	7,57±0,00	7,23±0,00
	7	9,53±0,00	8,05±0,01	7,44±0,01	7,39±0,00
	8	8,31±0,00	8,23±0,01	8,13±0,01	7,71±0,00
25	5	8,90±0,00	7,77±0,00	7,34±0,05	7,17±0,00
	6	8,37±0,05	7,57±0,00	7,48±0,00	6,66±0,00
	7	8,52±0,00	8,24±0,02	7,73±0,00	7,70±0,00
	8	7,96±0,00	7,66±0,00	7,30±0,00	6,64±0,00
30	5	6,44±0,03	5,56±0,00	5,42±0,01	4,74±0,00
	6	6,48±0,00	5,89±0,00	5,41±0,00	3,98±0,00
	7	6,25±0,00	5,06±0,00	4,58±0,00	4,09±0,00
	8	5,65±0,03	4,42±0,00	4,22±0,00	*3,77±0,02
Tradisional		6,32±0,51			

Keterangan :  $\bar{X}$  : harga rata-rata 3 ulangan  
 KV : koefisien variasi  
 \* : kadar air terendah  
 \*\* : kadar air tertinggi

Berdasarkan hasil pengamatan tabel di atas nampak bahwa kadar air minyak hati ikan cucut rata-rata 4,20 % sampai dengan 10,86 %. Perlakuan kadar garam 30 %, pH 6, suhu 55°C

kadar airnya 5,41 %. Sebenarnya kadar air terendah adalah 3,77 % untuk kadar garam 30 %, pH 8, suhu 65°C, tetapi kadar skualennya rendah (67,63 %).

Hasil sidik ragam kadar air minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 31.

Tabel 31. Sidik Ragam Kadar Air Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	382,8200	127,6100	18983,65	0,0000
pH (P)	3	18,9530	6,3178	840,87	0,0000
Suhu (S)	3	71,9680	23,9890	3192,86	0,0000
G * P	9	17,1360	1,9040	253,41	0,0000
G * S	9	5,0675	0,56305	74,94	0,0000
P * S	9	3,4496	0,38328	51,01	0,0000
G * P * S	27	8,2647	0,30610	40,74	0,0000**
Acak	128	0,9617	0,0075134		
Total	191	508,62			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar air minyak.

Untuk menentukan kualitas minyak selain dipengaruhi kadar peroksida, kadar asam lemak bebas dan kadar air juga dapat dilihat kadar asam lemak esensial diantaranya adalah kadar asam lemak linoleat.

### 5.2.6 Kadar Asam Lemak Linoleat (%)

Hasil analisis kadar asam lemak linoleat minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 32.

Tabel 32. Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Linoleat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	2,13±1,19	1,55±0,02	2,23±0,16	1,74±0,87
	6	1,45±0,30	1,35±0,01	1,45±1,14	1,21±0,32
	7	1,07±0,55	1,05±0,00	0,96±0,09	0,79±0,80
	8	0,64±0,37	0,38±0,07	0,43±0,13	*0,16±0,00
20	5	0,66±0,18	1,25±0,15	0,89±0,15	0,90±0,17
	6	1,58±0,12	1,51±0,01	1,34±0,00	1,47±0,14
	7	1,67±0,07	1,50±0,66	1,07±0,55	1,06±0,02
	8	1,78±0,40	1,62±0,26	1,33±0,18	1,21±0,29
25	5	1,45±0,67	1,24±0,26	1,90±0,09	1,85±0,27
	6	2,16±0,02	0,47±0,20	1,08±0,25	2,23±1,12
	7	1,53±0,28	1,53±0,20	0,71±0,10	1,58±0,51
	8	2,08±0,16	2,25±0,16	1,29±0,35	1,58±0,07
30	5	1,32±0,39	**2,25±0,08	1,27±0,29	0,50±0,31
	6	1,40±0,35	1,68±0,74	1,66±0,11	1,13±0,10
	7	1,69±0,77	0,68±0,49	1,90±0,09	0,91±0,19
	8	0,51±0,36	1,33±0,16	0,84±0,57	0,59±0,11
Tradisional		1,42±0,02			

Keterangan :  $\bar{X}$  : harga rata-rata 3 ulangan  
 KV : koefisien variasi  
 \* : kadar asam lemak linoleat terendah  
 \*\* : kadar asam lemak linoleat tertinggi

Harga rata-rata kadar asam lemak linoleat pada minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin

Berkisar antara 0,16 % sampai dengan 2,25 %. Minyak yang baik adalah kadar asam lemak linoleatnya tertinggi. Pada perlakuan kadar garam 30 %, pH 6, suhu 55°C kadar asam lemak linoleatnya 1,42 % dan yang tertinggi adalah 2,25 % pada perlakuan kadar garam 30 %, pH 5, suhu 45°C. Tetapi pada perlakuan yang kadar asam lemak linoleatnya tertinggi, justru kadar skualennya rendah yaitu 78,47 %.

Hasil sidik ragam kadar asam lemak linoleat minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 33.

Tabel 33. Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Linoleat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	4,3098	1,4366	50,39	0,0000
pH (P)	3	3,7676	1,2559	44,05	0,0000
Suhu (S)	3	1,8224	0,60748	21,31	0,0000
G * P	9	17,5750	1,9527	68,49	0,0000
G * S	9	6,7770	0,75301	26,41	0,0000
P * S	9	3,2914	0,36572	12,83	0,0000
G * P * S	27	12,2370	0,45323	15,90	0,0000**
Acak	128	3,6495	0,028512		
Total	191	53,430			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak linoleat pada minyak.

Selain kadar asam lemak linoleat, asam lemak linolenat minyak hati ikan cucut juga dapat menjadi indikator kualitas minyak.

### 5.2.7 Kadar Asam Lemak Linolenat (%)

Hasil analisis kadar asam lemak linolenat minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 34.

Tabel 34. Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Linolenat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	0,34±0,04	**0,41±0,06	0,37±0,12	0,32±0,14
	6	0,38±0,07	0,34±0,09	0,33±0,05	0,36±0,14
	7	0,37±0,04	0,38±0,00	0,33±0,07	0,32±0,06
	8	0,41±0,09	0,38±0,10	0,34±0,30	0,33±0,14
20	5	0,30±0,09	*0,00±0,00	0,36±0,13	0,34±0,03
	6	0,00±0,00	0,00±0,00	0,32±0,05	0,31±0,07
	7	0,00±0,00	0,00±0,00	0,32±0,13	0,25±0,04
	8	0,00±0,00	0,00±0,00	0,33±0,07	0,27±0,03
25	5	0,27±0,16	0,26±0,04	0,40±0,16	0,32±0,09
	6	0,00±0,00	0,00±0,00	0,37±0,08	0,40±0,16
	7	0,36±0,17	0,30±0,04	0,00±0,00	0,32±0,04
	8	0,00±0,00	0,26±0,04	0,00±0,00	0,22±0,06
30	5	0,00±0,00	0,00±0,00	0,34±0,13	0,32±0,04
	6	0,34±0,02	0,39±0,03	0,29±0,10	0,29±0,16
	7	0,00±0,00	0,27±0,09	0,30±0,03	0,31±0,05
	8	0,23±0,04	0,29±0,22	0,35±0,31	0,28±0,06
Tradisional		0,40±0,10			

Keterangan :  $\bar{X}$  = rata-rata dari 3 ulangan  
 KV = koefisien variasi  
 \* = kadar asam lemak linolenat terendah  
 \*\* = kadar asam lemak linolenat tertinggi

Berdasarkan hasil pengamatan tabel di atas menunjukkan bahwa kadar asam lemak linolenat minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin berkisar antara 0 % sampai dengan 0,41 %. Untuk perlakuan kadar garam 30 %, pH 5, suhu 55°C kadar asam lemak linolenatnya 0,29 %.

Hasil sidik ragam kadar asam lemak linolenat minyak yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 35.

Tabel 35. Sidik Ragam Kadar Asam Lemak Linolenat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	0,89793	0,29931	60,55	0,0000
pH (P)	3	0,048524	0,016175	3,27	0,0232
Suhu (S)	3	0,59144	0,19715	39,88	0,0000
G * P	9	0,48800	0,054222	10,97	0,0000
G * S	9	0,82639	0,091822	18,58	0,0000
P * S	9	0,19028	0,021143	4,28	0,0001
G * P * S	27	1,0508	0,036920	7,87	0,0000**
Acak	128	0,63273	0,0049432		
Total	191	4,7261			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH, suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak linolenat pada minyak

Selain kadar asam lemak linoleat, asam lemak linolenat yang termasuk dalam asam lemak esensial adalah asam lemak arachidonat yang juga menentukan kualitas minyak.



### 5.2.8 Kadar Asam Lemak Arachidonat (%)

Hasil analisis kadar asam lemak arachidonat minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 36.

Tabel 36. Harga Rata-Rata Kadar Asam Lemak Arachidonat Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

Garam (%)	pH awal	Suhu (°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)	$\bar{X} \pm KV$ (%)
15	5	1,49±0,19	1,54±0,18	0,00±0,00	**2,44±0,15
	6	1,50±0,20	1,42±0,90	1,79±0,50	1,24±0,30
	7	1,15±0,76	1,79±0,05	1,48±0,03	0,58±0,59
	8	1,83±0,18	0,58±0,28	1,36±0,64	1,52±0,76
20	5	*0,00±0,00	0,00±0,00	0,56±0,51	1,57±0,43
	6	0,00±0,00	0,00±0,00	1,75±0,23	1,27±1,03
	7	1,61±0,31	1,74±0,20	0,00±0,00	0,00±0,00
	8	0,00±0,00	0,00±0,00	0,53±0,40	0,00±0,00
25	5	0,00±0,00	0,00±0,00	1,68±0,25	0,00±0,00
	6	0,00±0,00	0,00±0,00	0,52±0,11	0,00±0,00
	7	0,00±0,00	0,00±0,00	0,23±0,05	1,78±0,09
	8	0,00±0,00	0,00±0,00	1,49±0,19	0,00±0,00
30	5	1,47±0,86	1,76±0,62	0,00±0,00	0,00±0,00
	6	0,00±0,00	0,00±0,00	0,48±0,31	1,58±0,76
	7	0,00±0,00	0,37±0,07	0,00±0,00	0,00±0,00
	8	0,00±0,00	0,00±0,00	1,42±0,37	1,60±1,33
Tradisional		1,43±0,34			

Keterangan :  $\bar{X}$  = rata-rata dari 3 ulangan  
 KV = koefisien variasi  
 \* = kadar asam lemak arachidonat terendah  
 \*\* = kadar asam lemak arachidonat tertinggi

Berdasarkan hasil pengamatan tabel di atas nampak bahwa kadar asam lemak arachidonat minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin berkisar antara 0 % sampai dengan 2,44 %. Perlakuan dengan kadar garam 30 %, pH 6, suhu 55°C yang kadar skuallennya tertinggi 77,46 %, justru kadar asam lemak arachidonat termasuk rendah (0,48 %). Walaupun kadar asam lemak arachidonatnya tertinggi 2,44 % pada perlakuan kadar garam 15%, pH 5, suhu 65°C namun demikian kadar skuallennya rendah 67,84 %.

Hasil sidik ragan kadar asam lemak arachidonat minyak yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 37.

Tabel 37. Sidik Ragan Kadar Asam Lemak Arachidonat Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	28,5510	9,5170	251,57	0,0000
pH (P)	3	0,52487	0,17496	4,62	0,0043
Suhu (S)	3	1,9900	0,66334	17,53	0,0000
G * P	9	8,1874	0,91082	24,08	0,0000
G * S	9	3,2428	0,36032	9,52	0,0000
P * S	9	21,740	2,4155	63,85	0,0000
G * P * S	27	48,039	1,7792	47,03	0,0000**
Acak	128	4,8422	0,037830		
Total	191	117,13			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragan dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak arachidonat pada minyak

Sebagai penunjang kualitas minyak selain asam lemak essensial yaitu asam lemak linoleat, asam lemak linolenat, asam lemak arachidonat juga digunakan kadar vitamin A pada minyak.

### 5.2.9 Kadar Vitamin A (1000.IU/gram minyak)

Hasil analisis kadar vitamin A minyak hati ikan cucut diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 38.

Tabel 38. Harga Rata-Rata Kadar Vitamin A Minyak Hati Ikan cucut Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

Garam (%)	pH awal	Suhu(°C)			
		35	45	55	65
		$\bar{X} \pm KV$ (1000 IU/g)	$\bar{X} \pm KV$ (1000 IU/g)	$\bar{X} \pm KV$ (1000 IU/g)	$\bar{X} \pm KV$ (1000 IU/g)
15	5	**10,28±0,00	10,22±0,00	10,21±0,00	10,11±0,00
	6	10,27±0,00	10,25±0,00	10,22±0,00	10,11±0,00
	7	10,29±0,00	10,27±0,00	10,23±0,00	10,11±0,00
	8	10,27±0,00	10,26±0,00	10,22±0,00	10,21±0,00
20	5	10,22±0,00	10,21±0,00	10,18±0,00	10,12±0,00
	6	10,25±0,00	10,22±0,00	10,12±0,00	10,11±0,00
	7	10,27±0,00	10,26±0,00	10,22±0,00	10,11±0,00
	8	10,27±0,00	10,24±0,00	10,21±0,00	10,16±0,00
25	5	8,76±0,03	7,92±0,03	6,75±0,02	5,06±0,00
	6	8,84±0,00	8,74±0,00	6,33±0,00	6,06±0,00
	7	8,67±0,05	8,35±0,00	7,33±0,00	7,22±0,04
	8	8,89±0,27	8,22±0,00	7,28±0,00	7,23±0,00
30	5	8,82±0,13	7,14±0,00	5,92±0,06	*4,11±0,10
	6	8,64±0,00	7,15±0,01	7,04±0,02	5,23±0,00
	7	8,82±0,24	8,39±0,02	6,30±0,03	4,27±0,06
	8	8,61±0,38	7,04±0,00	5,78±0,10	4,14±0,03
Tradisional		7,24±0,02			

Keterangan : X = rata-rata dari 3 ulangan  
 KV = koefisien variasi  
 \* = kadar vitamin A terendah  
 \*\* = kadar vitamin A tertinggi

Dari tabel di atas nampak bahwa kadar vitamin A dari perlakuan kadar garam 30 %, pH 6, suhu 55°C adalah 7,04 IU/g minyak. Sebenarnya kadar vitamin A tertinggi adalah 10,28 IU/g minyak untuk perlakuan kadar garam 15 %, pH 5, suhu 35°C, tetapi kadar skualennya rendah yaitu 60,45 %.

Hasil sidik ragam kadar vitamin A minyak yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 39.

Tabel 39. Sidik Ragam Kadar Vitamin A Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Menggunakan Enzim Bromelin

SK	db	JK	KT	F Hitung	P
Garam (G)	3	465,50	155,17	22892,22	0,0000
pH (P)	3	2,5217	0,84057	124,01	0,0000
Suhu (S)	3	83,139	27,713	4088,59	0,0000
G * P	9	6,0771	0,67523	99,62	0,0000
G * S	9	82,167	9,1297	1346,93	0,0000
P * S	9	2,1586	0,23985	35,39	0,0000
G * P * S	27	11,556	0,42800	63,14	0,0000**
Acak	128	0,86760	0,0067781		
Total	191	653,99			

Keterangan : \*\*) hasil sidik ragam dapat disimpulkan bahwa interaksi kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna terhadap kadar vitamin A pada minyak

### **5.3 Ekstraksi cara Tradisional**

Ekstraksi minyak hati ikan cucut secara tradisional dilakukan dengan penjemuran dan pengukusan. Percobaan ini dilakukan dengan memasukkan hati ikan cucut yang telah dipotong dan dicacah, kedalam wadah yang terbuat dari seng kemudian dijemur. Ciri-ciri bahan baku hati ikan cucut yang digunakan dan jumlah replikasi sama dengan teknik ekstraksi enzimatis. Residu hasil penjemuran dilanjutkan dengan pengukusan. Hasil ekstraksi dimasukkan kedalam botol berwarna coklat dan dihitung rendemennya. Selanjutnya dilakukan analisis kualitas minyak yang hasilnya seperti berikut ini.

1. Rendemen  $70,00 \pm 1,42 \%$
2. Kadar skualen  $69,32 \pm 0,66 \%$
3. Kadar peroksida  $9,14 \text{ meq/kg} \pm 0,21 \%$
4. Kadar asam lemak bebas  $0,51 \pm 0,07 \%$
5. Kadar air  $6,32 \pm 0,51 \%$
6. Kadar asam lemak linoleat  $1,42 \pm 0,02 \%$
7. Kadar asam lemak linolenat  $0,40 \pm 0,10 \%$
8. Kadar asam lemak arachidonat  $1,43 \pm 0,34 \%$
9. Kadar vitamin A  $7.240 \text{ IU/g} \pm 0,02 \%$

### **5.4 Komparasi Hasil Ekstraksi Enzimatis dan Tradisional**

Komparasi hasil penelitian ekstraksi minyak hati ikan cucut menggunakan enzim papain, bromelin dan cara tradisional disajikan pada Tabel 40.

Untuk ekstraksi minyak hati ikan cucut menggunakan enzim papain dan bromelin yang disajikan pada Tabel 40 adalah termasuk menghasilkan rendemen tinggi dan kualitas yang optimal. Penentuan kualitas yang optimal dengan skoring dilakukan dengan cara memberi rangking pada masing-masing parameter. Karena rendemen dan kadar skualen merupakan hal terpenting dalam penelitian ini maka rendemen diberi nilai skor 5 dan kadar skualen diberi nilai skor 10, sedangkan parameter yang lain diberi nilai skor 1. Untuk lebih jelasnya cara pemberian skoring dapat dilihat pada Lampiran 13.

Sedangkan kromatogram hasil analisis asam lemak esensial (linoleat, linolenat dan arachidonat) dari minyak yang diekstraksi dengan enzim papain, bromelin dan cara tradisional dapat dilihat pada Lampiran 1 sampai dengan 9.

