

1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Albumin adalah protein utama dalam plasma manusia dan membentuk sekitar 60% protein plasma total. Sekitar 40% albumin terdapat dalam plasma, dan 60% sisanya terdapat diruang ekstrasel (Murray *et al.*, 2009). Ditambahkan oleh Sumarno (2012), albumin merupakan protein terbanyak dalam plasma darah mencapai kadar 60%. Manfaatnya untuk membantu jaringan sel baru. Dalam ilmu kedokteran, albumin ini digunakan untuk mempercepat pemulihan jaringan sel tubuh yang terbelah/rusak. Albumin juga berperan mengikat obat-obatan serta logam berat yang tidak mudah larut dalam darah. Menurut Suprayitno (2003), ikan gabus sangat kaya akan albumin. Albumin diperlukan tubuh manusia setiap hari, ikan gabus memiliki protein yang sangat tinggi, ikan ini dapat digunakan sebagai sumber albumin bagi penderita hipoalbumin (rendah albumin) dan luka, baik luka pasca operasi maupun luka bakar. Albumin dari ikan gabus banyak diminati oleh masyarakat sebagai sumber alternatif pengganti *Human Serum Albumin* (HSA) yang harganya sangat mahal.

Ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*) merupakan salah satu jenis ikan buas yang hidup di air tawar maupun air payau. Merupakan ikan pancingan yang banyak ditemui di sungai, rawa, danau dan saluran-saluran air hingga ke sawah-sawah (Sulthoniyah *et al.*, 2013). Ikan gabus diketahui mengandung protein yang lebih tinggi dibandingkan jenis ikan lainnya. Kadar protein ikan gabus mencapai 25,5%, lebih tinggi dibandingkan protein ikan bandeng (20,0%), ikan emas (16,05), ikan kakap (20,0%), maupun ikan sarden (21,1%), Kadar albumin ikan gabus bisa mencapai 6,22% (Nugroho, 2013).

Ekstrak ikan gabus dapat diperoleh dengan cara pengukusan ataupun menggunakan vakum ekstraktor. Salah satu cara lain untuk mendapatkan ekstrak

ikan gabus yaitu dengan cara ekstraksi menggunakan metode perebusan dengan *waterbath*. Proses perebusan dengan menggunakan *waterbath* selain mudah dalam mengaplikasikannya juga karena *waterbath* merupakan pemanas air dengan sistem kontrol digital yang menerapkan ketepatan pengaturan temperatur. *Waterbath* terbuat dari *stainless steel* yang tahan dan efisien untuk penggunaan pada temperatur tinggi serta dilengkapi penutup datar dari *stainless steel* untuk mencegah penguapan dan menjaga suhu tetap konstan.

Lama pengukusan berpengaruh nyata terhadap rendemen dan kadar albumin filtrat ikan gabus (Sugiono, 2002). Namun selama ini belum ada yang melakukan penelitian tentang pengaruh lama perebusan terhadap kadar albumin, protein dan rendemen. Penelitian terdahulu yang pernah dilakukan oleh Rahmani(2015), menggunakan lama perebusan selama 20 dan 30 menit. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Adnyana *at al.*, (2012), menggunakan waktu selama 50 menit. Sehingga penerapan waktu yang tepat sangat diperlukan dalam proses untuk menghasilkan ekstrak ikan gabus yang berkualitas baik. Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian tentang ekstraksi ikan gabus menggunakan metode perebusan dengan waktu yang berbeda untuk mendapatkan ekstrak ikan gabus yang baik.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menetapkan waktu perebusan yang berbeda terhadap kadar albumin, protein dan rendemen ekstrak ikan gabus serta untuk menentukan waktu ekstraksi perebusan yang tepat dari ikan gabus.

1.2 Rumusan masalah

Dari uraian diatas didapatkan permasalahan sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh waktu perebusan yang berbeda terhadap kadar albumin, protein dan rendemen ekstrak ikan gabus?

2. Berapa waktu yang tepat pada ekstraksi ikan gabus dengan metode perebusan?

1.3 Tujuan

Adapun Tujuan penelitian ini yaitu:

1. Menetapkan waktu perebusan yang berbeda terhadap kadar albumin, protein dan rendemen ekstrak ikan gabus.
2. Untuk menentukan waktu perebusan yang tepat dari ekstrak ikan gabus.

1.4 Hipotesis

Hipotesis yang mendasari penelitian ini adalah:

- Ho: diduga waktu perebusan yang berbeda tidak berpengaruh terhadap kadar albumin, protein dan rendemen ekstrak ikan gabus.
- H1: diduga waktu perebusan yang berbeda berpengaruh terhadap kadar albumin, protein dan rendemen ekstrak ikan gabus.

1.5 Kegunaan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang ekstrak ikan gabus dengan metode perebusan yang dapat diterapkan dengan mudah serta dapat meningkatkan pemanfaatan albumin ikan gabus bagi kesehatan.

1.6 Tempat dan Waktu

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Perekayasaan Hasil Perikanan, Laboratorium Nutrisi dan Biokimia Ikan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya Malang, Laboratorium pengujian terpadu Rumah Sakit Saiful Anwar Malang dan Laboratorium Kimia Organik Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Pada bulan Mei sampai Agustus 2015.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ikan Gabus

Ikan gabus merupakan ikan karnivora yang suka memakan hewan lain yang lebih kecil. Protein ikan gabus segar mencapai 25,1% sedangkan 6,224% dari protein tersebut berupa albumin. Jumlah ini sangat tinggi dibandingkan sumber protein hewani lainnya. Ikan gabus juga mengandung mineral lain seperti besi, kalsium dan posfor. Selain itu kadar lemak ikan gabus lebih rendah dibandingkan dengan jenis ikan lain seperti ikan tongkol memiliki 24,4% dan lele 11,2% (Suprayitno, 2006).

Ikan gabus ini memiliki bentuk bulat panjang dan memiliki kepala mirip ular sehingga di luar negeri biasa disebut sebagai *snakehead* atau kepala ular. Ikan gabus memiliki protein yang tinggi dan mengandung asam amino esensial yang lebih lengkap untuk memenuhi kebutuhan nutrisi manusia serta banyak memiliki manfaat seperti mempercepat penyembuhan luka dan pembentukan jaringan baru pada tubuh. Dari efek fungsional tersebut, maka dilakukan analisis daya terima produk dari aspek organoleptiknya sebagai makanan fungsional (Mustar, 2013). Gambar ikan gabus dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1. Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*)
(Dokumentasi penelitian, 2015)**

Klasifikasi ikan gabus menurut Saanin (1986), adalah sebagai berikut :

Filum	: Chordata
Sub Filum	: Pisces
Kelas	: Actinopterygii
Ordo	: Perciformes
Famili	: Channidae
Genus	: <i>Ophiocephalus</i>
Spesies	: <i>Ophiocephalus striatus</i>
Nama local	: Gabus, kutuk
Sinonim	: <i>Ophiocephalus wrahl</i> , <i>Ophiocephalus chena</i>

Ikan gabus diketahui mengandung protein yang lebih tinggi dibandingkan jenis ikanlainnya. Kadar protein ikan gabus mencapai 25,5%, lebih tinggi dibandingkan protein ikan bandeng (20,0%), ikan emas (16,05), ikan kakap (20,0%), maupun ikan sarden (21,1%), Kadar albumin ikan gabus bisa mencapai 6,22% (Nugroho, 2013). Ditambahkan oleh Mulyadi *et al.*, (2011), Ikan gabus kaya akan protein, bahkan kandungan protein ikan gabus lebih tinggi dibandingkan beberapa jenis ikan lain. Protein ikan gabus segar bisa mencapai 25,2 %, albumin ikan gabus bisa mencapai 6,224 g/100 g daging ikan gabus, selain itu di dalam daging ikan gabus terkandung mineral yang erat kaitannya dengan proses penyembuhan luka, yaitu Zn sebesar 1,7412 mg/100 g daging ikan. Komposisi kimia ikan gabus dapat dilihat padaTabel 1.

Tabel 1. Komposisi kimia ikan gabus (dalam 100 g bahan)

Komposisi Kimia	Jenis	
	Ikan Gabus Segar	Ikan Gabus Kering
Kalori (Kal)	69	24
Protein (g)	25,2	58,0
Lemak (g)	1,7	4,0
Besi (mg)	0,9	0,7
Kalsium (mg)	62	15
Fosfor(mg)	176	100
Vit. A (SI)	150	100
Vit. B (mg)	0,04	0,10
Air (g)	69	24
BDD (%)	64	80

Sumber : Mulyadi (2011)

2.2 Albumin

Albumin merupakan protein utama dalam plasma dan menyusun sekitar 55-60% dari total protein plasma. Beratnya sekitar 66,4 kDa dan rantainya terdiri 585 asam amino dan mengandung 17 buah ikatan disulfida. Cadangan total albumin dimana terdapat dalam plasma sekitar 42%, dan sisanya ditemukan di ruangan ekstrasvaskuler. Karena massa molekulnya yang relatif rendah (66,4kDa) dan konsentrasi yang tinggi albumin diperkirakan bertanggung jawab atas 75-80% dari tekanan osmotik pada plasma manusia (Mukti, 2009).

Albumin merupakan protein utama dalam plasma manusia dan menyusun sekitar 60 % dari total protein plasma. Hati menghasilkan 12 gram albumin perhari yang merupakan 25 % dari total sintesis protein hepatic dan separuh dari seluruh protein yang disekresikan organ. Sebagai sumber bahan makanan yang mengandung protein dan albumin, ikan gabus diperlukan dalam jumlah yang banyak dan kebutuhan akan filtrat albumin di rumah sakit yang semakin meningkat. Untuk memenuhi kebutuhan tersebut, maka diperlukan jumlah ikan gabus yang banyak dengan berbagai ukuran berat yang bervariasi (Kusumaningrum et al, 2014).

Albumin ikan gabus mengandung 6,2 % albumin dan 0,001741 % zn dengan susunan asam amino esensial treonin yaitu, valin, metionin, isoleusin, leucin, fenilalanin, lisin, histidin dan arginin, serta asam amino non esensial asam aspartat, serin, asam glutamat, glisin, alanin, dari cyteine, tirosin, hidroksilisin, amonia, hidroksiprolin dan prolin. Albumin dari ikan gabus dapat mempercepat penyembuhan luka operasi sehingga pasien disarankan untuk dikonsumsi dan luka setelah melahirkan. Hal ini karena dari ikan gabus yang mengandung protein tinggi albumin, sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka. Di dalam daging ikan gabus yang terkandung mineral yang terkait erat dengan proses penyembuhan luka , zn 1,7412mg tahun yaitu dari 100g daging

ikan (Suprayitno, 2014). Kandungan asam amino ikan gabus disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Asam Amino Ikan Gabus

Jenis Asam Amino	Kadar ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
Fenilalanin	0,132
Isoleusin	0,098
Leusin	0,169
Valin	0,127
Treonin	0,084
Lisin	0,197
Histidin	0,062
Aspartat	0,072
Glutamat	0,286
Alanin	0,150
Prolin	0,082
Serin	0,081
Glisin	0,140
Sistein	0,017
Tirosin	0,025
Arginin	0,109
NH ₃	0,026

Sumber: Sulistiyati (2011)

2.2.1 Karakteristik Albumin

Karakteristik albumin menurut Poedjiadi dan Titin (2006), Albumin termasuk dalam golongan protein globuler yang umumnya berbentuk bulat dan terdiri dari rantai polipeptida yang berlipat. Protein globuler mempunyai sifat larut dalam air, larut asam atau basa dan dalam etanol .

