

2. TINJUAN PUSTAKA

2.1. Ikan Kuniraan (*Upeneus sulphureus*)

Ikan Kuniran (*Upeneus sulphureus*) merupakan salah satu ikan *demersal* yang hidup di perairan Indonesia (Genisa, 1999). Jumlah ikan Kuniran memiliki persentase yang tinggi di Indonesia, tetapi pemanfaatannya masih rendah. Ikan Kuniran termasuk jenis ikan *demersal* yang umumnya ditemukan di laut tropis dan subtropis. Ikan Kuniran biasanya hidup di daerah terumbu karang dan tertangkap oleh alat tangkap cantrang. Ada sekitar 50-60 spesies ikan Kuniran yang ditemukan di seluruh dunia (Iswara *et al.*, 2014).

Di dalam tubuh ikan mempunyai kandungan protein yang baik. Salah satu jenis ikan yang memiliki kandungan protein yang baik adalah ikan Kuniran. Di dalam tubuh ikan Kuniran terdapat terdapat potein miofibril yang baik untuk dikembangkan menjadi *food ingridien*. Asam amino yang dominan pada ikan Kuniran adalah asam glutamat (20%), asam aspartat (10%) dan lisin (9%) (Subagio *et al.*, 2004).

Di Tempat Pelelangan Ikan (TPI) Brondong Lamongan ikan Kuniran termasuk komoditi utama dan banyak di tangkap oleh nelayan. Berdasarkan sumber Pusat Informasi Pelabuhan Perikanan jumlah tangkapan ikan Kuniran di TPI Brondong dalam bulan Agustus 2014 mencapai 190.348 kg. Berdasarkan data statistik perikanan tangkap pada tahun 2012 menunjukkan bahwa seluruh produksi di perairan laut Indonesia mencapai 3588890 kg. Komposisi ikan Kuniran bisa dilihat pada Tabel 1.

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

Komponen	Jumlah (%)
Protein	18,71
Lemak	0,88
Abu	1,03
Air	79,37

Sumber: Sedayu *et al.*, 2015

2.1.1. Klasifikasi Ikan Kuniran (*Upeneus sulphureus*)

Ikan Kuniran merupakan salah satu jenis ikan yang hidup di kedalaman 30 sampai 70 meter di bawah permukaan laut. Ikan Kuniran termasuk ke dalam *family Mullidae* (Sumiono dan Nuraini, 2007). Berikut klasifikasi ikan Kuniran menurut Saanin (1984), yaitu :

Filum : Chordata

Kelas : Actinopterygii

Ordo : Perciformes

Famili : Mullidae

Genus : *Upeneus*

Spesies : *Upeneus sulphureus*



Gambar 1. Ikan Kuniran (*Upeneus sulphureus*)
(Google Image, 2017)

2.1.2. Morfologi Ikan Kuniran (*Upeneus sulphureus*)

Menurut Iswara *et al* (2014), ikan Kuniran merupakan ikan *demersal*. Ikan ini tersebar hampir di seluruh perairan tropis dan subtropis termasuk perairan Indonesia. Ikan *demersal* memiliki ciri-ciri bergerombol tidak terlalu besar, aktifitas relatif rendah dan gerak ruangnya juga tidak terlalu jauh. Sehingga dari ciri - ciri

yang dimiliki tersebut, kelompok ikan *demersal* cenderung relatif rendah daya tahannya terhadap tekanan penangkapan.

Menurut Sumino dan Nuraini (2007), ciri-ciri morfologis ikan Kuniran antara lain: dua garis melintang berwarna kuning (oranye) dari kepala sampai bagian ekor. Pada sirip punggung terdapat 2-3 tulang keras, ujung sirip berwarna hitam atau coklat tua. Sirip anus dan sirip dada berwarna pucat dengan ekor berbentuk tumpul dan berwarna kuning. Bagian punggung (*dorsal*) berwarna kehitam-hitaman dan bagian perutnya (*abdomen*) berwarna keputihan. Sirip dada berjari-jari antara 15-18.

Jenis ikan dari ordo *Perciformes* seluruh tubuhnya ditutupi oleh sisik. Sirip perut letaknya di bawah sirip dada, sirip punggung umumnya ada dua. Sirip depan semuanya disokong oleh jari-jari keras, sedangkan sirip belakang sebagian besar disokong oleh jari-jari lunak. Gurat sisi ada yang utuh, ada juga yang terputus di bagian belakang (Djuhanda, 1981).

2.1.3. Habitat dan Penyebaran Ikan Kuniran (*Upeneus sulphureus*)

Ikan Kuniran (*Upeneus sulphureus*) termasuk ikan *demersal* dan hidup di perairan dengan dasar berlumpur, panjang ikan dapat mencapai 20 cm. Serta tersebar luas di indo-pasifik barat. Umumnya ikan *demersal* jarang sekali mengadakan migrasi ke daerah yang jauh. Hal ini terjadi karena ikan *demersal* mencari makan di dasar perairan yang dangkal dan biasanya tertangkap oleh alat tangkap cantrang (Saputra *et al.*, 2009).

Ikan Kuniran biasanya hidup di daerah sekitar terumbu karang, muara sungai dan dekat dengan hutan mangrove. Ikan Kuniran sering tertangkap dengan alat tangkap cantrang. Ikan Kuniran yang tertangkap biasanya berukuran 77-172 mm (Iswara *et al.*, 2014).

2.2. Kecap Ikan

Kecap ikan adalah cairan coklat bening hasil hidrolisis dari ikan yang diberi garam. Proses pembuatan kecap ikan dengan kadar garam tinggi akan menciptakan rasa yang asin dan kurang disukai oleh konsumen. Semakin tinggi garam yang di tambahkan maka akan semakin tinggi pula kadar garam pada kecap ikan (Widyastuti *et al.*, 2014). Pada pembuatan kecap ikan, sebaiknya ikan yang digunakan adalah ikan segar. Salah satu parameter kualitas ikan adalah kadar *Trimethylamine* (TMA). Semakin tinggi kadar TMA pada ikan menunjukkan semakin buruk kualitas ikan tersebut, sebaliknya semakin rendah kadar TMA maka kualitas ikan semakin baik (Sulistiyati dan Suprayitno, 2014). Parameter kesegaran ikan juga dapat dilihat dari parameter suhu, pH dan kadar TMA (Suprayitno, 2014).

Dalam fermentasi kecap ikan, daging ikan diuraikan oleh enzim proteolitik dari mikroorganisme untuk mendapatkan produk akhir yang mempunyai nilai mutu yang tinggi maka dalam proses fermentasi kecap ikan syarat ikan harus dalam kondisi segar, kepala dan isi perut harus dibuang kemudian dicuci sampai bersih, untuk mempercepat proses fermentasi dapat ditambahkan enzim proteolitik. Proses fermentasi harus dalam kondisi suasana yang sejuk dan gelap. Kecap ikan mempunyai komposisi gizi yang baik karena kandungan nitrogennya (Suprayito, 2017). Proses pembuatan kecap ikan dapat dilakukan dengan penambahan enzim papain untuk mempersingkat waktu fermentasi. Selama proses fermentasi kecap ikan terjadi perubahan total N dan TVB-N (Briani *et al.*, 2014).

Kecap ikan memiliki nilai gizi yang tinggi karena mengandung senyawa nitrogen. Pada pembuatan kecap ikan, protein ikan akan terhidrolisis sehingga meningkatkan asam amino nitrogen dan mengurangi total nitrogen dalam tubuh ikan. Amino nitrogen adalah gizi yang baik karena mudah dicerna dalam tubuh (Adawiyah, 2011). Kecap ikan adalah salah satu produk fermentasi berbahan baku ikan atau limbah ikan. Kecap ikan memiliki bau dan rasa yang khas. Pengolahan

ikan menjadi kecap ikan dapat memperpanjang masa simpan (Purwaningsih dan nurjanah, 1995).

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).

