

## 2. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Ikan Kuniran (*Upeneus sulphureus*)

Ikan kuniran termasuk golongan ikan demersal yang umumnya ditemukan di laut tropis dan subtropis dan biasanya didaerah terumbu karang. Ada sekitar 50-60 spesies ikan kuniran yang diketahui di dunia. Ikan ini umumnya berwarna merah, kuning, dan silver (Iswara *et al.*, 2014). Ikan merupakan bahan makanan yang mudah rusak, oleh karena itu diperlukan usaha pengolahan ikan yang lebih efisien, sehingga hasil tangkap ikan yang tidak dapat dipasarkan dalam bentuk segar, tidak menjadi busuk dan terbuang percuma. Selain itu pada musim – musim tertentu yaitu musim panen ikan, produksi ikan akan membanjiri pasaran dan harga ikan akan merosot (Febriansyah *et al.*, 2013). Pada saat itu diperlukan penanganan dan pengolahan ikan sehingga didapatkan produk yang lebih awet dan nilainya lebih tinggi. Salah satu usaha untuk meningkatkan nilai tambah ikan, ialah dengan mengolah menjadi produk – produk olahan, seperti kecap ikan. Indonesia memiliki potensi perikanan yang sangat besar. Salah satu jenis ikan di Indonesia yang merupakan jenis ikan rucah (nilai ekonomis rendah) dan memiliki kadar lemak rendah, adalah ikan kuniran (*Upeneus sp.*). Jumlah ikan kuniran memiliki prosentase yang tinggi di Indonesia, tetapi pemanfaatannya masih rendah (Novian, 2005).

Dalam Penelitian ini ikan yang digunakan sebagai bahan dasar pembuatan kecap ikan adalah ikan kuniran. Ikan kuniran termasuk ikan demersal yang menjadi salah satu spesies sasaran dalam kegiatan perikanan tangkap dengan menggunakan cantrang. Sifat alat tangkap ini menyapu dasar perairan sehingga dapat menyebabkan ikan tangkapan terdiri dari berbagai ukuran sehingga dapat mempengaruhi kelestarian stok yang terdapat di alam. Apabila hasil tangkapan didominasi ikan yang berukuran terlalu kecil maka akan mengakibatkan *growth*

*overfishing*, sedangkan apabila ikan yang tertangkap sebagian besar merupakan ikan yang matang gonat maka akan terjadi *recruitment overfishing* (Saputra *et al.*, 2009). Produk dan nilai gizi yang tinggi pada daging ikan maka diperlukan diversifikasi dalam pemanfaatan ikan guna meningkatkan ragam produknya. Dengan adanya keanekaragaman produk pangan dari bahan dasar ikan maka diharapkan dapat mengatasi masalah yang berhubungan dengan sifat ikan yang mudah rusak dalam penyimpanan dan produksi yang melimpah (Novian, 2005).

Salah satu jenis ikan yang banyak dikonsumsi adalah ikan kuniran (*Upeneus sp.*). Ikan kuniran mempunyai komposisi gizi yang lengkap dengan kandungan protein 15,43 % dari seluruh gizi yang dikandung. Protein ikan dibedakan menjadi miofibril, sarkoplasma dan stroma. Miofibril merupakan protein dengan prosentase paling besar yaitu 70-80%. Salah satu cara memisahkan protein miofibril dari protein lainnya dengan hidrolisis enzimatis menggunakan enzim papain (Rahmandar, 2006). Dalam penelitian ini pembuatan kecap ikan menggunakan bahan dasar berupa ikan kuniran.

Klasifikasi ikan kuniran adalah sebagai berikut menurut Saanin (1984):

Kerajaan : Animalia  
Filum : Chordata  
Kelas : Pisces  
Ordo : Percomorphi  
Famili : Mullidae  
Genus : *Upeneus*  
Spesies : *Upeneus sulphureus*

Morfologi ikan kuniran dapat dilihat dibawah ini pada Gambar 1.



Gambar 1. Dokumen Pribadi 2017 Ikan Kuniran (*Upeneus sulphureus*)

Ada beberapa spesies ikan kuniran yang telah dapat diidentifikasi dengan cukup jelas, diantaranya adalah *Upeneus sulphureus*, dan *Upeneus sundaicus*. Kedua jenis ini memiliki ciri – ciri fisik sebagai berikut : panjang rata – rata 20 -22 cm, memiliki ekor dan sebuah garis kuning hirizontal sepanjang tubuhnya. Ikan ini hidup didaerah beriklim tropis/subtropis dan mendiami pantai yang sedikit berlumpur dengan kedalaman 100 m. Secara umum komposisi kimia ikan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Kimia Ikan Kuniran (*Upeneus sulphureus*)

Komponen	Jumlah %
Protein	15,43
Lemak	0,46
Abu	0,77
Air	84,29

Sumber : Murtidjo, (2001)

Protein pada daging ikan terdiri dari protein miofibril, protein sarkoplasma dan stroma. Ketiga jenis protein tersebut dapat dimanfaatkan dalam diversifikasi pengolahan bahan pangan misalnya : surimie, nugget, kecap, petis, dan sebagai bahan pembangkit aroma (Novian,2005). Berdasarkan lokasinya dalam daging, protein ikan dapat digolongkan menjadi 3 macam, yaitu protein sarkoplasma, protein miofibril dan protein stroma. Protein miofibril adalah protein-protein yang terdapat pada benang – benang daging(miofibril dan miofilamen). Yang termasuk golongan protein ini adalah tipe golongan protein globulin, misalnya myosin, aktin dan tropomyosin. Golongan protein ini memegang peran penting pada proses kontraksi dan relaksi daging ikan. Jumlah protein golongan ini kurang lebih 50% dari seluruh protein yang ada pada daging (Subagio *et al.*, 2004).

## 2.2 Buah Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr)

Nanas (*Ananas comosus* (L) Merr) adalah buah yang memiliki mata yang banyak dan memiliki warna kuning keemasan. Pohon nanas sendiri dapat tumbuh subur di daerah beriklim tropis seperti di Indonesia dengan masa panen relatif

singkat, yaitu antara 2 sampai 3 kali setahun. Tumbuhan ini termasuk dalam famili nanas – nanasan (Puspita, 2012). Nanas yang sering dikonsumsi sebagai buah segar dapat tumbuh dan berbuah didataran tinggi hingga 1000 meter dpl. Tanaman yang tidak menyukai air yang menggenang ini, kini ditanam luas di Indonesia (Winastia, 2011). Tanaman nanas merupakan tanaman berasal dari Amerika. Di Indonesia nanas dibudidayakan terutama di daerah Sumatra Utara, Sumatra Selatan, Riau, Bangka, Lampung, Jawa Barat dan Jawa Timur. Pada tahun 2003 produksi nanas di Indonesia sebesar 6777,089 ton, menempati urutan ke-4 produksi buah – buahan nasional (Lisnawita, 2011).

Salah satu produk buah – buahan di Indonesia adalah nanas (*Ananas sp*). Tanaman merupakan sumber utama protein, karena tanaman mampu mensintesis protein, dengan cara mengkombinasikan nitrogen dan air dari dalam tanah. (Winarno 1993). Bromelin merupakan salah satu jenis enzim protease yang mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein atau polipeptida menjadi molekul yang lebih kecil yaitu asam amino. Bromelin banyak digunakan dalam bidang industri pangan maupun nonpangan seperti industri daging kalengan, minuman bir dan lain – lain (Herdyastuti, 2006).

Menurut Silaban dan Soraya (2016), tanaman nanas jika diklasifikasikan termasuk tanaman berbunga. Klasifikasi tanaman nanas adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Farionase
Famili	: Bromeliaceae
Genus	: Ananas
Spesies	: <i>Ananas comosus</i>



Gambar 2. Dokumentasi Pribadi 2017 Nanas (*Ananas comosus*)

Tanaman nanas berbentuk semak dan hidupnya bersifat tahunan. Susunan tanamannya terdiri dari bagian utama meliputi : akar, batang, daun, bunga dan buah. Adapun penjelasannya sebagai berikut:

#### 1. Akar

Nanas tumbuh ditanah dengan menggunakan akar. Akarnya berupa akar tunggang dengan susunan akar serabut, bercabang banyak, berbentuk bulat sampai agak persegi dengan posisi tegak, dan berbatang lemah. Akar tanaman nanas menyebar, tetapi dangkal, akar – akar cabang, dan rambut – rambut akar banyak terdapat di permukaan tanah.

#### 2. Batang

Nanas merupakan herba tahunan atau dua tahunan dengan tinggi 50 -150 cm dan memiliki tunas yang keluar pada bagian pangkalnya. Batang tanaman nanas tegak, mengandung sedikit zat kayu, terutama didekat permukaan tanah. Batang berwarna kehijauan sampai keunguan dengan ruas berwarna hijau, bergantung pada varietasnya.

#### 3. Daun

Daun berkumpul pada roset akar dan pada bagian pangkalnya melebar menjadi pelepah daun. Helaian daun berbentuk pedang, tebal, dengan panjang 80-120 cm, lebar daun berkisar antara 2-6 cm warna daunnya adalah hijau atau hijau kemerahan.

#### 4. Bunga

Bunga nanas bersifat inflorescente, tumbuh dari titik tumbuh batang tanaman. Bunga tersebut muncul sekitar 450 hari sesudah tanam. Tangkai buah pendek 7-15 cm, jumlah bunga 100-200. Bunga tersebut tumbuh spiral mengelilingi tangkai buah membentuk buah majemuk. Bunganya hermaprodit. Kelopaknya 3, pendek dan berdaging, mahkotanya 3. Tangkai putik lebih panjang dari pada tangkai sari. Bunga mekar pada pagi hari.

#### 5. Buah

Buah nanas buah sejati, yang bekasnya terlihat dari setiap sisik kulit buah, yang dalam perkembangannya tergantung bersama dengan tongkol menjadi nanas. Nanas merupakan tanaman buah yang buahnya selalu tersedia sepanjang tahun. Buahnya tergolong buah majemuk dengan bentuk bulat panjang, berdaging. Berat buah lebih kurang 0,9-1,8 kg.

Buah mengandung vitamin (A dan C), kalsium fosfor, magnesium, besi, natrium, kalium, destroksa, sukrosa (gula tebu), dan enzim bromelin. Kandungan kua pada kulit nanas antara lain air serat, serat kasar, karbohidrat, protein, enzim bromelin, gula reduksi, flavonoid dan tanin. Bromelin berkhasiat anti radang, membantu melunakkan makanan di lambung, mengganggu pertumbuhan sel kanker, menghambat agregasi platelet, dan mempunyai aktivitas fibriotik. Daun pada nanas mengandung kalsium oksalat dan pectic substansi (Silaban dan Soraya, 2016).