Albumin adalah protein yang dapat larut dalam air serta dapat terkoagulasi oleh panas. Larutan albumin dalam air dapat diendapkan dengan penambahan amonium sulfat hingga jenuh. Albumin antara lain terdapat pada serum darah dan bagian putih telur (Poedjiadi dan Titin, 2006). Ikan gabus juga mengandung protein albumin yang merupakan salah satu jenis protein globular yang dapat larut dalam air, larutan garam dan dapat terdenaturasi oleh panas (Prasetyo *et al.*, 2012).

Albumin ikan gabus mengandung 6,2 % albumin dan 0,001741 % zn dengan susunan asam amino esensial treonin yaitu, valin, metionin, isoleusin,

leucin, fenilalanin, lisin, histidin dan arginin, serta asam amino non esensial asam aspartat, serin, asam glutamat, glisin, alanin, dari cyteine, tirosin, hidroksilisin, amonia, hidroksiprolin dan prolin (Suprayitno, 2014).

2.2.2 Fungsi albumin

Fungsi albumin yang utama yaitu menjaga tekanan osmotik dalam darah. Albumin menjaga cairan dalam plasma darah sehingga dapat mempertahankan volume dalam darah (Suprayitno, 2014). Menurut Sumarno (2012), khasiat dan kegunaan albumin antara lain:

1. meningkatkan kadar albumin dan daya tahan tubuh.
2. mempercepat penyembuhan luka luar maupun luka dalam.
3. membantu proses penyembuhan pada penyakit : Hepatitis, TBC, Infeksi Paru-paru, Nephrotic, Syndrome, Tonsillitis, Typhus, Diabetes, Patah tulang, ITP, HIV, Grastitis, Sepsis, Stroke, dan Thalasemia Minor.
4. Mempercepat proses penyembuhan pasca operasi.
5. Menghilangkan Oedem (pembengkakan).
6. Memperbaiki gizi buruk pada bayi, anak dan ibu hamil.
7. Membantu penyembuhan autis.
8. Sebagai larutan pengganti pada keadaan defisiensi albumin.

Albumin adalah protein plasma kecil yang dihasilkan oleh hepar yang bekerja secara osmotik untuk membantu menahan volum intravaskular didalam ruang vaskular. Penurunan albumin serum (hipoalbuminemia) dapat menimbulkan terjadinya edema karena gerakan air keluar dari ruang vaskular dan masuk ke ruang interstisial. Edema terlihat pada malnutrisi protein yang terjadi karena penurunan produksi albumin (Horne *et al.*, 2001).

2.2.3 Kualitas Ekstrak Ikan Gabus

Kualitas ekstrak ikan gabus yang baik tersusun dari asam amino esensial, sehingga sangat baik untuk mendukung proses sintesis jaringan. Albumin

merupakan fraksi protein terbesar dalam ekstrak ikan gabus (64,61 % total protein). Ekstrak ikan gabus mengandung albumin dengan kadar yang cukup tinggi ($2,17 \pm 0,14$ g/100 ml), lebih tinggi dibandingkan albumin dalam susu (0,17 g/100 ml) (Santoso *et al.*, 2008).

Menurut Mulyadi *et al.*, (2011), Beberapa faktor yang mempengaruhi rendemen dan kualitas filtrat ikan gabus sebagai berikut :

1. Kualitas daging ikan

Ikan gabus sebagai bahan baku pembuatan sari ikan harus mempunyai kualitas yang baik, jika memungkinkan berasal dari ikan yang belum mengalami proses rigor.

2. Pemotongan daging

Pemotongan daging dimaksudkan untuk memperkecil ukuran sehingga luas permukaan akan semakin besar. Semakin besar luas permukaan daging yang bersinggungan dengan pelarut dan panas semakin tinggi laju ekstraksi, sehingga rendemen yang dihasilkan juga semakin tinggi.

3. Suhu pemanasan

Penerapan suhu yang tepat dapat meningkatkan rendemen dan kualitas sari ikan gabus. Karena pemanasan akan mempengaruhi permeabilitas dinding sel sehingga proses pengeluaran plasma dari jaringan bisa lebih cepat. Pemanasan yang tepat dapat meningkatkan kelarutan protein. sehingga protein yang terekstrak akan meningkat dengan pemanasan yang tepat tersebut. Pemanasan yang terlalu tinggi dapat mengkoagulaikan protein plasma. Protein plasma yang terkoagulasi akan menempel pada protein miofibril (benang daging). Penerapan suhu yang terlalu tinggi juga dapat merusak albumin yang terkandung dalam dalam sarkoplasma ikan.

4. Pemakaian pelarut

Albumin mempunyai sifat larut dalam air bebas garam dan ammonium sulfat 2,03 mol/l. Pemakaian pelarut albumin dalam pembuatan filtrat ikan gabus diharapkan dapat meningkatkan jumlah albumin yang terekstrak dari jaringan ikan (rendemen ekstraksi).

2.2.4 Sifat Fisik dan Kimia Albumin

Sifat fisik dan kimia albumin menurut Suprayitno (2003), albumin merupakan protein yang mudah larut dalam air, serta dapat diendapkan dengan penambahan ammonium sulfat berkonsentrasi tinggi 70-100% atau pengaturan pH sampai mencapai pH isoelektriknya. pH isoelektrik albumin bervariasi antara 4,6 (albumin telur) sampai 4,9 (albumin serum). Ditambahkan oleh Foegeding *et al.*, (1986), albumin merupakan protein yang memiliki sifat larut air, akan tetapi pemanasan pada suhu 50°C-70°C mulai menunjukkan penurunan daya kelarutannya.

Albumin manusia terdiri dari satu rantai polipeptida dengan 585 asam amino dan mengandung 17 ikatan disulfida. Dengan menggunakan protease, albumin dapat dibagi menjadi tiga domain yang memiliki fungsi berbeda. Albumin berbentuk elips yang berarti bahwa albumin tidak meningkatkan viskositas plasma sebanyak peningkatan yang dilakukan oleh molekul panjang seperti fibrinogen. Karena massa molekulnya yang relatif rendah (sekitar 69 kDa) dan konsentrasinya yang tinggi, albumin diperkirakan menentukan sekitar 75-80% tekanan osmotik plasma manusia (Murray *et al.*, 2009)

Albumin merupakan salah satu protein sederhana dengan bentuk molekul protein globular, yaitu protein yang berbentuk bola. Albumin mempunyai sifat dapat larut dalam air serta dapat terkoagulasi oleh panas. Larutan albumin dalam air dapat diendapkan dengan penambahan ammonium sulfat hingga jenuh (Sasongko *et al.*, 2010). Lebih lanjut deMan (1997) menjelaskan albumin sebagaimana sifat umum protein dapat terkoagulasi oleh panas dengan suhu

yang berbeda tergantung jenis albuminnya. Suhu koagulasi beberapa albumin dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Suhu Koagulasi Beberapa Albumin

Sumber Albumin	Suhu Koagulasi (°C)
Albumin telur	56
Albumin serum sapi	67
Albumin susu sapi	72

Sumber: de Man (1997)

2.2.5 Defisiensi Albumin

Defisiensi albumin dalam serum dapat mempengaruhi pengikatan dan pengangkutan senyawa-senyawa endogen dan eksoden, termasuk obat-obatan, karena seperti diperkirakan distribusi obat keseluruh tubuh itu pengikatannya melalui fraksi albumin. Jika kadar albumin serum beradadibawah nilai normal, maka fraksi obat yang terikat protein tersebut berkurang, dengan kata lain fraksi obat bebas banyak sehingga keadaan ini dapat menimbulkan pengaruh obat yang tidak diinginkan (Nugroho, 2012).

Sekitar 60% dari total protein plasma adalah albumin, salah satu protein terkecil (69.000) dalam plasma. Jumlah albumin sekitar 80% dari protein plasma tekanan osmotik. Dengan demikian, kekurangan kadar albumin plasma dapat menyebabkan penyakit gizi (misalnya, kwashiorkor), penyakit hati, dan penyakit ginjal serta menyebabkan hilangnya cairan dari (Rhoades dan Pflanzler, 1996).

Diet seseorang berpengaruh juga terhadap asupan cairan dan elektroit. Jika asupan makanan tidak adekuat atau tidak seimbang, tubuh berusaha memecah simpanan protein dengan terlebih dahulu memecah simpanan glikogen dan lemak. Kondisi ini mengakibatkan penurunan kadar albumin. Dalam tubuh, albumin penting untuk mempertahankan tekanan ankotik plasma. Jika tubuh kekurangan albumin, tekanan onkotik plasma dapat menurun.

Akibatnya, cairan dapat berpindah dari intravascular ke interstisial sehingga terjadi edema interstisial (Tamsuri, 2009).

Terjadinya kwashiorkor dapat diawali oleh faktor makanan yang kadar proteinnya kurang dari kebutuhan tubuh, sehingga menyebabkan kekurangan asam amino esensial dalam serum yang diperlukan dalam pertumbuhan dan perbaikan sel. Kekurangan asam amino esensial menyebabkan produksi albumin dalam hati juga berkurang, sehingga berbagai kemungkinan akan dialami pasien, seperti terjadi hipoproteinemia menyebabkan edema dan akhirnya menyebabkan asites, gangguan mata, kulit dan lain-lain (Hidayat, 2008).

2.3 Protein

Protein merupakan zat yang sangat penting dibutuhkan oleh manusia karena protein bukan hanya sekedar bahan struktural, seperti lemak dan karbohidrat. Protein merupakan kelompok dari makromolekul organik kompleks yang diantaranya terkandung hidrogen, oksigen, nitrogen, karbon, fosfor dan sulfur serta terdiri dari satu atau beberapa rantai dari asam amino. Protein adalah senyawa organik dengan berat molekul tinggi. Seluruh protein yang ada di alam dan di dalam organisme yaitu manusia, hewan dan tumbuhan, sampai mikroorganisme disusun dari senyawa monomernya yang disebut asam amino. Terdapat 20 jenis asam amino di alam dan meskipun jenis protein di alam ada banyak sekali namun komponen penyusun protein tetaplah sama yaitu berasal dari ke 20 jenis asam amino yang telah diketahui (Murwani, 2010).

Protein adalah sumber asam amino yang mengandung unsur C, H, O dan N yang tidak dimiliki oleh lemak atau karbohidrat. Molekul protein mengandung pula fosfor, belerang dan ada jenis protein yang mengandung unsure logam seperti besi dan tembaga (Winarno, 2004). Ditambahkan oleh Sediaoetama (2012), protein merupakan zat gizi yang sangat penting, karena yang paling erat

hubungannya dengan proses kehidupan. Semua hayat hidup sel berhubungan dengan zat gizi protein.