2.2.1. Fermentasi Kecap Ikan

Fermentasi merupakan cara pengolahan dan pengawetan makanan, baik secara konvensional maupun modern dengan memanfaatkan mikroba baik langsung maupun tidak langsung. Dalam proses fermentasi, mikroba maupun enzim yang dihasilkan dapat menstimulir cita rasa (*flavor*) yang spesifik, meningkatkan nilai cerna bahan pangan, menurunkan kandungan senyawa anti gizi atau bahan lain yang tidak dikehendaki dan dapat menghasilkan produk atau senyawa turunan yang bermanfaat bagi manusia (Rahman, 1992).

Menurut Suprayitno (2017), fermentasi ikan adalah suatu cara pengolahan atau pengawetan yang di dasarkan 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. Produk fermentasi di Indonesia antara lain: terasi, peda, bekasam dan kecap ikan. Sementara itu menurut Karim *et al* (2014), saat proses fermentasi, akan terjadi

pemecahan protein dari tubuh ikan menjadi asam - asam amino dan peptida. Salah satu asam amino yang terbentuk pada saat proses fermentasi ikan adalah asam glutamat. Asam glutamat berperan dalam pembentukan cita rasa pada produk fermentasi.

Menurut Adawyah (2011), menyatakan bahwa pada dasarnya proses fermentasi dibagi menjadi dua proses yaitu:

- Proses fermentasi yang menghasilkan produk dari fermentasi yang berbeda secara sifatnya dari bahan baku. Misalnya saja dalam pengolahan terasi , kecap ikan, dan ikan peda.
- Proses fermentasi yang menghasilkan senyawa - senyawa , secara nyata akan memiliki kemampuan atau daya awet dalam produk yang diolah tersebut , misalnya pembuatan ikan peda.

Dalam proses fermentasi akan terjadi beberapa perubahan biokimia, antara lain :

- pH

Menurut Simanjorang *et al* (2012), pada proses fermentasi enzimatik akan terjadi penurunan pH karena adanya aktivitas pemecahan protein menjadi asam amino dan peptida. Pada awal fermentasi pH cenderung menurun dikarenakan adanya aktivitas mikroba selama proses fermentasi dan adanya pertumbuhan *Pediococcus halophilus* yang merupakan bakteri asam laktat yang berperan dalam menghasilkan asam laktat dan asam asetat sehingga menyebabkan turunnya nilai pH pada produk fermentasi. Perubahan nilai pH ini disebabkan oleh adanya aktivitas mikroba asam laktat (Andarti dan Wardani, 2015). Sementara pH menggambarkan ion hidrogen yang ada di dalam suatu senyawa. Secara alami pH perairan di pengaruhi oleh senyawa CO₂ di dalamnya. Alat pengukur pH adalah pH meter dengan cara penggunaannya pH meter di celupkan ke dalam suatu larutan uji (Suprayitno, 2014).

- Perubahan *Formaldehyde Nitrogen*

Menurut Rianingsih *et al* (2016), *Formaldehyde nitrogen* digunakan sebagai parameter untuk mengklasifikasi kualitas kecap ikan. Menurut Briani (2014), nilai total N pada kecap ikan akan mengalami kenaikan seiring dengan lamanya waktu fermentasi dan tingginya kadar enzim yang diberikan pada proses pembuatan kecap ikan. Kenaikan nilai total N ini disebabkan adanya hidrolisis protein yang menyebabkan kadar N meningkat.

- Asam amino

Asam amino terbentuk akibat pemecahan protein. Semakin tinggi kadar asam amino dalam kecap ikan maka semakin baik kualitas kecap ikan. Meningkatnya asam amino terjadi karena adanya aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh mikroba pada saat proses fermentasi yang selanjutnya akan menghidrolisis protein menjadi peptida dan asam amino (Andarti dan Wardani, 2015).

Hidolisis protein yang dikatalis oleh asam, basa, atau enzim menghasilkan 20 asam amino yaitu asam amino esensial dan non esensial. 20 asam amino tersebut mempunyai sifat polar dan non polar. Asam amino yang mempunyai sifat polar antara lain: arginin, asam aspartat, asparagin, sistein, asam glutamat, glutamit, glisin, histidin, lisin, serin, treonin, dan tirosin. Sementara asam amino yang memiliki sifat non polar antara lain: alanin, isoleusin, leusin, methionin, fenilalanin, prolin, triptofan, dan valin (Dharma dan Kurniawan, 1984).

- Perubahan *Total Volatil Base Nitrogen (TVB-N)*

Penggunaan enzim papain dalam proses fermentasi kecap ikan rucah dapat mempengaruhi nilai TVB-N. Semakin tinggi kadar enzim papain yang diberikan maka semakin tinggi pula kadar TVB-N yang dihasilkan. Sementara lama fermentasi juga berpengaruh terhadap kadar TVB-N yang dihasilkan, semakin lama waktu fermentasi maka akan semakin tinggi kadar TVB-N yang dihasilkan.

Hal ini dikarenakan adanya aktivitas mikroba selama proses fermentasi yang menguraikan senyawa protein dari ikan rucah menjadi senyawa yang lebih sederhana yang mudah menguap (Briani *et al.*, 2014).

- Kadar Garam

Garam pada proses fermentasi berperan penting karena dapat memberikan citarasa dan aroma pada produk fermentasi yang dihasilkan, membentuk tekstur yang diinginkan, dan mengontrol pertumbuhan mikroorganisme dengan cara merangsang pertumbuhan mikroorganisme yang diinginkan yang berperan dalam fermentasi dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme yang tidak diinginkan dalam fermentasi. Mikroba yang aktif pada pembuatan kecap ikan termasuk mikroba yang toleran terhadap garam (halofilik) (Adawiyah, 2011).

Ada beberapa jenis fermentasi pada pembuatan kecap ikan diantaranya adalah sebagai berikut:

- Fermentasi Garam

Fermentasi garam merupakan fermentasi yang telah lama digunakan oleh masyarakat Indonesia. Fermentasi garam merupakan fermentasi tradisional. Fermentasi garam biasanya menggunakan kadar garam yang tinggi <20%. Pada fermentasi garam akan menghasilkan produk fermentasi dengan pH yang rendah. Penurunan nilai pH pada produk fermentasi disebabkan oleh adanya aktivitas bakteri asam laktat yang menghasilkan senyawa asam. Sementara total bakteri mula - mula mengalami penurunan pada hari 0-6. Kemudian mengalami kenaikan setelah hari ke 6. Hal ini dikarenakan pada awal fermentasi kadar garam yang masih tinggi menyebabkan kematian pada mikroba. Sementara setelah hari ke 6 kadar garam sudah mulai turun sehingga tumbuh bakteri asam laktat pada produk fermentasi. Penurunan kadar garam ini disebabkan terurainya kadar garam menjadi menjadi ion Na⁺ dan Cl⁻ (Desniar *et al.*, 2009).

Pada pembuatan kecap ikan biasanya ditambahkan garam dengan dosis yang tinggi. Pembuatan kecap ikan di Indonesia biasanya menggunakan perbandingan berat ikan dan garam sebagai 6:4-5. Lamanya fermentasi garam dapat bervariasi antara 3-12 bulan sampai beberapa tahun. Kadar garam akhir kecap dapat mencapai 25-30% (Suprayitno, 2017).

Kadar garam dalam proses fermentasi berpengaruh terhadap mutu dari produk fermentasi. Tingginya kadar garam yang diberikan maka akan menyebabkan rendahnya kandungan asam glutamat pada produk fermentasi. Hal ini disebabkan semakin tinggi kadar garam yang diberikan maka aktivitas mikroba dalam pemecahan protein menjadi asam glutamat semakin berkurang. Sementara kadar garam dalam produk fermentasi berbanding lurus dengan kadar garam yang ditambahkan. Sementara pada parameter pH, semakin tinggi kadar garam yang diberikan maka semakin tinggi pH yang dihasilkan (Thariq *et al.*, 2014).

- Fermentasi Mikroba

Pada fermentasi menggunakan bakteri halofilik. Konsentrasi garam akan menentukan jumlah bakteri yang akan tumbuh. Semakin banyak garam yang ditambahkan maka semakin sedikit jumlah bakteri yang tumbuh pada produk fermentasi kecap ikan (Prasetyo *et al.*, 2012).