Kandungan gizi buah nanas yang masak dapat dilihat pada Tabel 2 dibawah ini :

Tabel 2. Kandungan zat gizi dalam 100g buah nanas

Komponen zat gizi	Jumlah
Kalori	50 kal
Protein	0,40 g
Lemak	0,20 g
Karbohidrat	13,0 g
Kalsium (Ca)	19,0 g
Pospor (P)	9,0 g
Serat	0,40 g
Besi (Fe)	0,20 g
Vitamin A	20,00 RE
Vitamin B <sub>1</sub>	0,08 mg
Vitamin B <sub>2</sub>	0,04 mg
Vitamin C	20,00 mg
Niacin	0,20 g

Sumber : Emma dan Wirakusuma (2000).

Ekstrak nanas mengandung protein terlarut sebesar 4,23% dengan berat molekul kurang dari  $14,2 \times 10^3$  Da dan derajat hidrolisis sebesar 33,48% (Handayani, 2007).hidrolisis protein merupakan protein yang mengalami degradasi hidrofilik dengan asam, basa, atau enzim proteolitik yang menghasilkan produk berupa asam amino dan peptida. penggunaan enzim dalm menghidrolisis protein dianggap paling aman dan menguntungkan. Hal ini disebabkan kemampuan enzim menghdrolisis protein dapat menghasilkan produk hidrolisat yang terhindar dari perubahan dan kerusakan produk (Kurniawan *et al.*, 2012). Nanas merupakan buah yang memiliki kandungan vitamin C yang tinggi. Nanas juga kaya akan serat yang mengandung enzim bromelin yang baik membantu pencernaan, penyembuh penyakit sembelit, gangguan saluran kencing, mual, flu, wasir, dan kurang darah. Bahkan pada daun nanas yang memiliki serat panjang juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan pakan. Ekstrak buah nanas muda banyak mengandung enzim bromelin. Bromelin merupakan unsur pokok dari nanas yang penting dan berguna dalam bidang farmasi dan makanan. Fungsi bromelin mirip dengan papain dan fisin, sebagai pemecah protein. sekitar setengah dari protein dalam nanas mengandung protease bromelin. Diantara berbagai jenis buah,

nanas merupakan sumber protease dengan konsentrasi tinggi dalam buah yang masak.

### **2.3 Enzim Bromelin**

Bromelin merupakan salah satu jenis enzim protease yang mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein atau polipeptida menjadi molekul yang lebih kecil yaitu asam amino. Bromelin banyak digunakan dalam bidang industri pangan maupun nonpangan seperti industri dangeng kaleng, minuman bir dan lain lain (Herdyastuti, 2006). Enzim bromelin merupakan salah satu jenis enzim protease yang mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein menjadi molekul yang lebih kecil yaitu asam amino sehingga mudah dicerna tubuh. Enzim bromelin terdapat dalam semua jaringan buah nanas. Sekitar setengah dari protein dalam nanas mengandung protease bromelin. Diantara sebagian jenis buah nanas, nanas merupakan sumber protease dengan konsentrasi tinggi dalam buah nanas yang masak (Purwaningsih, 2017).

Bromelin telah diketahui fungsinya semenjak 1876. Bromelin mulai dikenalkan sebagai agen terapi dimulai 1957, konsentrasi bromelin yang tinggi pada stem nanas. Komponene utama dari protease bromelin adalah fraksi proteolitik sulfhidril. Selain itu juga terdiri dari peroksidase, asam fosfat dan beberapa inhibitor protease lainnya. Aktivitas bromelin dipengaruhi oleh kematangan buah, pH, konsentrasi dan waktu. Aktivitas bromelin buah nanas muda lebih tinggi dari pada buah yang tua. Buah yang masak menunjukkan pH 3,0-3,5 dan pada suasana asam, enzim bromelin terdenaturasi dan mengalami perubahan konformasi struktur sehingga keaktifannya berkurang. Enzim bromelin merupakan enzim hasil ekstraksi dari batang dan buah dari nanas. Jumlah enzim bromelin pada kulit, mahkota dan daun nanas lebih sedikit dibandingkan pada batang atau bonggol nanas. Enzim bromelin yaitu suatu enzim proteolitik yang

dapat mengkatalis reaksi hidrolisis protein. Pada akhir – akhir ini enzim bromelin lebih banyak digunakan untuk menjernihkan bir (*chillproofing bir*) dan pengempukkan daging. Bagi kesehatan manusia enzim bromelin dapat mengurangi rasa sakit dan pembengkakan karena luka atau operasi, mengurangi radang sendi, menyembuhkan luka bakar, serta meningkatkan fungsi paru – paru pada penderita infeksi saluran pernapasan. Bromelin dikenal untuk aplikasi klinis terutama modulasi pertumbuhan tumor, pembekuan darah, peningkatan aksi (Silaban dan Soraya, 2016) antibiotik dan anti inflamasi. Telah diketahui pula bahwa enzim bromelin ini dapat mempengaruhi dengan menghambat bakteri seperti *E.coli* dan *Proteus sp.*

*Crude* enzim bromelin adalah enzim kasar atau mentah yang diekstraksi dari buah nanas. *Crude* enzim bromelin dapat dimanfaatkan pada proses pengolahan kecap ikan secara enzimatis. Enzim bromelin merupakan salah satu jenis enzim protease yang mampu menghidrolisis ikatan peptida menjadi ikatan peptida pada protein atau polipeptida menjadi molekul yang lebih kecil yaitu asam amino, sehingga penambahan *crude* enzim bromelin pada fermentasi kecap ikan berguna untuk mencerna jaringan otot ikan dalam waktu yang pendek (Dewi *et al.*, 2012). Enzim bromelin adalah enzim proteolitik yang berasal dari buah nanas. Buah nanas. Buah nanas mengandung vitamin (A dan C), kalsium, fosfor, magnesium, besi, natrium, kalsium, dekstroksa, sukrosa (gula tebu), dan enzim bromelin. Bromelin berkhasiat anti radang, mengandung melunakkan makanan di lambung, mengganggu pertumbuhan sel kanker, menghambat agregasi platelet, dan mempunyai aktivitas fibrinolitik. Enzim bromelin termasuk kelompok enzim protease sulfidril yang artinya memiliki residu sulfidril yang artinya memiliki residu sulfida pada lokasi aktifnya. Sebagai enzim proteolitik, bromelin mampu memecah proteolitik, bromelin mampu memecah protein menjadi asam – asam amino (Iskandar dan Desi, 2009).

Usaha untuk mempercepat proses hidrolisis protein daging ikan banyak dilakukan dengan jalan menambahkan enzim proteolitik dari luar baik enzim yang berasal dari hewan maupun tumbuhan. Penggunaan enzim murni membutuhkan biaya yang tinggi mengingat harga enzim murni yang sangat mahal. Oleh karena itu dalam penelitian ini dicari sumber enzim proteolitik yang murah dan mudah untuk menghidrolisis protein daging ikan dengan hasil nitrogen terlarut cukup tinggi, maka dicoba dengan menggunakan ekstrak buah nenas yang diketahui banyak mengandung enzim bromelin (Iskandar dan Desi, 2009). Kondisi optimum reaksi daging buah nenas pada pH 6-8, suhu 50° C (Silaban dan Soraya, 2016).

Enzim bromelin akan mempunyai kondisi yang optimal untuk menentukan konformasi dari enzim tersebut berdasarekaan keadaan asam amino pada pusat aktif. Diperoleh pH optimum bromelin adalaah 7 dengan aktifitas enzim sebesar 3,05 U/ml. Saat pH berada di bawah ataupun di atas pH tersebut aktivitas mengalami penurunan. Hal ini dikarenakan pada pH 7 enzim mempunyai konformasi yang paling sesuai dengan substratnya sehingga dapat menghasilkan produk secara maksimal (Herdyastuti 2006). Menurut Dewi *et al.*, (2012), bromelin merupakan salah satu jenis enzim protease yang mampu menghidrolisis ikatan peptida pada protein atau polipeptida menjadi molekul yang lebih kecil yaitu asam amino.

Menurut (Silaban dan Soraya, 2016). bahwa fungsi bromelin mirip dengan papain dan fisin sebagai pemecah protein. Di dunia medis bromelin berfungsi sebagai sebagai banyak hal diantaranya sebagai berikut :

#### 1. Agregasi Platelet

Enzim bromelin mencegah agregasi trombosit darah. Sekelompok relawan dengan riwayat serangan jantung atau stroke, atau dengan nilai – nilai agregasi patelet

tinggi diberikan bromelin secara oral sebagai dosis preventif. Pemberian tersebut menurunkan agregasi trombosit darah.

## 2. Fibrinolisis

Efektivitas bromelin sebagai agen fibrinolitik efektif diuji pada dua kondisi in vitro dan in vivo. Tapi keberhasilannya adalah lebih jelas dalam larutan fibrinogen yang dimurnikan dari pada di plasma, mungkin itu dikarenakan adanya kehadiran anti protease dalam plasma. Pengurangan dosis tergantung dari tingkat serum fibrinogen yang terlihat pada tikus setelah pemberian bromelin.

## 3. Aktivitas anti-inflamasi

Enzim bromelin memiliki tindakan yang melibatkan sistem enzim lain dalam mengerahkan efek anti-inflamasi pada cedera jaringan lunak. Telak dilakukan penelitian secara preklinis dan klinis berupa terapi enzim pada gangguan rematik menunjukkan bahwa enzim proteolitik memiliki efek analgesik dan anti-inflamasi, dimana bromelin telah ditemukan secara drastis mengurangi pembengkakan dan nyeri post operasi.

## 4. Induksi Sitokin

Bromelin dapat menginduksi produksi sitokin dalam sel mononuclear darah perifer manusia. Sehingga pengobatan ini mengarah pada produksi tumor nekrosis faktor alfa (TNF-alpha), interleukin-1-beta (IL-1-beta) dan interleukin-6 (IL-6) dalam waktu dan dosis yang tertentu. Kemampuan untuk menginduksi produk sitokin ini dapat menjelaskan bahwa bromelin memiliki efek anti tumor yang telah diamati setelah pemberian oral buatan polienzim.

## 5. Potensi Antibiotik

Bromelin diketahui dapat mengubah permeabilitas organ dan jaringan untuk berbagai obat. Pada manusia pun telah didokumentasikan dengan baik dapat meningkatkan tingkat antibiotik dalam darah ketika diberikan bersamaan dengan bromelin.

## 6. Bantuan Pencernaan

Bromelin telah berhasil digunakan sebagai enzim pencernaan berikut pankreatomi, dalam kasus insufisiensi eksokrin pankreas dan usus lainnya. Karena kristal pH yang luas, bromelin memiliki aktivitas di lambung serta usus kecil. Enzim ini juga telah menunjukkan untuk menunjukkan untuk menjadi pengganti yang baik dari pepsin dan tripsin dalam kasus defisiensi. Bromelin juga telah dilaporkan untuk menyembuhkan usus lambung.