Tabel 40. Komparasi Hasil Ekstraksi Enzimatis (papain, bromelin) dan Tradisional

Perlakuan	Rendemen (%)	Skualen (%)	Peroksida (meq/kg)	Asan lemak bebas (%)	Air (%)	Linoleat (%)	Linolenat (%)	Arachidonat (%)	Vitamin A (IU/g)
<b>Papain :</b>									
G3,P3,S2*)	85,77	89,27	5,66	0,10	7,48	1,15	0,43	0,00	6,050
G3,P4,S2	86,90	75,65	6,64	0,11	8,25	1,57	0,37	1,32	8,050
G1,P4,S3	86,64	64,87	6,24	0,15	7,22	0,44	0,32	0,62	10,280
<b>Bromelin :</b>									
G4,P2,S3*)	82,68	77,46	6,65	0,16	5,41	1,66	0,29	0,46	7,040
G1,P2,S2	85,65	73,66	6,66	0,36	10,04	1,35	0,34	1,42	10,250
G3,P3,S3	85,42	65,17	6,87	0,14	7,73	0,71	0,00	0,23	7,330
Tradisional :	70,00	69,32	9,14	0,51	6,32	1,42	0,40	1,43	7,240
Farmakope :	>*	>*	-	<1,2	-	>*	>*	>*	>600
FAO :	>*	>*	<10	<0,4	<0,2	>*	>*	>*	>*

**Keterangan :**

G 1,2,3,4 = Garam 15 x, 20 x, 25 x, 30 x  
 P 1,2,3,4 = pH 5,6,7,8  
 S 1,2,3,4 = Suhu 35°C, 45°C, 55°C, 65°C  
 x) Terbaik  
 >\* Teoritis

## 6 PEMBAHASAN

### 6.1 Bahan Penelitian

Ikan cucut yang digunakan dalam penelitian ini adalah jenis ikan cucut (*Centrophorus squamosus*) yang diperoleh dari Pantai Sendang Biru Kabupaten Malang. Panjang total ikan cucut berkisar antara 69 - 98 cm, dengan berat total 1.680 - 3.740 gram. Hati ikan cucut yang digunakan berasal dari ikan dengan ciri-ciri yang sama. Disamping itu hati ikan cucut yang digunakan juga dengan ciri-ciri yang sama. Berat hati ikan cucut tersebut antara 18 - 25 %.

Oleh karena bahan hati ikan cucut mempunyai ciri-ciri yang sama maka perbedaan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut yang diperoleh benar-benar disebabkan oleh perbedaan prosesnyabukan bahan baku sehingga validitas internal dari percobaan telah terjamin.

Enzim papain yang digunakan adalah papain kasar yang diisolasi dari buah pepaya jenis Thailand berumur 3 bulan. Pepaya diperoleh dari kebun Dinas Pertanian Tanaman Pangan Kabupaten Malang di Kecamatan Tumpang. Papain yang digunakan telah ditera menurut metode Colowick dan Kaplan (1970). Aktivitas enzim adalah 5784 unit/mg.

Konsentrasi enzim papain yang digunakan adalah 16 % (b/b) hal ini disebabkan karena pada penelitian pendahuluan diketahui bahwa dengan konsentrasi 16 % (b/b) ekstraksi



minyak hati ikan cucut dengan papain murni diperoleh rendemen tertinggi, yaitu 88,45 %. Demikian juga dengan papain kasar diperoleh rendemen tertinggi yaitu 79,53 %.

Enzim bromelin yang digunakan adalah bromelin kasar yang diisolasi dari buah nanas jenis Bali berumur 2 bulan 10 hari. Nanas diperoleh dari Desa Njagoran Kecamatan Ponggok Kabupaten Blitar. Papain yang digunakan telah ditera menurut metode Colowick dan Kaplan (1970). Aktivitas enzim adalah 3940,53 g tirosin/menit  $\times 10^{-7}$ .

Konsentrasi enzim bromelin yang digunakan adalah 24 % (b/b) hal ini disebabkan karena pada penelitian pendahuluan diketahui bahwa dengan konsentrasi enzim 24 % (b/b) ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan bromelin murni diperoleh rendemen tertinggi, yaitu 86,62 %. Demikian juga dengan bromelin kasar diperoleh rendemen tertinggi yaitu 74,37 %.

Garam yang digunakan adalah garam rakyat (NaCl) atau dikenal dengan garam meja yang biasa digunakan oleh nelayan dalam pengolahan produk-produk perikanan. Adapun kualitas garam meja telah memenuhi Standar Industri Indonesia (SII) nomor 0141-76.

Ekstraksi minyak hati ikan cucut dilakukan dengan 3 metode. Pertama teknik ekstraksi enzimatis dengan papain. Kedua teknik ekstraksi enzimatis dengan bromelin, dan ketiga ekstraksi cara tradisional.

## 6.2 Rendemen Dan Kualitas Minyak Diekstraksi Dengan Papain

Peningkatan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut (*Centrophorus squamosus*) dengan teknik ekstraksi enzimatis. Studi optimasi kondisi kerja enzim papain. Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan enzim papain 16 % (b/b) yang dicampur dengan hati ikan cucut kemudian ditambahkan garam (15, 20, 25, 30 %) dan diatur pH awalnya (5,6,7,8).

### 6.2.1 Rendemen

Analisis rendemen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain, dilakukan dengan menghitung prosentase minyak persatuan berat hati ikan cucut.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa kadar garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap rendemen minyak (Tabel 5). Hasil rendemen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 4.

Dari Tabel 4 dapat disimpulkan bahwa perlakuan yang menghasilkan rendemen tinggi adalah kadar garam 15 %, pH 6, suhu  $55^{\circ}\text{C}$  (86,46 %); kadar garam 15 %, pH 8, suhu  $55^{\circ}\text{C}$  (86,64 %); kadar garam 25 %, pH 8, suhu  $45^{\circ}\text{C}$  (86,90 %); kadar garam 25 %, pH 7, suhu  $45^{\circ}\text{C}$  (85,77 %). Bila dikaitkan dengan kadar skualen sebagai penentu kualitas minyak hati

ikan cucut maka perlakuan yang terbaik adalah kadar garam 25 %, pH 7 dan suhu inkubasi 45°C dengan rendemen 85,77 % dan kadar skualen tertinggi yaitu 86,90 %. Hal ini menunjukkan bahwa pada kondisi garam 25 % aktivitas enzim papain optimal dalam menghidrolisis protein pada jaringan hati sehingga minyak yang terekstrak juga optimal.

Menurut Ingram dan Kitchell (1967) dan Zaitzev *et al.*, (1969) peranan utama dari garam adalah menarik air atau dehidrasi sel jaringan hati ikan yang bisa menyebabkan plasmolisis. Selanjutnya Kho Teng Hik (1960) mengatakan bahwa akibat terjadinya plasmolisis maka sel-sel hati akan pecah dan minyaknya akan terlepas dari jaringan. Hal ini mengakibatkan rendemen minyak menjadi besar.

Selain garam aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh pH. Nampak bahwa pH 7 adalah optimal. Hal ini didukung hasil penelitian Reed (1975) yang mengatakan bahwa aktivitas enzim papain berkisar antara pH 4,5-8. Selanjutnya Martin *et al.*, (1979) dan Whitaker (1972) mengatakan bahwa aktivitas enzim dipengaruhi oleh ion enzim dan ion substrat. Lebih lanjut dikatakan bahwa dalam reaksi enzimatik kondisi pH yang terlalu asam (kurang dari 3) atau basa (lebih dari 11) akan mengakibatkan perubahan bentuk ion enzim atau ion substrat. Perubahan ion akan menurunkan jumlah efektif ion enzim atau substrat

sehingga dapat menurunkan kecepatan reaksi. Selain itu dengan pH yang terlalu asam atau basa enzim dapat terdenaturasi sehingga aktivitasnya menjadi berkurang (Soeharsono dan Rahayu, 1977 ; Martin *et al.*, 1983).

Dalam percobaan ini suhu  $15^{\circ}\text{C}$  menunjukkan aktivitas enzim optimal. Menurut Muchtadi *et al.*, (1989) dan Lehninger (1975) semua enzim adalah protein, dengan demikian sifat sifat dari protein juga dimiliki oleh enzim. Lebih lanjut dikatakan bahwa pada suhu tinggi enzim mengalami denaturasi, sehingga bisa menyebabkan kehilangan aktivitasnya. Menurut Windsor dan Barlow (1981) perlakuan suhu yang mencapai  $60^{\circ}\text{C}$  dapat melepaskan minyak dari jaringan.

### 6.2.2 Kadar Skualen

Kadar skualen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain, ditentukan dengan metode kolorimetri. Analisis kadar skualen meliputi dua tahapan yaitu pertama, penyabunan untuk memisahkan zat yang tersabunkan dan zat yang tidak tersabunkan (sebagian besar skualen). Kedua isolasi skualen yaitu memisahkan skualen dari zat yang tersabunkan, dengan cara dimasukkan kolom kromatografi berisi florisil dan pelarut n-heksan selanjutnya eluen dibaca pada spektrofotometer panjang gelombang 400 nm.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa kadar garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar skualen (Tabel 7). Hasil kadar skualen minyak yang diekstraksi dengan enzim enzim papain disajikan pada Tabel 6.

Bila dikaitkan dengan rendemen minyak nampak bahwa perlakuan yang menghasilkan rendemen tertinggi 86,90 % (kadar garam 25 %, pH 8, suhu 45°C) justru kadar skualen tidak optimal (75,65 %). Perlakuan kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C meskipun rendemen lebih rendah (85,77 %) tetapi kadar skualen tertinggi yaitu 89,27 %. Kedua macam perlakuan tersebut menghasilkan kadar skualen masih lebih rendah dibandingkan dengan yang diperoleh Heller *et al.*, (1957) yang dapat mencapai 90 %. Hal ini mungkin disebabkan faktor pH yang lebih dominan. Pada pH di atas 7 (pH 8) kadar skualen lebih rendah dibanding pH 7, hal ini kemungkinan disebabkan karena terjadinya adisi campuran jumlah ion  $\text{OH}^-$  dan ion  $\text{Cl}^-$  pada skualen sehingga terbentuk senyawa lain (Fessenden *et al.*, 1983).

Adanya garam selain mampu menarik air juga mengkoagulasikan protein jaringan hati, sehingga minyak mudah lepas dari jaringan akibatnya rendemen minyak menjadi besar yang sekaligus kadar skualen juga meningkat. Menurut Ingram dan Kitchell (1967) garam selain mampu menarik air juga mengkoagulasikan protein jaringan daging ikan.

Pada percobaan ini menunjukkan bahwa pH 7 aktivitas enzim papain optimal. Reed (1975) mengatakan bahwa enzim menunjukkan aktivitas yang optimal pada kondisi pH yang optimal. Lebih lanjut dikatakan bahwa enzim papain bersifat mantap pada kisaran pH 6 - 7,5 dan sifat mantap tersebut turun pada pH dibawah 3 atau diatas 11 (Whitaker, 1972; Reed, 1975). Selain garam dan pH aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh suhu inkubasi. Nampak bahwa suhu inkubasi 45°C aktivitas enzim optimal untuk menghasilkan skualen. Menurut Muchtadi *et al.*, (1989) suhu optimal aktivitas enzim adalah berkisar antara 35 - 50°C.

### 6.2.3 Kadar Peroksida

Penentuan kadar peroksida minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain, dilakukan berdasarkan jumlah iod yang dibebaskan dari potasium iodida melalui reaksi oksidasi oleh peroksida dalam minyak pada suhu ruang di dalam medium asetat kloroform.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa kadar garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna terhadap kadar peroksida ( $P < 0,05$ ) (Tabel 9). Hasil kadar peroksida minyak yang diekstraksi dengan enzim papain dapat dilihat pada Tabel 8. Dari Tabel 8 dapat dilihat bahwa kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C kadar peroksidanya 5,66 meq/kg minyak. Sebenarnya kadar peroksida

di atas masih lebih tinggi dibandingkan perlakuan garam 25 % pH 5, suhu 35°C (3,967 meq/kg). Namun demikian kadar peroksida 5,66 meq/kg minyak adalah masih dibawah standar yang ditetapkan oleh FAO, sehingga perlakuan dengan kadar garam 25 %, pH 7 dan suhu 45°C masih dapat diterapkan. Selanjutnya adanya garam 25°C mampu menekan aktivitas enzim lipoksidasase atau lipoksigenase yang bisa menyebabkan oksidasi pada minyak. Menurut Lunberg (1967) enzim lipoksigenase merupakan katalis biologis yang bisa memacu terjadinya oksidasi minyak secara enzimatis. Selain itu tingginya kadar peroksida tersebut kemungkinan selain akibat oksidasi asam lemak tidak jenuh, juga hasil oksidasi skualen pada minyak. Menurut Miwa (1972) minyak hati ikan cucut mengandung skualen kurang lebih 85 % yaitu senyawa hidrokarbon yang mempunyai 6 buah ikatan rangkap.

Pada kondisi pH 7 minyak masih mengalami oksidasi, hal ini mungkin disebabkan karena adanya aktivitas enzim lipoksigenase sebagai katalis oksidasi enzimatis. Hal ini sesuai dengan pendapat Lunberg (1967) bahwa enzim lipoksigenase dapat melakukan aktivitasnya pada pH 7.

Suhu inkubasi 45°C menunjukkan bahwa pada kondisi tersebut proses oksidasi lebih rendah, dibanding suhu 35, 55, dan 65°C. Nampak dengan naiknya suhu kadar peroksida juga mengalami kenaikan. Menurut Lillard (1978) dengan adanya panas, maka asam lemak tidak jenuh yang memiliki ion hidrogen labil dan mudah terpisah

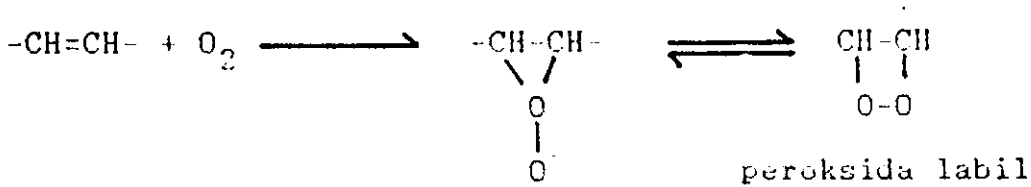
membentuk radikal bebas ( $R^*$ ) pada tahap inisiasi reaksi oksidasi (Lillard, 1978).

Menurut Hardy (1979) radikal bebas adalah senyawa tidak stabil dan mudah diserang oleh oksigen membentuk senyawa peroksida. Pada tahap propagasi, peroksida dan asam lemak tidak jenuh bereaksi membentuk hidroperoksida dan radikal bebas yang berfungsi sebagai inisiator karena mampu meneruskan propagasi tanpa melalui tahap inisiasi yang baru (Gunstone dan Norris, 1983).

Tsuchiya (1961) mengatakan bahwa kadar peroksida tidak selalu merupakan ukuran tingkat oksidasi suatu bahan yang mengandung minyak, karena pada tahap lebih lanjut kadar peroksida mengalami pemecahan yang berakibat menurunnya kadar peroksida. Selanjutnya Ketaren (1986) mengatakan bahwa kadar peroksida yang merupakan hasil oksidasi bersifat tidak stabil dan mudah pecah menghasilkan senyawa-senyawa yang berat molekulnya lebih rendah yaitu berupa asam lemak, aldehid dan keton.

Senyawa peroksida juga mampu mengoksidasi molekul asam lemak tidak jenuh yang masih utuh sehingga membentuk peroksida baru. Lebih lanjut dikatakan bahwa pada suhu ruangan, setiap satu ikatan rangkap dapat mengadsorpsi dua atom oksigen sehingga terbentuk peroksida yang labil dengan struktur seperti berikut ini.





#### 6.2.4 Kadar Asam Lemak Bebas

Penetapan kadar asam lemak bebas minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain, didasarkan pada jumlah miligram KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan asam lemak bebas yang terdapat dalam 1 gram minyak.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa perlakuan garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak bebas (Tabel 11). Hasil analisis kadar asam lemak bebas minyak yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 10. Dari hasil pengamatan Tabel 10 didapat bahwa perlakuan terbaik adalah garam 25 %, pH 7 dan suhu inkubasi  $45^{\circ}\text{C}$  dengan kadar asam lemak bebas 0,10 %. Sebenarnya kadar asam lemak bebas terendah adalah 0,09 % pada perlakuan garam 15 %, pH 6 dan suhu  $35^{\circ}\text{C}$  tetapi kandungan skualennya (73,37 %), lebih rendah dibanding perlakuan garam 35 %, pH 7 dan suhu  $45^{\circ}\text{C}$  (89,27 %). Namun demikian kadar asam lemak bebas kedua perlakuan tersebut masih dibawah standar FAO.

Hal ini menunjukkan bahwa pada kondisi tersebut

adalah paling rendah terjadinya hidrolisis minyak sehingga dihasilkan kadar asam lemak bebas terendah. Menurut Erich dan Gaunglitz (1967) hidrolisis minyak adalah reaksi antara trigliserida dengan air yang menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol. Lebih lanjut dikatakan bahwa reaksi hidrolisis bisa dipercepat dengan adanya katalisator yang berupa enzim lipase. Menurut Winarno *et al.*, (1984) dalam hidrolisis minyak, enzim lipase sangat penting karena enzim tersebut terdapat pada semua jaringan yang mengandung minyak. Beberapa genus bakteri penghasil lipase adalah *Micrococcus sp*, *Pseudomonas sp*, dan *Achromobacter sp* bisa tahan pada konsentrasi garam 30 %. Dalam penelitian ini digunakan kadargaram mulai 15 % sampai 30 % dengan demikian masih dimungkinkan bagi pertumbuhan bakteri penghasil lipase tersebut.

Terlihat bahwa pH 7 adalah kondisi dimana terjadinya hidrolisis minyak terendah. Hal ini disebabkan pada kondisi tersebut aktivitas bakteri penghasil enzim lipase rendah karena bakteri penghasil lipase mulai tumbuh pada pH 7,2 (Zaitzew *et al.*, 1969).

Terlihat bahwa perlakuan suhu 45°C adalah kondisi dimana terjadinya hidrolisis paling rendah. Hal ini disebabkan karena pada suhu tersebut enzim lipase masih belum optimal aktivitasnya sehingga asam lemak bebas yang dihasilkan juga masih rendah.

Menurut Eskin *et al.*, (1971) aktivitas enzim lipase berkisar antara 30-45°C.

#### 6.2.5 Kadar Air

Penentuan kadar air minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain, didasarkan pada berat air yang menguap dari minyak (metode thermogravimetri). Proses penguapan dilakukan pada suhu 105°C sampai dicapai berat konstan (selisih penimbangan 0,0008).

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa perlakuan garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar air (Tabel 13). Hasil kadar air minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 12. Dari Tabel 12 didapat bahwa kadar air minyak berkisar antara 4,20 sampai dengan 10,86 %. Kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C kadar air mencapai 7,48 %. Sebenarnya kadar air terendah adalah 4,20 % untuk kadar garam 30 %, pH 8, suhu 65°C tetapi kadar skualennya rendah 66,65 %. Walaupun kadar air cukup besar 7,48 % untuk perlakuan garam 25 %, pH 7, suhu 45°C tetapi hal ini tidak begitu mengganggu kualitas minyak karena kadar asam lemak bebasnya cukup rendah yaitu 0,10 %.

Adanya garam 25 % memberikan peranan yang cukup baik dalam hal penarikan air dari jaringan hati. Menurut Zaitzev *et al.*, (1969) garam mempunyai kemampuan yang baik

untuk menarik air dari jaringan daging. Lebih lanjut dikatakan bahwa kecepatan penarikan air dari jaringan dipengaruhi oleh konsentrasi garam yang digunakan. Larutan garam yang konsentrasinya rendah akan memberikan efek penarikan air yang rendah. Sedangkan larutan garam yang konsentrasinya tinggi akan memberikan efek penarikan air yang besar. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa semakin besar konsentrasi garam yang digunakan, berarti kadar air semakin kecil.