Di dalam proses fermentasi melibatkan sejumlah aktivitas mikroorganisme. Pada fase awal fermentasi, bakteri yang berperan adalah *Bacillus coagulans*, *B. subtilis* dan *B. megaterium*, sedangkan pada pertengahan fermentasi, bakteri yang berperan adalah *Staphylococcus* dan pada akhir fermentasi *Micrococcus roseus*, *M. varians* dan *M. saprophyticus*. Selain itu ditemukan juga kapang *Cladosporium herbarum* dan *Aspergillus clausenii* (Adawiyah, 2011).

- Fermentasi Enzimatis

Penambahan enzim ini bertujuan untuk mempercepat proses fermentasi. Berdasarkan penelitian Purwaningsih dan Nurjanah (1995), proses fermentasi

dengan penambahan enzim memiliki beberapa keuntungan antara lain : membutuhkan waktu yang relatif singkat, menghasilkan kadar protein tinggi dan kecap ikan yang di hasilkan memiliki aroma dan rasa yang disukai oleh konsumen. Salah satu usaha untuk meningkatkan nilai tambah ikan adalah dengan mengolah menjadi produk-produk olahan seperti kecap ikan. Untuk mempercepat proses tersebut, dengan memanfaatkan enzim yang dapat mempercepat proses fermentasi.

Enzim dalam proses fermentasi berperan sebagai katalisator dalam pemecahan protein menjadi molekul-molekul yang lebih sederhana, seperti peptida dan asam amino. Enzim protease berperan dalam memperpendek lama fermentasi dan mempengaruhi kualitas kecap ikan yang di buat. Salah satu jenis enzim protease adalah enzim papain (Dongoran, 2004).

Menurut Simanjorang (2012), penambahan enzim papain 5% mampu mempersingkat waktu fermentasi kecap tutut menjadi 5 hari. Bahkan pada penelitian Prasetyo *et al* (2012), penambahan sari nanas 10% pada pembuatan kecap ikan gabus mampu mempersingkat waktu fermentasi menjadi hanya 3 hari saja. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan enzim dalam proses fermentasi lebih menguntungkan karena dapat mempersingkat waktu fermentasi.

2.2.2. Faktor – Faktor Pengendali Fermentasi

Menurut Adawiyah (2011), faktor yang mempengaruhi proses fermentasi adalah sebagai berikut:

- Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor lingkungan terpenting yang mempengaruhi macam mikroorganismenya yang tumbuh pada produk fermentasi, beberapa katagori suhu dimana mikroorganismenya dapat tumbuh adalah sebagai berikut:

- Suhu minimum, suhu terendah dimana mikroorganisme masih dapat tumbuh.
- Suhu optimum, suhu terbaik untuk mikroorganisme tumbuh.
- Suhu maksimum, suhu tertinggi mikroorganisme masih dapat tumbuh.

- Oksigen

Setiap mikroba membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya dengan variasi yang berbeda - beda. Selain untuk pertumbuhan oksigen dimanfaatkan mikroba untuk pembentukan sel-sel baru dan untuk proses fermentasi.

- Substrat

Substrat (makanan) yang dibutuhkan mikroba untuk kelangsungan hidupnya berhubungan erat dengan komposisi kimianya. Kebutuhan substrat setiap mikroorganisme berbeda-beda. Ada yang memerlukan substrat lengkap dan ada pula yang tumbuh dengan substrat yang sangat sederhana. Hal ini dikarenakan beberapa mikroorganisme ada yang memiliki sistem enzim yang dapat mencerna senyawa yang tidak dapat dicerna oleh mikroorganisme lain. Komposisi kimia yang paling penting adalah protein, karbohidrat, dan lemak.

- Air

Air sangat penting bagi mikroorganisme tumbuh. Apabila kadar air dalam substrat tidak mencukupi untuk mikroorganisme. Maka mikroorganisme tidak dapat tumbuh.

2.2.3. Mikrobiologi Kecap Ikan

Mikroba yang aktif pada pembuatan kecap ikan termasuk mikroba yang toleran terhadap garam (halofilik) (Kurniawan, 2008). Menurut Kumalaningsih (1990), pada proses fermentasi kecap ikan Lemuru dengan fermentasi tradisional terdapat lima jenis bakteri yaitu: *Micrococcus sp*, *Brevibacterium linens* strain B, *Brevibacterium linens* strain C, *Arthrobacter sp*, dan *Micrococcus varians*. Kelima

bakteri tersebut termasuk bakteri yang mempunyai aktivitas proteolitik tinggi (menghasilkan enzim proteolitik yang digunakan untuk menghidrolisis protein) dan termasuk bakteri halofilik. Kelima bakteri tersebut mampu menghasilkan enzim *endopeptidase*. Penambahan garam dalam proses fermentasi kecap ikan mempunyai peranan untuk mengaktifkan enzim proteinase dalam tubuh ikan. Menurut Suprayitno (2017), penambahan garam dalam proses fermentasi dapat menaikkan keseimbangan tekanan osmotik pada tubuh ikan. Golongan enzim *eksopeptidase* dibagi menjadi karboksil peptidase dan amino peptidase yang berturut-turut memotong peptida dari gugus karboksil terminal dan amino terminal. *Endopeptidase* memecah protein atau ikatan peptida dari dalam (winarno, 1983).

Dari segi konsentrasi garam yang digunakan dalam proses fermentasi akan mempengaruhi jenis bakteri halofilik yang tumbuh. Semakin tinggi kadar garam yang diberikan akan mempengaruhi kandungan asam glutamat produk fermentasi. Semakin tinggi kadar garam maka akan menurunkan kandungan asam glutamat produk fermentasi, hal ini dikarenakan semakin tinggi kadar garam dalam proses fermentasi akan mempengaruhi aktivitas mikroorganisme dalam memecah protein menjadi asam amino khususnya asam glutamat (Thariq *et al.*, 2014).

Bakteri halofilik adalah bakteri yang membutuhkan konsentrasi natrium klorida (NaCl) minimal tertentu untuk pertumbuhannya. Kebutuhan garam untuk pertumbuhan bakteri halofilik 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*. Sedangkan kelompok bakteri halofilik sedang antara lain *Bacillus*, *Micricoccus*, *Vibrio*, *Acinobacter* dan *Moraxella*. Sedangkan kelompok bakteri halofilik ekstrim biasanya tampak berwarna merah muda dan berasal dari kelompok bakteri *Halobacterium* dan *Halococcus* (Fardiaz, 1989).

Menurut Ventosa *et al* (1998), untuk kepentingan industri, enzim ekstraseluler yang dihasilkan oleh bakteri halofilik merupakan produk yang bernilai komersial, karena enzim tersebut dapat beraktivitas optimal pada kondisi garam tinggi. Enzim - enzim ekstraseluler merupakan enzim hidrolase, yaitu amilase, nukelase fosfatase, dan protease. Dalam industri makanan *Tetragenococcus halophilus* digunakan dalam starter dalam pembuatan kecap ikan dengan kadar NaCl 3 M. Keberadaan *Tetragenococcus halophilus* tersebut mampu meningkatkan kekentalan kecap dengan kandungan sel bakteri hingga 10^8 CFU/ml (*Colony Forming Unit*).