## 7. Antimikrobia

Enzim bromelin dapat melawan beberapa bakteri seperti *Escherichia coli* dan *Listeria monocytogenesis*.

## 2.4 Kecap Ikan

Kecap ikan merupakan salah satu produk bahan makanan hasil olahan melalui proses fermentasi yang dibuat dari ikan maupun limbah ikan, mempunyai rasa, aroma yang khas serta daya simpannya yang lama. Kecap ikan adalah produk hasil hidrolisis ikan (baik fermentasi dengan garam, enzimatis maupun kimiawi yang berbentuk cair dan berwarna coklat (Kristianawati *et al.*, 2014). Di Indonesia dikenal dua jenis kecap yaitu kecap asin dan kecap manis. Kecap asin mempunyai rasa asin, sedangkan kecap manis mempunyai manis dan lebih banyak dikonsumsi dibandingkan kecap asin (Kurniawan, 2008).

Menurut (Widyastuti *et al.*, 2014), pembuatan kecap ikan secara spontan memiliki beberapa kelebihan, yaitu proses pengolahan yang tidak mahal, menghasilkan bahan buangan dalam jumlah kecil, teknik pembuatan sederhana, daya simpan panjang, mempunyai cita rasa dan aroma yang khas. Persentase garam dalam campuran pembuatan kecap ikan adalah 20-30% kemudian disimpan pada suhu tropis selama 6-12 bulan. Penggunaan kadar garam yang

tinggi pada kecap ikan menyebabkan rasa sangat asin, rasa dan bau yang khas serta daya simpan lama (Ardiansyah *et al.*, 2015).

Pemanfaatan produk fermentasi sebagai makanan tambahan dilakukan seperti halnya negara barat untuk menghasilkan produk – produk fermentasi yang kaya akan rasa. Di Negara Asia dikenal berbagai macam makanan dan minuman tradisional yang pembuatannya dilakukan dengan cara fermentasi spontan untuk menghasilkan makanan yang kaya rasa (Kurniawan, 2008). Fermentasi yang relatif lama dapat dipercepat dengan menambahkan enzim protease walaupun akhir dari produk fermentasi cenderung kurang baik dibandingkan dengan pembuatan kecap secara spontan. Enzim yang berperan dalam pembuatan kecap ikan berasal dari rongga perut ikan misalnya, enzim pepsin atau tripsin, yang berasal dari daging ikan misalnya, katepsin (Kristianawati *et al.*, 2014).

Menurut (Widyastuti *et al.*, 2014), pembuatan kecap ikan secara spontan memiliki beberapa kelebihan, yaitu proses pengolahan yang tidak mahal, menghasilkan bahan buangan dalam jumlah kecil, teknik pembuatan sederhana, daya simpan panjang, mempunyai cita rasa dan aroma yang khas. Proses pengawetan ikan secara fermentasi akan melibatkan proses enzimatik kimiawi dan mikrobial selama proses fermentasi yang akhirnya menentukan karakteristik mikrobiologi dan kimia ikan fermentasi. Bakteri yang berperan dalam proses fermentasi merupakan genus *Lactobacillus*, *Streptococcus*, dan *Leuconostoc* (Yuliana, 2007).

Kecap ikan merupakan salah satu produk hasil fermentasi yang umumnya dibuat dengan kadar garam tinggi yaitu lebih dari 30%. Proses fermentasi kecap ikan tradisional dapat memakan waktu hingga 24 bulan bahkan lebih, ada beberapa upaya untuk mempercepat proses fermentasi tanpa mempengaruhi rasa khas dan kualitas gizi kecap ikan, misalnya dengan meningkatkan suhu fermentasi, menambahkan antibakteri berupa garam, menggunakan protease

tanaman seperti bromelin, papain dan fisin, atau bahkan menggunakan kedelai koji (Ardiansyah *et al.*, 2015).

Dibawah ini adalah Syarat mutu kecap ikan dapat dilihat pada Tabel 3 dibawah ini :

**Tabel 3.**Syarat Mutu Kecap Ikan

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

**Sumber :** SNI Kecap Ikan No. 01-4271-1996

Menurut Jaya dan Ramadhan (2006), metode produksi kecap ikan dibagi menjadi dua yaitu metode fermentasi tradisional biasanya menggunakan bakteri halofilik yang terdapat di organ dalam ikan atau menggunakan garam dan metode hidrolisis yang terbagi lagi menjadi dua cara yaitu hidrolisis enzimatis yang menggunakan enzim proteolitik dan hidrolisis asam yang menggunakan zat asam. Pada dasarnya pembuatan kecap fermentasi garam dibuat dengan perbandingan berat ikan dan garam 3:1 atau 2:1 yang dicampur menjadi satu dan difermentasi selama 6 bulan pada suhu 30°C – 35°C untuk mencapai penyempurnaan hidrolisis protein dan kualitas rasa

Menurut Andarti dan Agustin (2015), bahwa selama proses fermentasi terjadi perubahan kimia antara lain :

1. Perubahan Protein

Selama proses fermentasi terjadi penurunan kadar protein dikarenakan terjadi pemecahan protein menjadi asam amino dan peptida-peptida rantai pendek.

2. Asam amino

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

3. Perubahan pH

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

4. Perubahan Total Mikroba

Peningkatan jumlah mikroba tersebut disebabkan mikroba mengalami pertumbuhan berupa pertambahan jumlah sel. Mikroba memanfaatkan nutrisi (karbohidrat) yang telah dipecah menjadi gula sederhana untuk melakukan aktifitas pertumbuhan sehingga pertumbuhan mikroba meningkat.

5. Perubahan Kadar antosianin

Perubahan antosianin dikarenakan antosianin dapat terdegradasi selama proses penyimpanan. Adanya oksigen yang dihasilkan dari proses fermentasi juga bisa menyebabkan antosianin teroksidasi.

#### 2.4.1 Profil Asam Amino Uji HPLC

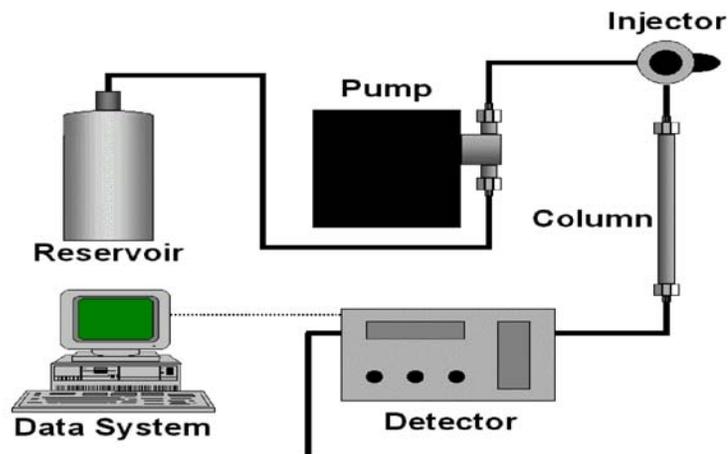
HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) adalah pengembangan teknik dari kromatografi cair klasik, dimana HPLC ini terdapat pengembangan teknologi pada kolom, detektor yang lebih sensitif dan peka serta kemajuan teknologi pada pompa bertekanan tinggi yang menyebabkan HPLC menjadi satu metode dengan sistem pemisahan zat yang cepat dan efisien (Aulia *et al.*, 2014). HPLC sebagai teknik metode analisa yang dipilih didasarkan pada hidrolisis katalitik yang kemudian hasil hidrolisis direaksikan dengan reagen derivatisasi dan selanjutnya dideteksi dengan detektor fluoresensi. Selektivitas dan sensitivitas metode ini sangat baik (Guntarti *et al.*, 2004).

Analisa asam amino dengan menggunakan HPLC terdiri dari empat tahap yaitu : tahap pembuatan hidrolisis protein, pengeringan, derivatisasi dan injeksi serta analisa asam amino (Azka *et al.*, 2015). Asam amino harus diderivatisasi terlebih dahulu supaya dapat membentuk derivat yang dapat menyerap cahaya UV, tampak, atau tidak berfluoresensi. Senyawa yang banyak digunakan untuk tujuan ini adalah o-ftalaldehid (OPA)/etantio (ETSH), dan OPA/2-merkaptotanol (2-ME). Pereaksi ini dengan asam amino dapat membentuk derivat iso-indol yang berfluoresensi kuat, sehingga terdeteksi oleh detektor fluoresensi. Ada 2 macam cara derivatisasi, yaitu derivatisasi pascakolom dan derivatisasi prakolom. Pada cara derivatisasi pascakolom, mekanisme pemisahan asam amino adalah terjadinya penukaran ion antara gugus amino yang terprotonasi dengan ion  $\text{Na}^+$  dari resin penukaran kation ( $\text{R-SO}_3\text{-Na}^+$ ) pada pH rendah. Bila pH fase gerak dinaikkan secara gradien kontinu, protonasi asam amino akan berkurang, yang menyebabkan asam amino akan terelusi berturut – turut sesuai dengan derajat protonasinya, dan hal ini berkaitan dengan pH isoelektrik asam amino tersebut. Asam amino yang mempunyai pH isoelektrik rendah akan terelusi lebih dahulu

(4,5,6). Dalam teknik derivatisasi prakolom, mekanisme pemisahan adalah partisi dengan sistem kromatografi fase balik (*reversephase chromatography*). Asam amino primer akan bereaksi secara spesifik dengan OPA/2-ME atau OPA/ETSH. Terbentuk suatu derivat yang selain berfluoresensi kuat juga bersifat hidrofob yang memungkinkan terjadinya pemisahan secara kromatografi fase balik menggunakan kolom nonpolar dan fase gerak yang polar (4,5,6). Asam amino terderivatisasi yang mempunyai kepolaran tinggi akan terelusi lebih dahulu (Rediatning dan Kartini, 1987). Menurut Aulia *et al.*, (2014) bahwa kromatografi fase normal menggunakan teknik fase gerak yang bersifat kurang polar atau non polar dan fase diam bersifat polar. Pada teknik ini sampel yang memiliki tingkat kepolaran lebih rendah akan terelusi lebih awal.