Protein terdapat di dalam semua sistem kehidupan dan merupakan suatu komponen seluler menyusun sekitar setengah dari berat kering sel. Setiap sel mengandung ratusan protein yang berbeda dan tiap jenis sel mengandung beberapa protein yang khas bagi sel tersebut. Sebagian besar protein disimpan di dalam jaringan otot dan beberapa organ tubuh lainnya sedangkan sisanya terdapat di dalam darah. Protein tersusun atas asam amino, susunan kimianya mengandung unsur seperti yang terdapat dalam asam alfa amino penyusunnya yaitu karbon, oksigen, hydrogen dan nitrogen. Molekul protein kadang terdapat unsur belerang jika di antara monomernya terdapat asam amino sistein atau metionon (Sumardjo, 2009).

2.3.1 Struktur Protein

Struktur protein biasanya dibagi menjadi empat tingkat organisasi. Struktur primer adalah sebutan untuk urutan asam amino khas dari rantai polipeptida. Struktur sekunder meliputi bagian dari rantai polipeptida yang distabilkan oleh suatu pola teratur dari ikatan hidrogen antara gugus CO dan NH dari tulang punggung misalnya α -heliks. Struktur tersier berlaku pada struktur tiga dimensi yang distabilkan oleh gaya disperse, ikatan hidrogen dan gaya antarmolekul lainnya. Struktur tersier berbeda dari struktur sekunder karena asam amino yang mengambil bagian dalam interaksi ini mungkin jaraknya berjauhan dalam rantai polipeptida. Molekul protein dapat terdiri atas lebih dari satu rantai polipeptida. Jadi selain berbagai interaksi didalam rantai yang menghasilkan struktur sekunder dan tersier. Susunan keseluruhan rantai polipeptida dinamakan struktur kuartener (Chang, 2003).

Struktur protein terdiri dari satu atau lebih rantai polipeptida yang masing-masing terdiri dari ratusan asam amino, komposisi dan ukuran tiap protein

tergantung dari jenis dan jumlah sub unit asam amino (Parman, 2007). Struktur primer protein adalah jumlah, jenis serta urutan asam amino yang membentuk rantai polipeptida. Susunan tersebut merupakan rangkaian unik asam amino dengan gugus R berada pada posisi trans dengan gugus R yang ada disebelahnya. Struktur sekunder adalah struktur yang berikatan kovalen dan berikatan hidrogen dari polipeptida dalam molekul protein. Struktur tersier protein terbentuk karena terjadi pelipatan rantai polipeptida sehingga membentuk protein globular. Struktur kuartener protein dibentuk oleh dua atau lebih rantai polipeptida yang saling dihubungkan oleh ikatan elektrostatik dan ikatan hidrogen (Sumardjo, 2009).

Protein merupakan makromolekul dengan berbagai tingkat pengorganisasian struktur. Struktur primer protein berkaitan dengan ikatan peptida antara asam amino komponen dan dengan urutan asam amino dalam molekul juga (De Man, 1997). Dalam molekul protein, asam amino saling dirangkaikan melalui reaksi gugusan karboksil asam amino yang satu dengan gugusan amino dari asam amino yang lain, sehingga terjadi ikatan yang disebut ikatan peptida. Ikatan peptida ini merupakan ikatan primer. Dua molekul asam amino yang saling diikatkan dengan cara demikian disebut ikatan dipeptida. Bila tiga molekul asam amino, disebut tripeptida dan bila lebih banyak disebut polipeptida. Polipeptida yang hanya terdiri dari sejumlah beberapa molekul asam amino disebut oligopeptida (Jauhari, 2013).

2.3.2 Klasifikasi Protein

Klasifikasi protein berdasarkan struktur molekulnya dapat dikelompokkan menjadi dua bentuk, yaitu protein fibrosa dan protein globular. Protein fibrosa tidak larut dalam pelarut encer, baik itu larutan garam, asam, basa maupun alkohol. Protein ini berguna untuk membentuk struktur jaringan, misalnya kolagen pada tulang rawan, myosin yaitu protein kontraktile utama pada otot dan keratin

yaitu protein utama rambut. Sedangkan protein globular larut dalam larutan garam dan asam encer juga mudah berubah akibat pengaruh suhu, konsentrasi garam serta pelarut asam dan basa (Muchtadi, 2009).

Klasifikasi protein tidak terperinci seperti halnya klasifikasi karbohidrat atau lipida, karena jumlahnya yang banyak dan susunannya yang unik serta sifatnya yang beragam. Berdasarkan bentuk molekulnya protein dibedakan atas protein globular dan protein fibrosa. Protein globular mempunyai bentuk bulat atau hampir bulat dengan perbandingan memeros kurang dari sepuluh. Rantai polipeptidanya melipat dengan sangat kompak sehingga sedikit sekali atau tidak ada rongga interior yang tersedia untuk molekul air. Protein fibrosa bentuk molekulnya seperti serat atau serabut dengan perbandingan memeros lebih dari sepuluh. Rantai polipeptidanya tidak membentuk bulatan atau elips tetapi memanjang dan banyak rantai yang saling berikatan dalam berkas parallel bersilangan (Sumardjo, 2009).

Klasifikasi protein menurut Winarno (2004), dapat digolongkan menurut struktur susunan molekulnya dan kelarutannya adalah sebagai berikut :

Struktur susunan molekulnya :

- a. Protein Fibriler adalah protein yang berbentuk serabut. Protein ini tidak larut dalam pelarut encer, baik larutan garam, asam, basa ataupun alkohol.
- b. Protein Globuler adalah protein yang berbentuk bola. Protein ini banyak terdapat pada bahan pangan seperti susu, telur dan daging. Protein ini larut dalam larutan garam dan asam encer juga lebih mudah berubah dibawah pengaruh suhu, konsentrasi garam, pelarut asam dan basa dibandingkan protein fibriler.

Kelarutannya :

- a. Albumin : larut dalam air dan terkoagulasi oleh panas. Contohnya albumin dalam telur, albumin serum dan laktalbumin dalam susu.
- b. Globulin : tidak larut dalam air, terkoagulasi oleh panas, larut dalam larutan garam encer dan mengendap dalam larutan garam dalam konsentrasi tinggi. Contohnya miosinogen dalam otot, ovoglobulin dalam kuning telur dan legumin dalam kacang-kacangan.
- c. Glutelin : tidak larut dalam pelarut netral tetapi larut dalam asam atau basa encer. Contohnya glutenin dalam gandum dan orizenin dalam beras.
- d. Prolamin : larut dalam alcohol 70-80% dan tidak larut dalam air maupun alcohol absolute. Contohnya gliadin dalam gandum, hordain dalam *barley* dan zein pada jagung.
- e. Histon : larut dalam air dan tidak larut dalam ammonia encer. Histon dapat mengendap dalam pelarut protein lainnya. Contohnya globin dalam haemoglobin.
- f. Protamin : protein paling sederhana dibandingkan protein lainnya tetapi lebih kompleks daripada pepton dan peptida. Protein ini larut dalam air dan tidak terkoagulasi oleh panas. Contohnya salmin dalam ikan salmon, skombrin pada ikan mackerel dan siprinin pada ikan karper.

2.3.3 Fungsi Protein

Fungsi protein didalam tubuh sangat erat hubungannya dengan hayat hidup sel. Fungsi protein ada bermacam-macam. Protein berfungsi memindahkan berbagai senyawa melalui aliran darah dan melintasi membran. Protein merupakan komponen yang memungkinkan otot berkontraksi, sehingga dapat terjadi gerakan. Dalam bentuk antibody dan komponen lain dalam sistem kekebalan, protein melindungi kita dari infeksi oleh organisme asing. Protein juga mencegah kehilangan darah dengan membentuk serangkaian proses yang diakhiri dengan pembentukan bekuan darah (Marks *et al.*, 2000).

Secara garis besar menurut Afrianto dan Liviawaty (2005), fungsi utama protein di dalam tubuh ikan adalah sebagai berikut :

- a. Merupakan sumber energi bagi ikan, terutama apabila komponen lemak dan karbohidrat yang terdapat di dalam pakan tidak mampu memenuhi kebutuhan energi.
- b. Berperan dalam pertumbuhan maupun pembentukan jaringan tubuh.
- c. Berperan dalam perbaikan jaringan tubuh yang rusak.
- d. Merupakan komponen utama dalam pembentukan enzim, hormon dan antibody.
- e. Turut berperan dalam pembentukan gamet.
- f. Berperan dalam proses osmoregulasi di dalam tubuh.

Fungsi protein menurut Devi (2010), antara lain :

- a. Pertumbuhan dan pemeliharaan jaringan

Sebelum sel mensintesis protein baru, semua asam amino esensial harus tersedia dalam waktu yang bersamaan. Untuk memproduksi asam amino nonesensial, harus tersedia nitrogen dalam jumlah yang sesuai.

- b. Pembentukan komponen tubuh yang penting

Protein diperlukan dalam pembentukan enzim, hormone, haemoglobin, pembentukan darah, fotoreseptor pada mata, precursor vitamin niasin, *neurotransmitter* vital pada syaraf.

- c. Transport nutrient

Protein penting dalam pengaturan transport nutrient dari usus halus ke dinding usus halus, ke dalam darah ke jaringan tubuh dan masuk ke dalam membrane sel jaringan. Protein tersebut membawa nutrient spesifik. Namun beberapa protein dapat pula membawa nutrient yang berbeda.

- d. Mengatur keseimbangan air

Cairan dalam tubuh terbagi dalam dua bagian ruangan yaitu ruang intraseluler dan ekstraseluler. Ruang ekstraseluler dibatasi oleh interseluler (antar sel) dan intravaskuler (dalam jaringan darah). Keseimbangan akan dicapai oleh kerja yang kompleks dari protein dan ion Na^+ dan K^+ .

e. Menjaga pH tubuh

Protein dalam darah berfungsi sebagai *buffer*, komponen yang mampu melawan perubahan pH dan menjaga pH apabila ada tambahan asam atau alkali.

f. Pertahanan dan detoksifikasi

Untuk melawan infeksi tubuh, tubuh harus mempunyai system imun yang baik. Untuk itu, tubuh harus mampu memproduksi antibody yang nantinya dapat melawan benda asing.

2.3.4 Sifat Protein

Sifat Protein ionisasi yakni protein yang larut dalam air akan membentuk ion yang mempunyai muatan positif dan negative. Dalam suasana asam molekul protein akan membentuk ion positif, sedangkan dalam suasana basa akan membentuk ion negatif. Protein mempunyai isolistrik yang berbeda-beda. Beberapa jenis protein sangat peka terhadap perubahan lingkungannya (Subagyo, 2014).