Enzim papain adalah enzim hidrolase sehingga untuk aktivitasnya diperlukan sejumlah air. Menurut Winarno dan Jenie (1982) kadar air dari suatu bahan sangat mempengaruhi reaksi enzimatik. Pada kadar air yang rendah terjadi halangan dan rintangan sehingga enzim maupun substrat terhambat akibatnya hidrolisis hanya terjadi pada bagian yang langsung berhubungan dengan enzim.

Pada pH 7 kondisi media belum mendukung aktivitas enzim secara optimal sehingga hanya sedikit memerlukan air, akibatnya kadar air minyak berkurang sedikit. Aktivitas enzim selain dipengaruhi kadar garam dan pH juga dipengaruhi oleh suhu inkubasi. Nampak bahwa suhu inkubasi 55°C belum mampu menurunkan kadar air yang optimal, hal ini disebabkan karena pada suhu 55°C selain belum mampu menguapkan air, juga aktivitas enzim lipase belum optimal sehingga kadar air minyak masih cukup besar.

### 6.2.6 Kadar Asam Lemak Linoleat

Penentuan kadar asam lemak esensial (linoleat, linolenat dan arachidonat) minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain, dilakukan dengan kromatografi gas. Dasar penentuan ini adalah waktu retensi sampel dibandingkan dengan waktu retensi standar.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa perlakuan garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak linoleat (Tabel 15). Hasil analisis kadar asam lemak linoleat yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 14. Dari Tabel 14 didapat bahwa harga rata-rata kadar asam lemak linoleat berkisar antara 0,17 % sampai dengan 2,35 %. Minyak yang baik adalah yang kadar asam lemak linoleatnya tertinggi. Pada kadar garam 25 %, pH 7, suhu  $45^{\circ}\text{C}$  kadar asam lemak linoleat 1,15 % dan yang tertinggi adalah 2,35 % untuk kadar garam 20 %, pH 5, suhu  $45^{\circ}\text{C}$ . Tetapi pada perlakuan yang kadar asam lemak linoleatnya tertinggi, justru kadar skualennya rendah yaitu 62,26 %, disamping itu resiko pembusukan dapat terjadi pada kadar garam 20 %.

Dengan demikian perlakuan yang baik adalah garam 25 %, pH 7 dan suhu inkubasi  $45^{\circ}\text{C}$  dengan kadar asam lemak linoleat 1,15 %. Hal ini berarti kondisi tersebut masih terjadi kerusakan oksidasi asam lemak linoleat.

Menurut Dugan (1961) kerusakan minyak terutama disebabkan oleh oksidasi. Terjadinya proses oksidasi disini tidak bisa lepas dari pengaruh garam yang ditambahkan. Semakin banyak garam yang ditambahkan maka disamping Fe meningkat, juga terbentuknya rongga udara makin besar dalam jaringan sehingga kemungkinan terjadinya oksidasi makin besar. Menurut Wiliam *et al.*, (1983) Fe mempunyai kekuatan untuk mengkatalisis oksidasi minyak pada jaringan daging. Apabila konsentrasi garam naik berarti terjadi peningkatan kadar Fe, walaupun telah diuji secara kualitatif bahwa garam tidak mengandung Fe (lampiran 10), tetapi dalam jumlah kecil Fe kemungkinannya masih ada, sehingga oksidasi minyak juga meningkat. Dengan meningkatnya proses oksidasi maka kadar asam lemak linoleat akan menurun.

Selain garam, aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh kondisi pH. Nampak pada pH 7 adalah optimal untuk hidrolisis minyak. Menurut Kulikov (1971) hidrolisis minyak adalah reaksi antara senyawa-senyawa gliserida dengan air yang menghasilkan asam lemak bebas dan gliserol. Apabila hidrolisis meningkat, maka kemungkinan terjadinya oksidasi asam lemak lebih besar karena asam lemak bebas akan lebih mudah teroksidasi daripada asam lemak yang masih terikat dalam bentuk trigliserida. Akibat meningkatnya proses oksidasi maka kadar asam lemak linoleat makin menurun. Suhu inkubasi juga berpengaruh terhadap

aktivitas enzim. Nampak bahwa suhu  $45^{\circ}\text{C}$  adalah optimal untuk menghasilkan asam lemak linoleat. Hal ini mungkin disebabkan karena adanya proses hidrolisis minyak. Menurut Eskin *et al.*, (1971) aktivitas enzim lipase berkisar antara suhu  $30 - 45^{\circ}\text{C}$ . Apabila suhu inkubasi dinaikkan maka aktivitas lipase juga meningkat. Akibatnya proses hidrolisis meningkat maka kemungkinan terjadinya oksidasi juga meningkat akibatnya kadar asam lemak linoleat menurun. Menurut Lehninger (1975) kenaikan suhu menyebabkan peningkatan tenaga kinetika sehingga kecepatan reaksi menjadi lebih cepat.

### 6.2.7 Kadar Asam Lemak Linolenat

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa perlakuan garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak linolenat (Tabel 17). Hasil kadar asam lemak linolenat yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 16. Dari Tabel 16 dapat disimpulkan bahwa kadar asam lemak linolenat berkisar antara 0 % sampai dengan 0,43 %. Untuk kadar garam 25 %, pH 7, suhu  $45^{\circ}\text{C}$  selain kadar skualennya ternyata kadar asam lemak linolenatnya juga tinggi yaitu 0,43 %. Dengan demikian perlakuan yang terbaik adalah garam 25 %, pH 7, suhu inkubasi  $45^{\circ}\text{C}$  dengan kadar asam lemak linolenat 0,43 %. Hal ini berarti kondisi tersebut adalah optimal untuk menghasilkan asam lemak linolenat. Konsentrasi garam 25 % adalah yang terbaik untuk asam lemak linolenat atau pada kondisi ini proses oksidasi adalah kecil sekali. Hal ini ada kaitannya dengan kadar Fe pada garam. Karena konsentrasi garam yang digunakan rendah maka kemungkinan terjadinya proses oksidasi juga rendah. Semakin besar konsentrasi garam, kadar Fe dalam garam makin besar. Selain itu dengan meningkatnya kadar garam maka rongga udara yang terbentuk dalam jaringan hati makin besar akibatnya kemungkinan terjadi proses oksidasi juga besar, dengan demikian kadar asam lemak linolenat akan makin turun.



Menurut Bailey (1952) penurunan kualitas minyak terutama disebabkan oleh oksidasi sehingga minyak menjadi tengik. Menurut Winarno (1988) dan Hardy (1979) reaksi oksidasi dipercepat dengan adanya cahaya, panas, peroksida, logam berat, enzim. Lebih lanjut dikatakan bahwa lipoksigenase merupakan katalis biologis yang memacu terjadinya oksidasi minyak secara enzimatis. Kondisi pH 7 adalah optimal untuk menghasilkan asam lemak linolenat. Hal ini berarti pada pH 7 proses hidrolisis minyak optimal, sehingga banyak dihasilkan asam lemak bebas termasuk di dalamnya asam lemak linolenat. Selain itu bila dilihat kadar peroksida minyak yang diekstraksi dengan enzim papain pada pH 7 kadar peroksidanya cukup rendah, akibatnya kadar asam lemak linolenat menjadi besar. Rendahnya oksidasi ini ada kaitan dengan berkurangnya aktivitas enzim lipoksigenase. Perlakuan suhu  $45^{\circ}\text{C}$  menghasilkan asam lemak linolenat yang optimal, artinya pada suhu  $45^{\circ}\text{C}$  selain banyak terjadi hidrolisis minyak juga kemungkinan disebabkan rendahnya proses oksidasi sehingga kadar asam lemak linolenat optimal.

#### 6.2.8 Kadar Asam Lemak Arachidonat

Berdasarkan hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak arachidonat minyak (Tabel 19). Hasil kadar asam lemak

arachidonat minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 18. Dari Tabel 18 dapat disimpulkan bahwa kadar asam lemak arachidonat berkisar antara 0 % sampai dengan 2,3 %.

Perlakuan dengan kadar garam 25 %, pH 7, suhu inkubasi 45°C kadar asam lemak arachidonat justru rendah yaitu 0 %, tetapi kadar skualnya tertinggi 89,27 %. Walaupun kadar asam lemak arachidonat tertinggi 2,3 % untuk kadar garam 15 %, pH 5, suhu 45°C kandungan skualein lebih rendah yaitu 82,06 %. Oleh karena itu perlakuan yang baik adalah yang kadar skualnya tinggi. Hal ini berarti pada kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C banyak terjadi oksidasi khususnya asam lemak arachidonat. Hal ini disebabkan karena pada asam lemak arachidonat mempunyai 4 ikatan rangkap. Menurut Ketaren (1986) makin banyak ikatan rangkap pada asam lemak tidak jenuh, makin reaktif terhadap oksigen. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi garam 25 % terjadinya oksidasi asam lemak arachidonat cukup besar.

Proses oksidasi disini kemungkinan ada kaitannya dengan konsentrasi garam. Artinya dengan konsentrasi garam tinggi maka kandungan Fe dalam garam juga tinggi. Selain itu dengan meningkatnya kadar garam maka makin besar terbentuknya rongga pada jaringan hati, akibatnya kemungkinan terjadi oksidasi juga besar. Menurut Dugan (1961) logam bersifat sebagai prooksidan yaitu menacu terjadinya proses oksidasi asam lemak tidak

jenuh pada minyak. Dengan bertambahnya konsentrasi garam maka kandungan Fe juga meningkat, oleh karena itu kemungkinan terjadinya oksidasi juga meningkat. Menurut Gross *et al.*, (1977) Fe merupakan salah satu komponen yang terdapat dalam garam yang dibuat dengan menguapkan air laut.

Perlakuan pH 7 adalah optimal untuk aktivitas enzim lipoksigenase dalam mengkatalisis oksidasi asam lemak arachidonat. Hal ini berarti pada kondisi pH tersebut terjadinya oksidasi besar sekali khususnya asam lemak arachidonat, sehingga kadar asam lemak arachidonat habis teroksidasi. Perlakuan suhu inkubasi 45°C adalah optimal untuk aktivitas enzim lipoksigenase dalam mengkatalisis oksidasi asam lemak arachidonat. Hal ini berarti pada suhu 45°C terjadinya oksidasi optimal akibatnya kadar asam lemak arachidonat rendah.

#### 6.2.9 Kadar Vitamin A

Kadar vitamin A minyak hati ikan cucut ditentukan menggunakan metode Carr Price dengan prinsip bereaksinya vitamin A dengan antimon triklorida membentuk warna biru yang dapat diukur intensitasnya dengan spektrofotometer.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa kadar garam, pH dan suhu memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar vitamin A pada minyak (Tabel 21). Hasil kadar vitamin A minyak hati ikan cucut

yang diekstraksi menggunakan enzim papain disajikan pada Tabel 20. Berdasarkan hasil pengamatan Tabel 20 nampak bahwa kadar vitamin A pada perlakuan kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C adalah 6.050 IU per gram minyak. Sebenarnya kadar vitamin A tertinggi adalah 10.010 IU per gram minyak pada kadar garam 15 %, pH 6, suhu 35°C, tetapi kadar skualennya rendah 73,37 %. Oleh karena itu perlakuan yang terbaik adalah kadar garam 25 %, pH 7 dan suhu 45°C dengan kadar vitamin A 6.050 IU per gram minyak.

Hal ini berarti pada kadar garam 25 % masih terjadi proses oksidasi minyak maupun vitamin A. Terjadinya oksidasi ini mungkin disebabkan karena adanya Fe dalam garam yang sifatnya sebagai prooksidan. Selain itu dengan meningkatnya kadar garam yang ditambahkan maka rongga yang terbentuk dalam jaringan makin besar sehingga oksidasi makin besar kemungkinannya. Menurut Frazier, (1978) dan Gross *et al.*, (1977) Fe merupakan salah satu komponen garam yang dibuat dengan cara menguapkan air laut. Menurut Florian (1978) konsentrasi garam 25 % dapat meningkatkan proses oksidasi minyak. Selanjutnya Hirano dan Olcott (1971) Fe dalam reaksi tersebut bertindak sebagai katalisator. Pada pH 7 menunjukkan masih adanya proses oksidasi minyak maupun vitamin A sehingga kadar vitamin A tidak optimal. Bila dikaitkan dengan kadar peroksida (5,66 meq/kg minyak) hal ini bisa terjadi karena

peroksida bersifat prooksidan, baik untuk minyak maupun vitamin A. Menurut Brody (1965) naiknya peroksida akibat oksidasi minyak dapat menyebabkan berkurangnya kadar vitamin A. Lebih lanjut dikatakan bahwa adanya enzim lipoksigenase dapat mengoksidasi dan menghancurkan vitamin A pada minyak (Andarwulan dan Koswara, 1992). Suhu 45°C menunjukkan masih adanya oksidasi vitamin A pada minyak. Menurut Love dan Pearson (1971) panas dapat merusak nutrisi suatu bahan misal protein dan vitamin. Lebih lanjut dikatakan bahwa vitamin A agak stabil pada suhu panas pengolahan. Menurut Paquette *et al.*, (1985) panas dapat menyebabkan terjadinya oksidasi asam lemak tidak jenuh maupun vitamin A sehingga bisa menurunkan kualitas minyak.

### 6.3 Rendemen Dan Kualitas Minyak Diekstraksi Dengan Bromelin

Peningkatan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut (*Centrophorus squamosus*) dengan teknik ekstraksi enzimatik. Studi optimasi kondisi kerja enzim bromelin. Percobaan ini dilakukan dengan menggunakan enzim bromelin kasar 24 % (b/b) yang dicampur dengan hati ikan cucut, kemudian ditambahkan garam (15,20,25,30) % dan diatur pH awalnya (5,6,7,8).

#### 6.3.1 Rendemen

Analisis rendemen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin, dilakukan dengan menghitung persentase minyak persatuan berat hati ikan cucut.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzim bromelin, perlakuan garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap rendemen (Tabel 23). Hasil analisis rendemen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 22. Dari Tabel tersebut didapat bahwa perlakuan menghasilkan rendemen tinggi adalah kadar garam 15 %, pH 6, suhu 45°C (85,65 %) ; kadar garam 20 %, pH 6, suhu 55°C (85,28 %) ; kadar garam 25 %, pH 7, suhu 45°C (85,31 %).

Bila dikaitkan kadar skualen sebagai indikator kualitas minyak hati ikan cucut maka perlakuan yang baik adalah kadar garam 30 %, pH 6 dan suhu inkubasi 55°C rendemen 82,69 % dengan kadar skualen 77,46 %. Hal ini berarti pada kadar garam 30 % selain mampu menekan pertumbuhan mikroorganisme pembusuk, juga menarik air dari jaringan hati ikan sehingga membantu proses ekstraksi. Pada pH 6 menunjukkan aktivitas enzim bromelin dalam menghidrolisis jaringan hati juga optimal. Hal ini sesuai dengan pendapat Reed (1975) yang mengatakan bahwa aktivitas enzim bromelin optimal antara pH 6 - 8. Sedangkan suhu 45°C juga menunjukkan aktivitas enzim yang optimal.

Terlihat bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzim papain rendemen (87,77 %) lebih besar dibanding ekstraksi minyak dengan enzim bromelin (82,69 %). Hal ini disebabkan karena kemampuan hidrolisis lebih besar pada enzim papain dibanding enzim bromelin. Menurut Arroyo (1982) enzim papain mempunyai tingkat hidrolisis yang lebih tinggi dibanding enzim proteolitik lainnya. Disamping itu enzim papain mempunyai spesifikasi yang sangat luas karena dapat menghidrolisis substrat yang umumnya dapat dihidrolisis pepsin atau tripsin. Lebih lanjut dikatakan bahwa penggunaan enzim kasar yang masih bercampur dengan garam-garam mineral dapat menghambat aktivitas enzim tersebut (Mulyohardjo, 1984). Apabila dibandingkan rendemen minyak hati ikan cucut hasil ekstraksi

menggunakan enzim papain murni (90,45 %) dan bromelin murni 88,62 % (studi pendahuluan), berarti rendemen minyak hasil ekstraksi menggunakan enzim papain (87,77 %) dan bromelin (82,69 %) adalah lebih kecil.

### 6.3.2 Kadar Skualen

Kadar skualen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin, dilakukan dengan metode kolorimetri. Analisis kadar skualen meliputi dua tahap yaitu pertama, penyabunan untuk memisahkan zat yang tersabunkan dan zat yang tidak tersabunkan (sebagian besar skualen). Kedua isolasi skualen yaitu memisahkan skualen dari zat yang tersabunkan, dengan cara dimasukkan kolom kromatografi berisi florisisil dan pelarut n-heksan selanjutnya eluen dibaca pada spektrofotometer panjang gelombang 400 nm.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzim bromelin, kadar garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar skualen (Tabel 25). Hasil analisis kadar skualen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 24. Dari Tabel 24 nampak bahwa perlakuan dengan kadar garam 15 %, pH 6, suhu  $45^{\circ}\text{C}$  kadar skualen tidak optimal (73,66 %), tetapi justru perlakuan dengan kadar garam 30 % ,



pH 6, suhu 55°C yang menghasilkan kadar skualen tertinggi (77,46 %). Bila dikaitkan rendemen ternyata kadar garam 30 %, pH 6, suhu 55°C meskipun rendemen lebih rendah (82,69 %) lebih menguntungkan karena kadar skualen termasuk tolok ukur kualitas minyak hati ikan cucut dan rendemennya hanya berbeda 2,96 % dari perlakuan kadar garam 15 %, pH 6, suhu 45°C (85,65 %).

Dengan demikian perlakuan yang baik adalah kadar garam 30 %, pH 6 dan suhu inkubasi 55°C dengan kadar skualen 77,46 %. Nampak bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut menggunakan enzim papain kadar skualennya (89,27 %) lebih besar dibanding ekstraksi minyak menggunakan enzim bromelin (77,46 %). Hal ini nampaknya sejalan dengan hasil analisis rendemen yang menunjukkan bahwa ekstraksi minyak dengan enzim papain rendemennya (85,77 %) lebih besar dibanding ekstraksi minyak menggunakan enzim bromelin (82,69 %). Hal ini disebabkan karena enzim papain mempunyai kemampuan hidrolisis yang lebih besar dibanding enzim bromelin. Selain itu pada ekstraksi minyak hati ikan cucut menggunakan bromelin, dengan adanya sejumlah air menyebabkan perubahan skualen menjadi skualan sehingga kadar skualen minyak menjadi berkurang.

Kadar garam 30 % menunjukkan bahwa ekstraksi minyak dengan enzim bromelin optimal untuk menghasilkan kadar skualen. Hal ini menunjukkan bahwa peranan garam makin besar yaitu menarik air dan mengkoagulasikan protein

jaringan, akibatnya minyak makin banyak yang terlepas dari jaringannya. Makin besar minyak yang terlepas maka kadar skualen juga makin besar. Selain itu tingginya konsentrasi garam merupakan pembatas populasi bakteri pembusuk dan memungkinkan bakteri halophilik untuk berkembang. Menurut Kumalaningsih (1990) mikroba proteolitik mempunyai pilihan substrat lebih luas, dibanding enzim yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, oleh karena itu bakteri proteolitik dapat membantu enzim dalam menghidrolisis protein hati.