HPLC adalah penggunaan tekanan tinggi untuk mengirim fase gerak ke dalam kolom. Dengan memberikan tekanan tinggi, laju dan efisiensi pemisahan dapat ditingkatkan dengan besar. Kromatografi penukaran ion telah berhasil digunakan untuk analisis kation, anion, dan ion organik. Rangkaian alat atau komponen dasar yang biasa dipakai dalam teknik kromatografi ion, yang terdiri atas *Eluent*, yang berfungsi sebagai fase gerak yang akan membawa sampel tersebut masuk ke dalam kolom pemisah. Pompa, yang berfungsi untuk mendorong *eluent* dan sampel tersebut masuk ke dalam kolom. Kecepatan alir ini dapat dikontrol dan perbedaan kecepatan bisa mengakibatkan perbedaan hasil. Injektor, tempat memasukkan sampel dan kemudian sampel dapat didistribusikan masuk ke dalam kolom. Kolom pemisah ion, berfungsi untuk memisahkan ion-ion yang ada dalam sampel. Keterpaduan antara kolom dan *eluent* bisa memberikan hasil/puncak yang maksimal, begitupun sebaliknya, jika tidak ada “kecocokan”, maka tidak akan muncul puncak. Detektor, yang berfungsi membaca ion yang lewat ke dalam kolom detektor. Recorder data, berfungsi untuk merekam dan mengolah data yang masuk (Ardianingsih, 2009). Prinsip kromatografi (pemisahan) dengan

menggunakan fase gerak cair yang dialirkan melalui kolom yang merupakan fase diam menuju ke detektor dengan bantuan pompa. Sampel dimasukkan ke dalam aliran fase gerak dengan cara penyuntikan. Di dalam kolom terjadi pemisahan senyawa-senyawa kemudian akan keluar atas dasar kepolaran yang berbeda, sehingga akan mempengaruhi kekuatan interaksi antara senyawa terhadap fase diam. Senyawa-senyawa yang kurang kuat interaksinya dengan fase diam akan keluar terlebih dahulu, dan sebaliknya senyawa yang berinteraksi kuat dengan fase diam akan keluar lebih lama. Senyawa yang keluar dari kolom akan dideteksi oleh detektor kemudian direkam dalam bentuk kromatogram. Dari kromatogram tersebut akan dapat di identifikasikan waktu retensi ( $t_R$ ) dan luas area/ tinggi puncak. Informasi  $t_R$  digunakan untuk analisis kualitatif, sedangkan informasi luas area atau tinggi puncak untuk analisis kuantitatif. Fase gerak berupa zat cair. Fase gerak selain sebagai pembawa senyawa campuran menuju detektor, fase gerak juga dapat berinteraksi dengan solut-solut. Kolom HPLC berisi fase diam, tempat terjadinya pemisahan campuran menjadi komponen-komponennya. Biasanya berukuran antara 5-30 cm dan diameter dalam berkisar antara 4-10 mm (Aulia *et al.*, 2014).



Gambar 3. Uji Profil Asam Amino  
Sumber : Google Image (2017)

Rantai samping pada asam amino (gugus -R) yang berbeda-beda pada asam amino menentukan struktur, ukuran, muatan elektrik dan sifat kelarutan dalam air. Asam amino yang bersifat hidrofobik (non polar) : Alanin, isoleusin, leusin, metionin, fenilalanin, prolin, triptofan, tirosin, valin. Asam amino yang bersifat hidrofilik (polar) : arginin, asparagin, asam aspartat, sistein, asam glutamat, glutamin, glisin, histidin, lisin, serin, treonin (Rediatning dan Kartini, 1987). Untuk mendapatkan jenis asam amino yang terdapat pada kecap ikan kuniran dengan cara membandingkan *retention time* standar asam amino dengan *retention time* sampel yaitu kecap ikan kuniran. *Retention time* dinyatakan sebagai lamanya waktu analisa sampel, dimana padafaseterbalik zat yang lebih polar akan terelusi lebih dulu dan memiliki waktu retansi yang lebih cepet dibandingkan zat non polar (Aulia *et al.*, 2014).

Analisa asam amino sangat penting dilakukan, karena kualitas suatu protei5n suatu bahan pangan sangat ditentukan oleh kadar asam amino yang dikandung. Dari segi nutrisi asam amino dibagi menjadi 2 golongan, yaitu asam amino esensial dan asam amino non esensial. Asam amino non esensial adalah asam amino yang dapat disediakan oleh tubuh organisme melalui proses biosintesa yang rumit dari senyawa nitrogen yang terdapat dalam makanan, dan asam amino esensial adalah asam amino yang tidak dapat disentasa oleh tubuh. Untuk memenuhi kebutuhan protein, suatu organismemerukan tambahan asam amino esensial yang diperoleh dari bahan pangan atau pakan yang dikonsumsi (Elfita, 2014).

#### **2.4.2 Angiotensin konverting enzyim (ACE-Inhibitor)**

*ACE-Inhibitor (Angiotensin-I Converting Enzyme Inhibitor)* atau yang lebih dikenal dengan anti hipertensi merupakan senyawa bioaktif yang dapat menurunkan tekanan darah pada manusia. *ACE-Inhibitor* dapat diperoleh secara sintetik maupun dari bahan pangan yang dikonsumsi. Bahan pangan banyak

mengandung senyawa *ACE-Inhibitor* adalah bahan pangan dengan sumber protein antara lain yang berasal dari tanaman misalnya kacang kedelai, biji rami, beras dan jagung, dan tumbuhan hijau yang banyak mengandung flavonoid. *ACE-Inhibitor* yang berasal dari bahan pangan hewani antara lain daging, susu, ikan dan telur. Susu fermentasi komersial menghasilkan *ACE-Inhibitor*, peptida antihipertensi dengan deret Val-Pro-Pro dan Ile-Pro-Pro pada susu fermentasi (Nahariah *et al.*, 2011). Salah satu produk susu fermentasi adalah *kefir*. Secara tradisional *kefir* dibuat dengan penambahan starter *kefir* pada susu segar. *Kefir* telah dianjurkan untuk dikonsumsi oleh orang sehat di negara - negara Soviet untuk menurunkan resiko penyakit kronis, hipertensi, *Ischeamis Heart Disease* (IHD) dan alergi (Febrisiantosa *et al.*, 2013).

ACE membantu produksi angiotensin II (berperan penting dalam regulasi tekanan darah arteri). ACE didistribusikan ke sebagian besar jaringan dan terdapat pada beberapa tipe sel yang berbeda tetapi lokasi utamanya pada sel endothelial. Oleh sebab itu tempat utama penghasil angiotensin II adalah pembuluh darah. Inhibitor ACE mencegah perubahan angiotensin I menjadi angiotensin II. Inhibitor ACE juga mencegah degradasi bradikinin dan menstimulasi sintesis senyawa vasodilator lainnya termasuk prostaglandin E2 dan prostasiklin. Pada kenyataannya, inhibitor ACE menurunkan tekanan darah pada penderita dengan aktivitas rennin plasma normal, bradikinin, dan produksi jaringan ACE yang penting dalam hipertensi. Obat ini menghalangi perubahan Angiotensin I menjadi Angiotensin II baik secara sistemik maupun secara lokal di beberapa jaringan serta plasma. Selain itu juga dapat menurunkan jumlah resistensi pembuluh darah perifer, dan terjadinya penurunan tekanan darah tanpa reflek stimulasi denyut jantung dan curah jantung (Arronow *et al.*, 2011). Menurut (Wenno *et al.*, 2016), bahwa proses fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat dapat

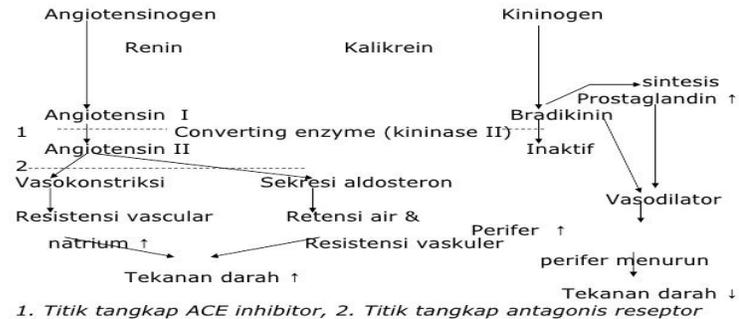
mendegradasi protein menjadi peptida yang menghasilkan aktivitas *Angiotensin Converting Enzim* (ACE).

Ekstrak garam dari ginjal terbukti mengandung zat pressor (yaitu bahan yang meningkatkan tekanan darah) yang bernama renin. Renin terbukti menjadi enzim yang bekerja pada plasma untuk mengkatalis pembentukan zat pressor yang sebenarnya. Tata nama akhir disepakati sebagai berikut : zat pressor disebut angiotensin dan protein plasma. Beberapa bentuk angiotensin telah ditemukan yang paling penting adalah angiotensin I (decapeptide) dan angiotensin II (sebuah octapeptida). Yang terakhir paling aktif sebagai agen pressor, diproduksi dari yang pertama oleh enzim yang disebut angiotensin converting enzyme (ACE) (Lima, 1999). Menurut Wikandari dan Yuanita (2016), bahwa proses fermentasi spontan mempunyai aktivitas *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* (ACEI). ACE adalah enzim yang mengubah angiotensin I menjadi angiotensin II yang menyebabkan adanya vasokonstriksi yang menjadi salah satu penyebab terjadinya hipertensi, sehingga penghambatan aktivitas ACE akan menghambat terjadinya hipertensi. Aktivitas ACEI dihasilkan dari adanya peptida yang mempunyai aktivitas sebagai ACEI yang dihasilkan dari aktivitas proteolitik bakteri asam laktat selama proses fermentasi.

ACE memang peranan penting fungsi regulasi tekanan darah dalam tubuh. Pada kondisi abnormal, kerja ACE berlebih sehingga dapat menimbulkan dampak tekanan darah tinggi. Penghambatan ACE adalah salah satu cara menurunkan resiko terjadinya tekanan darah tinggi. Penghambatan ACE dengan memproduksi peptida bioaktif sebagai bahan suplemen yang memiliki fungsi kesehatan tertentu bagi manusia. Hidrolisis enzimatik, fermentasi atau kombinasi keduanya dapat menghasilkan peptida. Salah satu fungsi peptida adalah penghambat aktivitas ACE yang bertanggung jawab pada proses kemunculan (*on step*) hipertensi (Febriantosa *et al.*, 2013). Aktivitas ACE Inhibitor dihasilkan oleh bakteri asam

laktat diketahui sejalan dengan peningkatan jumlah peptida hasil degradasi prote

### MEKANISME KERJA ACE INHIBITOR & ANTAGONIS RESEPTOR



Gambar 4. Mekanisme Kerja Angiotensin Converting Enzyme (ACE)

Sumber : Google Image (2017)

Peptida *Angiotensin Converting Enzyme (ACE)* inhibitor berperan sebagai inhibitor Angiotensin I Converting Enzyme (dipeptidil dihidrolase), suatu enzim didalam sistem *Renin Angiotensin Aldosteron System (RAAS)* yang mengubah Angiotensin I menjadi Angitensin II. Terbentuknya Angiotensin II akan menyebabkan terjadinya kontraksi pembuluh darah dan menstimulasi sekresi aldosteron sehingga akan menyebabkan terjadinya absorbansi air dan sodium sehingga akan meningkatkan volume aliran darah dan meningkatkan cardiac output. Aktivitas ACE juga akan menginaktivasi bradikinin suatu vasodilator yang menyebabkan terjadinya hipertensi. Oleh sebab itu target utama dalam mengatasi hipertensi adalah penghambatan terhadap aktivitas ACE (Awwaly,2015). Aktivitas ACEI dihasilkan dari adanya peptida yang mempunyai aktivitas sebagai ACEI yang dihasilkan dari aktivitas proteolitik bakteri asam laktat selama proses fermentasi (Wikandari dan Yuanita, 2016). ACE inhibitor digunakan untuk mengobati hipertensi mencegah tubuh membuat hormon angiotensin II, hormon ini menyebabkan pembuluh darah menyempit, yang dapat menaikkan tekanan darah. ACE inhibitor membiarkan pembuluh darah melebar dan membiarkan lebih banyak

darah yang mengalir ke jantung sehingga menurunkan tekanan darah (Ismarini *et al.*, 2011).