Beberapa jenis bakteri halofilik yang terdapat pada produk fermentasi adalah jenis *Bacillus megaterium* bakteri ini terdapat pada produk fermentasi seperti terasi dan kecap ikan. Bakteri ini termasuk bakteri halofilik yang dapat tumbuh pada kadar garam yang tinggi, bakteri dari jenis *Bacillus* memanfaatkan protein untuk tumbuh sehingga termasuk bakteri proteolitik. Hasil dari aktivitas proteolitik ini dapat membentuk aroma dan flavor pada produk fermentasi. Kemudian jenis bakteri *Leifsonia aquatica* bakteri ini banyak terdapat pada saluran usus ikan segar sehingga juga berperan dalam proses fermentasi. Bakteri ini berperan dalam menghasilkan asam amino, seperti asam glutamat. Pada produk fermentasi juga menghasilkan bakteri *Corynebacterium propinquum* bakteri ini termasuk dalam bakteri halofilik yang dapat tumbuh pada kadar garam yang tinggi. Selain itu pada produk fermentasi juga ditemukan jenis bakteri *Lysinibacillus sphaericus* bakteri ini dapat memetabolisme senyawa organik dan asam amino tetapi tidak dapat memetabolisme gula. Bakteri ini juga dikenal sebagai *Bacillus sphaericus* bakteri ini termasuk dalam bakteri halofilik karena dapat tumbuh pada konsentrasi garam 6%. Bakteri ini ditemukan pada produk fermentasi ikan dan udang (Hasanah, 2013).

2.2.4. Bakteri Asam Laktat

Aktivitas bakteri asam laktat akan menghasilkan senyawa yang bersifat asam sehingga dapat menurunkan nilai pH pada produk fermentasi. Penurunan nilai pH ini akan menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Penghambatan bakteri asam laktat terhadap bakteri patogen ini dikarenakan kondisi pH yang rendah dan komponen metabolit yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat selain asam organik seperti hidrogen peroksida, diasetil, etanol, dan bakteriosin. Kultur bakteri asam laktat dapat menghambat *E. Coli* dan *S. Aureus*. Penghambatan bakteri patogen disebabkan oleh komponen metabolit yang dihasilkan saat proses fermentasi (Rachmawati *et al.*, 2005). Yang termasuk bakteri asam laktat adalah *Lactobacillaceae*, *Streptococcus* (Fardiaz, 1989).

Bakteri asam laktat adalah bakteri yang berperan dalam fermentasi laktat. Bakteri asam laktat adalah suatu kelompok prokariotik yang tidak membentuk spora, bersifat gram positif, dan menghasilkan asam laktat sebagai produk akhir. Organisme yang termasuk dalam bakteri asam laktat adalah *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Sporolactobacillus*, *Bifidobacterium* dan *Streptococcus*. Jenis *Lactobacillus* dan *Streptococcus* merupakan jenis bakteri asam laktat yang banyak ditemui pada produk fermentasi. Bakteri asam laktat dapat mengawetkan bahan makanan karena dapat membentuk asam dan menurunkan pH. Selain itu bakteri asam laktat juga berfungsi dalam pembentukan cita rasa produk (Guhardja, 1992).

Pada saat ini kebutuhan peptida bioaktif terus mengalami kenaikan. Hal ini di karenakan kebutuhan masyarakat terhadap produk yang dapat digunakan sebagai produk kesehatan. Bakteri asam laktat dan produk fermentasinya diketahui mampu menurunkan tekanan darah dan menghasilkan peptida bioaktif yang mampu menghambat aktivitas *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE) suatu enzim yang berperan mengatur tekanan darah dalam sistem *renin- angiotensin*.

Peran bakteri asam laktat seperti *Lactobacillus plantarum* yang dapat menghasilkan ACE inhibitor. ACE inhibitor ini dapat menurunkan tekanan darah tikus hipertensi telah ditemukan pada produk susu fermentasi (Wikandari dan Yuanita, 2014).

Hasil degradasi protein dan lemak berupa asam - asam amino dan asam lemak dapat mensimulasi pertumbuhan bakteri asam laktat (BAL) pada awal fermentasi. Bakteri asam laktat juga mempunyai daya adaptasi yang tinggi pada pH rendah, sehingga bakteri asam laktat dapat mendominasi proses fermentasi kecap ikan. Jumlah bakteri asam laktat akan berkurang dengan semakin lamanya proses fermentasi, hal ini dapat terjadi karena adanya faktor-faktor pembatas. 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*. 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*. 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).

2.2.5. Syarat Mutu Kecap Ikan

Pada umumnya kecap dibuat dari hidrolisis protein. Kandungan asam amino pada kecap ikan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Asam Amino Kecap Ikan

Jenis Asam Amino	Asam Amino Kecap Ikan
Aspartic Acid**	0.230
Glutamic Acid**	0.882
Serin**	0.105
Histidin*	0.250
Glycin**	0.551
Threonin*	0.104
Arginin*	0.189
Alanin**	0.277
Tyrosin**	0.026
Methionin*	0.013
Valin*	0.090
Phenylalanin*	0.019
I-Leucin*	0.058
Leucin*	0.115
Lysin*	0.515
Hidroksilin	0.019
NH ₃	0.087
Hypoprolin	0.117
Prolin	0.260
Total Asam amino	3.584

Sumber : Hardoko, 2004.

Asam amino terbentuk akibat pemecahan protein. Semakin tinggi kadar asam amino dalam kecap ikan maka semakin baik kualitas kecap ikan. Meningkatnya asam amino terjadi karena adanya aktivitas enzim protease yang dihasilkan oleh mikroba pada saat proses fermentasi yang selanjutnya akan menghidrolisis protein menjadi peptida dan asam amino (Andarti dan Wardani, 2015).

Syarat mutu kecap ikan berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI) dapat dilihat pada Tabel 3. Sebagai berikut

Tabel 3. SNI 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	Sesuai dengan SNI 01-0222-1995	
5.2	Pewarna Tambahan	mg/kg	
6.	Cemaran Logam	mg/kg	
6.1	Timbal (Tb)	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 ⁴
8.2	Coliform	APM/g	<3
8.3	Salmonella/25ml	-	Negatif
8.4	Staphylococcus aureus/ ml	-	Negatif
8.5	Kapang	-	Negatif

Sumber BSN, 1996.

Tabel 4. Komposisi Kimia Kecap Ikan

Komposisi	Jumlah (g/l)
Keasaman	2.5 – 3
NaCl	275 – 280
Total N	11.2 – 22.0
N Organik	7.5 – 15
N Formol Titrasi	8 – 16
N Amonia	3.5 – 7
N Asam amino	4.5 – 9

Sumber: Suprayitno, 2017

2.2.6. Parameter Kecap Ikan

Parameter kualitas kecap ikan yang biasa adalah kandungan proteinya. Kandungan protein ini dipengaruhi oleh kandungan bahan bakunya, juga

ditentukan oleh proses ekstraksi protein. Beberapa parameter kecap ikan adalah sebagai berikut:

- Nilai pH

pH adalah derajat keasaman yang digunakan untuk menyatakan tingkat keasaman atau kebasaan yang dimiliki oleh suatu larutan. Ada tiga katagori pH pada suatu larutan, antara lain: Suatu larutan dinyatakan asam apabila memiliki nilai pH 0-6,4. Larutan dinyatakan memiliki pH normal apabila nilainya 6,5-7,5 dan dinyatakan basa apabila memiliki nilai pH 7,6-14 (Azmi *et al.*, 2016).

- Kadar Protein

Protein merupakan nutrisi yang sangat di perlukan di dalam tubuh, karena selain berfungsi sebagai sumber energi juga berfungsi sebagai zat pembangun dan juga sebagai pengatur (Winarno, 2004). Protein terdiri dari rantai - rantai panjang asam amino yang terikat satu sama lain dalam ikatan peptida. Asam - asam amino terdiri dari unsur karbon, hidrogen, oksigen dan nitrogen.

Protein dapat berfungsi sebagai biokatalis reaksi - reaksi kimia dalam sistem makhluk hidup. Makromolekul ini mengendalikan jalur dan waktu metabolisme yang kompleks untuk menjaga kelangsungan hidup suatu organisme. Suatu sistem metabolisme akan terganggu apabila biokatalis yang berperan didalamnya mengalami kerusakan (Suprayitno dan Sulistiyati, 2017).