Dengan demikian protein kemungkinan lebih banyak terhidrolisis dan akibatnya makin besar minyak yang terlepas. Selanjutnya hal ini akan mempengaruhi rendemen yang diperoleh. Makin banyak protein yang dihidrolisis maka rendemen minyak makin besar, akibatnya kadar skualen juga makin besar. Pada kondisi pH 6 dan suhu 55 menunjukkan aktivitas enzim optimal, sehingga pada kondisi tersebut enzim mampu menghidrolisis protein yang terikat dengan lipid optimal. Dengan meningkatnya protein yang terhidrolisis oleh enzim maka minyak yang terlepas juga meningkat, akibatnya kadar skualen juga meningkat. Menurut Reed (1975) aktivitas enzim bromelin optimal pada kondisi suhu sekitar 50°C dan pH 6-8.

### 6.3.3 Kadar Peroksida

Penentuan kadar peroksida minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin, dilakukan berdasarkan jumlah iod yang dibebaskan dari potasium iodida melalui reaksi oksidasi oleh peroksida dalam minyak pada suhu ruang di dalam medium asetat kloroform.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzim bromelin, kadar garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar peroksida minyak hati ikan cucut (Tabel 27). Hasil analisis kadar peroksida minyak yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin dapat dilihat pada Tabel 26.

Dari Tabel 26 terlihat bahwa perlakuan kadar garam 30 %, pH 6 dan suhu inkubasi  $55^{\circ}\text{C}$  kadar peroksida 6,65 meq/kg minyak. Sebenarnya kadar peroksida yang terendah 4,45 meq/kg minyak untuk kadar garam 30 %, pH 5, suhu  $35^{\circ}\text{C}$  tetapi kadar skualennya rendah 68,86 %. Walaupun kadar peroksida 6,65 meq/kg minyak namun demikian masih di bawah standar yang ditetapkan FAO. Oleh karena itu perlakuan yang baik adalah kadar garam 30 %, pH 6, suhu  $55^{\circ}\text{C}$ . Berarti pada kadar garam 30 % masih terjadi oksidasi cukup besar, yang ditunjukkan dengan kadar peroksida. Hal ini disebabkan karena pada kadar garam 30 % kemungkinan kadar Fe cukup besar, sehingga proses oksidasi minyak meningkat. Pada pH 6 menunjukkan bahwa minyak masih mengalami oksidasi,

walaupun pada pH asam (6) sebagian protein enzim lipoksigenase yang mengkatalisis reaksi oksidasi minyak mengalami denaturasi, sehingga peroksida masih cukup besar (6,65 meq/kg minyak).

Sedangkan suhu  $55^{\circ}\text{C}$  adalah suhu dimana sebagian minyak masih ada yang teroksidasi, hal ini disebabkan karena pada suhu tersebut belum mampu menekan terjadinya oksidasi enzimatis.

Terlihat bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzim bromelin kadar peroksidanya lebih besar (6,65 meq/kg minyak) dibanding ekstraksi menggunakan enzim papain (5,66 meq/kg minyak). Hal ini berarti proses oksidasi lebih banyak terjadi pada ekstraksi minyak dengan enzim bromelin, dibanding ekstraksi minyak dengan enzim papain.

Menurut Lunberg (1967) kerusakan minyak yang utama adalah disebabkan oleh oksidasi, sehingga minyak berbau tengik. Lebih lanjut dikatakan bahwa panas, cahaya, radiasi, logam, enzim atau antioksidan merupakan faktor yang dapat mempengaruhi proses oksidasi. Selanjutnya dikatakan bahwa kandungan vitamin C pada buah nanas lebih kecil (24 mg/100 g) dibanding pada buah pepaya (78 mg/100 g) (Anonymous, 1981). Bank (1967) mengatakan bahwa vitamin C dapat bersifat sebagai antioksidan alam. Dengan demikian ekstraksi minyak hati ikan cucut menggunakan enzim bromelin kemungkinan terjadinya oksidasi lebih besar dibanding dengan enzim papain sehingga kadar

peroksidanya lebih tinggi pada ekstraksi dengan enzim bromelin.

#### 6.3.4 Kadar Asam Lemak Bebas

Penentuan kadar asam lemak bebas minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin, didasarkan pada jumlah miligram KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan asam lemak bebas yang terdapat dalam satu gram minyak.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzim bromelin, perlakuan garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak bebas (Tabel 29). Hasil analisis kadar asam lemak bebas minyak yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 28. Dari Tabel 28 didapat bahwa perlakuan kadar garam 30 %, pH 6 dan suhu inkubasi  $55^{\circ}\text{C}$  kadar asam lemak bebas 0,16 %, sebenarnya cukup rendah karena menurut standar FAO kadar asam lemak bebas tidak melebihi 0,4 %. Terlihat bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzim bromelin, konsentrasi garam 30 % mampu menekan aktivitas enzim lipase, sehingga asam lemak bebas yang dihasilkan rendah. Hal ini disebabkan karena pada kadar garam tersebut mampu menekan aktivitas bakteri penghasil lipase dan menarik air dalam jaringan hati, sehingga proses hidrolisis minyak menjadi rendah.

Kondisi pH 6 menunjukkan bahwa proses hidrolisis minyak rendah, hal ini disebabkan karena pada pH tersebut aktivitas bakteri penghasil lipase menjadi berkurang, sehingga enzim lipasnya rendah. Dengan rendahnya enzim lipase maka proses hidrolisis rendah akibatnya kadar asam lemak bebas yang dihasilkan juga rendah. Sedangkan suhu  $45^{\circ}\text{C}$  menunjukkan proses hidrolisis minyak rendah, hal ini disebabkan karena aktivitas bakteri penghasil lipase tidak optimal, sehingga kadar enzim lipasnya rendah. Akibatnya hidrolisis minyak rendah. Menurut Jay (1971) bakteri penghasil lipase optimal aktivitasnya pada suhu sekitar  $40^{\circ}\text{C}$ .

Ekstraksi minyak dengan enzim bromelin menunjukkan bahwa kadar garam 30 % proses hidrolisis rendah. Berarti lebih tinggi dibanding konsentrasi garam pada ekstraksi dengan enzim papain (25 %). Hal ini menunjukkan bahwa peranan garam pada ekstraksi minyak dengan enzim bromelin, efektif untuk menghambat aktivitas bakteri penghasil lipase. Terbukti bahwa kadar asam lemak bebas pada ekstraksi dengan enzim bromelin cukup rendah. Kondisi asam pH (6) pada ekstraksi minyak dengan enzim bromelin menyebabkan terjadinya penghambatan pada aktivitas bakteri penghasil enzim lipase. Dengan demikian proses hidrolisis menjadi berkurang akibatnya produksi asam lemak bebas juga rendah. Kondisi suhu inkubasi nampaknya pada ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzim bromelin

(55°C) lebih tinggi dibanding ekstraksi dengan enzim papain (45°C), hal ini berarti penghambatan aktivitas bakteri penghasil lipase makin besar. Dengan demikian proses hidrolisis menjadi berkurang, akibatnya asam lemak bebas yang dihasilkan juga rendah. Nampak bahwa ekstraksi minyak dengan enzim papain asam lemak bebasnya 0,10 % dan bromelin kadar asam lemak bebasnya 0,16 %.

### 6.3.5 Kadar Air

Penentuan kadar air minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin, didasarkan pada berat air yang menguap dari minyak (metode thermogravimetri). Proses penguapan dilakukan pada suhu 105°C sampai diperoleh berat konstan (selisih penimbangan 0,0008).

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzim bromelin perlakuan garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar air minyak (Tabel 31). Hasil analisis kadar air minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 30. Dari Tabel 30 nampak bahwa kadar air minyak berkisar antara 4,20 % sampai dengan 10,86 %. Perlakuan kadar garam 30 %, pH 6 dan suhu 55°C kadar skualen tertinggi 77,46 %, dengan kadar air 5,41 %. Sebenarnya kadar air

terendah 3,77 % pada kadar 30 %, pH 8, suhu 65°C, tetapi kadar skualennya rendah 67,63 %. Hal ini berarti kadar garam 30 % kemampuan untuk menarik air dari jaringan hati ikan belum optimal.

Menurut Noguchi (1972) dan Florian (1978) makin besar konsentrasi garam, maka kemampuan menarik air dalam jaringan makin besar pula. Sedangkan kondisi pH 6 yang kadar airnya 5,41 % menunjukkan bahwa pada pH tersebut proses hidrolisis rendah, sehingga kadar air yang dimanfaatkan hidrolisis sedikit. Akibatnya kadar air dalam minyak masih cukup besar. Hal ini sejalan bila dikaitkan dengan kadar asam lemak bebas yang pada pH 6, kadar garam 30 %, suhu 55°C sebesar 0,16 %. Suhu inkubasi yang terbaik adalah suhu 55°C, bila dibandingkan suhu yang lain berarti suhu 55°C terjadinya hidrolisis rendah sehingga kadar air minyak menjadi cukup besar.

Apabila dibandingkan kadar air minyak yang diekstraksi menggunakan enzim papain (7,48 %), lebih besar dari pada kadar air minyak yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin (5,41 %). Dapat disimpulkan bahwa kadar air minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan enzim bromelin lebih baik, dibanding kadar air minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan enzim papain. Hal ini mungkin disebabkan karena kadar air bahan baku enzim. Menurut Mulyohardjo (1984) dan Sudibyo (1992) komposisi utama buah nanas adalah air yang mencapai 85,3 - 86,4 %. Selain itu air juga bisa



berasal dari hati ikan cucut yang menurut Bykov (1986) mencapai 32,3 %. Sedangkan kadar air buah pepaya adalah mencapai 87,1 %.

### 6.3.6 Kadar Asam Lemak Linoleat

Penentuan kadar asam lemak esensial (linoleat, linolenat dan arachidonat) minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin dilakukan dengan kromatografi gas. Dasar penentuan ini adalah waktu retensi sampel dibandingkan dengan waktu retensi standar.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzim bromelin, perlakuan garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak linoleat (Tabel 33). Hasil analisis kadar asam lemak linoleat minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 32. Berdasarkan hasil pengamatan Tabel 32 dapat disimpulkan bahwa harga rata-rata kadar asam lemak linoleat berkisar antara 0,16 sampai dengan 2,25 %. Minyak yang baik adalah kadar asam lemak linoleatnya tertinggi. Perlakuan kadar garam 30 %, pH 6, suhu  $55^{\circ}\text{C}$  kadar asam lemak linoleat 1,66 % dan tertinggi 2,25 % pada kadar garam 30 %, pH 5, suhu  $45^{\circ}\text{C}$ . Tetapi pada perlakuan yang kadar asam lemak linoleatnya tertinggi kadar skualen rendah 76,47 %. Hal ini menunjukkan bahwa pada kadar garam 30 %, sebagian

bakteri penghasil lipase tidak mampu melakukan aktivitasnya sehingga kadar enzim lipase rendah. Oleh karena itu kemungkinan terjadinya hidrolisis minyak juga rendah. Akibatnya kadar asam lemak linoleat rendah (1,66 %).

Sedangkan pH 6 (asam) juga memberikan efek menghambat terhadap aktivitas enzim lipase, sehingga proses hidrolisis menjadi kecil akibatnya kadar asam lemak linoleat rendah. Suhu 55°C adalah cukup baik untuk menghasilkan asam lemak linoleat, hal ini mungkin disebabkan proses hidrolisis minyak. Menurut Eskin *et al.*, (1971) aktivitas lipase sebagai katalis berkisar antara 30 sampai 45 °C.

Apabila dibandingkan nampak bahwa kadar asam lemak linoleat pada ekstraksi dengan enzim papain (1,15 %) lebih kecil dari pada ekstraksi dengan enzim bromelin (1,66 %). Hal ini cukup beralasan karena kadar asam lemak bebas pada ekstraksi minyak dengan enzim bromelin (0,16 %) lebih tinggi, bila dibanding ekstraksi minyak dengan enzim papain (0,10 %). Dengan kadar asam lemak bebas yang lebih tinggi berarti kadar asam lemak yang terlepas dari trigliserida, termasuk asam lemak linoleat juga makin besar.

### 6.3.7 Kadar Asam Lemak Linolenat

Penetapan kadar asam lemak linolenat sama dengan penetapan kadar asam lemak linoleat yaitu dengan kromatografi gas.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzim bromelin, perlakuan garam, pH dan suhu inkubasi memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak linolenat (Tabel 35). Hasil analisis kadar asam lemak linolenat minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 34. Dari hasil pengamatan Tabel 34 nampak bahwa kadar asam lemak linolenat berkisar antara 0 % sampai dengan 0,41 %. Perlakuan kadar garam 30 %, pH 6, suhu inkubasi  $55^{\circ}\text{C}$  kadar asam lemak linolenat 0,29 %. Hal ini berarti pada kadar garam 30 %, minyak hati ikan cucut banyak mengalami oksidasi. Kerusakan oksidasi ini kemungkinan ada kaitannya dengan aktivitas enzim lipoksigenase. Makin besar kadar garam yang digunakan makin besar kadar Fe dalam garam, akibatnya proses oksidasi minyak makin besar kemungkinannya. Kondisi pH 6 (asam) menunjukkan kadar asam lemak linolenat optimal, hal ini mungkin disebabkan karena pada suasana asam aktivitas enzim lipoksigenase berkurang akibatnya oksidasi minyak juga berkurang. Sedangkan suhu  $55^{\circ}\text{C}$  optimal untuk kadar asam lemak linolenat, hal ini disebabkan karena pada suhu tersebut belum mampu memacu terjadinya oksidasi minyak. Menurut

Lehninger (1975) peningkatan suhu menyebabkan meningkatnya tenaga kinetika sehingga kecepatan reaksi lebih cepat.

Nampak bahwa kadar asam lemak linolenat minyak yang diekstraksi dengan enzim papain (0,43 %), lebih besar dibanding kadar asam lemak linolenat minyak yang diekstraksi dengan enzim bromelin (0,29 %). Hal ini disebabkan karena minyak yang diekstraksi dengan enzim bromelin lebih banyak terjadi oksidasi. Hal ini didukung dengan kadar peroksida yang lebih besar pada ekstraksi dengan enzim bromelin, akibatnya kadar asam lemak linolenat yang diekstraksi dengan enzim bromelin lebih rendah.

#### 6.3.8 Kadar Asam Lemak Arachidonat

Penentuan kadar asam lemak arachidonat sama dengan penentuan kadar asam lemak linoleat maupun linolenat yaitu metode kromatografi gas.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan enzim bromelin memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar asam lemak arachidonat (Tabel 37). Hasil analisis kadar asam lemak arachidonat minyak hati ikan cucut yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin disajikan pada Tabel 38.

Dari Tabel 38 dapat disimpulkan bahwa kadar asam lemak arachidonat berkisar antara 0 % sampai dengan

2,44 %. Perlakuan kadar garam 30 %, pH 6 dan suhu inkubasi 55°C yang kadar skualennya tertinggi 77,46 %, justru kadar asam lemak arachidonatnya rendah 0,48 %. Sebenarnya kadar asam lemak arachidonat tertinggi 2,44 % pada perlakuan kadar garam 15 %, pH 5, suhu 65°C tetapi kadar skualennya rendah yaitu 67,84 %. Dengan demikian perlakuan yang baik adalah kadar garam 30 %, pH 6, suhu 55°C. Nampak bahwa pada kadar garam 30 % kerusakan oksidasi minyak rendah. Hal ini ada kaitannya dengan aktivitas enzim lipoksigenase. Makin besar kadar garam yang digunakan, aktivitas enzim lipoksigenase makin kecil akibatnya kerusakan oksidasi menurun. Pada pH 6 (asam) berarti kerusakan oksidasi rendah, hal ini disebabkan karena pada suasana asam aktivitas enzim lipoksigenase sebagai katalis oksidasi berkurang, akibatnya kerusakan oksidasi berkurang. Sedangkan suhu inkubasi 55°C menunjukkan optimal karena pada suhu tersebut belum mampu untuk memacu terjadinya oksidasi. Menurut Ketaren (1986) minyak mengalami oksidasi termal bila dipanaskan pada suhu 120 - 200°C.

Kadar asam lemak arachidonat minyak yang diekstraksi menggunakan enzim bromelin (0,48 %) nampak lebih besar dibanding ekstraksi menggunakan enzim papain (0,00 %). Bila dikaitkan dengan kadar asam lemak bebas minyak nampak bahwa ekstraksi minyak dengan enzim papain, kadar asam lemak bebasnya (0,10 %) lebih kecil dibanding kadar asam lemak

bebas miyak yang diekstraksi dengan enzim bromelin (0,16 %). Akibatnya kadar asam lemak arachidonat minyak yang diekstraksi dengan enzim bromelin lebih besar dibanding kadar asam lemak arachidonat yang diekstraksi dengan enzim papain.

### 6.3.9 Kadar vitamin A

Penetapan kadar vitamin A menggunakan metode Carr Price yang prinsipnya adalah bereaksinya vitamin A dengan antimon triklorida membentuk warna biru yang dapat diukur intensitasnya dengan spektrofotometer.

Berdasarkan hasil sidik ragam terlihat bahwa ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan bromelin memberikan pengaruh yang sangat bermakna ( $P < 0,05$ ) terhadap kadar vitamin A minyak (Tabel 39). Hasil analisis kadar vitamin A minyak hati ikan cucut diekstraksi dengan enzim bromelin disajikan pada Tabel 38. Dari hasil pengamatan Tabel 38 dapat disimpulkan bahwa, kadar vitamin A perlakuan kadar garam 30 %, pH 6, suhu  $55^{\circ}\text{C}$  adalah 7.040 IU per gram minyak. Sebenarnya kadar vitamin A terbesar adalah 10.280 IU/gram minyak untuk perlakuan kadar garam 15 %, pH 5, suhu  $35^{\circ}\text{C}$ , tetapi kadar skualennya rendah 60,45 %. Nampak bahwa pada kadar garam 30 %, pH 6, suhu  $55^{\circ}\text{C}$  masih terjadi kerusakan oksidasi vitamin A. Kadar garam 30 % menunjukkan bahwa oksidasi vitamin A masih terjadi, hal ini disebabkan karena kadar Fe

dari garam yang ditambahkan. Dengan meningkatnya kadar garam kemungkinan kadar Fe juga meningkat. Walaupun garam yang digunakan secara kualitatif, telah memenuhi SII.0141.76 tentang kualitas garam meja seperti yang disajikan pada lampiran 10. Menurut Gross *et al.*, (1977) dan Frazier (1978) Fe dalam garam merupakan salah satu komponen dalam garam yang dibuat dengan cara penguapan air laut. Selain itu dengan meningkatnya kadar garam yang ditambahkan maka terbentuknya rongga udara alam jaringan makin besar, akibatnya kerusakan oksidasi yang dikatalisis Fe meningkat.

