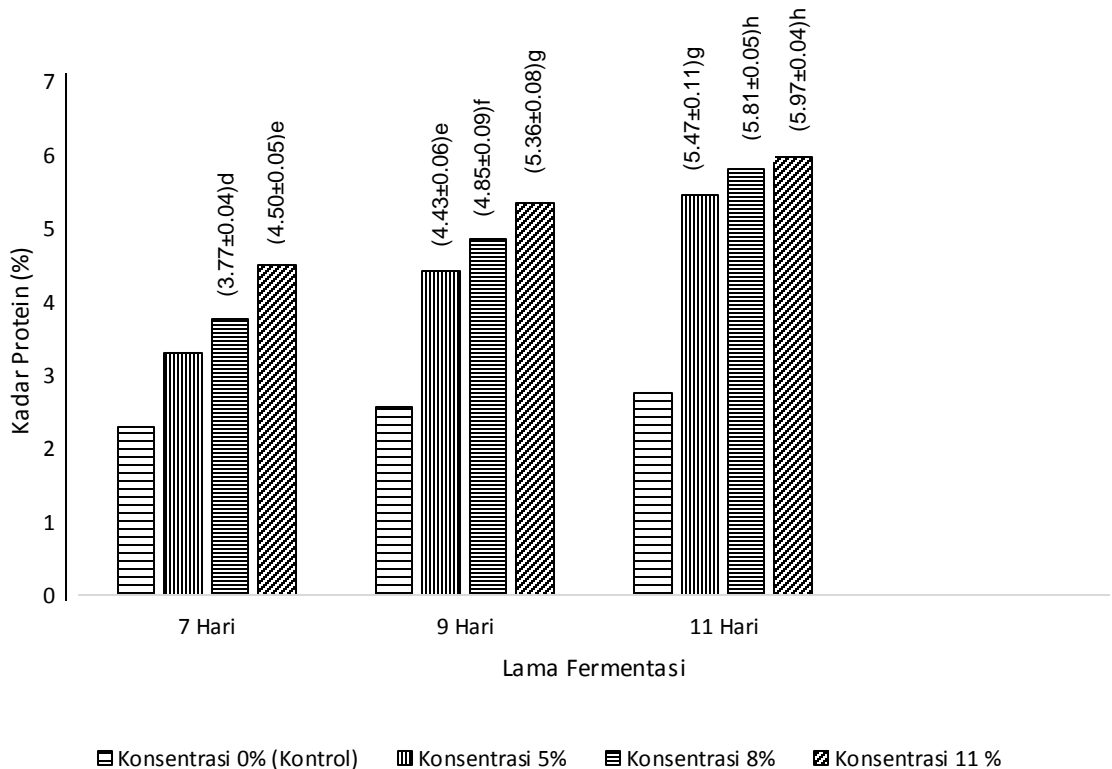


4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Penelitian Pendahuluan

Hasil analisis statistik (ANOVA) menunjukkan bahwa perlakuan konsentrasi enzim papain, lama waktu fermentasi dan Interaksi antara konsentrasi enzim papain dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($P < 0.05$) terhadap protein terlarut kecap ikan Kuniran. Selanjutnya pada uji lanjut Tukey didapatkan konsentrasi enzim papain, lama fermentasi dan hasil interaksi antara kedua perlakuan yang diberikan menghasilkan nilai yang berbeda nyata. Rata rata nilai kadar protein terlarut kecap ikan Kuniran dapat dilihat pada Grafik 1. Data dan hasil analisis statistik kadar protein terlarut kecap ikan Kuniran dapat dilihat pada Lampiran 1.