- Kadar Garam

Garam merupakan salah satu komponen yang ikut berperan dalam proses fermentasi kecap ikan. Garam berfungsi sebagai pengawet dimana terjadi pengurangan kadar air bebas dalam bahan pangan melalui proses osmotik dan juga berfungsi sebagai penyeleksi mikroba pada saat proses fermentasi berlangsung. Menurut Adawiyah (2011), penggunaan larutan garam dalam pembuatan kecap ikan bertujuan untuk: mencegah pertumbuhan mikroba yang tidak dikehendaki kecuali bakteri asam laktat halofilik yang berperan dalam cita

rasa dan aroma spesifik pada kecap, menghilangkan rasa pahit pada kecap ikan yang disebabkan oleh pemecahan protein oleh enzim protease, sebagai pengawet dan pemberi rasa asin pada kecap ikan dan terciptanya bagian anaerobik pada fermentasi.

- Rendemen

Analisa rendemen merupakan salah satu parameter yang penting dalam menilai efektif atau tidaknya proses pembuatan kecap ikan. Semakin besar nilai rendemen yang diberikan maka semakin efektif perlakuan yang diberikan. Rendemen dihitung berdasarkan perbandingan antara jumlah cairan kecap ikan yang dihasilkan dengan bahan baku kecap ikan.

2.3. Enzim

Enzim merupakan biokatalisator yang mampu meningkatkan kecepatan spesifik tanpa ikut bereaksi dan tidak menghasilkan produk samping, bersifat jauh lebih efisien dibandingkan katalis lain, disebabkan molekul enzim memiliki spesifitas yang tinggi terhadap substratnya karena enzim terdiri dari ratusan bahkan seribu asam amino (Winarno, 1983). Salah satu jenis enzim protease adalah enzim papain. Enzim papain kasar optimum pada suhu 60°C, pH 7-8. Aktivitas papain dari ekstrak daun pepaya bangkok stabil dengan pelarut metanol (Zusfahair *et al.*, 2014).

Enzim proteolitik merupakan enzim yang dapat memecah ikatan protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dengan cara menghidrolisis ikatan peptida menjadi senyawa yang lebih sederhana seperti pepton, polipeptida, dipeptida dan sejumlah asam amino. Di dalam aplikasinya, enzim dijumpai dalam bentuk kasar dan murni, baik dari hewan atau tumbuhan dan digunakan dalam pengolahan bahan makanan misalnya untuk pengempukan daging, penjernihan minuman, pembuatan keju dan mempercepat hidrolisis protein menjadi nitrogen

terlarut. Enzim protease dapat dihasilkan dari tanaman diantaranya adalah papain dan bromelin (Winarno, 2010).

Menurut Muchtadi *et al* (1992), kebanyakan enzim diberi nama dengan akhiran ase pada nama substratnya, seperti urease yang menghasilkan hidrolisis urea. Tetapi beberapa enzim diberi nama tanpa menerangkan substratnya seperti tripsin. Enzim dapat digolongkan dalam 6 kelompok berdasarkan reaksi katalisnya yaitu:

- Oksidoreduktase

Oksidoreduktase mengkatalis reaksi oksidasi reduksi serta sering mempergunakan koenzim seperti NAD⁺, NADP⁺, FAD, atau lipoad sebagai akseptorhidrogen. Akseptor lain seperti koenzim Q atau molekul oksigen. Nama umum lain adalah *dehidrogenase, oksidase, peroksidase, dan redukse*.

- Transferase

Transferase mengkatalis pemindahan suatu gugus tertentu. Nama umum yang sering digunakan adalah *aminotransferase, karnitin asil tranfaranse, dan transkarboksilase*.

- Hidrolase

Hidrolase berperan dalam reaksi hidrolisis, enzim ini mengkatalis pemecahan antara ikatan karbon dan beberapa atom lain dengan adanya penambahan air. Contoh dari enzim hidrolase adalah: *esterse, peptidase, amilase, fosfatase, urease, pepsin, tripsin, dan kimotripsin*.

- Liase

Nama umum enzim ini adalah *dekarboksilase, aldolase, sitrat liase, dan dehidratase*.

- Isomerase

Isomerase adalah semua enzim yang mengkatalis reaksi isomerisasi dan geometrik dari reaksi oksidasi-reduksi intramolekuler tertentu. Nama lain enzim ini adalah *epimerase*, *resemerase*, dan *mutase*.

- Ligase

Ligase berperan dalam proses pembentukan ikatan antara karbon dan oksigen, sulfur, nitrogen, dan atom - atom lain. Energi yang diperlukan untuk pembentukan ikatan sering di dapatkan dari hidrolisis ATP. Nama umumnya antara lain *sintetase* dan *karboksilase*.

Menurut Winarno (1986), kerja enzim protease dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu :

- Suhu

Pengaruh suhu terhadap enzim agak kompleks, misalnya pada suhu yang terlalu tinggi dapat mempercepat kerusakan enzim, sebaliknya semakin tinggi suhu (dalam batas tertentu) maka akan semakin tinggi aktivitas enzim tersebut. Bila suhu masih naik terus, laju kerusakan enzim semakin tinggi.

- pH

Pada kisaran pH yang ekstrim baik asam maupun basa terjadi inaktivasi yang *irreversible* pada kisaran pH selebihnya masih dapat terjadi inaktivasi, tetapi bersifat *reversible*. Perlu diketahui pada enzim yang sama sering berbeda pH optimumnya, tergantung asal enzim tersebut.

- Konsentrasi enzim

Semakin tinggi yang ditambahkan makin besar pula kecepatan reaksinya tetapi pada batas-batas tertentu dimana hidrolisat yang diperoleh akan konstan dengan meningkatnya konsentrasi enzim.

- Konsentrasi substrat

Kecepatan hidrolisis dari suatu reaksi sangat tergantung pada konsentrasi substrat, dimana semakin tinggi konsentrasi substrat, reaksi semakin cepat hingga mencapai kecepatan yang tetap.

- Kadar air

Kadar air bahan sangat mempengaruhi laju reaksi enzimatis. Pada kadar air bebas yang rendah menjadi halangan sehingga difusi baik enzim atau substrat terhambat. Akibatnya hidrolisis hanya terdapat pada bagian substrat yang langsung berhubungan dengan enzim.

- *Inhibitor*

Kerja enzim papain juga di pengaruhi oleh *inhibitor* atau penghambat kerja enzim papain. *Inhibitor* enzim papain antara lain ion Mg^{2+} (magnesium), Ca^{2+} (kalsium) dan Cu^{2+} (tembaga). Hal ini disebabkan karena ketiga ion tersebut berikatan dengan sisi aktif enzim sehingga struktur enzim berubah sedemikian rupa yang mengakibatkan konformasi enzim menjadi tidak efektif dalam mengikat substrat dan akhirnya aktivitas katalitiknya menurun. Sementara ion Zn^{2+} bertindak sebagai aktivator enzim papain (Zusfahair *et al.*, 2014).

- *Aktivator*

Aktivitas enzim papain dapat di tingkatkan dengan penambahan ion K^+ (kalium). Hal ini dapat terjadi karena ikatan yang terbentuk antara enzim dengan ion logam tidak terlalu kuat, sehingga tidak terjadi perubahan konformasi enzim (Soda dan Agustin, 2013). Aktivitas enzim papain juga dapat di tingkatkan dengan penambahan sistein yang dapat memutus ikatan disulfida (S-S) pada senyawa sistein yang terdapat pada papain. Jika ikatan disulfida terputus akan diperoleh gugus disulfhidril bebas yang dapat meningkatkan aktaivitas papain (Suryatinah *et al.*, 2013).