Protein sangat cenderung mengalami beberapa bentuk perubahan yang dinyatakan sebagai denaturasi. Protein peka terhadap perubahan yang disebabkan oleh: panas, tekanan yang tinggi, alkohol, alkali, urea, KI, asam, dan pereaksi-pereaksi tertentu lainnya. Denaturasi mengakibatkan perubahan kimia dalam molekul protein. Protein yang telah mengalami denaturasi kelarutannya selalu lebih kecil dari bentuk aslinya, dan aktivitas fisiologi aslinya hilang. Juga kemungkinan keadaan dalam bentuk kristal hilang, sedangkan protein yang tidak mengalami denaturasi dapat dikristalisasi. Baik denaturasi maupun

pengendapan efek totalnya dikenal sebagai penggumpalan atau koagulasi (Sastrohamidjojo, 2005).

2.3.5 Kerusakan Protein

Kerusakan protein terjadi akibat serangan radikal bebas termasuk oksidasi protein yang mengakibatkan kerusakan jaringan tempat protein itu berada. Contohnya kerusakan protein pada lensa mata yang mengakibatkan katarak (Anies, 2009).

Nilai gizi protein suatu bahan pangan ditentukan bukan saja oleh kadar protein yang dikandungnya, tetapi juga oleh ketersediaan atau dapat tidaknya protein tersebut digunakan oleh tubuh. Salah satu parameter nilai gizi protein adalah daya cernanya yang didefinisikan sebagai efektivitas absorpsi protein oleh tubuh. Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi daya cerna protein, misalnya natiye dari kacang-kacangan mentah lebih sulit dicerna daripada yang sudah mengalami denaturasi oleh panas (Asrullah *et al*, 2012). Denaturasi dan koagulasi protein merupakan aspek kestabilan bahan yang dapat berkaitan dengan susunan dan urutan asam amino dalam protein (De Man, 1997).

Diantara cara pengolahan, yang paling banyak dilakukan adalah proses pengolahan menggunakan pemanasan. Sementara itu kita ketahui bahwa protein merupakan senyawareaktif yang tersusun dari beberapa asam amino yang mempunyai gugus reaktif yang dapat berikatan dengan komponen lain, misalnya gula pereduksi, polifenol, lemak dan produk oksidasinya serta bahan tambahan kimia lainnya seperti alkali, belerang dioksida atau hidrogen peroksida. Perlakuan dengan alkali dapat menyebabkan terjadinya rasemisasi asam amino, perubahan bentuk L menjadi bentuk D. Selain itu juga dapat terjadi reaksi antara asam amino yang satu dengan yang lain, misalnya terbentuknya lisiolalanin dari lisin dan alanin. Hal tersebut dapat menyebabkan menurunnya nilai gizi protein akibat

terjadinya penurunan daya cerna protein dan ketersediaan atau availabilitas asam-asam amino esensial. Selain itu reaksi antara protein dengan gula pereduksi yang dikenal dengan reaksi Maillard, juga merupakan penyebab utama terjadinya kerusakan protein selama pengolahan dan penyimpanan (Palupi *et al*, 2007).

2.4 Rendemen

Rendemen merupakan salah satu nilai penting dalam suatu produk. Semakin besar rendemen yang dihasilkan maka semakin efisien perlakuan yang diterapkan dengan tidak mengesampingkan sifat-sifat lain. Rendemen merupakan perbandingan berat yang dihasilkan dengan berat bahan baku (Yuniarifin *et al.*, 2006).

Rendemen ekstrak dihitung berdasarkan perbandingan berat akhir dengan berat awal dikalikan 100% (Sani *et al.*, 2014). Ditambahkan Putri (2011), rendemen merupakan presentase perbandingan antara berat bagian bahan yang dapat dimanfaatkan dengan berat total bahan. Nilai rendemen ini berguna untuk mengetahui nilai ekonomis suatu produk atau bahan. Apabila nilai rendemen suatu produk atau bahan semakin tinggi, maka nilai ekonomisnya juga semakin tinggi sehingga pemanfaatannya dapat menjadi lebih efektif.

Rendemen merupakan bagian dari suatu komoditas yang diambil dan dimanfaatkan. Rendemen dapat memperkirakan efisiensi dari suatu produksi serta banyaknya bahan baku yang diperlukan untuk menghasilkan sejumlah produk akhir (Manurung, 2009).

2.5 Ekstraksi Dengan Perebusan

Ekstraksi dengan pemanasan secara umum dapat diartikan sebagai suatu proses pemisahan solute C dari campurannya dengan diluen A, dengan

menggunakan sejumlah massa solvent B sebagai tenaga pemisah (Mass separating agent, MSA) (Sundarsih dan Kurniaty, 2009). Sedangkan menurut (Novia *et al.*, 2009), Ekstraksi adalah pemisahan satu atau beberapa bahan dari suatu padatan atau cairan dengan menggunakan bantuan pelarut. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan larut yang berbeda dari komponen-komponen dalam campuran. Suatu proses ekstraksi biasanya melibatkan tahap-tahap berikut:

- a) Pencampuran bahan ekstraksi dengan pelarut dan membiarkannya saling kontak. Dalam hal ini terjadi perpindahan massa secara difusi pada bahan ekstraksi dengan pelarutnya. Dengan demikian terjadi pelarutan ekstrak.
- b) Memisahkan larutan ekstrak dari rafinat (ampas).
- c) Mengisolasi ekstrak dari larutan ekstrak dan mendapatkan kembali pelarut, umumnya dilakukan dengan menguapkan pelarut. Dalam hal-hal tertentu larutan ekstrak dapat langsung diolah lebih lanjut atau diolah setelah dipekatkan.

Perebusan menurut Ardiansari (2012), adalah proses pemasakan dengan menggunakan suhu panas ($\pm 100^{\circ}\text{C}$), dan termasuk dalam kategori pemanasan basah karena menggunakan media air. Untuk memperoleh ekstrak ikan gabus bisa menggunakan perebusan. Biasanya perebusan dilakukan diwaterbath, hal ini dikarenakan suhu perebusan yang akan diekstraksi dapat diatur.

Ikan gabus ditimbang kemudian dibersihkan/disiangi (dibuang sisik, isi perut, insang, sirip, dan kepala) kemudian dicuci hingga tidak ada darah dan lendir. Ikan yang telah dibersihkan ditiriskan kemudian ditimbang. Ikan direbus pada suhu 70-800 C selama 50 menit dengan perbandingan antara ikan dan air dengan perbandingan berat : volume yaitu 1 : $\frac{1}{3}$ (ikan 100 g : air 300 ml). Setelah direbus, ikan didinginkan kemudian ditimbang lalu dipisahkan dari kulit dan tulangnya. Daging ikan disuir-suir kemudian ditimbang. Air sisa perebusan

dicampurkan dengan suiran-suiran ikan lalu diekstrak cairannya sampai adonan tersebut agak kering. Cairan yang diperoleh dicampurkan dengan pelarut heksan dengan perbandingan volume : volume yaitu 1 : ¼ (200 ml :50 ml) untuk memisahkan lemak kemudian dipisahkan dengan menggunakan corong pisah, dan ditambahkan antioksidan BHT dengan perbandingan 0,02% dari volume ekstrak ikan kemudian ditimbang (Adnyana *et al.*, 2012).

Ekstraksi Protein Albumin Menurut Asfar (2014):

- Ikan gabus disiangi dan dicuci sampai tidak ada darah serta lendir, kemudian dipotong kecil2 dan tulang dihilangkan.
- Kemudian di blender dan ditambahkan pelarut dengan perbandingan 1:1 (100ml solvent : 100g fish).
- Perlakuan pada penelitian ini:
A1B1= pelarut air tanpa pemanasan;
A1B2=pelarut air dengan pemanasan pada suhu 50-60°C selama 10menit;
A2B1 = pelarut HCl 0.1M tanpa pemanasan;
A2B2=pelarut HCl 0.1M dengan pemanasan pada suhu 50-60°C selama 10 minutes; A3B1= pelarut ethanol 50% tanpa pemanasan;
A3B2 = pelarut ethanol 50% dengan pemanasan pada 50-60°C selama 10 minutes.
- Sampel dari setiap perlakuan disaring untuk memisahkan cairan dan ampas.
- Pemisahan cairan dengan lemak dilakukan dengan menambahkan 200ml pelarut hexane kemudian dikocok selama 30 minutes.
- Setelah membentuk dua fase, minyak dipisahkan dengan corong.

3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

3.1. Materi Penelitian

3.1.1 Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan gabus (*Ocheophalus striatus*) yang didapat dari Pasar Besar, Kota Malang. Ikan gabus yang digunakan berukuran panjang tubuh 35-60 cm, kain blacu, kertas saring, tissue dan kertas label. Bahan kimia yang diperlukan adalah n-heksan yang digunakan untuk memisahkan lemak.

Bahan yang digunakan untuk analisis albumin yaitu $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{SO}_4$, aquades, Na-K tartrat, NaOH, dan reagen biuret. Bahan yang digunakan untuk analisis protein antara lain aquades, H_2SO_4 , Na_2SO_4 , NaOH, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, asam borat, indikator metal merah / metilen biru, 0,02 N HCl. Sedangkan bahan yang digunakan untuk analisis profil asam amino adalah HCl 6M, NaOH 6M, OPA (*ophthalaldehyde*) dan kertas saring.

3.1.2 Alat Penelitian

Peralatan yang dibutuhkan pada pembuatan ekstrak ikan gabus adalah baskom, pisau, talenan, beaker glass 500 ml, spatula, gelas ukur 100 ml, stopwatch, corong pisah, erlenmeyer 500 ml, timbangan digital, pipet tetes, waterbath, botol kaca.

Peralatan yang digunakan untuk analisis kimia adalah spektrofotometer, cuvet, labu ukur, pipet volume, bola hisab, Erlenmeyer, pipet tetes dan HPLC (High Performance Liquid Chromatography).

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Metode

Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode eksperimen. Menurut Jaedun (2011), penelitian eksperimen merupakan bentuk khusus

investigasi yang digunakan untuk menentukan variabel-variabel apa saja dan bagaimana bentuk hubungan antara satu dengan yang lainnya. Menurut konsep klasik, eksperimen merupakan penelitian untuk menentukan pengaruh variabel perlakuan (independent variable) terhadap variabel dampak (dependent variable). Berikut ini disajikan beberapa karakteristik penelitian eksperimen, yang membedakan dengan penelitian positivistik lainnya, yaitu:

1. Metode eksperimen merupakan satu-satunya metode penelitian yang dianggap paling dapat menguji hipotesis hubungan sebab-akibat, atau paling dapat memenuhi validitas internal.
2. Metode eksperimen merupakan rancangan penelitian yang memberikan pengujian hipotesis yang paling ketat dibanding jenis penelitian yang lain.
3. Metode eksperimen merupakan penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap dampaknya dalam kondisi yang terkendali.
4. Ciri khas yang membedakan penelitian eksperimen dengan penelitian yang lain:
 - a. Satu atau lebih variabel bebas dimanipulasi (kondisinya dibuat berbeda, misal: treatment dan non-treatment)
 - b. Semua variabel lainnya, kecuali variabel perlakuan (variabel bebas), dikendalikan (dipertahankan tetap).
 - c. Pengaruh manipulasi variabel bebas (pemberian perlakuan) terhadap variabel terikat diamati, dengan asumsi karena diberi perlakuan yang berbeda maka akan berdampak yang berbeda pula.
 - d. Adanya komparasi, sehingga perlu penyamaan antara kelompok yang akan dikenai perlakuan dengan kelompok yang tidak dikenai perlakuan (dua kelompok yang akan dibandingkan tersebut harus komparabel).