Grafik 1. Grafik Kadar Protein Terlarut Kecap Ikan Kuniran

Grafik 1 menunjukkan bahwa rata-rata protein terlarut kecap ikan Kuniran berkisar antara 3.32 ± 0.09 – $5.97 \pm 0.04\%$. Sedangkan pada nilai kontrol (enzim 0%) memiliki nilai berkisar antara 2.29 ± 0.05 – $2.75 \pm 0.05\%$. Nilai kadar protein terlarut tertinggi didapat pada perlakuan enzim 11% dengan lama waktu 11 hari dengan nilai $5.97 \pm 0.04\%$. Sedangkan nilai kadar protein terlarut terendah terdapat pada perlakuan enzim 5% dengan lama waktu 7 hari dengan nilai $3.32 \pm 0.09\%$. Nilai perlakuan enzim jauh lebih tinggi dari pada nilai kontrol tertinggi yaitu $2.75 \pm 0.05\%$.

Kemudian dilakukan pembuatan kecap ikan Kuniran dengan kadar enzim papain 11%, kadar garam 5% dan lama fermentasi 11 hari. Kecap ikan Kuniran kemudian dilakukan pengujian proksimat dan uji profil asam amino. Hasil pengujian kecap ikan Kuniran sebagai berikut:

- Uji proksimat

Pada uji proksimat kecap ikan Kuniran (*Upeneus sulphareus*) dengan penambahan enzim papain 11% , garam 5% dan lama fermentasi selama 11 hari di dapatkan hasil pada Tabel 7. sebagai berikut:

Tabel 7. Tabel Hasil Proksimat Kecap Ikan Kuniran

Parameter	Hasil (%)
Protein	5,97
Lemak	1,02
Air	77,56
Abu	10,73
Karbohidrat	4,62

Sumber : Data Diolah, 2017

- Kadar Protein

Protein berfungsi sebagai pembangun struktur, biokatalis, hormon, sumber energi, penyangga racun, pengatur pH, dan bahkan sebagai pembawa sifat turunan (Girindra, 1990).

Dari hasil uji kadar protein kecap ikan Kuniran mempunyai Kadar protein sebesar 5,97%. Jika dibandingkan dengan standar kecap ikan menurut SNI 014271-1996 Kadar protein kecap ikan dalam penelitian ini sudah diterima karena standar protein kecap ikan menurut SNI yaitu minimal 5%.

- Kadar Air

Air berfungsi sebagai pembawa zat-zat makanan dan sisa metabolisme, sebagai media reaksi yang menstabilkan pembentukan biopolimer dan sebagainya (Winarno, 2004).

Kadar air pada kecap ikan Kuniran sebesar 77,56%. persentase kadar air paling tinggi dibandingkan kadar protein, kadar lemak, kadar abu dan kadar karbohidrat. Hal ini disebabkan pembuatan kecap ikan Kuniran tidak menggunakan perlakuan suhu atau suhu ruang. Menurut Yuniarti *et al* (2013), kandungan air bahan makanan yang tidak diberi perlakuan suhu akan lebih tinggi apabila dibandingkan dengan perlakuan pemberian suhu.

- Kadar Abu

Kadar abu pada kecap ikan Kuniran adalah sebesar 10,73%. Menurut Sudarmaji *et al* (2007), kandungan abu dan komposisi tergantung pada macam bahan dan cara pengabuannya. Kadar abu ada hubungannya dengan mineral suatu bahan. Tujuan dari penentuan abu total adalah untuk menentukan baik tidaknya suatu proses pengolahan, untuk mengetahui jenis bahan yang digunakan dan penentuan abu total berguna sebagai parameter nilai gizi bahan makanan. Pada penelitian Sedayu *et al* (2015), komposisi kimia ikan Kuniran segar (*Upeneus sulphureus*) yaitu kadar protein 18,71%, lemak 0,88%, abu 1,03%, air 79,71%. Kadar abu pada interaksi perlakuan kecap ikan Kuniran (*Upeneus sulphureus*) mengalami kenaikan dari kadar abu ikan segar. Hal ini dapat disebabkan karena penambahan garam pada proses fermentasi karena garam salah satu sumber mineral.