### **2.4.3 Bakteri Asam Laktat**

Bakteri asam laktat merupakan bakteri jenis bakteri yang mampu menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir dari proses metabolisme. BAL memanfaatkan karbohidrat sebagai sumber nutrisi untuk proses metabolisme. Sumber karbohidrat yang digunakan berasal dari daging, susu, dan produk lainnya. Dalam proses fermentasi BAL berperan dalam pembentukan cita rasa serta sebagai antimikroba karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri pembusuk (Fajri *et al.*, 2014). Bakteri asam laktat tidak bersifat patogen dan aman bagi kesehatan sehingga sering digunakan pada industri pengawetan makanan, minuman serta berpotensi sebagai produk probiotik. Probiotik bermanfaat dalam mengatur keseimbangan mikroba pada saluran pencernaan dan menghambat perkembangan mikroba patogen pada saluran pencernaan (Suciati *et al.*, 2016).

Bakteri asam laktat adalah mikroba dominan yang ditemukan dalam fermentasi ikan. Bakteri asam laktat mempunyai peran penting dalam fermentasi makanan yang menyebabkan perubahan aroma dan tekstur bersamaan dengan pengaruh pengawetan dengan hasil peningkatan daya awet pada produk akhir. Keawetan ini disebabkan karena BAL berkontribusi dalam penghambatan pertumbuhan bakteri pembusuk dan patogen. Hambatan ini karena BAL dapat memproduksi beberapa metabolit seperti asam organik (asam laktat dan asetat), hidrogen peroksida, diasetil dan bakteriosin (Desniar *et al.*, 2012). Jenis bakteri asam laktat yang terdapat pada berbagai produk fermentasi yaitu masuk dalam anggota genus *Pediococcus*, *Enterococcus/Streptococcus*, *Lactobacillus* dan *Leuconostoc*, yang sebagian besar merupakan penghasil antimikrobal yang berpotensi sebagai bahan pengawet alami untuk diaplikasikan pada makanan fermentasi tradisional (Anwar *et al.*, 2014).

Bakteri asam laktat dalam proses fermentasi berperan dalam mendapatkan peptida bioaktif. Peptida bioaktif memiliki berbagai efek fisiologi menguntungkan, antara lain sebagai imunomodulator, antimikroba, antioksidan, dan antihipertensi yang bekerja sebagai ACE-inhibitor (Widyanti *et al.*, 2014). Menurut Wikandari *et al.*, (2012) bahwa peran bakteri dalam menghasilkan senyawa bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan banyak mendapat perhatian untuk diteliti dan dikembangkan. Bakteri asam laktat dan produk fermentasinya diketahui mampu menurunkan tekanan darah dan menghasilkan peptida bioaktif yang mampu menghambat aktivitas *Angiotensin I Converting Enzyme* (ACE), suatu enzim yang berperan dalam mengatur tekanan darah dalam sistem Renin-Angiotensin.

Pembuatan ACE *Inhibitor* adalah gabungan aksi proteinase dan peptidase ekstraseluler yang terikat pada dinding sel. Jenis enzim karboksil – endopeptidase yang diisolasi dari *L. helveticus* CM 4 mampu menghasilkan peptida antihipertensi Val- Pro- Pro dan Ile-Pro-Pro. Produk fermentasi perikanan salah satunya adalah bekasam yang terbuat dari campuran ikan, nasi dan garam. Bekasam diketahui mampu menghasilkan ACE *Inhibitor* dengan aktivitas penghambatan 51,77% - 65,75%. Aktivitas bakteri asam laktat proteolitik indigeneus pada bekasam diduga ikut berperan dalam menghasilkan peptida yang berpotensi sebagai ACE inhibitor (Wikandari *et al.*, 2012). Beberapa jenis BAL dapat mensintesis Ekstraseluler polisakaride atau ekstrak polisakarida (EPS), yang merupakan polimer polisakarida yang disekresi oleh mikroba keluar sel. Saat ini eksplorasi BAL penghasil EPS semakin meningkat karena kemampuan bakteri asam laktat mensintesis EPS dinilai penting bagi kesehatan. Beberapa fakta kesehatan berhubungan dengan kemampuan strain probiotik untuk menempel pada mukosa usus, EPS hasil produksi dari BAL dapat menempel pada mukosa usus halus sehingga meningkatkan kemampuan untuk menekan pertumbuhan bakteri patogen pada saluran pencernaan (Zahro, 2014).

## 2.5 Fermentasi

Fermentasi merupakan cara pengawetan tradisional Indonesia dan negara-negara Asia Tenggara, yang prosesnya relatif mudah dan murah. Di Indonesia, proses fermentasi biasanya dilakukan terhadap ikan-ikan kecil yang kurang baik mutunya jika diolah langsung dalam keadaan utuh, dan sisa-sisa ikan pada waktu penangkapan yang terdiri dari berbagai jenis ikan (Suprayitno, 2017). Pemanfaatan produk fermentasi sebagai makanan tradisional telah lama dilakukan seperti halnya di negara barat untuk menghasilkan produk – produk fermentasi yang kaya akan rasa. Di Negara Asia dikenal berbagai macam makanan dan minuman tradisional yang pembuatannya dilakukan dengan cara fermentasi spontan untuk menghasilkan makanan yang kaya rasa (Kurniawan, 2008). Bahan makanan merupakan kebutuhan pokok bagi manusia. Bahan makanan mengandung zat gizi penting yang bernilai gizi tinggi. Zat gizi yang tinggi dalam bahan pangan akan dimanfaatkan oleh mikroorganisme. Mikroorganisme tersebut dapat memfermentasi karbohidrat, protein dan lemak menjadi senyawa – senyawa yang lebih sederhana dengan adanya buatan enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme tersebut. Proses fermentasi itu sendiri dipengaruhi oleh beberapa faktor air, suhu, pH, oksigen, dan nutrisi yang tersedia (Desniar *et al.*, 2012).

Fermentasi ikan adalah suatu cara pengolahan atau pengawetan yang didasarkan pada penguraian protein daging ikan oleh enzim proteolitik dalam suatu kondisi tertentu, sehingga diperoleh produk fermentasi ikan yang mempunyai rasa, aroma, dan bau yang khas, misal di Indonesia seperti terasi, peda, bekasam, kecap, dll. Dimana suhu dan kelembapan udara sangat membantu proses fermentasi tersebut. Proses fermentasi menaikkan jumlah bakteri asam laktat nonpatogen. Prinsip fermentasi yang terjadi pada ikan merupakan proses penguraian secara biologis maupun semi biologis terhadap senyawa kompleks, terutama protein menjadi senyawa yang lebih sederhana

dalam keadaan terkontrol. Selama proses fermentasi, protein ikan akan terhidrolisis menjadi asam amino dan peptida, kemudian asam amino akan terurai lebih lanjut menjadi komponen lain yang berperan dalam pembentukan cita rasa produk (Suprayitno, 2017). Fermentasi dapat diartikan sebagai perubahan granula oleh enzim beberapa bakteri, khamir dan jamur. Contoh perubahan kimia dari fermentasi meliputi pengasaman susu, dekomposisi pati dan gula menjadi alkohol dan karbondioksida, serta oksidasi senyawa nitrogen (Prasetyo dan Nirmala, 2012).

Proses fermentasi bahan pangan dapat berlangsung oleh adanya aktivitas beberapa jenis mikroorganisme, seperti bakteri, khamir dan kapang. Mikroba yang paling yaitu bakteri pembentuk asam laktat bakteri pembentuk asam asetat dan terdapat beberapa jenis khamir penghasil alkohol. Produk – produk fermentasi antara lain tape, kecap, tauco, yogurth, pickel, kombucha dan lainnya (Dewi *et al.*, 2012). Proses fermentasi dapat meningkatkan kandungan energi dan protein, menurunkan kandungan sianida dan kandungan serat kasar, serta meningkatkan daya cerna bahan makanan berkualitas rendah. Mikroba yang digunakan dalam proses fermentasi dapat menghasilkan enzim yang akan mengdegradasi senyawa – senyawa kompleks menjadi lebih sederhana dan mensintesis protein yang merupakan proses pengkayaan protein bahan (Hersoelistyorini *et al.*, 2010). Semakin lama waktu fermentasi maka jumlah mikroba semakin menurun, dan akan menuju ke fase kematian karena nutrisi yang ada sebagai makanan mikroba semakin menurun (Nasrun *et al.*, 2015).

## **2.6 Fermentasi Kecap Ikan**

Kecap merupakan jenis makanan hasil fermentasi yang berwarna coklat, kental, dan mengandung protein (Septiani *et al.*, 2004). Dalam kehidupan sehari – hari, kecap sering kali dikonsumsi sebagai teman makan dan biasanya juga

digunakan sebagai bumbu penyedap saat memasak. Kecap dapat memberikan rasa dan aroma yang khas sehingga makanan terasa lebih lezat dan menambah selera makan. Meskipun kecap hanya digunakan sebagai penyedap makanan sehari – hari dan pemakaiannya tidak dalam jumlah yang besar, sebenarnya kecap memiliki nilai gizi. Kecap merupakan sumber protein yang cukup baik karena mengandung asam amino esensial yang cukup tinggi. Adanya proses fermentasi pada pembuatan kecap, zat – zat gizi dalam kecap akan menjadi lebih mudah dicerna, dan dimanfaatkan oleh tubuh (Astuti dan Wardani, 2016).