Perlakuan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan variasi waktu perebusan yang berbeda. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui waktu perebusan guna mendapatkan hasil kadar albumin tertinggi dari ekstrak ikan gabus. Sedangkan penelitian utama adalah untuk memperoleh kadar albumin, protein dan rendemen tertinggi ekstrak ikan gabus dari waktu perebusan yang optimum.

3.2.2 Variabel

Variabel ialah faktor yang mengandung lebih dari satu nilai dalam dalam metode statistik. Variabel terdiri dari variabel bebas dan terikat. Variabel Bebas adalah variabel yang mempengaruhi atau yang menjadi sebab perubahannya atau timbulnya variabel Dependen (terikat). Sedangkan Variabel Terikat merupakan Variabel yang dipengaruhi atau yang menjadi akibat karena adanya variabel bebas (Aditya 2009).

- Variabel bebas dari penelitian ini : waktu perebusan (5 menit, 20 menit, 35 menit, 50 menit)
- Variabel terikat pada penelitian ini : kadar albumin, kadar protein dan rendemen.

3.3 Prosedur Penelitian

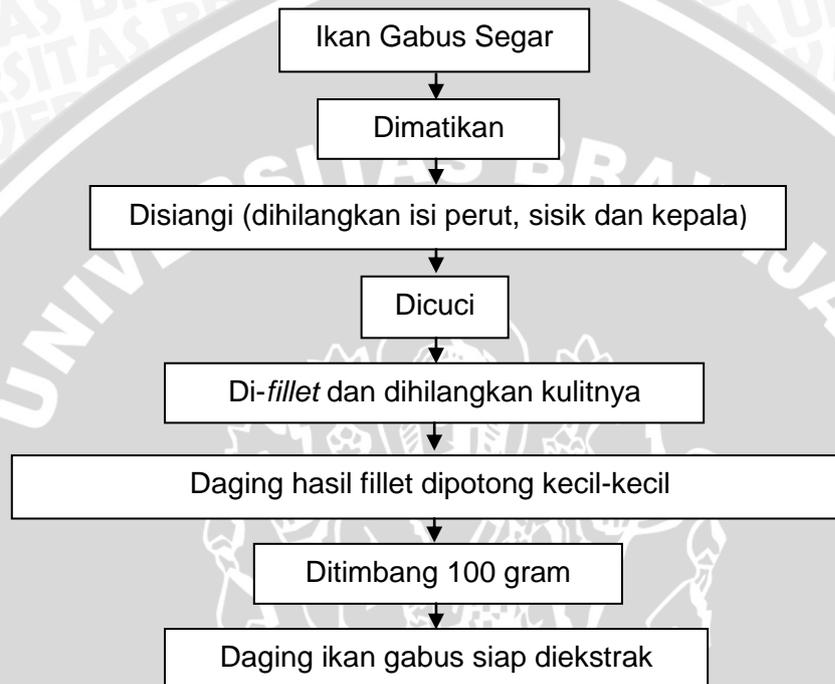
3.3.1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk memperoleh range waktu perebusan terbaik. Waktu perebusan yang digunakan yaitu, 20 menit (A), 30 menit (B), 40 menit (C), 50 menit (D) dengan suhu perebusan 60°C.

- Preparasi Bahan

Bahan baku merupakan ikan gabus yang masih segar yang diperoleh dari pasar Besar, Malang. Kemudian ikan dimatikan, lalu dilakukan penyiangan

dengan cara dibuang isi perut, sisik dan dicuci dengan air bersih. Selanjutnya ikan gabus di-*fillet*, dan dipisahkan dengan kulitnya. Dipotong kecil-kecil, kemudian daging ikan gabus yang diperoleh ditimbang sebanyak 100 gram dengan timbangan digital, prosedur persiapan ekstraksi dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Prosedur Persiapan Ekstraksi

- Ekstraksi albumin ikan gabus

Ekstraksi ikan gabus dengan cara perebusan menggunakan waterbath.

Untuk ekstraksi ikan gabus terlebih dahulu disiapkan alat yang akan digunakan.

Langkah pertama yang dilakukan adalah mengisi air pada waterbath sampai

batas yang ditentukan. Kemudian dinyalakan waterbath dan diatur sampai pada

suhu yang akan digunakan, yaitu 60°C. Sementara itu disiapkan daging ikan

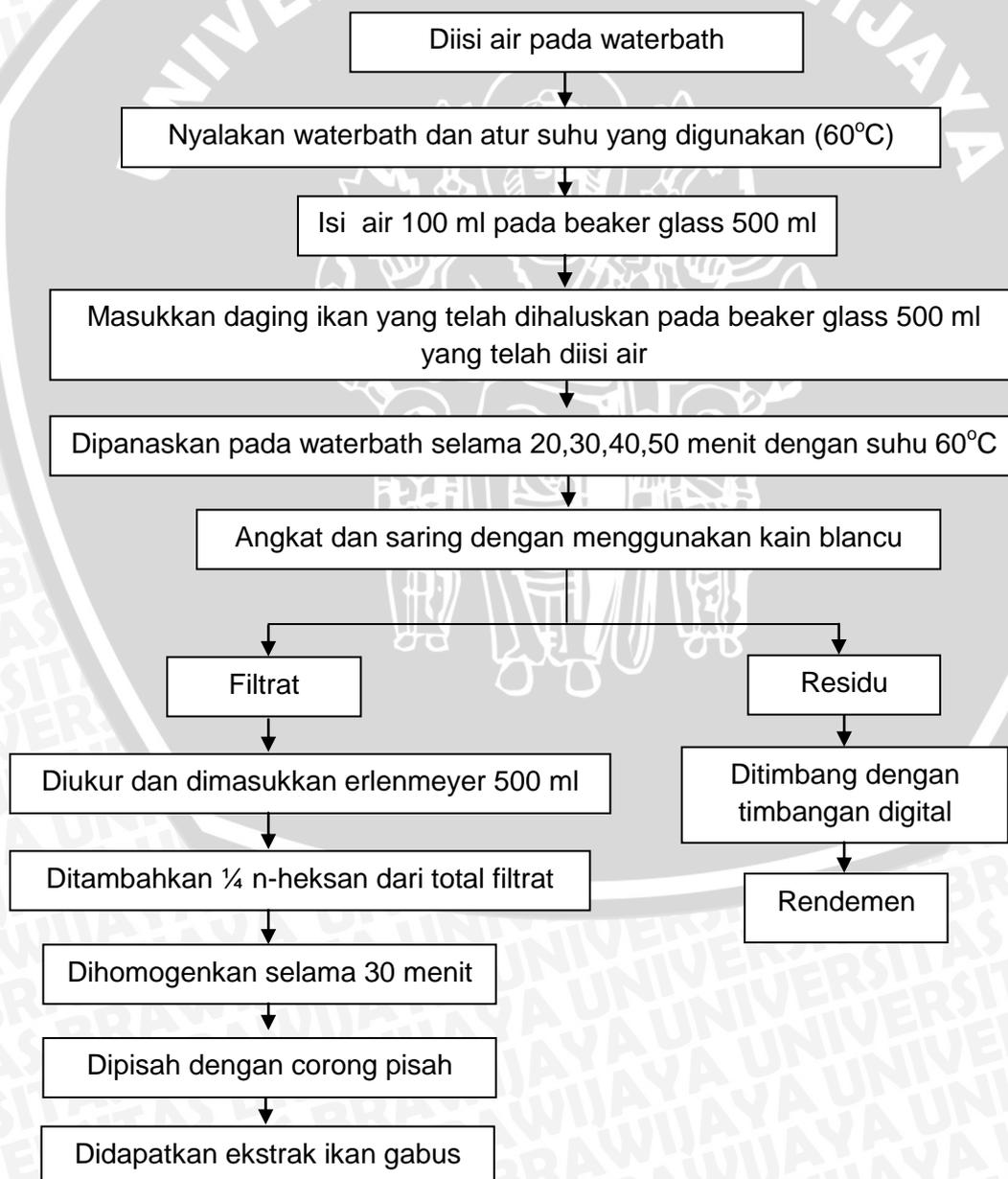
yang telah dipotong kecil-kecil. Daging ikan gabus dimasukkan dalam beaker

glass 500 ml yang telah diisi air sebanyak 100 ml. Kemudian dimasukkan dalam

waterbath dan dipanaskan selama 20 menit, 30 menit, 40 menit, 50 menit.