Pada pH 6 menunjukkan bahwa kerusakan oksidasi kecil. Menurut Stansby (1967) vitamin A sangat sensitip terhadap proses oksidasi. Lebih lanjut dikatakan bahwa dengan meningkatnya oksidasi maka kadar vitamin A menjadi turun. Seperti kerusakan lemak, kerusakan vitamin A merupakan fungsi dari enzim dan suhu penyimpanan. Menurut Bender (1966) dan Erickson (1981) perlakuan panas dapat menyebabkan tidak aktipnya enzim lipoksigenase sehingga proses oksidasi yang dikatalis enzim tersebut menjadi berkurang. Pada suhu 55°C nampaknya sebagian vitamin A teroksidasi, hal ini berarti vitamin A sedikit berkurang. Menurut Love dan Pearson (1971) pada suhu 35°C adalah optimal untuk menghasilkan vitamin A, karena pada suhu tersebut kerusakan oksidasi vitamin A rendah. Bila suhu dinaikkan (55°C) maka proses oksidasi vitamin A meningkat akibatnya kadar vitamin A menurun.

#### **6.4 Rendemen dan Kualitas Minyak Hasil Ekstraksi Enzimatis dan tradisional**

Dalam percobaan ini ekstraksi minyak hati ikan cucut dilakukan dengan penjemuran. Sebelum dijemur hati ikan cucut dicacah sampai halus dengan kayu yang ujungnya dikaitkan dengan paku. Penjemuran dilakukan selama 3 hari, dengan cara menempatkan hati pada kotak seng. Setelah itu residu yang masih mengandung minyak, diekstraksi dengan pengukusan.

##### **6.4.1 Rendemen**

Rendemen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi secara tradisional ditentukan dengan menghitung prosentase minyak persatuan berat hati ikan cucut.

Besarnya rendemen hasil analisis minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan cara tradisional adalah 70 %. Apabila dibandingkan dengan rendemen minyak hasil ekstraksi dengan enzim papain yang besarnya 87,77 % dan enzim bromelin 82,69 %, maka teknik ekstraksi enzimatis dengan papain atau bromelin adalah lebih baik. Hal ini disebabkan karena pada ekstraksi dengan teknik enzimatis mampu melepas lemak yang terikat dengan protein (lipoprotein) baik dalam lipoprotein membran maupun liposom, dengan cara menghidrolisis proteinnya. Sedangkan ekstraksi dengan penjemuran hanya mampu melepas lemak bebas atau lemak perifer yaitu lemak yang tidak terikat dalam lipoprotein.



#### 6.4.2 Kadar Skualen

Kadar skualen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan cara tradisional ditentukan dengan metode kolorimetri. Metode analisis ini meliputi 2 tahap yaitu pertama, penyabunan untuk memisahkan zat yang tersabunkan dan zat yang tidak tersabunkan. Tahap kedua adalah isolasi skualen yaitu memisahkan skualen dari zat yang tersabunkan, dengan cara dimasukkan kolom kromatografi berisi florisil dan pelarut heksan selanjutnya eluen dibaca pada spektrofotometer pada panjang gelombang 400 nm.

Berdasarkan hasil analisis, besarnya kadar skualen minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan cara tradisional adalah 69,32 %. Sedangkan kadar skualen minyak hasil teknik ekstraksi enzimatis dengan papain 89,27 % dan bromelin 77,46 %. Berarti dapat disimpulkan bahwa kadar skualen minyak hasil teknik ekstraksi enzimatis baik dengan papain maupun bromelin adalah lebih baik, dibanding minyak hasil ekstraksi dengan cara tradisional. Hal ini disebabkan karena pada minyak hasil ekstraksi dengan tradisional, skualen banyak yang rusak karena adanya sinar matahari maupun panas yang dapat memacu terjadinya oksidasi. Menurut Toyama dan Kaneda (1965) skualen mempunyai 6 ikatan rangkap sehingga mudah sekali mengalami oksidasi. Lebih lanjut dikatakan bahwa makin banyak ikatan rangkap dalam suatu senyawa makin reaktif terhadap oksigen (Ketaren, 1986).

### 6.4.3 Kadar Peroksida

Kadar peroksida minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan cara tradisional, ditentukan berdasarkan jumlah iod yang dibebaskan dari potasium iodida melalui reaksi oksidasi oleh peroksida dalam minyak pada suhu ruang di dalam medium asetat kloroform.

Hasil analisis kadar peroksida minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan cara tradisional adalah 9,14 meq/kg. Sedangkan kadar peroksida minyak hasil teknik ekstraksi enzimatis dengan papain 5,66 meq/kg dan bromelin 6,65 meq/kg. Hal ini dapat disimpulkan bahwa kadar peroksida minyak hasil teknik ekstraksi enzimatis adalah lebih baik dibanding kadar peroksida minyak hasil ekstraksi dengan cara tradisional. Hal ini disebabkan karena minyak hasil ekstraksi dengan cara tradisional lebih banyak mengalami oksidasi, sehingga lebih banyak menghasilkan senyawa peroksida. Menurut Lillard (1978) dengan adanya panas, maka asam lemak tidak jenuh yang memiliki ion hidrogen labil dan mudah terpisah membentuk radikal bebas pada tahap inisiasi reaksi oksidasi. Lebih lanjut dikatakan bahwa radikal bebas adalah senyawa tidak stabil dan mudah diserang oleh oksigen membentuk senyawa peroksida (Hardy, 1979).

Namun demikian apabila dibandingkan dengan standar yang ditetapkan oleh FAO yang besarnya kadar peroksida minyak tidak boleh melebihi 10 meq/kg, maka kadar peroksida minyak yang diekstraksi dengan cara tradisional maupun teknik

ekstraksi enzimatis (papain atau bromelin) adalah lebih baik.

#### 6.4.4 Kadar Asam Lemak Bebas

Penentuan kadar asam lemak bebas minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan cara tradisional, didasarkan pada jumlah miligram kalium hidroksida yang dibutuhkan untuk menetralkan asam lemak bebas yang terdapat dalam satu gram minyak.

Hasil analisis kadar asam lemak bebas minyak yang diekstraksi dengan cara tradisional adalah 0,51 %. Apabila dibandingkan kadar asam lemak bebas minyak hasil teknik ekstraksi enzimatis dengan papain 0,10 % dan bromelin 0,16 % maka dapat disimpulkan bahwa kadar asam lemak bebas minyak hasil teknik ekstraksi enzimatis adalah lebih baik.

Hal ini disebabkan karena pada ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan cara tradisional lebih banyak terjadi hidrolisis minyak, dibanding minyak hasil teknik ekstraksi enzimatis. Hal ini diduga bahwa, hati ikan cucut yang digunakan dalam ekstraksi secara tradisional masih mengandung enzim lipase. Oleh karena itu minyak yang dihasilkan lebih banyak mengalami hidrolisis dibanding teknik ekstraksi enzimatis. Menurut Winarno *et al.*, (1984) dalam hidrolisis minyak, enzim lipase sangat penting karena enzim tersebut terdapat dalam semua

jaringan yang mengandung minyak. Namun demikian apabila dibandingkan dengan standar kadar asam lemak bebas dari FAO yang besarnya tidak boleh melebihi 0,4%, maka minyak hasil teknik ekstraksi enzimatis dengan papain maupun bromelin adalah lebih baik.

#### 6.4.5 Kadar Air

Kadar air minyak hasil ekstraksi dengan cara tradisional, di dasarkan pada pada berat air yang menguap dari minyak (metode thermogravimeteri). Proses penguapan dilakukan pada suhu oven 105°C, sampai diperoleh berat yang konstan (selisih penimbangan 0,0008).

Berdasarkan hasil analisis, besarnya kadar air minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan cara tradisional adalah 6,32 %. Sedangkan kadar air minyak hasil teknik ekstraksi enzimatis dengan papain adalah 7,48 % dan enzim bromelin 5,41 %.

Dapat disimpulkan bahwa kadar air minyak hasil ekstraksi cara tradisional lebih baik, dibanding kadar air minyak hasil teknik ekstraksi enzimatis dengan papain. Sedangkan kadar air minyak hasil ekstraksi dengan enzim pbromelin adalah lebih baik dibanding cara tradisional maupun papain. Hal ini disebabkan karena bahan baku hati yang digunakan tidak dicuci lebih dulu sehingga kadar airnya rendah. Sedangkan tingginya kadar air minyak yang

diekstraksi dengan enzim papain, karena dari bahan baku pepaya kadar airnya mencapai 87,1 % dan buah nanas 85,3 - 86,4 % (Mulyohardjo, 1984 ; dan Sudiby, 1992). Selain itu juga dipengaruhi kadar air dari hati ikan cucut yang menurut Bykov (1986) kadar air hati ikan cucut mencapai 32,3 %.

#### 6.4.6 Kadar Asam Lemak Linoleat

Penentuan kadar asam lemak esensial (linoleat, linolenat dan arachidonat) minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan cara tradisional, dilakukan dengan kromatografi gas. Dasar penentuan ini adalah waktu retensi sampel dibandingkan dengan waktu retensi standar asam lemak esensial.

Besarnya kadar asam lemak linoleat minyak hati ikan cucut yang diekstraksi secara tradisional adalah 1,42 %. Sedangkan kadar asam lemak linoleat minyak yang diekstraksi enzimatis dengan papain 1,66 % dan bromelin 1,15 %. Dapat disimpulkan bahwa kadar asam lemak linoleat minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan enzim papain lebih baik, dibanding ekstraksi dengan bromelin maupun tradisional. Hal ini disebabkan karena pada minyak hasil ekstraksi dengan bromelin dan cara tradisional lebih banyak mengalami oksidasi. Diduga bahwa minyak hasil ekstraksi secara tradisional, yang menggunakan hati ikan cucut tanpa

pencucian lebih dulu masih terdapat darah. Menurut Brody (1965) haemoglobin dalam darah dapat bersifat prooksidan, sehingga minyak hasil ekstraksi secara tradisional kadar asam lemak linoleatnya lebih rendah.

#### 6.4.7 Kadar Asam Lemak Linolenat

Penetapan kadar asam lemak linolenat, samadengan yang dilakukan untuk analisis asam lemak linoleat yaitu dengan menggunakan kromaografi gas.

Besarnya kadar asam lemak linolenat minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan cara tradisional adalah 0,40 %. Sedangkan kadar asam lemak linolenat minyak yang diekstraksi dengan enzim papain 0,43 % dan bromelin 0,29 %. Dapat disimpulkan bahwa kadar asam lemak linolenat minyak yang diekstraksi dengan enzim papain lebih baik dibanding cara tradisional maupun enzim bromelin. Hal ini disebabkan karena pada minyak hasil ekstraksi dengan bromelin dan tradisional asam lemak linolenatnya lebih banyak mengalami oksidasi, yang ditunjukkan dengan kadar peroksida minyak yang lebih besar pada ekstraksi dengan enzim bromelin, akibatnya kadar asam lemak linolenat yang dihasilkan juga lebih rendah.

#### **6.4.8 Kadar Asam Lemak Arachidonat**

Penentuan kadar asam lemak arachidonat, sama dengan penetapan kadar asam lemak linoleat maupun linolenat yaitu dengan menggunakan Kromatografi Gas.

Hasil analisis kadar asam lemak arachidonat minyak yang diekstraksi dengan cara tradisional adalah 1,43 %. Sedangkan kadar asam lemak arachidonat minyak hati ikan cucut hasil teknik ekstraksi enzimatis dengan papain 0 % dan bromelin 0,48 %. Dapat disimpulkan bahwa kadar asam lemak arachidonat minyak hati ikan cucut yang diekstraksi secara tradisional lebih baik dibanding teknik ekstraksi enzimatis. Hal ini disebabkan karena pada ekstraksi minyak cara tradisional tidak digunakan garam, sedangkan pada teknik ekstraksi enzimatis baik papain maupun bromelin menggunakan garam. Dengan adanya penambahan garam maka dalam jaringan hati terdapat rongga, sehingga mudah terjadi oksidasi minyak yang diekstraksi dengan enzimatis. Selain itu dengan adanya penambahan garam maka, dimungkinkan masih adanya Fe dari garam, walaupun secara kualitatif telah diuji kualitasnya yang sesuai dengan SII.0141.76 (lampiran 10). Lebih lanjut dikatakan bahwa Fe merupakan salah satu komponen yang terdapat dalam garam yang dibuat dengan cara penguapan air laut (Gross *et al.*, 1977 dan Frazier, 1978).

#### 6.4.9 Kadar Vitamin A

Kadar vitamin A minyak hati ikan cucut yang diekstraksi dengan cara tradisional, menggunakan metode Carr Price dengan prinsip bereaksinya vitamin A dengan antimon triklorida membentuk warna biru yang dapat diukur intensitasnya dengan spektrofotometer.

Besarnya kadar vitamin A minyak yang diekstraksi dengan cara tradisional adalah 7.240 IU/g. Dapat disimpulkan bahwa kadar vitamin A minyak yang diekstraksi dengan tradisional lebih baik dibanding ekstraksi secara enzimatis baik enzim papain maupun bromelin kasar. Hal ini kemungkinan disebabkan karena pada vitamin A terdapat pigmen-pigmen yang mempunyai serapan sama dengan vitamin A, sehingga kadar vitamin A pada teknik ekstraksi tradisional lebih tinggi walaupun minyak yang dihasilkan berhubungan dengan sinar matahari langsung. Selain itu pada teknik ekstraksi tradisional tidak dilakukan penambahan garam, sehingga kemungkinan adanya Fe yang bersifat prooksidan dalam minyak kecil sekali akibatnya oksidasi vitamin A juga kecil.



Dari hasil penelitian " Peningkatan rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut (*Centrophorus squamosus*) dengan teknik ekstraksi enzimatis, studi optimasi kondisi kerja enzim papain dan bromelin, menghasilkan beberapa temuan penting sebagai berikut.

1. Kondisi optimal untuk teknik ekstraksi enzimatis dengan papain adalah kadar garam 25 %, pH 7 dan suhu 45<sup>o</sup>C yang menghasilkan rendemen minyak 85,77 %, kadar skualen 89,27 %, kadar peroksida 5,66 meq/kg, kadar asam lemak bebas 0,10 %, kadar air 7,48 %, kadar asam lemak linoleat 1,15 %, kadar asam lemak linolenat 0,43 %, kadar asam lemak arachidonat 0 % dan kadar vitamin A 6.050 IU/g.
2. Kondisi optimal untuk teknik ekstraksi enzimatis dengan bromelin adalah kadar garam 30 %, pH 6 dan suhu 55<sup>o</sup>C yang menghasilkan rendemen minyak 82,69 %, kadar skualen 77,46 %, kadar peroksida 6,65 meq/kg, kadar asam lemak bebas 0,16 %, kadar air 5,41 %, kadar asam lemak linoleat 1,86 %, kadar asam lemak linolenat 0,29 %, kadar asam lemak arachidonat 0,48 % dan kadar vitamin A 7.040 IU/g.

## 7 KESIMPULAN DAN SARAN

### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil percobaan dan pembahasan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut dapat ditingkatkan dengan teknik ekstraksi enzimatis, dengan papain kasar pada kondisi garam, pH dan suhu yang optimal dibanding teknik ekstraksi tradisional, yaitu pada kadar garam 25 %, pH 7 dan suhu 45°C.
2. Rendemen dan kualitas minyak hati ikan cucut dapat ditingkatkan dengan teknik ekstraksi enzimatis, dengan bromelin kasar pada kondisi garam, pH dan suhu yang optimal dibanding teknik ekstraksi tradisional, yaitu pada kadar garam 30 %, pH 6 dan suhu 55°C.

## 7.2 Saran-saran

1. Agar supaya diperoleh minyak dengan kadar peroksida yang rendah, pada ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan teknik ekstraksi enzimatis dengan papain atau bromelin, perlu dilakukan pemantauan komposisi garam yang digunakan agar diketahui kandungan logam berat yang bersifat prooksidan.
2. Hati ikan cucut perlu ditiriskan sampai tuntas setelah pencucian atau dilakukan penambahan senyawa tertentu yang sifatnya menarik air, sehingga memperkecil kandungan asam lemak bebas pada minyak.
3. Perlu dilakukan pengkajian lebih lanjut dalam skala produksi dengan mempertimbangkan aspek ekonomis dan teknis, untuk ekstraksi minyak hati ikan cucut dengan teknik ekstraksi enzimatis menggunakan enzim papain dan bromelin dengan rendemen dan kualitas yang optimal.

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 1981. Daftar Komposisi Bahan Makanan. Direktorat Gizi. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Bhratara Karya Aksara. Jakarta. hal 35
- \_\_\_\_\_, 1987. Pengolahan Hasil Perikanan Secara Tradisional dan Modern. Subdir Bina Mutu Dinas Perikanan Dati I Jatim. Surabaya. hal. 9 - 19.
- \_\_\_\_\_, 1988. Laporan Tahunan Perikanan Jawa Timur. Dinas Perikanan Daerah Propinsi Dati I Jawa Timur. Surabaya. hal. 40.
- \_\_\_\_\_, 1991. Laporan Tahunan 1990/1991 Dinas Perikanan Daerah. Laboratorium Pembinaan dan Pengujian Mutu Hasil Perikanan. Jawa Timur. Surabaya. hal. 1 - 24.
- \_\_\_\_\_, 1993. Laporan Statistik Perikanan Jawa Timur. Dinas Perikanan Propinsi Dati I Jawa Timur. Surabaya. hal. 31-35.
- Abdurachman dan Saleh M., 1976. Percobaan Cara-cara Pengawetan Hati Ikan Cucut dan Cara Ekstraksi Minyaknya. Penelitian Kandungan Vitamin A Dalam Hati Ikan Cucut. Jurnal Teknologi Hasil Perikanan. No.2 Jakarta hal.41.
- Andarwulan N dan S. Koswara, 1992. Kimia Vitamin. Kerja Sama Antara PAU (Pusat Antar Universitas) Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor. Bogor. Radjawali Press. Jakarta hal.15
- Afrianto, E dan E. Liviawaty, 1989. Pengawetan dan Pengolahan Ikan. Kanisius. Yogyakarta. hal. 11-90.
- Apriyantono, D. Fardiaz, Puspitasari, Suarnawati, S. Budiyanto, 1989. Petunjuk Laboratorium. Analisis Pangan. Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi Institut Pertanian Bogor. Bogor. hal. 121-122
- Arroyo, 1982. Use of Some Tropical Plant Enzymes. Abaniko Enterprises. Quezon City. p 128.
- AOAC, 1984. Official Methods of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist. Fourteenth Edition. p.503-515

- Bailey, A.E., 1952. Industrial Oil and Fat Product. Second Edition. Interscience. Publisher. Inc. New York.p.67
- Bank, A. 1967. Deteriorative Changes in Fish Oils (ed) Stansby.Fish Oils. Their Chemistry,Technology, Stability, Nutritional, Properties and Uses. The Avi Publishing Company Inc. Westport Connecticut.p.175
- Beddows, M.Ismail and K.H.Steinlerans, 1976. The use of Bromelain in the Hydrolysis of Mackerel and the Investigation of Fermented Fish Aroma Journal of Food Technology.Vol.11.p.379-389
- Bender,A.E.1966. Nutritional Effects of Food Processing. Journal Food Technology.Vol.1. hal.261-287
- Brody, J., 1965. Fishery by Product Technology. The Avi Publishing Company. Inc. Westport.Connecticut. p. 148-160.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet, M. Wooton, 1987. Ilmu Pangan. Alih Bahasa Hari Purnomo dan Adiono. UI.Press. Jakarta.hal. 166-167.
- Budiarso,I.T, 1992. Mega Skualen. Ekstrak Hati Ikan Hiu Botol Yang Ajaib. Pusat Penelitian Penyakit Tidak Menular. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. hal.1-33
- Bykov, J.S., 1986. Fishes of The World.2nd Edition. John Willey and Sons. New York. p. 43-57.
- Christie,W. 1982. Lipid analysis 2nd. Edition. Pergamon Press. p. 51-62
- Colowick,S.P and N.O Kaplan,1970. Methods in Enzimology. Volume XIX. Batedytic Enzymes. Academic Press. New York and London.p 226-273
- Compagno, L.J.V., 1984. Sharks of The World. And Annotated and Illustrated Catalogue of Sharks Species Know to Data. Part one. Species Catalogue Volume. IV. FAO. Rome. p.3-41.
- Connel J.J, 1980. Control of Fish Quality. Fishing News Books Ltd. London. p. 177.
- Cruicksank, E.M., 1961. Fat Soluble Vitamin. (ed) Fish as Food Vol. II. Academic Press. New York. p. 175-184.