- Kadar Lemak

Lipid atau lemak adalah senyawa organik yang tidak larut dalam air tetapi dapat diekstraksi dengan pelarut non polar seperti kloroform, eter dan benzena. Lemak terdapat dalam semua sel dan berfungsi sebagai komponen struktur sel, sebagai simpanan bahan bakar metabolit, sebagai bentuk untuk mengangkut bahan bakar, sebagai komponen pelindung dinding sel dan sebagai komponen pelindung kulit. Beberapa senyawa lipida mempunyai aktivitas biologis yang sangat penting dalam tubuh, diantaranya vitamin dan hormon. Dilihat dari segi nutrisi, lemak lemak merupakan sumber kalori penting. Lemak berperan sebagai pelarut dan sebagaai vitamin (Girindra, 1990).

Kecap ikan Kuniran mempunyai kadar lemak sebesar 1,02%. Persentase yang rendah pada kadar lemak disebabkan oleh oksidasi yang terjadi selama fermentasi karena kontak dengan udara yang ada di dalam botol kaca wadah fermentasi. Hal ini didukung oleh Muchtar dan Yulia (2011), penyimpanan cenderung terjadi penurunan sedikit kadar lemak yang diakibatkan oleh pengaruh udara sekitar. Semakin lama penyimpanan, kadar lemak didalam bahan pangan juga menurun yang disebabkan oleh proses pemecahan ikatan lipid yang dilakukan enzim bromelin yang terdapat pada sari nanas. Menurut Winarti *et al* (2007), Enzim papain dapat memecah ikatan protein pada daging ikan gabus, dengan terjadinya hidrolisis protein maka ikatan lipoprotein akan terputus dengan sendirinya, lipid/lemak yang diikat oleh ikatan tersebut akan keluar dan mengumpul menjadi satu.

- Uji HPLC

Menurut Dharma dan Kurniawan (1984), terdapat 300 asam amino yang terdapat di alam, akan tetapi hanya 20 asam amino yang terdapat dalam protein. Asam amino paling sedikit mempunyai gugus asam lemah yang dapat terionisasi $-COOH$ dan NH_3 dalam larutan dua bentuk gugus ini satu bermutan dan lainnya

tidak bermuatan dalam keseimbangan proteonik. Berdasarkan sifat kepolaranya asam amino di bagi menjadi dua kelompok yaitu:

- Asam amino non polar

Golongan ini terdiri dari 5 asam amino yang mengandung gugus alifatik (alanin, leusin, isoleusin, valin, dan prolin), dua dengan gugus R aromatik (fenilalanin dan triptopan), dan satu mengandung atom sulfur (metionin).

- Asam amino polar

Selain treonin dan tirosin yang kekutupanya disebabkan adanya gugus hidroksil (-OH) merupakan asam amino yang termasuk golongan ini. Selain itu, yang termasuk golongan ini juga adalah asparagin dan glutamin yang kekutupanya disebabkan oleh gugus amida (-CONH₂) serta sistein oleh gugus sulfidril (-SH). Selain itu asam amino yang termasuk dalam kelompok polar adalah: arginin, sistein, asam aspartat, asam glutamat, glutamin, glisin, histidin, lisin, serin, treonin, tirosin.

Selama hidrolisis terjadi konversi protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut, selanjutnya terurai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida-peptida, asam amino dan ammonia. Konsentrasi enzim proteolitik yang semakin meningkat dalam proses hidrolisis akan menyebabkan peningkatan kandungan nitrogen terlarut dalam hidrolisat protein ikan (Kurniawan *et al.*, 2012). Dari uji jenis dan total asam amino dengan menggunakan HPLC profil asam amino kecap ikan Kuniran (*Upeneus sulphareus*) dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Komposisi asam amino Kecap Ikan Kuniran

Jenis Asam Amino	Asam Amino (%)
AsparticAcid**	0.51
GlutaminAcid*	0.93
Serin**	0.16
Histidin*	0.10
Glycin**	0.32
Threonin*	0.19
Arginin*	0.16
Alanin**	0.41
Tyrosin**	0.09
Methionin*	0.16
Valin*	0.24
Phenylalanin*	0.13
I-Leucin*	0.18
Leucin*	0.36
Lysin*	0.55
Total Asam Amino	4.49