Setelah selesai kemudian daging yang direbus diangkat dan disaring dengan

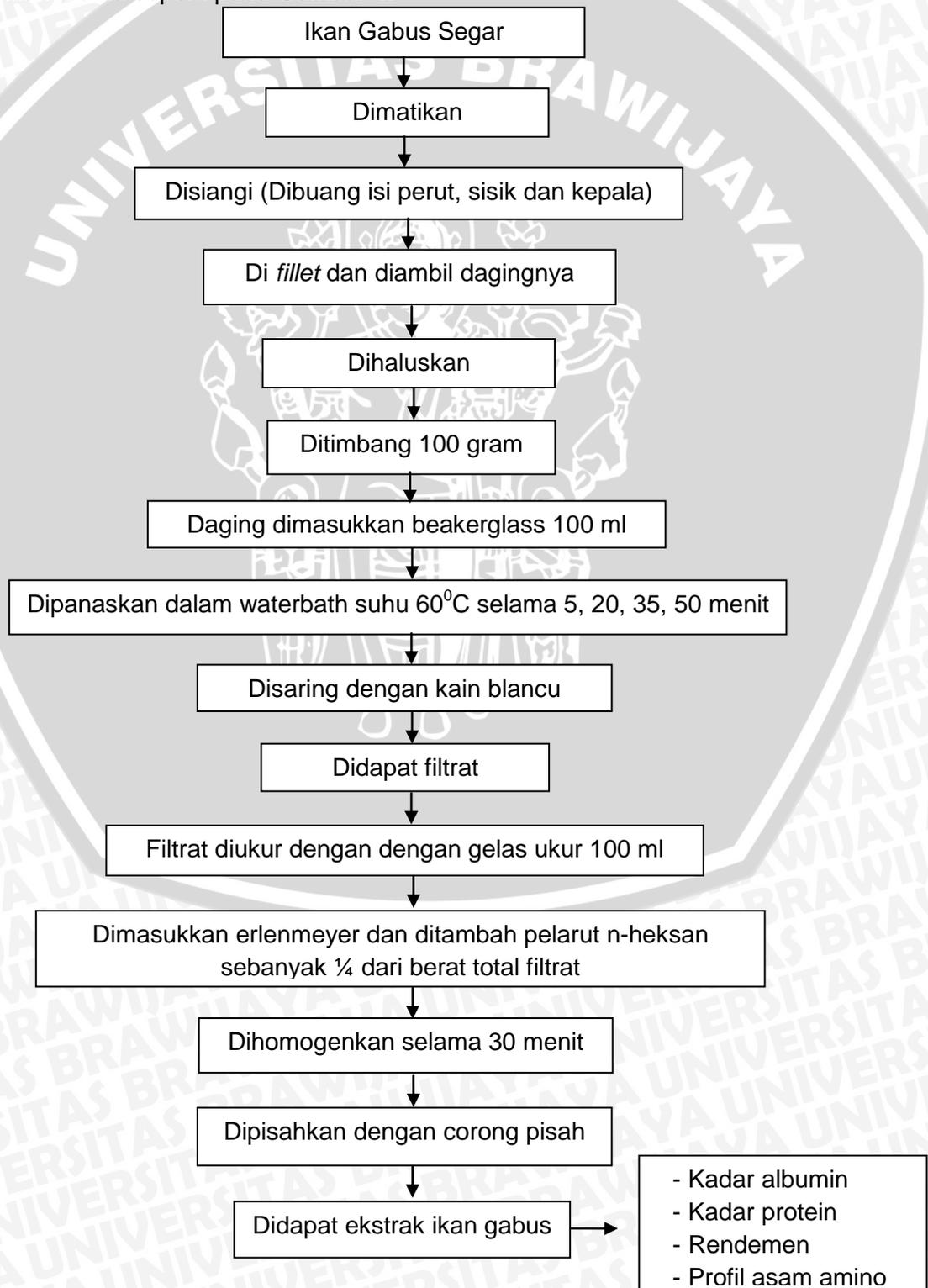
menggunakan kain blancu. Lalu didapatkan filtrat dan residu. Residu ditimbang untuk mengetahui rendemen. Dan filtrat diukur dengan gelas ukur dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 500 ml. Lalu ditambahkan $\frac{1}{4}$ n-heksan dari total filtrat dan dihomogenkan selama 30 menit. Pada proses pemisahan yang dilakukan dengan corong pisah terbentuk dua fase larutan dimana lapisan atas merupakan fase minyak dan fase bawah yang merupakan air, fase air yang terdapat pada bagian bawah corong pisah kemudian diambil dan disimpan dalam wadah. Prosedur untuk memperoleh ekstrak dari ikan gabus dengan cara perebusan menggunakan waterbath data dilihat pada Gambar 3.



3.3.2 Penelitian Utama

Gambar 3. Prosedur Pembuatan Ekstrak Ikan Gabus

Pada penelitian utama ini guna mendapatkan kadar albumin, protein dan rendemen yang tertinggi dalam waktu yang optimum. Hasil kadar albumin terbaik pada penelitian pendahuluan yaitu pada waktu perebusan 20 menit sebesar 0,51%. Waktu perebusan 20 menit digunakan sebagai panel utama. Prosedur penelitian utama seperti pada Gambar 4.



Gambar 4. Prosedur Penelitian Utama

Parameter uji yang dilakukan pada penelitian utama adalah kadar albumin, kadar protein dan rendemen.

3.4 Analisa Data

Analisa data yang digunakan dalam penelitian utama ialah Rancangan Acak Lengkap (RAL) sederhana dengan empat perlakuan dan enam kali ulangan. Model matematik Rancangan Acak Lengkap (RAL) adalah :

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \sum I_j$$

$$i = 1,2,3,\dots,i$$

$$j = 1,2,3,\dots,j$$

Keterangan :

Y_{ij} = respon atau nilai pengamatan pada perlakuan ke- i ulangan ke- j

μ = nilai tengah umum

τ_i = pengaruh perlakuan ke- i

$\sum I_j$ = pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

t = perlakuan

r = ulangan

Model rancangan percobaan dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rancangan percobaan penelitian

Perlakuan	Ulangan					
	1	2	3	4	5	6
A	A1	A2	A3	A4	A5	A6
B	B1	B2	B3	B4	B5	B6
C	C1	C2	C3	C4	C5	C6
D	D1	D2	D3	D4	D5	D6

Keterangan perlakuan :

A = Waktu perebusan 5 menit

B = Waktu perebusan 20 menit

C = Waktu perebusan 35 menit

D = Waktu perebusan 50 menit

3.5 Parameter Uji

3.5.1 Analisis Kadar Albumin(Aulanni'am, 2005)

Kadar albumin ditentukan dengan menggunakan metode spektrofotometer. Sebuah spektrofotometer adalah sebuah instrument untuk mengukur transmitans atau absorbans suatu sampel sebagai fungsi panjang gelombang, pengukuran terhadap sederetan sampel pada suatu panjang gelombang tunggal. Pada metode spektrofotometri, sampel menyerap radiasi (pemancar) elektromagnetis yang pada panjang gelombang 550 nm dapat terlihat. Penentuan kadar albumin dapat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri, yaitu : 2 cc contoh atau sampel ditambahkan dengan reagen biuret lalu dipanaskan pada suhu 37°C selama 10 menit. Dinginkan kemudian diukur dengan spektronik 20 dan catat absorbansinya. Prosedur analisis kadar albumin dapat dilihat pada Lampiran 1.

Rumus perhitungan kadar albumin dapat menggunakan rumus :

$$(\%) \text{ Kadar Albumin} = \frac{\text{ppm} \times 25}{\text{berat sampel} \times 10^6} \times 100\%$$

3.5.2 Kadar Protein Metode Spektrofotometri (Pramitasari *et al.*, 2013)

Pembuatan Reagen Biuret Reagen Biuret dibuat dengan melarutkan 0,15 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + 0,6 NaKTartrat dalam labu ukur 50 ml. Kemudian larutan dimasukkan dalam labu ukur 100 mL, selanjutnya ditambah 30 mL NaOH 10% dan digenapkan aquades. Kurva standar dibuat dengan, disiapkan larutan protein (BSA) dengan konsentrasi 10 mg/ml. Larutan protein tersebut disiapkan dengan cara meningkatkan konsentrasinya yaitu 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 mg/ml dalam 0,5 mL. Kemudian diaduk hingga semua larutan tercampur, lalu ditambahkan ke dalam tabung reaksi 2 mL reagen biuret dan dihomogenisasi lalu diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Diukur absorban masing-masing larutan dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm.

Pengukuran Sampel

Pengukuran sampel dilakukan dengan cara menimbang 1 g, kemudian ditambah 1 ml NaOH 1 M dan 9 ml aquades. Kemudian dipanaskan dalam *waterbath* selama 10 menit. Kemudian diambil 1 ml supernatan dan ditambah 4 ml reagen biuret. Setelah itu campuran dihomogenisasi dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Kemudian absorbansi sampel diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm. Prosedur pengujian protein dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.5.3 Analisis Profil Asam amino (Hermiastuti, 2013)

Analisis asam amino dapat dilakukan dengan berbagai peralatan, antara lain: *Amino Acid Analyzer*, *Thin Layer Chromatography* (TLC), *Ion Exchange Chromatography*, *Liquid Chromatography-Mass Spectrofotometer* (LC-MS), dan sebagainya. Akhir-akhir ini analisis asam amino lebih sering menggunakan kromatografi cair dengan kinerja tinggi atau yang lebih dikenal dengan istilah *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Kromatografi cair merupakan teknik pemisahan yang cocok digunakan untuk memisahkan senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan, seperti asam amino, peptida dan protein. *Mass spectrofotometer* (MS) merupakan alat yang dapat memberikan informasi mengenai berat molekul dan struktur senyawa organik. Selain itu, alat ini juga dapat mengidentifikasi dan menentukan komponen suatu senyawa. Perpaduan HPLC dengan MS (LC-MS) memiliki selektivitas yang tinggi, sehingga identifikasi dan kuantifikasi dapat dilakukan dengan jumlah sampel yang sedikit dan tahapan preparasi yang minimal. Hal ini membuat LC-MS semakin populer untuk mendeteksi berbagai senyawa.

LC-MS digunakan fasa gerak atau pelarut untuk membawa sampel melalui kolom yang berisi padatan pendukung yang dilapisi cairan sebagai fasa diam. Selanjutnya analit dipartisikan di antara fasa gerak dan fasa diam tersebut,

sehinggajadi pemisahan karena adanya perbedaan koefisien partisi. Sampel yang telah dipisahkan dalam kolom diuapkan pada suhu tinggi, kemudian diionisasi. Ion yang terbentuk difragmentasi sesuai dengan rasio massa/muatan (m/z), yang selanjutnya dideteksi secara elektrik menghasilkan spektra massa. Spektra massa merupakan rangkaian puncak-puncak yang berbeda-beda tingginya. Prosedur pengujian profil asam amino dapat dilihat pada Lampiran 3.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

Hasil penelitian yang didapat meliputi hasil penelitian pendahuluan serta penelitian utama.

4.1.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan untuk memperoleh range waktu perebusan terbaik. Waktu perebusan yang digunakan yaitu, 20 menit (A), 30 menit (B), 40 menit (C), 50 menit (D) dengan suhu perebusan 60°C. Ekstrak yang dihasilkan selanjutnya diuji albumin. Hasil uji albumin penelitian pendahuluan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Albumin Penelitian Pendahuluan

Perlakuan	Albumin (%)
20 menit	0,51
30 menit	0,45
40 menit	0,45
50 menit	0,26

Berdasarkan hasil pengujian kadar albumin pada Tabel, perlakuan waktu perebusan 20 menit menghasilkan kadar albumin paling tinggi, yakni 0,51 %, sedangkan kadar albumin terendah didapatkan pada perlakuan waktu perebusan 50 menit, yakni 0,26 %. Hal ini menjadi dasar digunakannya waktu perebusan 5 menit, 20 menit, 35 menit, 50 menit pada penelitian utama.

4.1.2 Penelitian Utama

Penelitian utama berfungsi untuk menentukan waktu perebusan terbaik. Penelitian ini didasarkan pada penelitian pendahuluan. Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan pada Tabel 6. didapatkan waktu perebusan 20 menit

memiliki kandungan albumin tertinggi, sehingga pada penelitian utama ditentukan waktu perebusan 5 menit, 20 menit, 35 menit, 50 menit.

Hasil penelitian ekstrak ikan gabus dengan waktu perebusan yang berbeda didapatkan berdasarkan pengujian yang terdiri dari kadar albumin, protein dan rendemen.