- Darnell, J., H. Lodish., D. Baltimore. 1990. Molecular Cell Biology. Second Edition. Scientific American Books. New York. p.491-581.
- Dixon and Webb, 1958. Enzymes. Second Edition. Academic Press. New York. p.141-150
- Dugan, L.R. 1961. Development and Inhibition of Oxidative Rancidity in Food. Journal of Food Technology. Vol.15. p.168-169
- Dyer and Frazer, 1959. Proteins in Fish Muscle. Lipide Hydrolysis. Journal Fisheries Research Board. Vol. 16.p.43-52.
- Elliot, R.P., 1980. Microbial Ecology of Food Vol. 1. Factor Affecting Life and Death of Microorganism. Academic Press. New York. p. 139-149.
- Erich.J and Gaunglitz, 1967. Reactions of The Carboxyl Group at Fish Oils.(ed) Stansby. Fish Oils.The Avi Publishing Company. Westport Connecticut. p.107-116
- Erickson, 1981. Lipid Oxidation Catalyst and Inhibitors in Raw Materials and Processed Foods. The Swedish Food Institute. Sweden.p.3-10
- Eskin,N.A.M., H.M. Henderson and R.J. Townsend. 1971. Biochemistry of Foods. Academic Press. New York. p.124-126.
- FAO, 1970. Recommended International General Standard For Edible Fat and Oils. Codex Standards. p.5
- Fessenden R.J dan J.S Fessenden, 1983. Kimia Organik. Edisi Kedua. Erlangga. Jakarta.hal.433
- Florian, O.M.1978. Proteolysis and Control Mechanisms in Fish Sauce Fermentation. PhD. Disertation. University of Washington. Seattle. USA.p 1-75
- Frazier, 1978. Food Microbiology. Third Edition. Mac. Graw Hill Publishing Company Limited. New Delhi. p. 61-323.
- Gross,M.G and C. Englewood. 1977. Oceanography a View of The Earth. Prentice Hall Inc. New Jersey. p.127-130.

- Gunstone, F.D. and F.A. Norris, 1983. Lipids in Foods Chemistry, Biochemistry and Technology. Pergamon Press. Oxford. p.62.
- Gunstone, F.D. 1984. Reaction of Oxygen and Unsaturated Fatty Acids. Journal of The American Oil Chemists Society. Vol. 61. p.441-446.
- Hadiwiyoto, S., 1983. Hasil-hasil Olahan Susu, Ikan, Daging dan Telur. Liberty. Yogyakarta. hal.20
- Hardy, R., 1979. Fish Lipids Part 2nd. (ed) Advances in Fish Science and Technology. Fishery News Books. Ltd. Farnham. Surrey. England. p. 103-108.
- Heller, J., H. Heller, M. S. Springer and Clark. 1957. Squalene Content of Various Shark Livers. (ed) Chemistry and Biochemistry of Marine Foods Product. Avi Publishing. Westport Connecticut. p.81
- Hirano, Y. and H.S. Olcott, 1971. Effect of Heme Compounds on Lipid Oxidation. Departement of Nutritional Sources. Institute of Marine Resources. University of California. Berkeley. p. 523-524.
- Ingram and Kitchell. 1967. Salt as Preservative For Foods. Journal of Food Technology. Vol. 2 p.1-15.
- Ismail, 1977. Accelerated Fermentation of Fish Sauce, Fish Soy, Soy Paste and Fish Soy Sauce. Disertasion. PhD. Cornell University. p. 1-214
- Irianto, H.E., N.F. Yusro dan S. Nasran, 1987. Uji Konsumen dan Uji Pemanfaatan Daging Cucut. Bulletin Limbah Pangan Vol. III. Puslitbang Kimia Terapan. LIPI. Bandung. hal. 314.
- Jacob, M.D., 1951. The Chemistry and Technology at Food and Food Product Vol. III. Interscience Publisher. Inc. New York. p. 2355-2356.
- Jay, 1971. Modern Food Microbiology. Van Nostrand Reinhold. New York. p.67-85
- Karel, M. 1973. Protein Interactions in Biosystems Protein-lipid Interactions. Journal Of Foods Science. Vol. 38. p.756-763.

- Karjadi dan Muhilal, 1987. Manfaat Makan Ikan bagi Pembangunan Sumber Daya Manusia. Departemen Kesehatan. Republik Indonesia. Hal.46
- Ketaren, S., 1986. Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan. UI Press. Jakarta. hal. 14-61.
- Khayat, A. and D. Schwall, 1983. Lipid Oxidation in Sea Food. Food Technology. Avi Publishing. Westport Connecticut. p. 136-137.
- Kho Teng Hik, 1980, Minyak Ikan. PT. Nakula Farma. Jakarta. hal.2-5
- Kulikov, PI. 1971. Production of Meal, Oil and Protein, Vitamine. Preparations in The Fishing Industry. Amerind Publishing. New Delhi. p.11-24
- Kumalaningsih, S., 1990. Pemanfaatan Enzim dan Bakteri Proteolitik Pada Fermentasi Ikan. Jawa Pos. Surabaya. hal. 4-5.
- Kuswanto, K.R., 1988. Isolasi dan Pengujian Aktivitas Enzim. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. hal. 7-8.
- Lagler, K.F., J.E. Bardach., R.R. Miller., D.R.M. Passino, 1977. Ichthyology. Second Edition. John Wiley & Sons. New York, London, Sydney. p 9-51.
- Lehninger, A.L., 1975. Biochemistry. Second Edition. The Molecular Basic at Cell Structure and Function. Worth Publisher. Inc. New York. p. 195-197.
- Lillard, D.A. 1978. Effect of Processing on Chemical and Nutritional Changes in Food Lipids. Journal Of Food Protection. Vol. 46.p.61-67
- Love and Pearson, 1971. Lipid oxidation in meat and meat products. A review. Foods Science Department. Michigan State University. Michigan. p.547-549
- Lunberg, W.O. 1967. General Deterioration Reactions. (ed) Stansby. Fish Oils. The Avi Publishing. Westport Connecticut. p.141-147.
- Malin, D.C., 1967. Classes of Lipids in Fish. (ed) Stansby. Fish Oils. The Avi Publishing. Westport Connecticut. p.31-42



- Mayes, P.A. 1988. Lipids of Physiologic Significance. (ed) Harpers. Biochemistry. Twenty First Edition. Appleton and Lange. California. P.130-141.
- Martin.D.W, P.Mayes,V.W.Rodwell.1983.Biokimia. Review of Biochemistry. Edisi. 19. Alih Bahasa. Adji Dharma dan A.S.Kurniawan. EGC. Jakarta hal.15-44
- Miyauchi and F.B. Sanford., 1947. Studies on Methods of Extracting Vitamine A and Oil From Fishery Products. Commercial Fisheries. Review. Seattle Washington. p.19-20
- Miwa, K., 1972. Fish Oil and Fish Liver Oils. (ed) Utilition at Marine Products. Overseas Technical Cooperation Agency. Government of Japan. Tokyo. p. 111-117.
- Mossel, D.A.A., 1982. Microbiology of Foods The Ecological Essential of Assurance and Assesmeat of Safety and Quality. Third Edition. Faculty of Medicine The University of Utrech. Nederland. p. 31-45.
- Moelyanto, R., 1982. Pemanfaatan Lemak Dalam Hubungannya Dengan Pemanfaatan Secara Optimal. Balai Penelitian Teknologi Perikanan. Jakarta. hal. 130.
- Muchtadi, S. Palupi, M. Astawan. 1989. Ensim Dalam Industri Pangan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. hal.1-78.
- Murdiyati, Puji Hastuti dan Supriyanto, 1980. Minyak, Sumber, Penanganan, Pengolahan dan Pemurniannya. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. hal.189-204
- Mulyohardjo, M. 1984. Nanas dan Teknologi Pengolahannya. Liberty. Yogyakarta. hal 32.
- Murtini, T.J., S. Nasran, M.D. Erlina dan Yunizal, 1985. Perlakuan Daging Cucut Untuk Pengolahan Marinade. Bulletin Limbah Pangan Vol. 1. Puslitbang Kimia Terapan. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. Bandung. hal.1
- Nasran, S., Yunizal, Suparno dan T.J. Murtini, 1981. Pengolahan Daging Ikan Cucut Untuk Dendeng, Abon, Asap dan Asin Kering Dalam Perlakuan Fisis dan Kimis Untuk Mengurangi Kandungan Urea Daging Cucut. Laporan Penelitian Teknologi Perikanan. No. 35. Balai Penelitian

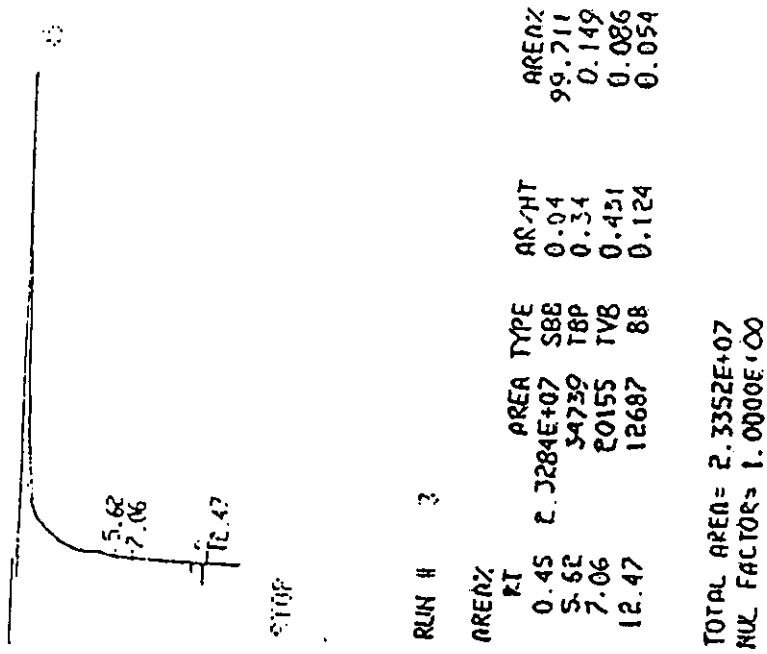
- Teknologi Perikanan. Departemen Pertanian. Jakarta. hal. 19.
- Newman, A.A. 1972. Chemistry of Terpen and Terpenoids. Academic Press. London. 202-209.
- Noguchi, E. 1972. Salted and Dried Marine Product. Utilization of Marine Products. Cooperation Agency Government of Japan. p. 57-69
- Nugroho, W.H. 1990. Perancangan dan Analisis Percobaan. Edisi Pertama. Penerbit Ganeca Exact Bandung. hal 3
- Panjaitan, B., 1986. Cucut Botol dan Prospek Pengusahaannya di Indonesia. Bulletin Warta Mina tahun V. No. 10. Jakarta. hal. 13-15.
- Paquette, G., D.B. Kupranycz and F.R. Vandevort. 1985. The Mecanisms of Lipid Autooxidation Primary Oxidation Products. Journal Food Science Technology. Vol. 18. p. 112-118
- Pelick and Mahade Van, 1975. Lipid Derivatives and Gas Liquid Chromatography. (ed) Analysis of Lipids and Lipoproteins. American Oil Chemists Society. Champaign. Illinois. p. 23-69
- Potter, 1978. Food Science. Third Edition. The Avi Publishing Company Inc. Westport. Connecticut. p. 72
- Rochnadi, 1977. Pemanfaatan Pyloric Caeca Ikan Sebagai Penghasil Enzim Proteolitik. Jurnal Penelitian Hasil Perikanan. No. 1. Balai Penelitian Teknologi Perikanan. hal. 11-12.
- Rachmat, A. dan Yunizal, 1988. Cucut Bernilai Pangan, Uang, Obat. Balai Penelitian Teknologi Perikanan. Departemen Pertanian Republik Indonesia. Jakarta. hal. 13-15.
- Raharjo, A.A. dan I. Suharto, 1972. Cara-Cara Ekstraksi Minyak Hati Ikan Hiu. Laporan Penelitian Teknologi Perikanan. No. 16. Balai Penelitian Teknologi Perikanan. Departemen Pertanian Republik Indonesia. Jakarta. hal. 1.
- Reed, G., 1975. Enzyme In Food Processing. Second Edition. (ed) Food Science and Technology. Academic Press. New York. p. 84-123

- Rodwell, V.W., 1988. Pengaturan Aktivitas Enzim. (ed) Biokimia (Review of Biochemistry). Edisi 19. EGC. Jakarta. hal. 99-112.
- Rodblat, Dolores, Martak and D. Kritchevsky. 1962. A Quantitative Colorimetric Assay For Squalene. Analytical Biochemistry. p.52-56.
- Saleh, M. 1987. Pengaruh Cara Penyimpanan Minyak Hati Ikan Cucut Terhadap Minyak Yang Dihasilkan. PAU (Pusat Antar Universitas) Kimia Pangan dan Gizi. Universitas Gajahmada. hal. 190-200
- Saanir, H., 1968. Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan. Bina Cipta. Bandung. hal.156-463
- Stansby. 1967. Fish Oil and Their Chemistry. Technology, Stability Nutritional, Properties and Uses. Avi Publishing. Westport Connecticut. p.148-163
- Steel, R.G.D. dan J.H. Torrie, 1989. Prinsip dan Prosedur Statistika Suatu Pendekatan Biometrik. Edisi 2. Gramedia. Jakarta. hal. 140-146.
- Stryer, L. 1981. Biochemistry. Stanford University. Second Edition. W.H. Freeman and Company. New York. P.471-472.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi, 1989. Analisa Bahan Pangan dan Pertanian. Liberty Bekerja Sama Pusat Antar Universitas (PAU) Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. hal. 114-117.
- Sudiby, M. 1992. Pengaruh Umur Petik Buah Nanas Subang (*Ananas comosus*) Terhadap Mutu. Jurnal Hortikultura. Vol.2. hal.36-42
- Suharsono dan K.Rahayu, 1977. Enzimologi Cetakan Pertama. Yayasan Teknologi Pertanian. Universitas Gadjah Mada (UGM). Yogyakarta. hal. 55-63.
- Suharsono, 1984. Biokimia jilid I-II. Fakultas Teknologi Pertanian. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. hal. 74-93.
- Sukardi, 1985. Mempelajari Jenis dan Konsentrasi Enzim Proteolitik Tumbuh-tumbuhan Terhadap Fermentasi Ikan Lemuru (*Sardinella longiceps*) Pada Berbagai Tingkat Kadar Garam. Tesis S-1 Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. hal. 79.

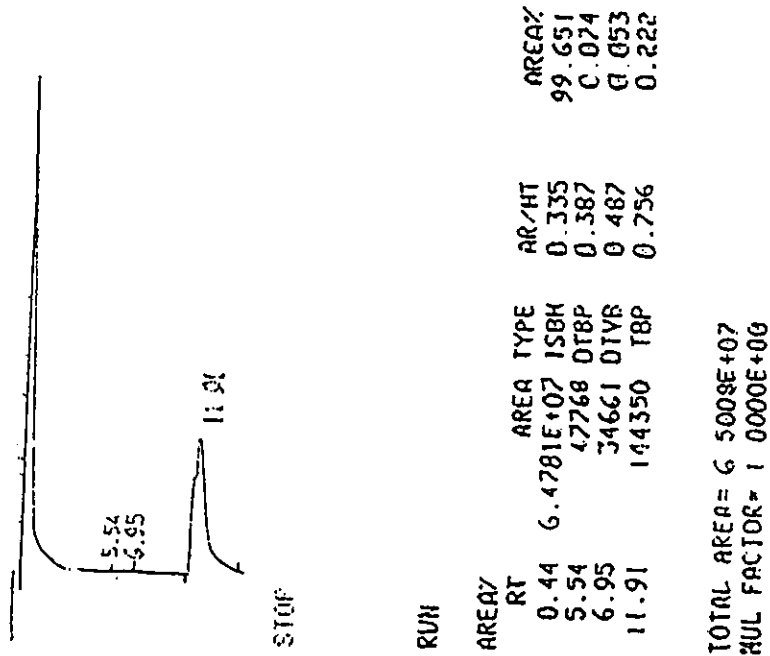
- Suprayitno, 1988. Studi Perlakuan Awal Sebelum Ekstraksi dan Penyimpanan Minyak Hati Ikan Cucut (*Centrophorus squamosus*). Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. hal.24-43
- Susanto, W.H., 1987. Teknologi Lemak dan Minyak Makanan. Jurusan Teknologi Pertanian. Fakultas Pertanian. Universitas Brawijaya. Malang. hal.36
- Tanikawa, E., 1967. Fish Liver Oil Industri. Marine Product in Japan. Koseikaku Comp. Tokyo. p.466-476
- Toyama, Y. and T. Kaneda, 1965. Nutritive Aspects of Fish oils. (ed) Fish as Food. Volume II. Academic Press. New York. p. 54-58.
- Tranggono dan B. Setyadji, 1986. Kimia lipids. Lab. Kimia dan Biokimia Pangan. PAU (Pusat Antar Universitas) Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. hal.51-58.
- Tranggono, 1989. Petunjuk Laboratorium Pangan dan Gizi. PAU (Pusat Antar Universitas) Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta. hal. 76.
- Tsuchiya, 1961. Biochemistry of Fish Oils.(ed) Fish as Food. Borgstrom. Vol.1 Academic Press. New York. p.24.
- USP NF, 1995. United States Pharmacopieal National Formulary. USP. 23 NF. 18 Convention. Inc. Twinbrook.Parkway. Rockville.p.2309.
- Whitaker, 1972. Principle of Enzimology for The Food Science. Marcel Dekker. Inc. New York.p.71-97.
- White, A., P.T. Handler, E. Smith, 1968. Principle of Biochemistry. (ed) Pemanfaatan Pyloric Caeca Ikan Sebagai Penghasil Enzim Proteolitik. Jurnal Penelitian Hasil Perikanan. No. 1. Tahun 1977. hal. 11.
- Wijadi, S., D. Fardiaz, 1974. Dasar Pengawasan Mutu Hasil Pertanian. Departemen Teknologi Hasil Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. hal.62
- William J.C., R.Field., G.J. Miller and R.A. Wilke. 1983. Evaluation of (TBA) Thiobarbituric Acid For

Determination of Lipid Oxidation in Red Meat For Four Species. Journal Of Food Science. Vol 48. p.69

- Williams, S. 1989. Official Methods of Analysis. Edition.4. Association of Official Analytical Chemist. Inc. USA.p.87
- Winarno, F.G. dan S. Fardiaz, 1979. Biofermentasi dan Biosintesa. Protein. Angkasa. Bandung.hal.13.
- Winarno, 1980. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia. Jakarta. hal. 85
- Winarno, F. G. dan B. S. L.Jenie. 1982. Kerusakan Bahan Pangan dan Pencegahannya. Ghalia Indonesia. Jakarta. hal. 37
- Winarno, F.G., S. Fardiaz dan D. Fardiaz, 1984. Pengantar Teknologi Pangan. Gramedia. Jakarta. hal. 21.
- Winarno, F.G., 1986. Enzim Pangan. Gramedia. Jakarta. hal. 48-76.
- Winarno, F.G., 1988. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia. Jakarta. hal. 84-112.
- Windsor and Barlow, 1981. Introduction to Fishery by Product. Fishing News Book Ltd. Farnham. Surrey. England. p. 82-83.
- Yunizal dan S. Nasran, 1982. Ekstraksi Minyak Hati Ikan Cucut Dengan Silase Asam. Laporan Penelitian Teknologi Perikanan. No. 16. Balai Penelitian Teknologi Perikanan. Departemen Pertanian. Jakarta. hal.2.
- Yunizal, S. Nasran dan T.J. Murtini, 1983. Studi Cara-Cara Ekstraksi Minyak Hati Ikan Cucut. Laporan Penelitian Teknologi Perikanan.No. 22. Balai Penelitian Teknologi Perikanan. Jakarta. hal. 35-37.
- Zeitsev, V., Kisevetter, L. Lagunov, T. Makarova, L. Minder and V. Podsevalov, 1969. Fish Curing and Processing. MIR Publisher. Moscow. p.198-216.