Sumber: Data Diolah, 2017

Ket : * Asam Amino Esensial
** Asam Amino Non Esensial

Dari uji profil asam amino dengan metode HPLC pada *output* pertama keluar adalah asam aspartat kemudian asam glutamat, hal ini dikarenakan fase gerak (Na-asetat, Na-EDTA, metanol 95%, dan air) mempunyai sifat polar, sementara asam aspartat dan glutamat adalah asam amino polar sehingga cepat terbawa. Kemudian asam amino yang keluar terakhir adalah lisin dan leusin yang bersifat non polar. Hal ini selaras dengan pendapat Braithwaite dan Smith (1985), Prinsip kerja HPLC adalah pemisahan analitik berdasarkan kepolaran, artinya komponen pada suatu analit (sampel) akan terpisah berdasarkan sifat kepolaran masing-masing komponen dalam sampel, apakah kepolaran lebih mirip dengan fase diam, maka akan tertinggal dalam fase diam atau bergerak lebih lambat, ataukah kepolaran lebih mirip dengan fase gerak sehingga dia akan bergerak terdistribusi lebih jauh dan lebih cepat. Dengan bantuan pompa, fase gerak cair dialirkan

melalui kolom detektor. Cuplikan (sampel) dimasukkan kedalam aliran fase gerak dengan cara penyuntikan.

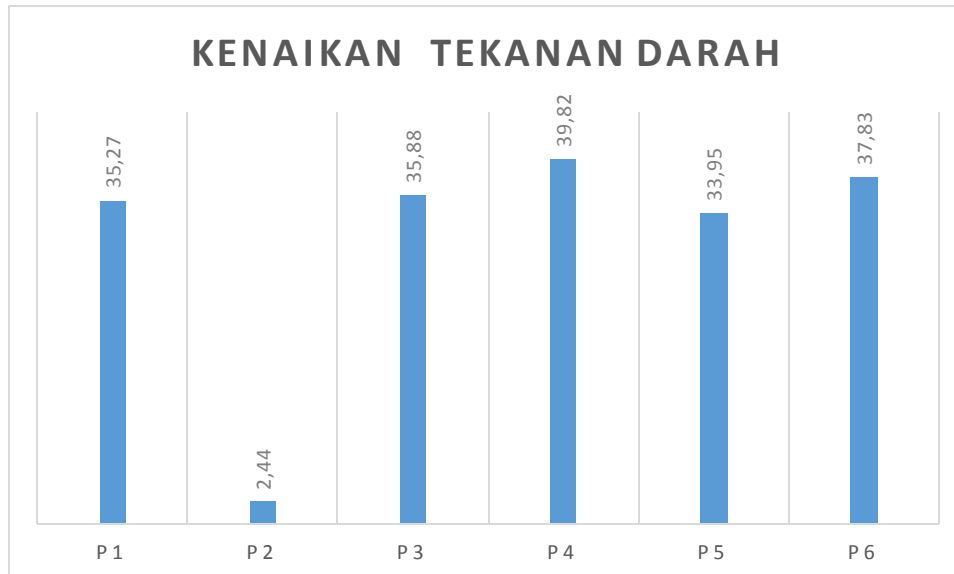
Kadar asam amino kecap ikan Kuniran adalah 4.49% dibandingkan dengan penelitian Hardoko (2004), yang memiliki total asam amino 3,54 kecap ikan Kuniran memiliki total asam amino yang lebih tinggi. Hal tersebut dapat dikarenakan perbedaan proses dalam pembuatan kecap ikan dan perbedaan sampel yang digunakan sebagai bahan dasar kecap ikan. Sedangkan Menurut Briani *et al* (2014), bahwa perbedaan komposisi nutrisi pada kecap ikan dapat disebabkan oleh perbedaan perlakuan, enzim yang digunakan dan lama fermentasi kecap ikan.