Kecap dapat dibuat dalam tiga cara yaitu fermentasi, hidrolisis asam, dan kombinasi fermentasi dengan hidrolisis asam. Dibandingkan dengan kecap yang dibuat secara hidrolisis asam, kecap yang dibuat secara fermentasi biasanya mempunyai rasa dan aroma yang lebih baik. Pada prinsipnya, pembuatan kecap secara fermentasi berkaitan dengan pemecahan protein, lemak, dan karbohidrat menjadi asam amino, asam lemak dan monosakarida oleh aktivitas enzim jamur, khamir dan bakteri (Septiani *et al.*, 2004). Fermentasi kecap sudah dilakukan dalam skala industri dengan menggunakan prinsip – prinsip teknoekonomi sehingga hasil yang diperoleh kualitasnya lebih bagus dan terjamin kestabilan mutunya. Pada pembuatan kecap, mikroorganisme yang berperan adalah kapang, bakteri, dan khamir. Genus *Aspergillus* memegang peranan penting dalam proses fermentasi kapang atau pembuatan *koji* disamping adanya peran genus *Rhizopus* dan *Mucor*. Pada tahap fermentasi larutan garam, mikroorganisme yang berperan adalah khamir dan bakteri yang toleran pada kadar garam tinggi, sehingga terbentuk flavour dan aroma yang spesifik produk fermentasi (Naiola dan Soeka, 2007).

Menurut Hadiputra *et al.*, (2013), bahwa metode fermentasi dalam pembuatan kecap terdiri dari dua tahapan fermentasi, yaitu fermentasi padat dan

fermentasi cair. Proses fermentasi padat atau sering disebut dengan istilah koji merupakan fermentasi dengan menggunakan starter (kapang) yang dilakukan selama dua sampai empat hari. Menurut Septiani *et al.*, (2004), fermentasi kapang sangat berpengaruh terhadap kualitas kecap karena kapang akan mengeluarkan enzim yang memecah substrat menjadi senyawa – senyawa terlarut. Enzim – enzim yang terdapat pada kapang antara lain amilase, invertase, protease (protease netral, protease asam, dan protease alkali), aminopeptidase, karboksi peptida dan glutaminase. Enzim protease menghidrolisis protein kompleks yang tidak larut menjadi polipeptida dan oligopeptida, kemudian dapat menghidrolisis polipeptida dan oligipeptida menjadi asam amino. Pati dihidrolisis menjadi disakarida dan mono sakarida oleh amilase dan invertase. Selama proses fermentasi terjadi kenaikan nitrogen terlarut, asam amino, ammonia, nilai pH, dan suhu.

Sedangkan proses fermentasi cair atau moromi adalah campuran antara koji dan larutan garam dengan konsentrasi garam tertentu (Hadiputra *et al.*, 2013). Fermentasi moromi dalam larutan garam merupakan langkah selanjutnya setelah fermentasi kapang. Pada proses fermentasi moromi terdapat beberapa bakteri dan khamir yang terlibat didalamnya antara lain *Lactobacillus delbrueckii*, *Hansenula sp*, *Pseudomonas soyae*, *Zygosaccharomyces soyae*, *A. Major*, dan *Saccharomices rouxii*. Jenis – jenis bakteri dan khamir tersebut toleran terhadap kadar garam tinggi. Larutan garam berfungsi sebagai pengawet dan penyeleksi kegiatan mikroba. Selain itu garam berfungsi untuk mengekstrak senyawa – senyawa nitrogen terlarut yang ada dalam larutan garam. Dengan demikian kecap yang dihasilkan mempunyai rasa dan aroma yang baik. Pada umumnya fermentasi moromi dilakukan pada larutan garam 20%. Secara tradisional, fermentasi moromi berlangsung selama 2-4 minggu. Selama fermentasi moromi, warna larutan kecap

akan berubah yang disebabkan oleh warna yang terbentuk sebagai hasil reaksi *browning* antara gula reduksi dengan gugus amino protein (Septiani *et al.*, 2004).

Menurut (Handayani dan indriastati, 2006), faktor – faktor yang diperlukan untuk pengendalian fermentasi kecap diantaranya sebagai berikut :

- a. Lama fermentasi, umumnya lama fermentasi kecap yang digunakan tergantung pada suhu yang digunakan. Suhu 35-38°C dibutuhkan 30-40 hari.
- b. Konsentrasi garam, larutan garam bersifat hipertonik sehingga menarik air dalam bahan. Manfaat garam dalam proses fermentasi ini diantaranya menghambat mikroorganisme yang tidak diharapkan tumbuh dalam substrat.
- c. Menaikkan suhu fermentasi, pada produk kecap ikan peningkatan suhu 45°C serta mengurangi kadar konsentrasi garam dapat mengurangi waktu fermentasi. Fermentasi kecap ikan pada suhu 50°C menghasilkan kandungan total nitrogen lebih tinggi dibanding fermentasi pada suhu 35°C.
- d. pH, mikroorganisme yang berperan dalam proses fermentasi kecap dapat tumbuh pada kondisi asam atau pH rendah.
- e. Oksigen, pada fermentasi kecap, mikroorganisme berperan merupakan kapang aerob sehingga perlu adanya ketersediaan oksigen agar kapang dapat bekerja secara optimal.
- f. Kelembapan optimum ruangan fermentasi kapang adalah 53-65%.

### **2.6.1 Bakteri Halofilik**

Bakteri halofilik merupakan jenis mikroorganisme yang dapat bertahan hidup pada kadar garam tinggi dengan cara mempertahankan keseimbangan osmotik (Marihati *et al.*, 2014). Bakteri halofilik merupakan bakteri yang

membutuhkan konsentrasi Natrium klorida (NaCl) minimal tertentu untuk pertumbuhannya. Kebutuhan garam untuk pertumbuhan optimum bervariasi, yaitu 2 – 5 % untuk bakteri halofilik ringan, 5 – 20 % untuk bakteri halofilik sedang, dan 20 – 30 % untuk bakteri halofilik ekstrim. Bakteri halofilik ringan antara lain *Pseudomonas*, *Moraxella*, *Flavobacterium*, *Acinobacter*, dan spesies *Vibrio*. Kelompok halofilik ringan ini sering dijumpai pada ikan dan kerang – kerangan. *Bacillus*, *Micrococcus*, *Vibrio*, *Acinetobacter*, dan *Moraxella* termasuk kelompok bakteri halofilik sedang. Sedangkan bakteri halofilik ekstrim biasanya tampak berwarna merah atau merah muda dan berasal dari kelompok bakteri *Halobacterium* dan *Halococcus* serta sering tampak pada makanan yang telah diawetkan dengan penggaraman. Fungsi penambahan garam untuk mengoptimalkan kerja enzim proteolitik, selain itu juga sebagai penghambat bakteri pembusuk, dan penyeimbang tekanan osmosis dari cairan sel (Fardiaz, 1992). Bakteri halofilik yang dominan tumbuh *Micrococcus sp*, *Micrococcus varian*, *Brevibacterium linens strain B*, *Brevibacterium linens strain C*, dan *Artrobacter sp*. Pada kecap ikan kuniran dapat dikategorikan terdapat bakteri halofilik dengan kadar ringan dengan penambahan garam sebesar 5 % (Kumalaningsih, 1990).

Pada fermentasi kecap ikan menggunakan bakteri halofilik, kecepatan produksi tergantung pada keaktifan enzim bakteri pada ikan. Fermentasi biasanya membutuhkan waktu yang lama hingga menghasilkan produk karena bakteri halofilik yang berbeda pada ikan membutuhkan waktu yang lama untuk adaptasi dan menghasilkan enzim proteolitik guna menghidrolisis protein dalam ikan (Prasetyo dan Nirmala, 2012). Perbedaan kemampuan hidup pada lingkungan garam yang berbeda antara halofilik ekstrim, sedang, dan ringan menunjukkan adanya cara adaptasi yang berbeda pula. Bakteri halofilik sedang dan ringan memiliki kemampuan hidup untuk menyeimbangkan tekanan osmotik agar terhindar dari pengaruh denaturasi oleh garam lingkungan yaitu dengan cara

mengakumulasi garam dan osmolit (molekul organik) didalam sitoplasma. Sedangkan bakteri halofilik ekstrim beradaptasi hanya melalui akumulasi konsentrasi garam tinggi (terutama kcl) dalam sitoplasma (Nilawati *et al.*, 2014).

### **2.6.2 Jenis Fermentasi Kecap**

Dalam berbagai hal proses fermentasi berlangsung sebagai akibat adanya aktivitas enzim – enzim proteolitik jenis mikroorganisme dalam adanya kadar garam yang tinggi. Sifat – sifat dari produk akhir sebagai besar tergantung sampai seberapa jauh proses fermentasi itu berlangsung. Selama proses fermentasi berlangsung, aktivitas enzim – enzim dan mikroorganisme menyebabkan terjadinya perubahan – perubahan dari zat - zat organik yang kompleks menjadi persenyawa – persenyawa yang sederhana yang lebih sederhana (Nurhayati *et al.*, 2007). Menurut Jaya dan Ramadhan (2006), metode produksi kecap ikan dibagi menjadi dua yaitu metode fermentasi tradisional biasanya menggunakan bakteri halofilik yang terdapat di organ dalam ikan atau menggunakan garam dan metode hidrolisis yang terbagi lagi menjadi dua cara yaitu hidrolisis enzimatis yang menggunakan enzim proteolitik dan hidrolisis asam yang menggunakan zat asam. Pada dasarnya pembuatan kecap fermentasi garam dibuat dengan perbandingan berat ikan dan garam 3:1 atau 2:1 yang dicampur menjadi satu dan difermentasi selama 6 bulan pada suhu 30°C – 35°C untuk mencapai penyempurnaan hidrolisis protein dan kualitas rasa.

#### **2.6.2.1 Fermentasi Mikroba**

Pembuatan kecap ikan melibatkan proses fermentasi dari mikroorganisme, salah satunya yaitu *Bacillus subtilis*. Pembuatan kecap ikan diawali dengan membersihkan ikan dari jeroan dan insang kemudian dilakukan pemotongan dan pencucian. Pemotongan ikan direndam dalam air asam jawa, kemudian dilakukan perendaman dalam air jahe, selanjutnya dilakukan blancing pada suhu 50°C selama 30 detik. Ikan disusun membentuk satu lapisan kemudian ditaburi garam

secara merata, dan biarkan bakteri *Bacillus subtilis* kemudian di atasnya disusun lagi satu lapis ikan demikian seterusnya sampai wadah penuh. Wadah ditutup dan difermentasi selama 2 bulan. Setelah masa fermentasi, saluran cairan pada bagian wadah dibuka dan cairan yang keluar disaring. Disiapkan bumbu berupa rempah – rempah direbus bersama dengan cairan hasil fermentasi ikan sampai mendidih, kemudian kecap ikan telah jadi dan dikemas dalam botol (Zahiraddin *et al.*, 2010).

Proses fermentasi kecap ikan terjadi karena adanya aktivitas mikroba, khususnya bakteri yang menghasilkan enzim sehingga terjadi degradasi komponen gizi yang terdapat pada ikan menjadi senyawa – senyawa yang lebih sederhana. Mikroba yang aktif pada pembuatan kecap ikan termasuk mikroba yang toleran terhadap garam (halofilik) (Rahayu *et al.*, 2005). Pada fermentasi menggunakan bakteri halofilik, kecepatan produksi tergantung pada keaktifan enzim bakteri pada ikan. Fermentasi biasanya membutuhkan waktu yang lama hingga menghasilkan produk karena bakteri halofilik yang berada pada ikan membutuhkan waktu yang lama untuk adaptasi dan menghasilkan enzim proteolitik guna menghidrolisis protein dalam ikan (Prasetyo dan Nirmala, 2012).