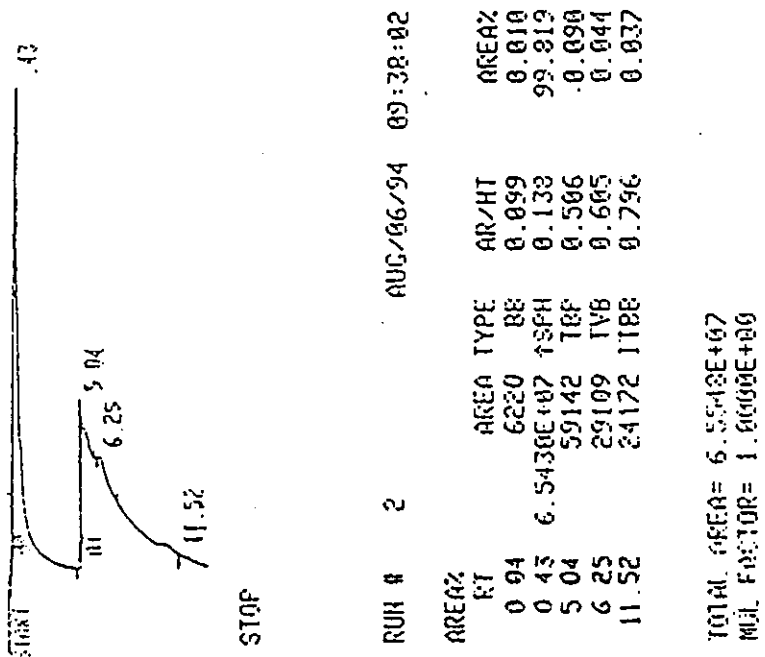


Gambar 12. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut yang Diekstraksi Secara Tradisional  
 Keterangan : 5.62 = asam lemak linoleat  
 7.06 = asam lemak linolenat  
 12.47 = asam lemak arachidonat



Gambar 13. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Dengan Enzim papain (garam, 25%, pH 8, suhu 45°C)

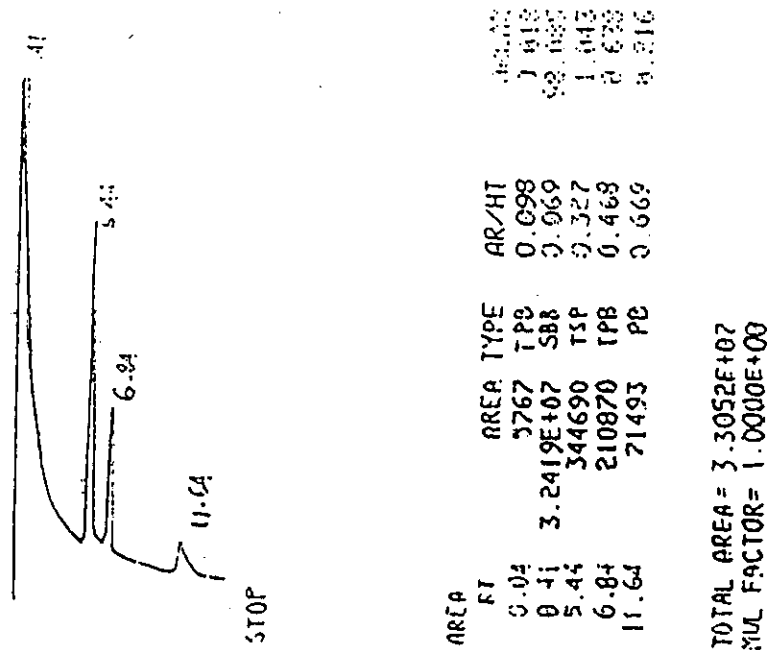
Keterangan : 5.54 = asam lemak linoleat  
 6.95 = asam lemak linolenat  
 11.91 = asam lemak arachidonat



Gambar 14 . Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Dengan Enzim Papain (garam 15 %, pH 8, suhu 550C)

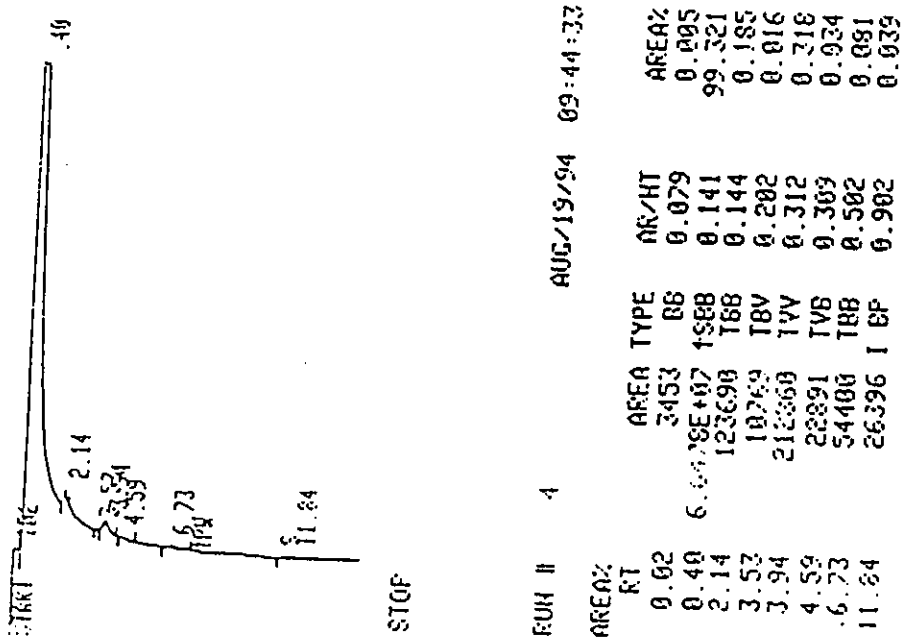
Keterangan : 5.04 = asam lemak linoleat  
 6.25 = asam lemak linolenat  
 11.52 = asam lemak arachidonat





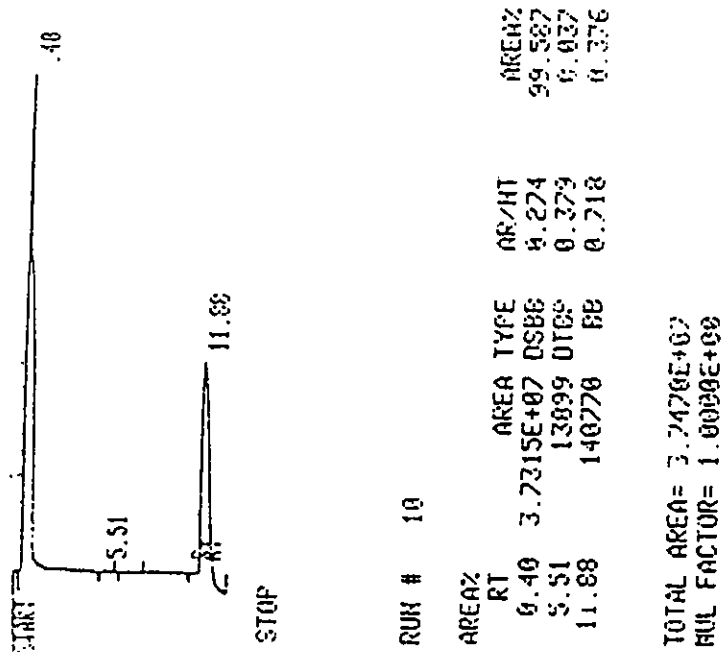
Gambar 15. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Dengan Enzim Papain (garam 25 %, pH 6, suhu 35°C)

Keterangan : 5.44 = asam lemak linoleat  
6.84 = asam lemak linolenat  
11.64 = asam lemak arachidonat



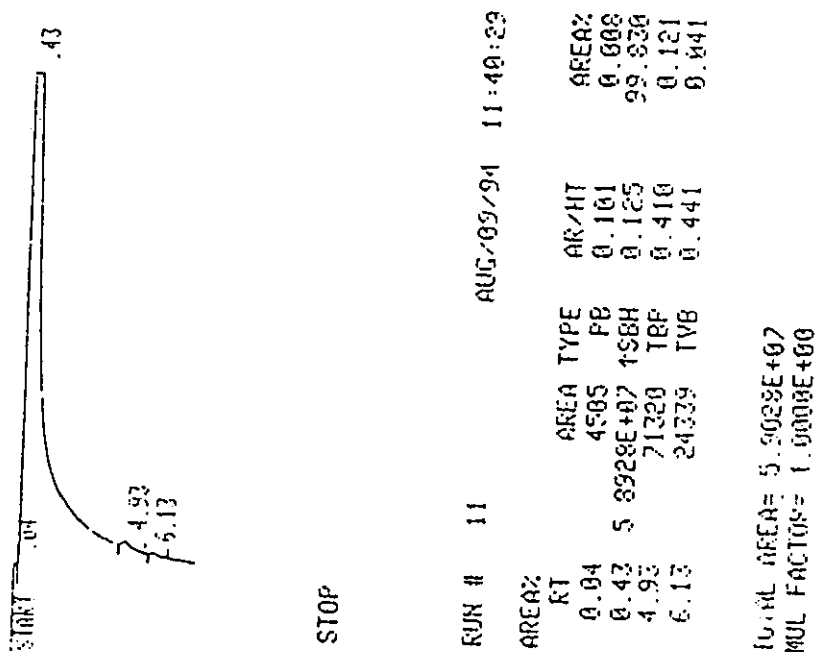
Gambar 16. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Dengan Enzim Bromelin (garam 15 %, pH 6, suhu 45°C)

Keterangan : 2.14 = asam lemak linoleat  
 4.59 = asam lemak linolenat  
 11.84 = asam lemak arachidonat



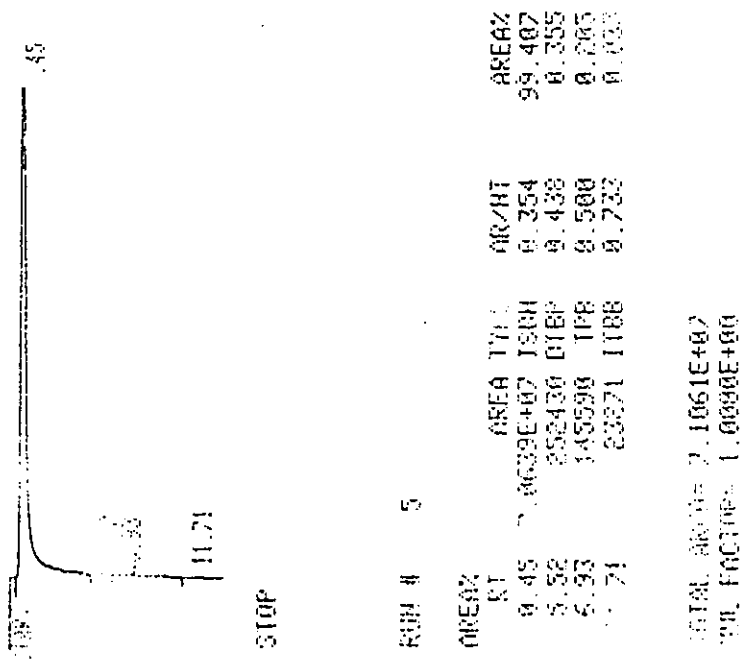
Gambar 17. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi. Dengan Enzim Bromelin (garam 25 %, pH 7, suhu 550C)

Keterangan : 5.51 = asam lemak linoleat  
 11.88 = asam lemak arachidonat



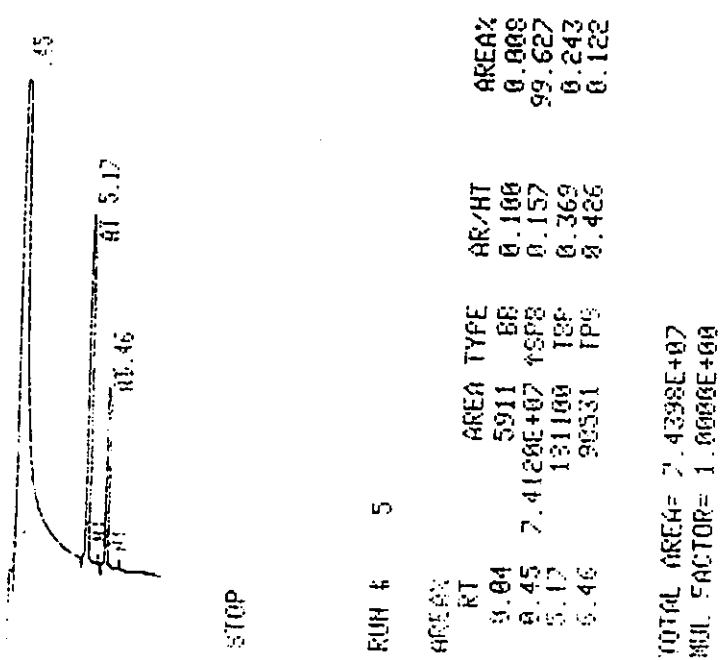
Gambar 18 • Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi dengan Enzim Bromelin (garam 25 %, pH 7, suhu 45°C)

Keterangan : 4.93 = asam lemak linoleat  
6.13 = asam lemak linolenat



Gambar 19. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut Diekstraksi Dengan Enzim Bromelin (garam 30%, pH 6, suhu 55°C)

Keterangan : 5.52 = asam lemak linoleat  
 6.93 = asam lemak linolenat  
 11.71 = asam lemak arachidonat



Gambar 20. Kromatogram Asam Lemak Minyak Hati Ikan Cucut  
 Diekstraksi Dengan Enzim Papain (garam 30%, pH  
 7, suhu 45°C)

Keterangan : 5.17 = asam lemak linoleat  
 6.46 = asam lemak linolenat

Lampiran 10. Standar Kualitas Garam Meja

Jenis bahan tambahan	syarat	Hasil
1. Natrium Klorida (NaCl)		
2. Air	minimal 97,1 %	98,6 %
3. Kalium Iodat (KIO <sub>3</sub> )	maksimal 4 %	3,6 %
4. Oksida besi (Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	40 ppm + 25 %	41,7 %
5. Kalsium dan Magnesium	negatif	negatif
6. Sulfat (SO <sub>4</sub> )	maksimal 1 %	0,7 %
7. Bagian yang tak larut dalam air	maksimal 1 %	0,6 %
8. Logam-logam berbahaya (Pb, Hg, Cu, As)	maksimal 0,1 %	0,06 %
9. Kehalusan ayakan no.16 (1,19 mm)	negatif	negatif
10. Warna	lolos semua	lolos semua
11. Rasa	putih semua	putih semua
12. Bau	asin	asin
	tidak berbau	tidak berbau

Sumber : SII.0141.76

## Lampiran 11. Perhitungan Aktivitas dan Cara Isolasi Enzim Papain

### a. Perhitungan Aktivitas Enzim Papain

#### Penyediaan Reagen

Pembuatan natrium fosfat 0,05 M. Ditimbang dengan teliti kurang lebih 7,1 gram  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  anhidrat dilarutkan dalam aquades sampai volume 1000 ml. Untuk menjaga supaya stabil ditambah 1 ml toluen.

Larutan asam sitrat 0,05 M. Ditimbang dengan teliti 10,5 g asam sitrat kemudian dilarutkan dalam aquades hingga mencapai volume 1000 ml.

Substrat kasein 1%. Diambil 250 ml natrium fosfat 0,05 M lalu ditempatkan dalam pemanas air yang sudah mendidih, ditambahkan 5 g kasein sedikit demi sedikit sambil diaduk. Pemanasan dan pengadukan diteruskan sampai semua kasein larut kurang lebih 30 menit. Kemudian didinginkan pada suhu kamar, lalu ditambahkan asam sitrat 0,05 M hingga mencapai pH 6,0.

Larutan kasein harus senantiasa diaduk, sewaktu penambahan asam sitrat berlangsung untuk mencegah kasein mengalami pengendapan. Selanjutnya larutan ini diencerkan dengan aquades hingga mencapai 500 ml. Persiapan dilakukan setiap akan analisis.

Fosfat sistein dinatrium ethilen diamin tetra asetat



sebagai buffer 6. Ditimbang dengan teliti kurang lebih 3,55 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  kemudian dilarutkan dalam labu ukur dengan 400 ml aquades. Ditambahkan 7,0 g  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$  dan 3,05 g sitein. pH diatur 6 dengan 1 N HCl atau 1 N KOH. Larutan dijadikan volume 500 ml dengan aquades. Persiapan dilakukan setiap akan analisis.