Kadar asam amino tertinggi pada kecap ikan Kuniran adalah asam glutamat dengan nilai 0,93%. Sedangkan kadar asam amino terendah yaitu tirosin dengan nilai 0,09%. Tingginya kadar asam glutamat disebabkan karena kadar asam amino pada ikan tertinggi adalah asam glutamat. Ikan merupakan sumber protein hewani yang sangat 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).

4.1. Penelitian Utama

4.1.2. Pengaruh Pemberian Garam

Hasil uji keragaman (ANOVA) pengaruh pemberian larutan garam pada tikus uji dapat dilihat pada Lampiran 7. Hasil penelitian pengaruh pemberian larutan garam dapat dilihat pada Grafik 2 sebagai berikut:



Grafik 2. Kenaikan Tekanan Darah Setelah Induksi NaCl

Keterangan

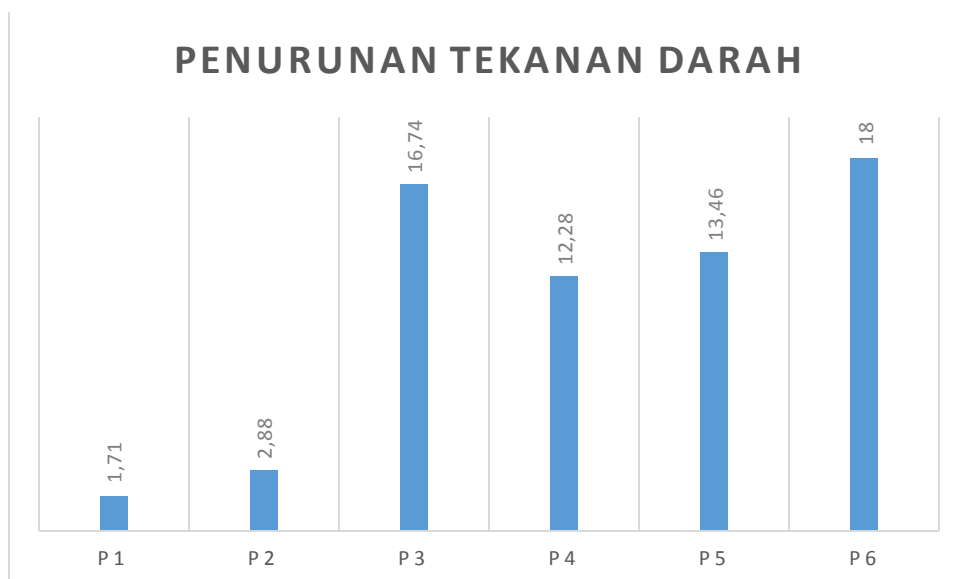
- P1 : tikus dalam keadaaan hipertensi
- P2 : tikus dalam keadaan normal
- P3 : induksi dengan katropil
- P4 : induksi dengan kecap ikan dengan dosis 50 mg/kg BB
- P5 : induksi dengan kecap ikan dengan dosis 100 mg/kg BB
- P6 : induksi dengan kecap ikan dengan dosis 150 mg/kg BB

Berdasarkan Grafik 2 hasil analisa keragaman (ANOVA) pengaruh pemberian larutan garam 2% menunjukkan nilai signifikan ($\text{sig} < 0,05$) yang berarti perlakuan pemberian garam 2% selama 14 hari berbeda nyata dengan perlakuan sebelum pemberian larutan garam. Pemberian larutan garam 2% dengan dosis 5 ml/Kg BB selama 14 hari dapat meningkatkan tekanan darah pada tikus uji sebesar 33,95% sampai 39,82%. Menurut Prihanto dan Yunianto (2015), pemberian larutan garam 4% selama 7 hari dapat menaikkan tekanan darah pada tikus uji sebesar 13 mmHg sampai 33 mmHg. Pemberian larutan garam dapat meningkatkan tekanan darah pada tikus uji. Garam dalam tubuh menyebabkan *vasiokontriksi*. *Vasiokontriksi* adalah kondisi ketika pembuluh darah berkontraksi dan menyempit hal ini menyebabkan tahanan pada darah sehingga menyebabkan tekanan darah naik. Dari hasil pengukuran tekanan setelah pemberian larutan garam 2% selama 14 hari dapat diartikan mengkonsumsi garam yang berlebih

dapat menyebabkan hipertensi. Menurut Mustamin (2010), 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.