Data hasil rata-rata penelitian utama ekstrak ikan gabus dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Data Hasil Rata-Rata Penelitian Utama Ekstrak Ikan Gabus

Perlakuan Perebusan	Parameter (%)			
	Kadar Albumin	Kadar Protein	Rendemen	Kadar Air
5 menit	9,87±0,5 ^c	22,53±0,6 ^c	75,60±0,7 ^d	53,72±0,8 ^d
20 menit	8,36±0,4 ^b	18,63±0,7 ^b	76,70±0,9 ^c	51,18±0,2 ^c
35 menit	6,91±0,2 ^a	14,75±0,4 ^a	78,86±0,5 ^b	45,71±0,9 ^b
50 menit	6,21±0,4 ^a	13,39±0,08 ^a	80,32±0,07 ^a	42,30±0,8 ^a

4.2 Kadar Albumin

Albumin merupakan protein utama dalam plasma manusia dan menyusun sekitar 60 % dari total protein plasma. Hati menghasilkan 12 gram albumin perhari yang merupakan 25 % dari total sintesis protein hepatik dan separuh dari seluruh protein yang disekresikan organ. Sebagai sumber bahan makanan yang mengandung protein dan albumin, ikan Gabus diperlukan dalam jumlah yang banyak dan kebutuhan akan filtrat albumin di rumah sakit yang semakin meningkat. Untuk memenuhi kebutuhan tersebut, maka diperlukan jumlah ikan gabus yang banyak dengan berbagai ukuran berat yang bervariasi (Kusumaningrum *et al*, 2014).

Albumin ikan gabus mengandung 6,2 % albumin dan 0,001741 % zn dengan susunan asam amino esensial treonin yaitu, valin, metionin, isoleusin, leucin, fenilalanin, lisin, histidin dan arginin, serta asam amino non esensial asam aspartat, serin, asam glutamat, glisin, alanin, dari cyteine, tirosin,

hidroksilisin, amonia, hidroksiprolin dan prolin. Albumin dari ikan gabus dapat mempercepat penyembuhan luka operasi sehingga pasien disarankan untuk dikonsumsi dan luka setelah melahirkan. Hal ini karena dari ikan gabus yang mengandung protein tinggi albumin, sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka. Di dalam daging ikan gabus yang terkandung mineral yang terkait erat dengan proses penyembuhan luka, zn 1,7412mg tahun yaitu dari 100g daging ikan (Suprayitno, 2014).

Ikan gabus merupakan salah satu pahan pangan sumber albumin yang potensial. Sebaran ikan gabus di Indonesia yaitu mulai wilayah Kalimantan, Jawa hingga papua. Aplikasi ekstrak ikan gabus secara nyata dapat meningkatkan kadar albumin serum pada kasus hipoalbumin dan mempercepat proses penyembuhan luka pasca operasi (Santoso, *et al.*, 2008).

Hasil uji kadar albumin tertinggi pada perlakuan A(5 menit) dengan rata-rata kadar albumin 9,87%, sedangkan rata-rata albumin terendah didapatkan pada perlakuan D (50 menit) dengan rata-rata kadar albumin 6,21%. Berdasarkan hasil ANOVA (*Analysis of Variant*) atau analisis sidik ragam terhadap kadar albumin diperoleh $F_{hitung} > F_{tabel}$ 5% (Lampiran 5). Hal inimenunjukkan bahwa waktu perebusan yang berbeda memberikan pengaruh yang nyataterhadap kadar albumin sehingga dilanjutkan dengan uji BNT. Hasil rata-rata kadar albumin ekstrak ikan gabus dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Rata-Rata Kadar Albumin Ekstrak Ikan Gabus

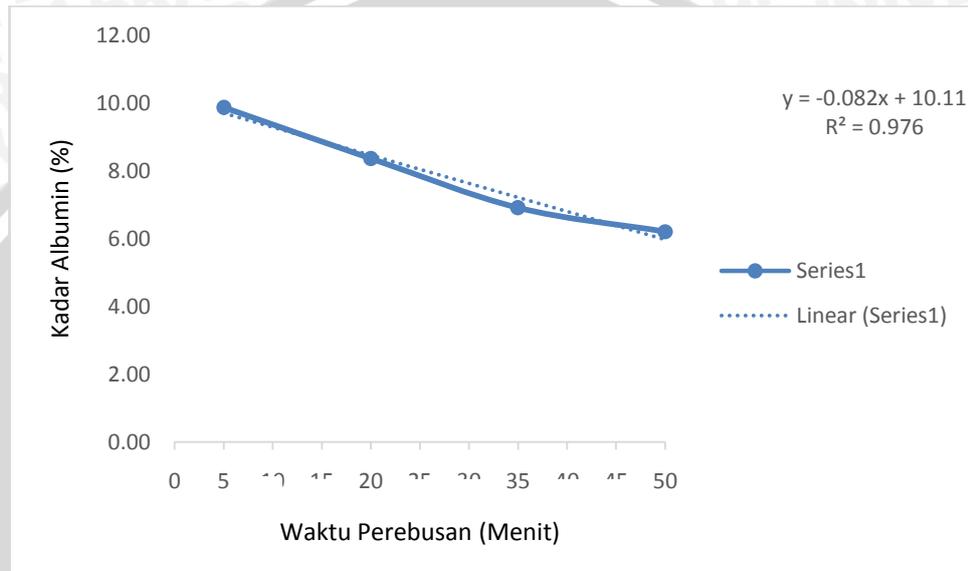
Perlakuan Perebusan	Kadar Albumin (%)
	Rata-rata
5 menit	9,87±0,5 ^c
20 menit	8,36±0,4 ^b
35 menit	6,91±0,2 ^a
50 menit	6,21±0,4 ^a

Keterangan :

Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata

Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata

Berdasarkan uji lanjut Beda Nyata Terkecil yang terdapat pada Tabel 7. dapat diketahui bahwa perlakuan A, B, C, dan D terdapat perbedaan yang nyata. Hasil analisis menunjukkan terjadinya penurunan kadar albumin seiring dengan lamanya waktu perebusan. Grafik regresi antara perbedaan perlakuan waktu perebusan terhadap kadar albumin dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Grafik Regresi Antara Perbedaan Perlakuan Waktu Perebusan Terhadap Kadar Albumin

Berdasarkan Gambar 5. Dapat dilihat persamaan regresi antara perbedaan perlakuan waktu perebusan terhadap kadar albumin yaitu $Y = -0,0829x + 10,118$ dengan $R^2 = 0,9764$. Persamaan ini menunjukkan perlakuan waktu pemanasan yang berbeda berpengaruh terhadap nilai kadar albumin dengan nilai koefisiensi determinasi 0,9764 yang artinya 97,6% penurunan kadar albumin dipengaruhi oleh waktu perebusan.

Pada perlakuan perebusan 5 menit sampai 50 menit terjadi penurunan kadar albumin. Penurunan ini diduga disebabkan adanya lama waktu pemanasan merusak struktur kimia dari albumin. Menurut Poedjadi dan Titin (2006), albumin termasuk dalam golongan protein globular yang umumnya berbentuk bulat atau elips dan terdiri dari rantai polipeptida yang berlipat. Protein

globular pada umumnya mempunyai sifat dapat larut dalam air, dalam larutan asam atau basa dan dalam etanol. Ditambahkan oleh de Man (1997), albumin juga mempunyai sifat dapat ikoagulasi dengan pemanasan. Rentang suhu pada saat terjadi denaturasi dan koagulasi sebagian besar protein sekitar 55°C-75°C. Jika protein globuler mengalami denaturasi tidak ada ikatan kovalen pada rantai polipeptida yang rusak namun pada aktifitas biologi hampir semua protein rusak sehingga menyebabkan daya kelarutannya berkurang.

Peningkatan lama pemanasan dapat menurunkan kadar albumin ekstrak ikan gabus. Hal ini disebabkan pada lama pemanasan yang cepat albumin belum terdenaturasi dengan kuat sehingga kelarutannya masih terjaga baik sedangkan pada lama pemanasan yang lama albumin terdenaturasi kuat yang dapat menurunkan kelarutan albumin. Selain itu penurunan kadar albumin seiring dengan meningkatnya lama pemanasan berkaitan dengan protein. Kadar protein menurun dengan semakin lama pemanasan sehingga mengakibatkan turunnya albumin. Penurunan ini disebabkan adanya denaturasi protein yang bersifat reversible dan ireversibel karena pemanasan (Fessenden, 1992).

Hasil analisis kadar albumin ekstrak ikan gabus menunjukkan, bahwa semakin lama waktu perebusan 5 sampai 50 menit, menghasilkan kadar albumin semakin rendah. Folawiyo dan Apenten (1996), menyatakan bahwa pemanasan daging suhu 90°C, selama 20 menit menyebabkan struktur albumin *irreversible*, hal itu ditandai dengan meningkatnya permukaan protein non polar, dan perubahan sifat fungsionalnya.

4.3 Kadar Protein

Protein adalah sumber asam amino yang mengandung unsure C, H, O dan N yang tidak dimiliki oleh lemak atau karbohidrat. Molekul protein mengandung pula fosfor, belerang dan ada jenis protein yang mengandung

unsure logam seperti besi dan tembaga (Winarno, 2004). Ditambahkan oleh Sediaoetama(2012),protein merupakan zat gizi yang sangat penting, karena yang paling erat hubungannya dengan proses kehidupan. Semua hayat hidup sel berhubungan dengan zat gizi protein.

Kadar protein pada pangan dapat dianalisis menggunakan metode spektrofotometer. Menurut Saputra (2009), spektrofotometer merupakan suatu metode analisis yang didasarkan pada pengukuran serapan sinar monokromatis oleh suatu lajur larutan berwarna pada panjang gelombang spesifik dengan menggunakan monokromator prisma atau kisi difraksi dengan detektor *fototube*.

Hasil uji kadar protein tertinggi pada perlakuan A (5 menit) dengan rata-rata kadar protein 22,53%, sedangkan rata-rata protein terendah didapatkan pada perlakuan D (50 menit) dengan rata-rata kadar protein 13,39%.Sedangkan hasil ANOVA (*Analysis of Variant*) atau analisis sidik ragam menunjukkan bahwa waktu perebusan yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata pada parameter kadar protein. Hal ini dapat dilihat dari nilai F hitung > F tabel 5% (Lampiran 6), selanjutnya untuk mengetahui perbedaan dari masing-masing perlakuan dilanjutkan dengan uji BNT. Hasil rata – rata kadar protein ekstrak ikan gabus dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Rata-Rata Kadar Protein Ekstrak Ikan Gabus

Perlakuan perebusan	Kadar Protein (%)
	Rata-rata
5 menit	22,53±0,6 ^c
20 menit	18,63±0,7 ^b
35 menit	14,75±0,4 ^a
50 menit	13,39±0,8 ^a

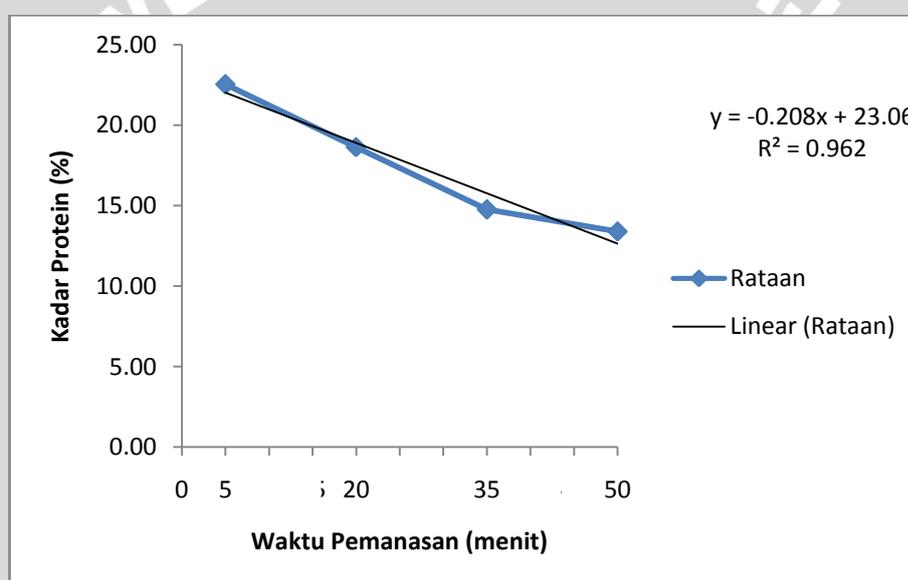
Keterangan :

Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata

Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata

Berdasarkan uji lanjut Beda Nyata Terkecil yang terdapat pada Tabel 8. dapat diketahui bahwa perlakuan A terdapat perbedaan yang nyata dengan perlakuan B. perlakuan C tidak terdapat perbedaan yang nyata dengan perlakuan D, tetapi perlakuan A dan B terdapat perbedaan yang nyata dengan perlakuan C dan D.