2.3.1. Pepaya (*Carica papaya L*)

Tanaman pepaya memiliki manfaat dalam pengobatan yang sangat beragam, karena kandungan senyawa aktif dalam tanaman pepaya yaitu: enzim papain, karotenoid, alkaloid, monoterpenoid, flavonoid, mineral, vitamin, glukosinolat dan karposida. Tanaman pepaya memiliki manfaat yang beragam baik secara empiris maupun yang teruji melalui penelitian. Manfaat tanaman pepaya antara lain: sebagai antibakteri, antiinflamasi, dan antioksidan (Rahayu dan Tjitraresmi, 2016), klasifikasi tanaman pepaya menurut adalah sebagai

berikut :

Nama latin : *Carica papaya L*
Divisi : Spermaphyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dinocotyledonae
Bangsa : Caricales
Suku : Caricaceae

Menurut Winarno (1983), di dalam getah pepaya juga terdapat enzim selain papain, yaitu kimopapain dan lisozim. Papain mempunyai berat molekul 21.000 gram/mol dengan titik isoelektrik 8,75. Kimopapain mempunyai berat molekul 36.000 gram/mol dengan titik isoelektrik 10,1, lisozim mempunyai berat molekul 25.000 gram/ mol dengan titik elektrik 10,15. Enzim Papain Adalah Enzim yang terdapat pada getah pepaya merupakan jenis enzim proteolitik. Kualitas papain ditentukan oleh kualitas getah pepaya yang digunakan (Sani, 2008).

Papain adalah salah satu enzim proteolitik yang terdapat dalam getah pepaya. Di dalam getah pepaya terdapat beberapa kandungan nutrisi diantaranya air sebesar 80,56%, protein 7,72%, abu 2,39%, dan nilai pH 5,65. Kandungan air yang tinggi dalam getah pepaya menyebabkan mudah rusaknya kualitas getah pepaya. Pengurangan kadar air dalam getah pepaya dapat memperpanjang masa simpan getah pepaya (Hamzah dan Hamzah, 2010).

2.3.2. Enzim Papain

Enzim papain termasuk dalam enzim proteolitik yaitu enzim yang mengkatalis reaksi pemecahan rantai polipeptida pada protein dengan cara menghidrolisa ikatan peptida menjadi dipeptida dan asam amino. Kualitas getah sangat menentukan aktivitas proteolitik dan kualitas tersebut tergantung pada bagian tanaman yang mengandung getah dengan aktivitas proteolitik yang baik ada pada bagian buah, batang dan daun (Winarno, 2010). Aktivitas papain dapat ditingkatkan dengan penambahan aktivator sistein maupun NaCl. Kadar protein dalam enzim papain adalah 8,31% (Dongoran, 2004). Papain termasuk dalam enzim proteolitik. Suhu optimum papain adalah 50^o C dan pH optimumnya 6,0 (Kusumadjaja dan Dewi, 2005).

Enzim papain dapat di peroleh dari getah pepaya. Enzim papain termasuk kedalam enzim protease yang banyak manfaatnya bagi bidang pangan maupun medis. Salah satu fungsi dari enzim papain adalah sebagai penyembuh luka bakar (Fitria *et al.*, 2014). Penggunaan enzim papain pada hidrolisat protein dapat meningkatkan nilai rendemen, kandungan protein, asam amino nitrogen bebas, dan kandungan asam amino (Kurniawan *et al.*, 2012).

Beveridge (1996), menyatakan bahwa selama proses katalis hidrolisis gugus-gugus amida. Mula gugus sistein (Cys-25) yang bersifat sangat reaktif berikatan dengan subtrat pada sisi aktif papain sehingga dihasilkan ikatan kovalen subtrat dengan enzim yang berbentuk tetrahedral. Kemudian gugus histidin (His-159) terprotonasi sehingga berikatan dengan nitrogen yang terdapat dalam subtrat. Akibatnya gugus amin pada substrat terdifusi dan posisinya digantikan oleh molekul-molekul air yang pada akhirnya menghidrolisis hasil intermediet sehingga mengembalikan enzim kedalam bentuk dan fungsi seperti semula.

Papain murni adalah getah pepaya setelah dibersihkan dari benda asing dan melalui proses pemurnian dari zat bukan enzim (Kusumadjaja dan Dewi, 2005).

Menurut Malle *et al* (2015), proses pembuatan enzim papain melalui dua tahap, yaitu:

- Isolasi Papain

Getah pepaya disadap dari buah pepaya yang berumur 2,5-3 bulan dengan kedalaman torehan 1-2 mm. Penyadapan dilakukan sebanyak 4 kali dengan selang waktu selama 4 hari dan diperoleh getah basah sebanyak 126,4 gram.

Getah yang diperoleh dicampurkan dengan natrium bisulfit 0,7% dimana penggunaan senyawa sulfit untuk pelarut bahan kimia dan untuk menekan terjadinya kerusakan akibat isolasi. Sedangkan penggunaan air sebagai pelarut sulfit dimaksudkan untuk mengencerkan getah. Campuran hasil pengadukan membentuk emulsi berwarna putih susu yang agak kental yang kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 60^o C sampai getah mengering. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan mortal dan alu dan diperoleh papain kasar dengan ciri-ciri berwarna putih kekuningan dan baunya seperti larutan sulfit.

- Pemurnian Papain

Papain kering yang telah diperoleh dikeringkan dalam larutan HCL 50 ml pH 7,0 dengan tujuan untuk mempertahankan kesetabilan enzim papain. Enzim yang telah di dapat diendapkan dalam amonium sulfat untuk fraksi 20%, 40%, 60%, dan 80%. Ekstrak kasar papain diisolasi dari getah buah pepaya.

Getah yang berasal dari buah pepaya lebih baik dibandingkan getah yang berasal dari daun dan batang. Karena dari buah pepaya getah yang dihasilkan cukup banyak dan daya enzimatiknyanya cukup tinggi. Getah ini diperoleh dengan cara menyadap buah pepaya di pohon. Pada saat penyadapan harus menghindari panas matahari karena panas akan mengakibatkan denaturalisasi enzim. Langkah awal isolasi papain dari getah buah pepaya yaitu homogenisasi getah yang diperoleh dengan menambahkan pelarut buffer fosfat 0,1 M, pH 7,0. Selanjutnya

untuk memisahkan pengontor-pengontor dari ekstrak kasar enzim, dilakukan sentrifugasi pada suhu 4° C dengan kecepatan 4000 rpm. Filtrat yang diperoleh diendapkan dengan aseton dengan kejenuhan 0-30%, 30-50%, dan 50-70%. Aseton mengendapkan enzim dengan prinsip *sallting out*. Penambahan aseton menyebabkan molekul air yang mengelilingi protein terlepas dan diikat oleh aseton. Sehingga molekul enzim mengendap. Fraksi enzim yang diperoleh dengan aseton kemudian di dialis dengan menggunakan membran solefan. Buffer dialis yang digunakan yaitu buffer fosfat 0,1 M pH 7,0. Dialisis dilakukan selama 24 jam dan setiap 6 jam sekali buffer pendialis diganti. Dialisis merupakan suatu pemurnian molekul enzim dari pengontor-pengontornya (Kusumadjaja dan Dewi, 2005). Suhu terbaik untuk pengeringan getah pepaya untuk menghasilkan kualitas enzim papain yang baik adalah 65° C dengan waktu pengeringan 5 jam. Penambahan natrium bisulfat 80 ml menghasilkan papain dengan aktivitas 400.00 MCU/gram (Sani, 2008).

2.4. Hipertensi

2.4.1. Pengertian Hipertensi

Penyakit *kardiovaskuler* merupakan masalah utama di negara maju dan berkembang. Salah satu penyakit kardiovaskuler adalah hipertensi (Yeni *et al.*, 2009). Hipertensi dapat dikontrol dengan pola diet dan olahraga. Membatasi makanan yang mengandung lemak adalah salah satu diet yang dapat menurunkan resiko hipertensi (Herwati dan Sartika, 2013). Hipertensi adalah suatu gangguan pada sistem peredaran darah. Banyak orang yang tidak menyadari bahwa dirinya menderita hipertensi, hal ini di karenakan pada fase awal (hipertensi ringan) tidak memberikan dapat yang nyata pada tubuh. Hipertensi dipengaruhi oleh faktor resiko ganda, baik yang bersifat *endogen* seperti hormon dan genetik, maupun yang bersifat *eksogen*, seperti rokok, nutrisi dan stress (Syahrini *et al.*, 2012).