4.2.2 Pengaruh Kecap Ikan Kuniran Terhadap Penurunan Tekanan Darah

Aktivitas ACE *Inhibitor* dihasilkan oleh bakteri asam laktat diketahui sejalan dengan peningkatan jumlah peptida hasil degradasi proteolitik bakteri asam laktat (Wikandari *et al.*, 2012). Pada penelitian ini uji analisa keragaman (ANOVA) dan hasil uji lanjut Duncan tekanan darah tikus uji dapat dilihat pada Lampiran 8. Hasil pengukuran tekanan darah sebelum dan sesudah diberi perlakuan dapat dilihat pada Lampiran 6. Hasil pengukuran tekanan darah menunjukkan penurunan pada beberapa kelompok perlakuan. Penurunan tekanan darah setelah pemberian terapi dapat dilihat pada Grafik 3. Sebagai berikut :



Grafik 3. Penurunan Tekanan Darah Tikus Hipertensi

Sumber: Data Diolah, 2017

Keterangan

- P1 : tikus dalam keadaan hipertensi
- P2 : tikus dalam keadaan normal
- P3 : induksi dengan katropil
- P4 : induksi dengan kecap ikan dengan dosis 50 mg/kg BB

- P5 : induksi dengan kecap ikan dengan dosis 100 mg/kg BB
P6 : induksi dengan kecap ikan dengan dosis 150 mg/kg BB

Berdasarkan Grafik 3 hasil analisa keragaman (ANOVA) pemberian terapi dengan kecap ikan Kuniran memberikan pengaruh pada tekanan darah tikus hipertensi ($\text{sig} < 0,05$). Pada pemberian kecap ikan Kuniran dengan dosis 50 mg/KgBB dapat menurunkan tekanan darah sebesar 12,28% sementara pada pemberian kecap ikan dengan dosis 100 mg/KgBB dapat menurunkan tekanan darah sebesar 13,4% dan pada dosis 150 mg/KgBB dapat menurunkan tekanan darah sebesar 18%.

Hasil uji lanjut Duncan menunjukkan bahwa perlakuan P4, P5, P6 berbeda nyata dengan perlakuan P1 dan P2 hal ini menunjukkan bahwa pemberian Kecap Ikan Kuniran dapat menurunkan tekanan darah. Kecap ikan Kuniran mengandung peptida bioaktif yang dapat menghambat kerja *Angiotensin Converting Enzyme* (ACE). Menurut Puspitaningrum *et al* (2013), protein yang terhidrolisis mampu menurunkan tekanan darah tinggi. Protein yang terhidrolisis mempunyai aktivitas *ACE-inhibitor* yang mampu menghambat terjadinya perubahan *angiotensin I* menjadi *angiotensin II*.

Pada perlakuan dosis kecap ikan yang diberikan didapatkan bahwa P4 dan P5 berbeda nyata dengan perlakuan P6 hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi dosis kecap ikan Kuniran yang diberikan maka semakin baik dalam menurunkan tekanan darah tikus uji. Menurut Prihanto dan Yuniarto (2015), penggunaan ekstrak etanol daun jambu mete dengan dosis 25, 50, 100 mg/Kg BB dalam penurunan tekanan darah tikus hipertensi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ketiga dosis yang diberikan dapat menurunkan tekanan darah tikus uji. Sementara perlakuan terbaik adalah dosis 100 mg/Kg BB nilai 19 mmHg. Hal ini dapat disimpulkan bahwa pemberian kecap ikan kuniran dapat menurunkan tekanan darah dan dosis terbaik adalah 150 mg/Kg BB dengan nilai penurunan tekanan darah sebesar 18%. Hal ini didukung oleh Febrisiantosa *et al* (2013), yang menyatakan bahwa 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.