Menurut (Nielsen *et al.*, 1997), bahwa faktor – faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroba pada bahan pangan dapat bersifat fisis, kimia, biologi.

Faktor – faktor tersebut antara lain :

1. Faktor Intrinsik

Merupakan sifat fisis, kimia dan struktur yang dimiliki bahan pangan itu sendiri.

2. Faktor Ekstrinsik

Yaitu kondisi lingkungan pada penanganan dan penyimpanan bahan pangan, seperti suhu, kelembapan, susunan gas di atmosfer.

### 3. Faktor Implisit

Yaitu sifat – sifat yang dimiliki mikroba itu sendiri yang sangat dipengaruhi oleh susunan biotik mikroba dalam bahan pangan.

### 4. Faktor Pengolahan

Adanya perubahan mikroba awal sebagai akibat pengolahan bahan pangan, misalnya pemanasan, pendinginan, iradiasi, pengalengan, fermentasi, penambahan bahan pengawet, pembekuan, dan pengolahan lainnya.

#### **2.6.2.2 Fermentasi Enzimatis**

Enzim adalah protein yang berfungsi sebagai biokatalisator reaksi kimia pada sel makhluk hidup. Penggunaan enzim telah dilakukan pada berbagai bidang industri, baik untuk produk makanan, pertanian untuk produk farmasi. Protease merupakan satu diantara tiga kelompok enzim komersial yang diperdagangkan dengan nilai mencapai 60% total penjualan enzim. Enzim protease dapat diisolasi dari tanaman, seperti papain dari getah pepaya (*Carica papaya*), bromelin dari buah nanas (*Ananas comosus* (L) Merr), dan fisin dari getah tanaman ficus (*Ficus benjamina* L) (Rachmawati *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian Purwaningsih dan Nurjanah (1995), pembuatan kecap ikan secara kombinasi enzimatis dan fermentasi mempunyai beberapa keuntungan, yaitu membutuhkan waktu yang singkat, nilai protein tinggi dan mempunyai aroma dan rasa yang disukai oleh konsumen. Salah satu usaha untuk meningkatkan nilai tambah ikan, ialah dengan mengolah menjadi produk – produk olahan, seperti kecap ikan. Untuk mempercepat proses tersebut, salah satu cara yang dapat digunakan, adalah memanfaatkan enzim yang dapat mempercepat proses fermentasi.

Pembuatan kecap ikan secara enzimatis mempunyai beberapa keuntungan antara lain :

- Membutuhkan waktu yang singkat. Menurut Prasetyo dan Nirmala (2012), telah melakukan penelitian pembuatan kecap ikan secara enzimatik ternyata proses pembuatannya dapat disingkat menjadi 3 hari.
- Protein lebih tinggi. Menurut penelitian Muliati (1985), telah menganalisa kadar protein kecap ikan secara hidrolisis enzimatik mempunyai kadar protein lebih tinggi, yaitu 10,52 gram/100 ml, sedangkan kecap ikan fermentasi hanya 2,14 gram/ 100 ml.

Pembuatan kecap ikan secara enzimatik lebih cepat dibandingkan dengan cara tradisional sehingga secara ekonomis menguntungkan (Khotimah dan Soetikno, 2016). Menurut ismarini *et al.*, (2011), bahwa dengan penambahan enzim proteolitik seperti bromelin dan papain yang berfungsi untuk mempercepat hidrolisis protein ikan. Penggunaan enzim untuk menghidrolisis protein akan menghasilkan kecap yang mempunyai komposisi lebih lengkap dibandingkan hasil hidrolisis secara kimia, sebab disamping asam-asam amino akan dihasilkan komponen pembentuk cita rasa dan aroma (Iskandar dan Desi, 2009).

## 2.7 Hidrolisis Protein

Hidrolisis protein menghasilkan asam amino, peptida dan amino. Konsentrasi garam tinggi dapat mengendalikan pertumbuhan patogen dan menghasilkan rasa dan aroma yang disukai. Bakteri asam laktat mampu mengdegradasi peptida yang bisa menghambat aktivitas *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) pemicu hipertensi. Penghambat aktivitas ACE akan mencegah hipertensi. Penghambatan ACE dalam produk fermentasi telah banyak dilakukan pada produk susu, fermentasi perikanan menghasilkan bakteri asam laktat penghambat ACE (Wenno *et al.*, 2016). Dalam penelitian ini menggunakan *crude* buah nanas dengan kandungan enzim bromelin didalamnya sebagai batuan untuk menghidrolisis protein. Menurut Khotimah dan Soetikno (2016), enzim bromelin

akan menghidrolisis jaringan ikan lebih banyak dan menyebabkan struktur daging lebih renggang serta protein yang terhidrolisis mudah larut. Enzim bromelin sebagai enzim protease yang dapat mengurai protein dalam kolagen dan serat otot. Semakin banyak enzim bromelin yang ditambahkan maka kecepatan hidrolisis akan semakin meningkat.

Hidrolisis protein dapat dilakukan dengan asam, basa maupun enzim. Hidrolisis protein akan menghasilkan produk cairan yang dibuat dari ikan dengan penambahan enzim proteolitik untuk mempercepat proses hidrolisis dalam kondisi terkontrol dengan hasil akhir berupa campuran komponen protein. Produk hasil hidrolisis ini berperan penting dalam fortifikasi makanan dan minuman untuk memperkaya protein dan nilai gizi makanan, sehubungan dengan tingginya kelarutan pencernaan (Piggot dan Tucker, 1990). Proses pembuatan kecap salah satunya diperlukan proses hidrolisis untuk mempercepat pembuatan kecap. Proses hidrolisis menggunakan enzim bromelin dari ekstrak buah nenas. Semakin lama proses hidrolisis maka semakin tinggi kadar proteinnya begitupun sebaliknya bahwa semakin cepat proses hidrolisis maka kadar protein yang dihasilkan juga akan semakin rendah. Penambahan ekstrak buah nenas berpengaruh terhadap kadar protein yang dihasilkan karena buah nenas mengandung enzim bromelin yang dapat memecah protein (Fisandriya dan Asngad, 2015).

Hidrolisis merupakan sejumlah enzim dimana mencakup semua enzim yang melibatkan air dalam pembentukan produknya. Enzim proteolitik membantu memutuskan ikatan peptida pada rantai protein dan dapat meningkatkan kadar protein terlarut. Makin banyak rantai peptida yang dapat diputus dari polimer asam amino penyusun protein ikan maka semakin besar pula protein yang mudah larut. Proses penguraian oleh enzim ini semakin cepat bila suhunya meningkat hingga mencapai 37° C (Novian, 2005). Albumin adalah salah satu jenis protein yang

dapat larut air serta dapat terkoagulasi oleh panas dimana terdapat serum darah dan putih telur (Yuniarti *et al.*, 2013).

## 2.8 Hipertensi

Hipertensi atau tekanan darah tinggi adalah peningkatan tekanan darah sistolik lebih dari 140 mmHg dan tekanan darah diastolik lebih dari 90 mmHg pada dua kali pengukuran dengan selang waktu lama (persentasi) dapat menimbulkan kerusakan pada ginjal (gagal ginjal), jantung (penyakit jantung koroner) dan otak (menyebabkan stroke) (Destiani *et al.*, 2016). Hipertensi dapat diklasifikasikan menjadi 2 jenis yaitu hipertensi primer atau esensial yang tidak diketahui penyebabnya dan hipertensi sekunder yang dapat disebabkan oleh penyakit lainnya misalnya penyakit ginjal, penyakit endokrin (gangguan hormon), penyakit jantung, gangguan anak ginjal (pararenal) (Wibowo dan Wahyuningsih, 2011).

Selain hipertensi penyakit yang bisa disebabkan oleh gaya hidup salah satunya adalah kanker. Menurut Prasasti *et al.*, (2013), kanker merupakan penyakit manusia yang mematikan, dapat meningkat karena perubahan gaya hidup, nutrisi, dan pemanasan global. Menurut penelitian Ningrum *et al.*, (2013), rumput laut merupakan salah satu sumber daya alam yang memiliki kandungan polisakarida yang tinggi yaitu fucoidan. Fucoidan merupakan polisakarida sulfat yang mengandung senyawa seperti L-fucose, sulfate, dan asam glucuronic (Widiatma *et al.*, 2013). Crude fucoidan *S. filipendula* memiliki kemampuan lebih baik menurunkan kadar gula darah tinggi dan memperbaiki sel beta pankreas. Semakin tinggi dosis *crude* fucoidan yang diberikan kepada tikus hiperglikemia maka semakin cepat glukosa darah tikus akan normal ( Huda *et al.*, 2013). Menurut Febriansya *et al.*, (2013), diabetes melitus adalah keadaan hiperglikemia kronik disertai berbagai kelainan metabolik akibat gangguan hormonal yang menimbulkan berbagai komplikasi kronik, salah satunya hipertensi.

Hipertensi dipengaruhi oleh faktor resiko ganda, baik yang bersifat endogen seperti hormon dan genetik, maupun yang bersifat eksogen, seperti rokok, nutrisi dan stresor (Syahrini *et al.*, 2012). Salah satu faktor yang memiliki hubungan erat dengan terjadinya hipertensi adalah asupan garam. Asupan garam (natrium) yang direkomendasikan adalah kurang dari 2300 mg per hari. Konsumsi garam yang berlebihan akan memicu timbulnya hipertensi essensial (Jannah *et al.*, 2013).

Klasifikasi tekanan darah dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 4. Klasifikasi Tekanan Darah

Klasifikasi tekanan darah	tekanan darah sistolik(mmHg)	Tekanan darah diastolik (mmHg)
Normal	<120	<80
Prehipertensi	120-139	80-89
Hipertensi stage 1	140-159	90-99
Hipertensi stage 2	>160	>100
Hipertensi kronis	>180	>110

Sumber : Muchid (2009).

Menurut Muchid (2009), terdapat dua kategori dari hipertensi menurut penyebabnya yaitu hipertensi primer (esensial) dan sekunder (non esensial).

#### 1. Hipertensi Primer

Hipertensi primer (esensial) merupakan hipertensi yang tidak dapat diketahui penyebabnya secara pasti. Tetapi hipertensi ini dapat diatasi dengan cara mengubah gaya hidup dan terapi obat untuk mencegah efek yang tidak diinginkan dari hipertensi. Terdapat beberapa faktor yang berhubungan dengan hipertensi primer yaitu tingginya tingkat lipid darah, merokok, diabetes, umur kurang lebih > 60 tahun, jenis kelamin (pada laki-laki dan perempuan pada masa pascamenopause), dan riwayat penyakit pada keluarga seperti penyakit kardiovaskular (laki-laki < 55 tahun dan perempuan < 65 tahun).