Hipertensi merupakan gangguan keseimbangan hemodinamik sistem *kardiovaskuler* yang mana patofisiologinya tidak bisa diterangkan dengan hanya satu mekanisme tunggal. Semua definisi hipertensi adalah berdasarkan kesepakatan bukti klinis. Bila tekanan darah di atas batas normal maka dikatakan hipertensi. Hipertensi dapat diklasifikasikan berdasarkan penyebabnya hipertensi primer yaitu hipertensi yang tidak dapat di kendalikan seperti faktor keturunan, ras dan jenis kelamin. Sementara hipertensi sekunder adalah hipertensi yang penyebabnya dapat di kendalikan seperti pola makan, kebiasaan olahraga, dan konsumsi alkohol (Hafiz *et al.*, 2016). Hipertensi di klasifikasikan kedalam beberapa kelompok. Klasifikasi hipertensi dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Klasifikasi hipertensi

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

(sumber: JNC 7, 2003)

Menurut Nuraini (2015), proses terjadinya hipertensi adalah melalui terbentuknya *angiotensin II* dari *angiotensin I* oleh *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE). ACE ini memegang peranan fisiologis penting dalam mengatur tekanan darah. Darah mengandung *angiotensinogen* yang di produksi di dalam hati. Selanjutnya oleh hormon renin (diproduksi oleh ginjal) akan diubah menjadi *angiotensin I*, ACE yang terdapat didalam paru - paru akan mengubah *angiotensin I* menjadi *angiotensin II*. *Angiotensin II* inilah yang memiliki peranan penting dalam menaikkan tekanan darah melalui dua aksi yaitu:

- Meningkatkan sekresi hormon antideuritik (ADH) dan rasa haus. ADH diproduksi di hipotalamus (kelenjar pituitari) dan berkerja pada ginjal untuk mengatur osmolalitas dan volume urine. Dengan meningkatnya ADH

menyebabkan sangat sedikitnya urine yang diekresikan keluar tubuh (*antidiuresis*) sehingga menjadi pekat dan tinggi osmolalitasnya. Untuk mengencerkannya volume ekstraseluler akan ditingkatkan dengan cara menarik cairan dari bagian intraseluler, akibatnya volume darah akan meningkat dan menyebabkan meningkatnya tekanan darah.

- Menstimulasi sekresi *aldosteron* dari korteks *adrenal*. *Aldosteron* merupakan hormon steroid yang memiliki peranan penting pada ginjal. Untuk mengatur volume cairan ekstraseluler, *aldosteron* akan mengurangi ekskresi NaCl (garam) dengan cara mereabsorbsinya dari tubulus ginjal. Naiknya konsentrasi NaCl akan diencerkan kembali dengan cara meningkatkan cairan ekstraseluler yang pada akhirnya akan menyebabkan naiknya volume dan tekanan darah.

Terdapat dua kategori dari hipertensi menurut penyebabnya yaitu hipertensi primer (esensial) dan sekunder (non esensial).

- Hipertensi Primer

Hipertensi primer (*esensial*) merupakan hipertensi yang belum diketahui secara pasti penyebabnya. Cara penanganan pada hipertensi primer adalah dengan kebiasaan hidup yang sehat dan pemberian obat secara teratur.

- Hipertensi Sekunder

Hipertensi sekunder (*non esensial*) merupakan hipertensi yang terjadi setelah seseorang mengalami kondisi lainnya, seperti gagal ginjal. Cara pengobatan pada hipertensi sekunder adalah dengan terlebih dahulu mencari penyebabnya yang kemudian dilakukan pengobatan.

2.4.2 Faktor Risiko

Menurut Mubin *et al* (2010), penyakit hipertensi memiliki beberapa faktor risiko yang dapat meningkatkan tekanan darah. Faktor risiko dari hipertensi yaitu:

- 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 potasium terhadap sodium individu dengan orang tuanya.

- Usia

Pada usia tua seseorang lebih berisiko terkena hipertensi. Persentase hipertensi pada usia lanjut cukup tinggi yaitu 30,7% pada usia 55-64 tahun. 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.

- Ras/ etnis

Ras juga berpengaruh terhadap risiko terkenanya hipertensi. Ras atau seseorang yang memiliki kulit hitam lebih berisiko terkena hipertensi di bandingkan dengan ras kulit putih. Komplikasi serius yang sering terjadi pada orang kulit hitam adalah stroke, serangan jantung, dan gagal ginjal.

- Jenis kelamin

Perempuan lebih banyak menderita hipertensi dari pada laki - laki. Sistem hormonal pada wanita berkerja sering mengalami masa - masa tidak stabil, misalnya saat haid (mengalami ketegangan emosi sehingga dapat meningkatkan tekanan darah karena adanya pelepasan adrenalin dan noradrenalin yang bersifat *vasokontriksi*). Ketika hamil dan melahirkan karena ketika mulai hamil terjadi peningkatan hormon - hormon tertentu secara drastis dan ketika melahirkan peningkatan itu menjadi penurunan yang sangat drastis.

- Stres

Stres merupakan suatu reaksi atau respon tubuh terhadap *stressor psikososial* (tekanan mental atau beban kehidupan) yang menimbulkan suatu ketegangan dalam diri seseorang. Kondisi stres ini dapat menyebabkan naiknya tekanan darah seseorang.

2.4.3. Komplikasi

Komplikasi dari penyakit hipertensi adalah seseorang yang terkena hipertensi akan beresiko terkena penyakit lainya, seperti: jantung, stroke, dan ginjal (Depkes, 2006). Hipertensi merupakan penyakit pada sistem peredaran darah. Penderita hipertensi dapat berpotensi mengalami komplikasi, seperti stroke dan penyakit jantung lainya yang dapat berakibat fatal (Khotimah, 2013).

2.4.4. Obat Antihipertensi

Penyakit hipertensi dapat diobati dengan beberapa jenis obat. Beberapa obat antihipertensi yang sering digunakan adalah katropil, nefedipin, dan resepin. Bahan alam yang dianggap dapat menurunkan tekanan darah adalah timun sebanyak 36,7%, kemudian diikuti bawang putih dan rosella. Namun penggunaan bahan alam ini sangat bervariasi baik jumlah yang dikonsumsi maupun pengolahannya. Sedangkan bahan alam seperti seledri, kumis kucing, labu siem, dan daun jati belanda sudah terbukti dapat menurunkan tekanan darah pada hewan uji (Gusmira, 2012). Menurut Destiani *et al* (2015), ada beberapa jenis obat antihipertensi, antara lain:

- *Calcium Channel Blocker* (CCB)

Terdapat dua jenis kelas CCB yaitu dihidropiridin (amlodiplin dan nefediplin) dan non dihidropiridin (verapamil dan diltiazem). CCB menghambat perpindahan kalsium menuju sel otot jantung dan otot polos dinding pembuluh darah dan akan merelaksasi pembuluh darah dan menurunkan resistensi perifer serta menurunkan tekanan darah.