Larutan TCA 30 %. Ditimbang dengan teliti kurang lebih 300 g TCA dimasukkan labu ukur kemudian dilarutkan dalam aquades hingga mencapai volume 1000 ml.

Penyediaan larutan standar papain. Ditimbang dengan teliti kurang lebih 100 mg papain murni, lalu ditambah larutan buffer sampai volume tertentu. Setelah 30 menit preparasi diambil 4 ml larutan.

Preparasi sampel. Ditimbang dengan teliti sampel minyak yang mengandung aktivitas sebanding dengan 100 mg standar papain.

### Penentuan Aktivitas Enzim Papain

#### Cara Kerja :

Ditimbang 16 g enzim papain kasar, kemudian ditambahkan larutan buffer sampai volumenya 100 ml.

Dimasukkan 25 ml substrat kasein ke dalam labu ukur 100 ml. Ditambahkan 7,5 ml larutan sampel papain dan

dibiarkan selama 60 menit. Selanjutnya ditambahkan 15 ml larutan TCA 30 %. Kemudian dipanaskan kembali pada suhu  $40^{\circ}\text{C}$  selama 30-40 menit. Filtrat disaring dengan kertas whatman nomor 42 dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 280 nm. Nilai absorbansi dikonversikan dalam kurva standar papain untuk mengetahui kadar papain dalam larutan tersebut. Nilai absorbansinya adalah 0,2777.

Kurva standar papain mempunyai persamaan :

$$Y = - 0,2509 + 4,56 X$$

Dimana :

Y = absorbansi

X = kadar papain

Kalau nilai absorbansi dimasukkan maka dapat diketahui kadar papain sampel yaitu 0,1177 mg/ml. Aktivitas enzim papain diukur dengan menggunakan rumus :

$$\text{Daya katalitik enzim papain} = C \times 100/W \times 50/7,5 \times U$$

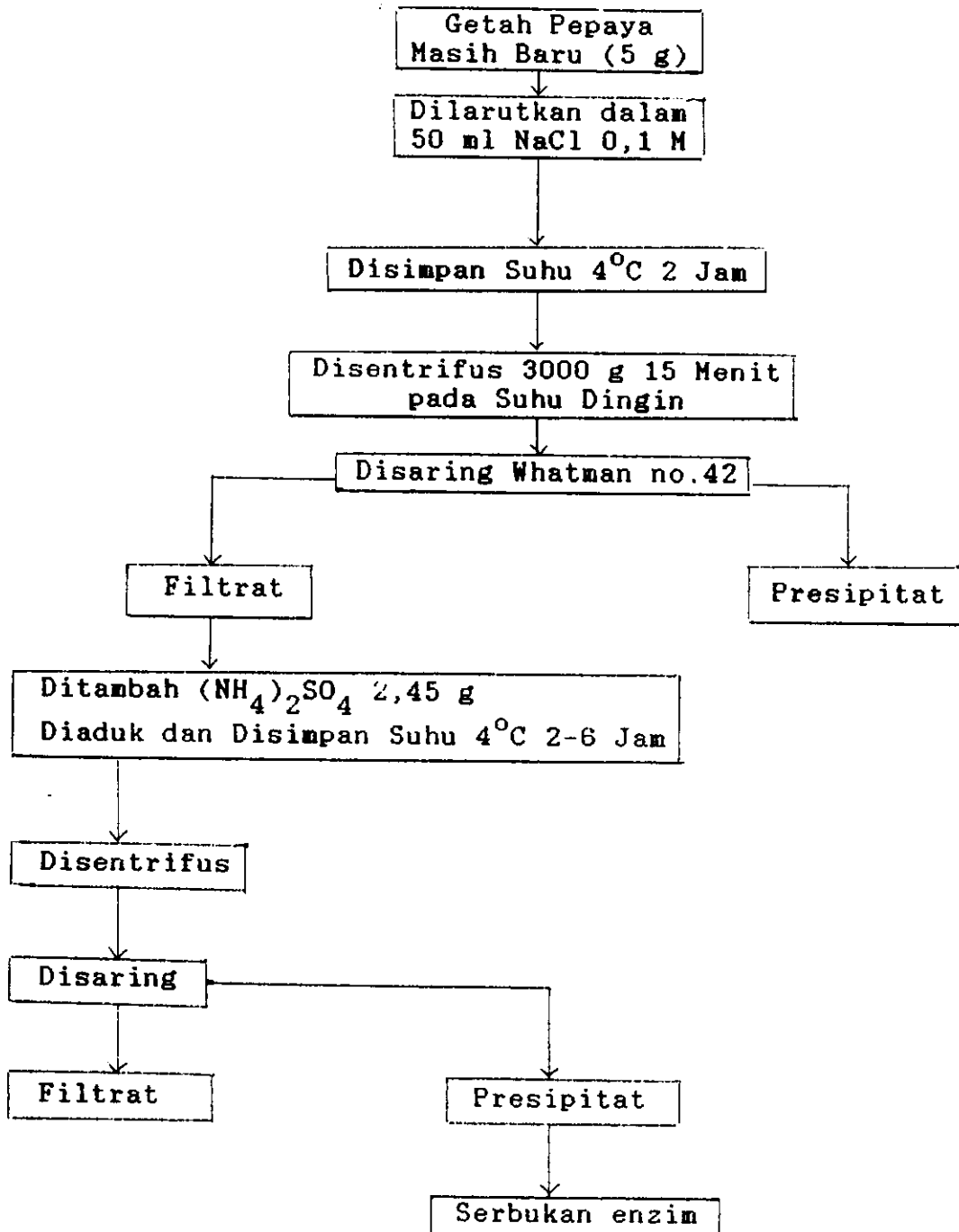
Dimana :

C = kandungan papain (0,1177 mg/ml)

W = berat sampel (81,4 mg)

U = aktivitas standar papain (6000 unit/mg)

Maka daya katalitik enzim papain sampel adalah 5784 unit/mg.

**b. Isolasi Enzim Papain (Colowick dan Kaplan, 1970)**

Lampiran 12. Perhitungan Aktivitas dan Cara Isolasi Enzim Bromelin (Colowick dan Kaplan, 1970)

a. Perhitungan Aktivitas Enzim Bromelin

Penyediaan Reagen

Pembuatan larutan buffer fosfat pH 6,0. Larutan A, 0,2 M larutan Na-fosfat monobasis. Ditimbang dengan teliti kurang lebih 27,8 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  dalam 1000 ml aquades. Larutan B, 0,2 M larutan Na-fosfat dibasis. Ditimbang dengan teliti kurang lebih 52,65 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  dalam 1000 ml aquades. Untuk membuat larutan buffer fosfat pH 6,0 maka 87,7 ml larutan A ditambah dengan 12,3 ml larutan B kemudian diencerkan hingga 200 ml.

Larutan Natrium fosfat 0,05 M. Ditimbang dengan teliti kurang lebih 7,1 g Natrium fosfat anhidrat kemudian dilarutkan dalam aquades hingga mencapai 1000 ml.

Larutan asam sitrat 0,05 M. Ditimbang dengan teliti kurang lebih 10,5 g asam sitrat dan dilarutkan dalam aquades hingga mencapai volume 1000 ml.

Substrat kasein 1%. Diambil 250 ml Natrium fosfat 0,05 M ditempatkan beker glas lalu dipanaskan di atas air mendidih, ditambahkan 5 g kasein sedikit demi sedikit sambil diaduk. Pemanasan dan pengadukan diteruskan sampai semua kasein larut kurang lebih 30 menit. Kemudian didinginkan pada suhu kamar, lalu ditambahkan asam sitrat

0,05 M hingga mencapai pH 6,0. Larutan kasein harus senantiasa diaduk sewaktu penambahan asam sitrat berlangsung untuk mencegah pengendapan kasein. Selanjutnya larutan ini diencerkan dengan aquades hingga mencapai 500 ml.

Larutan TCA 30 %. Ditimbang dengan teliti kurang lebih 300 gTCA kemudian dilarutkan dalam aquades hingga mencapai volume 1000 ml.

Penyediaan larutan standar tirosin 40 mikrogram/ml. Ditimbang dengan teliti kurang lebih 0,004 gram tirosin dilarutkan dalam beberapa tetes HCl lalu diencerkan dengan buffer fosfat pH 6 hingga mencapai volume 100 ml.

#### Penentuan Aktivitas Enzim Bromelin

Disediakan 4 buah erlenmeyer 300 ml yang dua buah diberi tanda A1, A2, sedangkan yang dua buah lainnya diberi tanda U1 dan U2 (untuk blanko).

Kedalam setiap erlenmeyer ditambahkan kasein 1% sebanyak 25 ml dengan pipet volume, kemudian pada semua erlenmeyer ditambahkan 4 ml buffer fosfat pH 6 dan ditempatkan pada shaker waterbath dengan suhu larutan diatur mencapai kurang lebih 40°C selama 10 menit.

Ditambahkan 24 gr enzim bromelin kasar kedalam erlenmeyer A1 dan A2 (dicatat waktu nol nya) segera digojog dan dikembalikan pada shaker waterbath dan dibiarkan berlangsung hidrolisis selama 60 menit.

Setelah hidrolisis 60 menit ditambahkan TCA 30 % sebanyak 15 ml ke dalam setiap erlenmeyer termasuk blanko lalu digojog.

Semua erlenmeyer dikembalikan ke shaker waterbath pada suhu yang sama selama 30-40 menit dan dibiarkan semua protein mengendap sempurna. Selanjutnya disaring dengan kertas whatman nomor 42.

Filtrat yang diperoleh lalu diterapada spektrofotometer terhadap blanko masing-masing pada panjang gelombang 280 nm. Dibuat juga kurva standar tirosin dengan konsentrasi 0, 16, 24, 32 dan 40 ug/ml sehingga diperoleh garis regresi hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi tirosin.

Berdasarkan persamaan garis regresi standar tirosin, maka jumlah tirosin yang dibebaskan oleh enzim yang terdapat pada A1 dan A2 dapat diketahui sehingga dari rata-rata nya dapat dihitung aktivitas enzim bromelin per ml.

$$\text{Aktivitas bromelin} = \frac{\text{g tirosin / menit}}{\text{g endapan enzim}}$$

Hasil Pengujian :

Absorbansi larutan standar tirosin pada berbagai konsentrasi :

Konsentrasi tirosin (ug/ml)	Absorbansi 280 nm (OD)
0	0
8	0,36
16	0,52
24	0,63
32	0,91
40	0,99

Persamaan garis regresi kurva standar tirosin adalah :

$$Y = 0,08905 + 0,02396 \cdot X \quad (R = 0,9819)$$

Hasil absorbansi sampel :

$$\text{Blanko} = 0,332$$

$$A_1 = 0,726 \quad \text{dan} \quad A_2 = 0,721$$

$$\text{Rata-rata absorbansi sampel} = 0,7235$$

$$\text{Selisih dengan blanko} = 0,3915$$

Perhitungan :

$$\text{Tirosin : } Y = 0,08905 + 0,02396 \cdot X$$

$$Y = 0,3915 \quad \text{naka} \quad X = 12,6231$$

Faktor pengenceran 180 ml, Inkubasi 60 menit

$$\begin{aligned}\text{Tirosin} &= 12,6231 \text{ ug/ml} \\ &= 160 \times 12,6231 \text{ ug} \\ &= 2019,696 \text{ ug} \\ &= 10^{-6}/60 \times 2019,696 \text{ g/menit} \\ &= 336,616 \text{ g} \times 10^{-7} \text{ g/menit}\end{aligned}$$

Jumlah endapan enzim :

Larutan enzim = 0,5339 g dalam 100 ml buffer fosfat pH 6

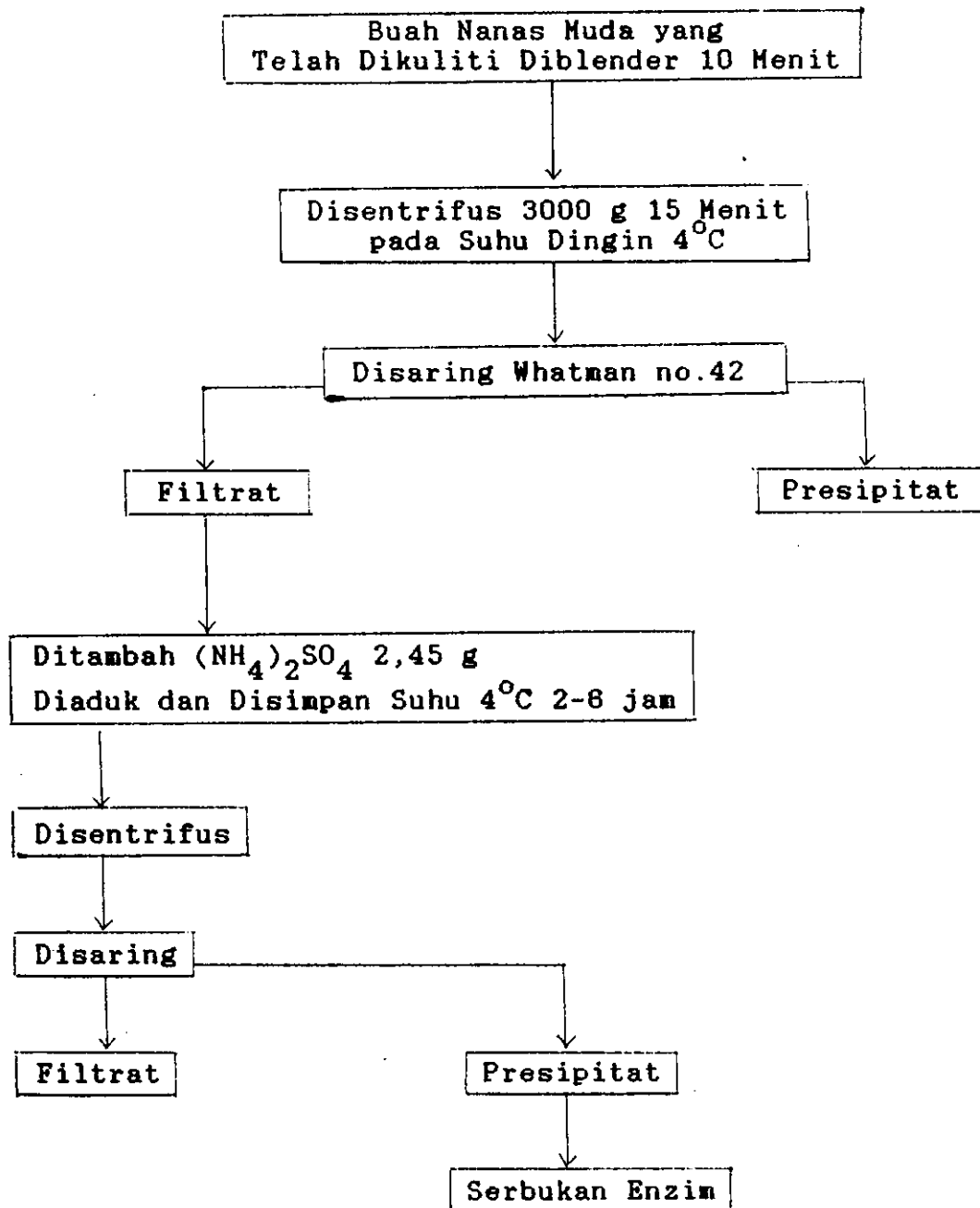
Volume larutan enzim = 16 ml

Jumlah endapan enzim =  $16/100 \times 0,5339 \text{ g} = 0,085424 \text{ g}$

Aktivitas enzim =  $336,616/0,085424$

$$= 3940,5318 \text{ (g tirosin/menit)} \times 10^{-7}$$



**b. Isolasi Enzim Bromelin (Colowick dan Kaplan, 1970)**

Lampiran 13

Cara perhitungan skoring

Perlakuan	Rendemen (Z)		Skualen (Z)		Peroxida (meq/kg)		Asam lemak (Z)		Air (Z)		Linoleat (Z)		Linolenat (Z)		Arachidonat (Z)		Vitamin A (IU/g)		Total		
	Skor 5	Skor 10	Skor 10	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor 1	Skor
Papain :	G3.P3.S2	85.77(1)	89.27(3)	5.66(3)	0.10(3)	7.48(2)	1.15(2)	0.43(3)	0.00(1)	6.050(1)	0.00(1)	0.43(3)	0.00(1)	6.050(1)	0.00(1)	0.43(3)	0.00(1)	6.050(1)	0.00(1)	0.43(3)	50*
	G3.P4.S2	86.90(3)	75.65(2)	6.54(1)	0.11(2)	8.25(1)	1.57(3)	0.37(2)	1.32(3)	8.050(2)	1.32(3)	0.37(2)	1.32(3)	8.050(2)	1.32(3)	0.37(2)	1.32(3)	8.050(2)	1.32(3)	0.37(2)	39
	G1.P4.S3	86.64(2)	64.97(1)	8.24(2)	0.15(1)	7.22(3)	0.44(1)	0.32(1)	0.62(2)	10.280(3)	0.62(2)	0.32(1)	0.62(2)	10.280(3)	0.62(2)	0.32(1)	0.62(2)	10.280(3)	0.62(2)	0.32(1)	25
Bromelin :	G4.P2.S3	82.69(1)	77.46(3)	6.65(3)	0.16(2)	5.41(3)	1.66(3)	0.29(2)	0.48(2)	7.040(1)	0.48(2)	0.29(2)	0.48(2)	7.040(1)	0.48(2)	0.29(2)	0.48(2)	7.040(1)	0.48(2)	0.29(2)	51*
	G1.P2.S2	85.65(3)	73.66(2)	6.66(2)	0.36(1)	10.04(1)	1.35(2)	0.34(3)	1.42(3)	10.250(3)	1.42(3)	0.34(3)	1.42(3)	10.250(3)	1.42(3)	0.34(3)	1.42(3)	10.250(3)	1.42(3)	0.34(3)	50
	G3.P3.S3	85.42(2)	65.17(1)	6.87(1)	0.14(3)	7.73(2)	0.71(1)	0.00(1)	0.23(1)	7.390(2)	0.23(1)	0.00(1)	0.23(1)	7.390(2)	0.23(1)	0.00(1)	0.23(1)	7.390(2)	0.23(1)	0.00(1)	31

Keterangan :

G 1,2,3,4 = Garas 15 Z, 20 Z, 25 Z, 30 Z  
 P 1,2,3,4 = pH 5,6,7,8  
 S 1,2,3,4 = Suhu 35°C, 45°C, 55°C, 65°C  
 x) Terbaik

Pemberian skoring dilakukan dengan cara memberi rangking pada masing-masing harga parameter. Oleh karena rendemen dan kadar skualen merupakan hal yang terpenting dalam penelitian ini maka diberi nilai 5 dan 10, sedangkan variabel yang lain diberi nilai 1.

MILIK  
 PERPUSTAKAAN  
 UNIVERSITAS AIRLANGGA  
 SURABAYA