## 2. Hipertensi Sekunder

Hipertensi sekunder (non esensial) merupakan hipertensi yang terjadi setelah seseorang mengalami kondisi lainnya, seperti batu ginjal atau tumor pada ginjal. Terapi yang dilakukan untuk hipertensi sekunder bertujuan untuk memperbaiki kondisi atau menghilangkan penyebabnya. Apabila terapi yang dilakukan berhasil, maka hipertensi akan hilang. Tetapi apabila terapi yang dilakukan tidak berhasil, maka dapat digunakan obat antihipertensi yang sesuai untuk mengontrol tekanan darah.

### 2.8.1 Faktor Risiko

Penyakit hipertensi memiliki beberapa faktor risiko yang dapat meningkatkan tekanan darah sehingga nilai tekanan darah menjadi tinggi. Faktor risiko dari hipertensi, yaitu:

#### a. Genetik/ Riwayat Keluarga

Faktor genetik pada keluarga yang memiliki riwayat hipertensi akan memiliki risiko terkena hipertensi dua kali lebih besar dibandingkan dengan keluarga yang tidak memiliki riwayat hipertensi. Terjadinya hipertensi berhubungan dengan adanya peningkatan kadar sodium intraseluler dan rendahnya rasio antara potassium terhadap sodium individu dengan orang tuanya (Anggraini *et al.*, 2009).

#### b. Usia

Faktor risiko hipertensi lebih besar di kalangan usia lanjut atau geriatri. Prevalensi hipertensi di kalangan usia lanjut cukup tinggi yaitu 40% dengan angka kematian 50% pada usia diatas 60 tahun (Rustiana, 2014). Setelah umur 45 tahun, dinding arteri akan mengalami penebalan karena adanya zat kolagen pada lapisan otot sehingga menyebabkan pembuluh darah menyempit dan menjadi kaku. Bertambahnya usia menyebabkan perubahan fisiologis, sehingga pada usia lanjut terjadi peningkatan resistensi perifer dan aktivitas simpatik (Anggraini *et al.*, 2009).

### c. Ras/ etnis

Tekanan darah tinggi lebih sering terjadi pada orang kulit hitam dan berkembang pada usia yang lebih muda dibandingkan dengan orang berkulit putih. Komplikasi serius yang sering terjadi pada orang kulit hitam adalah stroke, serangan jantung, dan gagal ginjal.

### d. Jenis kelamin

Prevalensi hipertensi pada pria sama dengan wanita. Tetapi pada pria risiko terkena kardiovaskular lebih besar dibandingkan dengan wanita premenopause, karena pada wanita premenopause masih memiliki hormon esterogen yang berperan dalam meningkatkan High Density Low (HDL). Kadar HDL yang tinggi dapat mencegah terjadinya proses aterosklerosis pada wanita. Pada wanita setelah postmenopause, hormon esterogen tidak di produksi lagi sehingga risiko terkena kardiovaskular menjadi lebih tinggi (Anggraini *et al.*, 2009).

## 2.8.2 Obat Antihipertensi

### 1. Tujuan

Tujuan utama dari terapi hipertensi menurut guideline ASH (American Society of Hypertension) yaitu mengatasi hipertensi dan mengidentifikasi faktor risiko lainnya yang menyebabkan penyakit kardiovaskular seperti gangguan lipid, diabetes, obesitas, dan merokok. Tujuan tekanan darah untuk hipertensi yaitu < 140/90 mmHg (Weber *et al.*, 2013). Untuk mencapai tujuan terapi diperlukan evaluasi efektivitas penggunaan obat. Efektivitas merupakan seberapa jauh obat dapat mencapai efek yang di inginkan dalam praktek klinis (Marlay, 2000).

### 2. Farmakologi

The United Kingdom Guideline, mengelompokan obat untuk hipertensi berdasarkan usia dan ras dimana direkomendasikan ACE Inhibitor sebagai lini pertama untuk pasien < 55 tahun dan CCB serta diuretic tiazid untuk pasien

dengan usia > 55 tahun dan untuk pasien yang berkulit hitam (Dipiro *et al.*, 2008). Berikut ini merupakan beberapa golongan obat antihipertensi, yaitu:

#### 1. ACE Inhibitor

ACE membantu produksi angiotensin II (berperan penting dalam regulasi tekanan darah arteri). ACE didistribusikan ke sebagian besar jaringan dan terdapat pada beberapa tipe sel yang berbeda tetapi lokasi utamanya pada sel endothelial. Oleh sebab itu tempat utama penghasil angiotensin II adalah pembuluh darah. Inhibitor ACE mencegah perubahan angiotensin I menjadi angiotensin II. Inhibitor ACE juga mencegah degradasi bradikinin dan menstimulasi sintesis senyawa vasodilator lainnya termasuk prostaglandin E2 dan prostasiklin. Pada kenyataannya, inhibitor ACE menurunkan tekanan darah pada penderita dengan aktivitas rennin plasma normal, bradikinin, dan produksi jaringan ACE yang penting dalam hipertensi. Obat ini menghalangi perubahan Angiotensin I menjadi Angiotensin II baik secara sistemik maupun secara lokal di beberapa jaringan serta plasma. Selain itu juga dapat menurunkan jumlah resistensi pembuluh darah perifer, dan terjadinya penurunan tekanan darah tanpa reflek stimulasi denyut jantung dan curah jantung (Arronow *et al.*, 2011). Menurut (Wenno *et al.*, 2016), bahwa proses fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat dapat mendegradasi protein menjadi peptida yang menghasilkan aktivitas Angiotensin Converting Enzim (ACE).

#### 2. Kaptopril

Kaptopril (CPL) digunakan sebagai salah satu obat antihipertensi. Kaptopril bertindak sebagai *ACE-Inhibitor* yang kuat, mengurangi angiotensin II plasma dan kadar aldosteron dan secara signifikan menurunkan tekanan darah pada pasien hipertensi. Obat ini digunakan dalam manajemen hipertensi, gagal jantung dan infark miokardial. *ACE-Inhibitor* menghambat perubahan angiotensin I menjadi angiotensin II sehingga terjadi vasodilatasi dan penurunan sekresi aldosteron.

Vasodilatasi secara langsung akan menurunkan tekanan darah, sedangkan berkurangnya aldosteron akan menyebabkan ekresi Na dan air. Di ginjal, *ACE-Inhibitor* menyebabkan vasodilatasi arteri renalis sehingga meningkatkan aliran darah ginjal dan memperbaiki laju filtrasi glomerulus (Richer *et al.*, 1984).

### 2.8.3 Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Model Hiperte Induksi NaCl

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu hewan coba yang berasal dari ordo Rodentia dan famili Muridae dengan klasifikasi sebagai berikut :

Kerajaan	: Hewan
Filum	: Chordata
Sub-Filum	: Vertebrata
Kelas	: Mamalia
Ordo	: Rodentia
Famili	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Spesies	: <i>Rattus norvegicus</i>



Gambar 5. (Dokumen Pribadi) 2017 Tikus (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang memiliki sifat yang menguntungkan sebagai hewan uji penelitian di antaranya perkembangbiakan cepat, menyukai ukuran yang lebih besar dari mencit, mudah dipelihara dalam jumlah banyak. Tikus putih juga memiliki ciri – ciri morfologi seperti albino, kepala kecil, dan ekor yang lebih panjang dibandingkan badannya, pertumbuhannya cepat, temperamennya baik, kemampuan laktasi tinggi, dan tahan terhadap arsetik tiroksid (Akbar, 2010). Penggunaan tikus sebagai hewan model hipertensi telah banyak dilakukan, karena kedekatan sistem organ antara manusia dengan berbagai macam jenis tikus

sehingga hasil yang diperoleh dari penelitian dapat menggambarkan kemungkinan pada manusia (Suryadi *et al.*, 2007).

#### **2.8.4 Pengaruh Induksi NaCl**

Keadaan hipertensi (tekananan darah tinggi) banyak ditemukan banyak ditemukan pada masyarakat yang mengkonsumsi natrium dalam jumlah besar. Natrium yang telah banyak ditandai dengan pengembangan volume cairan ekstraseluler yang menyebabkan *oedem*. Kadar natrium dalam darah tidak bisa digunakan sebagai indikator status natrium dalam tubuh. Indikator yang baik bagi keseimbangan natrium ialah keadaan kardiovaskuler, seperti denyut nadi dan tekanan darah, juga pengeluaran natrium di dalam urine. Semua dapat menggambarkan status cairan (Winarno, 2004). Natrium Diera sebelum digunakannya berbagai bahan kimia pada pengolahan makanan, yang lazim disebut dengan istilah 'bahan tambahan makanan' (*food additive*) sumber natrium untuk memenuhi kebutuhan tubuh kita hanyalah berasal dari garam dapur (NaCl). Natrium dalam tubuh ada dalam cairan antar- sel (ekstraseluler), yang berfungsi pada pengaturan tekanan osmotik dari cairan. Bila kekurangan natrium, tekanan osmotik menurun dan cairan ekstraseluler menurun. Efek terasa secara fisik adalah tekanan darah turun. Sebaliknya bila pemasukan natrium berlebih, akan terjadi peningkatan volume cairan ekstraseluler sebagai akibat tekanan osmotik meningkat yang menyebabkan cairan ekstraseluler keluar dari sel secara fisik, tekanan darah menjadi naik. Sehingga garam dapur sering dikaitkan dengan penyakit hipertensi (Purawisastra dan Yuanita, 2010). Menurut Sulthoniyah *et al.*, (2013), bahwa dalam periklanan albumin sangat berperan penting dalam menjaga tekanan osmotik plasma, mengangkut molekul – molekul kecil melewati plasma maupun cairan eksternal serta mengikat obat – obatan.

Kasus hipertensi di masyarakat belum terdiagnosis, kematian akibat hipertensi mencapai 6,8%. Hal ini disebabkan karena konsumsi natrium dari mereka 7,6 – 8,2 g per hari. Asupan garam (NaCl) penduduk Indonesia saat ini melebihi asupan garam yang dianjurkan, yaitu tidak lebih dari 5 gram atau satu sendok teh per hari (Purawisastra dan Yuanita, 2010). Beberapa peneliti yang mempunyai faktor yang berhubungan dengan hipertensi menunjukkan terdapat hubungan yang bermakna antara konsumsi buah dan sayur dengan kejadian hipertensi. Terdapat hubungan peningkatan konsumsi sayur dan buah, dengan penurunan konsumsi lemak pangan, disertai dengan penurunan konsumsi lemak total dan lemak jenuh, dapat menurunkan tekanan darah (Herwati dan Wiwi, 2013).