- *Angiotensin Receptor Blockers (ARB)*

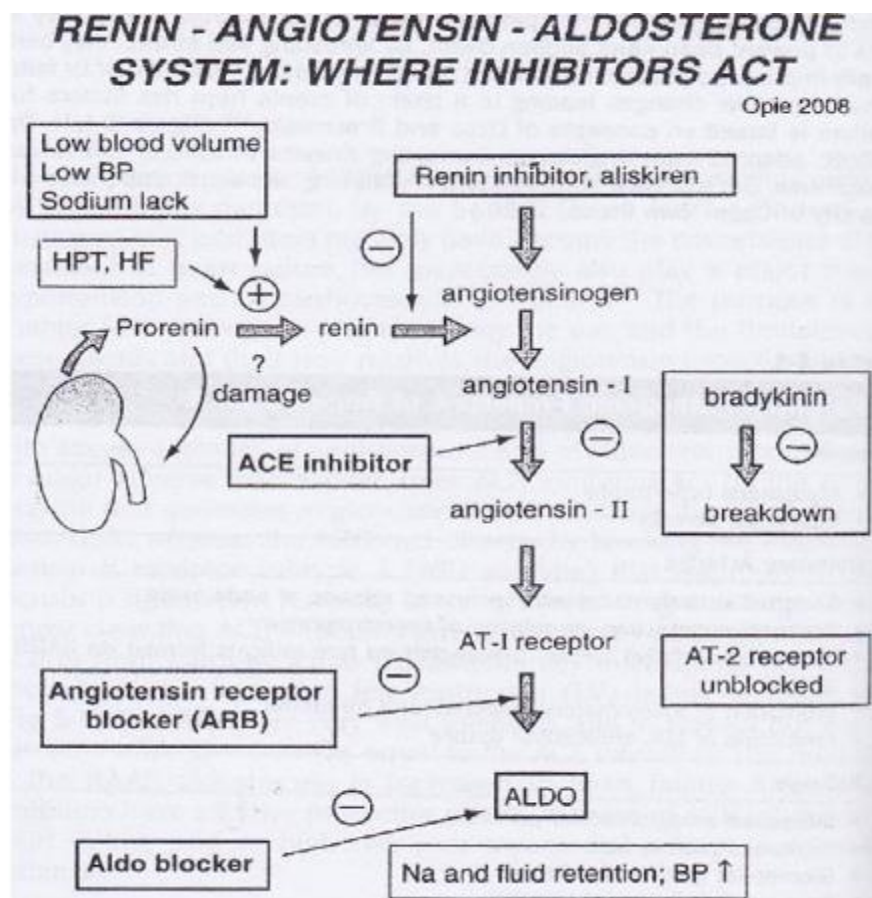
Mekanisme golongan ARB adalah dengan menduduki reseptor AT 1 di pembuluh darah hal ini dapat mengurangi efek fisiologis angiotensin. Yang termasuk golongan ini adalah ibersertan, losartan, termisaltan dan atenonol.

- ACE Inhibitor

Mekanisme kerja ACE *inhibitor* adalah dengan menonaktifkan *angiotensin I* menjadi *angiotensin II*. Beberapa obat yang termasuk kelompok ini adalah katropil, lisinopril, dan rampiril. ACE (*Angiotensin Converting Enzyme*), diketahui memegang peranan penting dalam pembentukan *angiotensin II* yang merupakan salah satu penyebab hipertensi. *Angiotensin II* menyebabkan pembuluh darah menyempit, yang dapat menaikkan tekanan darah. ACE *inhibitor* membiarkan pembuluh darah melebar dan membiarkan lebih banyak darah mengalir ke jantung. Sehingga menurunkan tekanan darah. ACEI dapat memblokir degradasi bradikinin dan merangsang sintesa zat-zat yang menyebabkan *Vasodilatasi* termasuk *prostaglandin* dan *prostasiklin*. Peningkatan Bradikinin akan meningkatkan efek penurunan tekanan darah. ACEI secara efektif dapat mencegah dan meregresi *hipertrofi ventrikel* kiri dengan mengurangi perangsangan langsung oleh *angiotensin II* pada sel miokardial (Depkes, 2006). Ekstrak produk fermentasi (bekasam) yang dibuat dengan fermentasi dengan penambahan kultur starter *L. Plantarum* B 1765 mempunyai aktifitas penghambatan terhadap ACE dan peningkatan aktivitas ACE diketahui sejalan dengan peningkatan peptida yang terbentuk selama proses fermentasi (Wikandari dan Yuanita, 2014).

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 (Febrisiantosa *et al.*, 2013). Menurut Wenno *et al* (2016), bahwa proses fermentasi yang melibatkan bakteri asam laktat dapat mendegradasi protein menjadi peptida yang menghasilkan aktivitas *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE). Mekanisme penghambatan tekanan darah oleh ACE inhibitor apat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Mekanisme ACE inhibitor

Peptida *Angiotensin I 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. 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, 2014).

2.5. Tikus Putih

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) merupakan salah satu hewan uji coba yang berasal dari ordo *Rodentia* dan *family Murida* dengan klasifikasi tikus putih menurut Akbar (2010), 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 3.Dokumen Pribadi 2017 Tikus (*Rattus norvegicus*)

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah salah satu hewan percobaan laboraturium. Tikus putih digunakan karena hewan ini termasuk mamalia sehingga dampak perlakuan pada tikus tidak jauh berbeda dengan manusia. Selain itu tikus putih lebih cepat dewasa dan tidak memperlihatkan perkawinan musiman dan umumnya lebih cepat berkembang biak. Tikus yang digunakan biasanya berumur 2-3 bulan. Penggunaan tikus putih jantan karena memiliki sistem hormonal yang lebih stabil dibandingkan tikus betina yang mempunyai sistem hormonal yang berubah-ubah (Puspitaningrum *et al.*, 2013). Tikus putih memiliki perkembangbiakan yang cepat, ukuran tikus lebih besar dibandingkan dengan mencit, mudah dipelihara dalam jumlah yang banyak dan memiliki sifat kemampuan laktat tinggi dan tahan terhadap arsenik tiroksid (Akbar, 2010).

Tikus putih (*Rattus norvegicus*) telah diketahui sifat-sifatnya secara sempurna mudah dipelihara dan merupakan hewan yang relatif sehat dan cocok untuk berbagai penelitian, kemampuan reproduksi tinggi dengan masa kebuntungan singkat membuat tikus putih dapat digunakan untuk penelitian besar-besaran. Ciri-ciri morfologis *Rattus norvegicus* antara lain memiliki berat 150-600 gram, hidung tumpul dengan panjang badan 18-25 cm, mata berwarna merah, kepala dan badan lebih pendek dari ekornya, serta telinga yang relatif kecil (Smith dan Mangkoewidjojo, 1988).

Tikus sudah banyak digunakan sebagai hewan percobaan. Pemeliharaan tikus sebelum digunakan sebagai hewan uji adalah dilakukan adaptasi selama 7 hari dengan pemberian pakan normal. Hal ini bertujuan agar keadaan tikus tidak stres atau sudah beradaptasi dengan lingkungan laboraturium (Bintang, 2001). Penelitian menggunakan tikus putih juga dilakukan oleh Amir *et al* (2015), dengan menggunakan sipermetril berpengaruh pada terhadap peningkatan kadar ureum dan kreatini. Tikus yang digunakan adalah tikus wistar (*Rattus norvegicus*) jantan dengan umur 7-8 minggu dan berat badan 165-200 gram. Begitupula penelitian

Febriansyah *et al* (2013), tentang pengaruh kadar glukosa darah tikus putih wistar dan Huda *et al* (2013), yang menggunakan tikus putih untuk uji diabetes. Sehingga tikus putih dapat digunakan sebagai hewan uji.

2.5. Garam Dalam Hipertensi

Garam atau natrium klorida merupakan komponen yang ada pada bahan pangan yang tidak dapat diabaikan. Pada konsentrasi yang relatif rendah, natrium klorida memberikan sumbangan yang besar pada cita rasa. Pada konsentrasi yang lebih tinggi, garam dapat menunjukkan kerja bakteriostatik yang penting. Garam digunakan manusia sebagai salah satu metode pengawetan pangan yang pertama dan masih digunakan secara luas dalam pengawetan produk daging dan ikan (Suprayitno, 2017).

Asupan natrium yang berlebih terutama dalam bentuk natrium klorida akan menyebabkan keseimbangan cairan tubuh terganggu, sehingga menyebabkan hipertensi. Asupan dalam (*Natrium chlorida*) dapat meningkatkan tekanan darah. Respon perubahan asupan garam terhadap tekanan darah bervariasi diantara individu yang dipengaruhi oleh faktor genetik dan juga faktor usia (Depkes RI, 2006).

Asupan Natrium dalam jumlah yang besar dapat menyebabkan hipertensi. Hal ini dikarenakan fleksibilitas pembuluh darah. Natrium bila dikonsumsi dalam jumlah yang besar akan meretensi lebih banyak air. Kelebihan asupan natrium akan di keluarkan melalui urine. Pada usia lanjut seseorang akan lebih beresiko terkena hipertensi apabila mengkonsumsi natrium dalam jumlah yang tinggi karena penambahan usia disertai dengan penurunan kemampuan fisiologis hampir pada semua organ tubuh (Mustamin, 2010).