Hasil analisis menunjukkan terjadinya penurunan kadar protein ekstrak albumin ikan gabus seiring dengan lamanya waktu perebusan. Grafik regresi antara perbedaan perlakuan waktu perebusan terhadap kadar protein dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Grafik Regresi Antara Perbedaan Perlakuan Waktu Perebusan Terhadap Kadar Protein

Berdasarkan Gambar 6. dapat dilihat persamaan regresi antara perbedaan perlakuan waktu perebusan terhadap kadar protein yaitu $Y = -0,2085x + 23,061$ dengan $R^2 = 0,9622$. Persamaan ini menunjukkan perlakuan waktu perebusan yang berbeda berpengaruh terhadap kadar protein dengan nilai koefisien determinasi 0.9622 yang artinya 96% penurunan kadar protein dipengaruhi oleh perbedaan waktu pemanasan.

Pada pelakuan waktu perebusan 5 menit sampai 50 menit terjadi penurunan kadar protein. Penurunan ini diduga disebabkan oleh denaturasi protein yang disebabkan oleh lama waktu perebusan. Menurut Sethiyarni (2008), penurunan kadar protein diakibatkan adanya flokuasi yaitu penggumpalan dari partikel yang tidak stabil menjadi partikel yang diendapkan. Flokuasi merupakan tahap awal denaturasi. Denaturasi merupakan suatu perubahan atau modifikasi terhadap struktur sekunder, tersier dan kuaterner pada protein tanpa terjadinya pemecahan ikatan kovalen.

Menurut Shofa (2012), protein mempunyai sifat-sifat yaitu (1) Ionisasi yaitu apabila protein larut dai dalam air akan membentuk ion positif dan ion negatif. (2) denaturasi yaitu perubahan konformasi serta posisi protein sehingga aktivitasnya berkurang atau kemampuannya menunjang aktivitas organ tertentu dalam tubuh hilang sehingga tubuh mengalami keracunan. (3) Viskositas yaitu tahanan yang timbul oleh adanya gesekan antara molekul di dalam zat cair yang mengalir. (4) Kristalisasi yaitu proses yang sering dilakukan dengan jalan penambahan garam ammonium sulfat atau NaCl pada larutan dengan pengaturan pH pada titik isoelektriknya. (5) Sistem koloid yaitu sistem yang heterogen terdiri atas dua fase yaitu partikel kecil yang terdispersi dari medium pendispersi atau pelarutnya.

Pemanasan menyebabkan protein terdenaturasi. Pada saat pemanasan, panas akan menembus daging dan menurunkan alat fungsional protein. Pemanasan dapat merusak asam amino dimana ketahanan protein oleh panas sangat terkait dengan asma amino penyusun protein tersebut sehingga hal ini yang menyebabkan kadar protein menurun dengan semakin lamanya waktu pemanasan.

4.4 Rendemen

Nilai rendemen adalah presentase perbandingan antara berat akhir produk terhadap berat awal produk. Menurut Putri (2011), rendemen merupakan presentase perbandingan antara berat bagian bahan yang dapat dimanfaatkan dengan berat total bahan. Nilai rendemen ini berguna untuk mengetahui nilai ekonomis suatu produk atau bahan. Apabila nilai rendemen suatu produk atau bahan semakin tinggi, maka nilai ekonomisnya juga semakin tinggi sehingga pemanfaatannya dapat menjadi lebih efektif.

Hasil rendemen tertinggi pada perlakuan D(50 menit) dengan rata-rata rendemen 80,32%, sedangkan rata-rata rendemen terendah didapatkan pada perlakuan A (5 menit) dengan rata-rata rendemen 75,60%. Berdasarkan hasil ANOVA (*Analysis of Variant*) atau analisis sidik ragam terhadap kadar albumin diperoleh F hitung $>$ F tabel 5%(Lampiran 4). Hal ini menunjukkan bahwa waktu perebusan yang berbeda memberikan pengaruh yang nyata terhadap rendemen sehingga dilanjutkan dengan uji BNT. Hasil rendemen ekstrak albumin ikan gabus dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil Rendemen Ekstrak Ikan Gabus

Perlakuan perebusan	Rendemen (%)
	Rata-rata
5 menit	75,60±0,7 ^d
20 menit	76,70±0,9 ^c
35 menit	78,86±0,4 ^b
50 menit	80,32±0,07 ^a

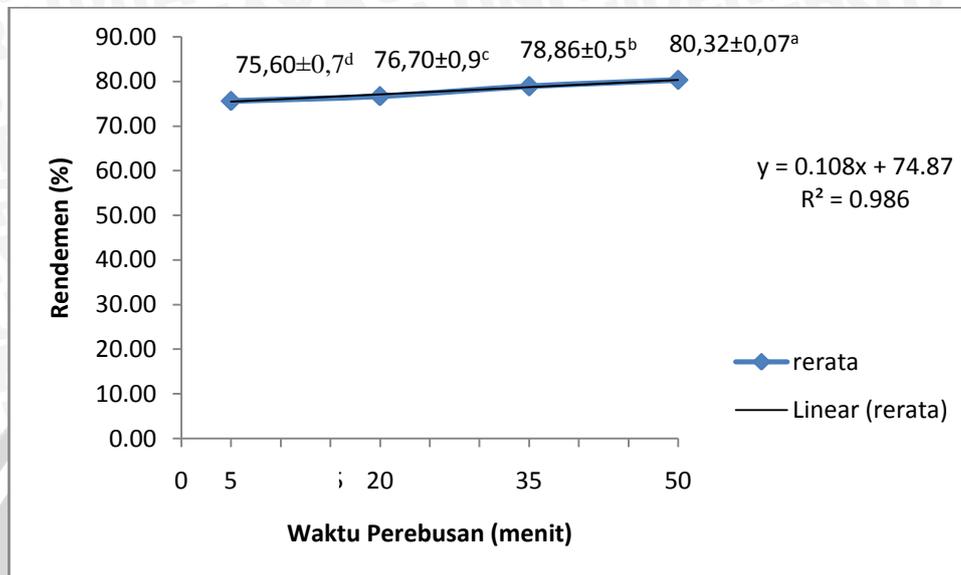
Keterangan :

Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata

Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata

Berdasarkan uji lanjut Beda Nyata Terkecil yang terdapat pada Tabel 9. dapat diketahui bahwa perlakuan A, B, C, dan D terdapat perbedaan yang nyata.

Hasil analisis menunjukkan terjadinya kenaikan rendemen seiring dengan lamanya waktu perebusan. Grafik regresi antara perbedaan perlakuan waktu perebusan terhadap rendemen dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Regresi Antara Perbedaan Perlakuan Waktu Perebusan Terhadap Rendemen

Berdasarkan Gambar 7. Dapat dilihat persamaan regresi antara perbedaan perlakuan waktu perebusan terhadap kadar albumin yaitu $Y = 0,10880x + 0,9863$ dengan $R^2 = 0,9863$. Persamaan ini menunjukkan perlakuan waktu pemanasan yang berbeda berpengaruh terhadap nilai kadar albumin dengan nilai koefisiensi determinasi 0,9863 yang artinya 98,63% kenaikan rendemen ekstrak ikan gabus dipengaruhi oleh waktu perebusan.

Pada perlakuan perebusan 5 menit sampai 50 menit terjadi kenaikan rendemen. Hal ini diduga karena jaringan ikat daging ikan relatif porous dan membentuk agregat, sehingga kemampuan rehidrasi dari jaringan ikat menurun, pada kondisi tersebut dapat mempermudah proses pemisahan cairan saat pengepresan.

Waktu optimal untuk menghasilkan rendemen ekstrak ikan gabus tertinggi adalah 50 menit dengan nilai rendemen sebesar 80,32%. Hal tersebut diduga

pada lama perebusan 50 menit dengan suhu 60°C, telah menyebabkan kemampuan menahan air dari daging ikan menurun, ruang antar serabut urat daging ikan gabus menjadi porous, sehingga cairan sel yang terikat dalam jaringan keluar (Nugroho, 2012).

4.5 Kadar Air

Air merupakan bahan yang sangat penting bagi kehidupan manusia. Air juga merupakan komponen penting dalam bahan makanan karena air dapat mempengaruhi penampakan, tekstur, cita rasa makanan dan bahan pangan yang lain. Untuk memperpanjang daya tahan suatu bahan, sebagaimana air dalam bahan harus dihilangkan dengan beberapa cara tergantung dari beberapa jenis. Umumnya dilakukan pengeringan, baik dengan penjemuran atau dengan alat pengering buatan. Pada bahan yang berkadar air tinggi dilakukan evaporasi atau penguapan (Winarno, 2004).

Dalam bahan pangan secara umum air dapat digolongkan menjadi 2 jenis, yaitu: air bebas (*free water*) dan air terikat (*bond water*). Air bebas dapat dihilangkan dengan cara penguapan biasa (pengeringan), sedangkan air terikat sulit dihilangkan dengan cara pengeringan. Lebih dari itu untuk menghilangkan air terikat akan menyebabkan perubahan komponen atau senyawa yang mengikat, misalnya protein, lemak atau senyawa lainnya. Selain sebagai pelarut komponen lainnya, air juga berperan dalam menentukan kesegaran bahan pangan (Sasmito, 2005). Hasil analisis kadar air ekstrak ikan gabus dapat dilihat pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil Rata-Rata Kadar Air Ekstrak Ikan Gabus

Perlakuan perebusan	Kadar Air (%)
	Rata-rata
5 menit	53,72±0,8 ^d
20 menit	51,18±0,2 ^c
35 menit	45,71±0,9 ^b
50 menit	42,30±0,8 ^a

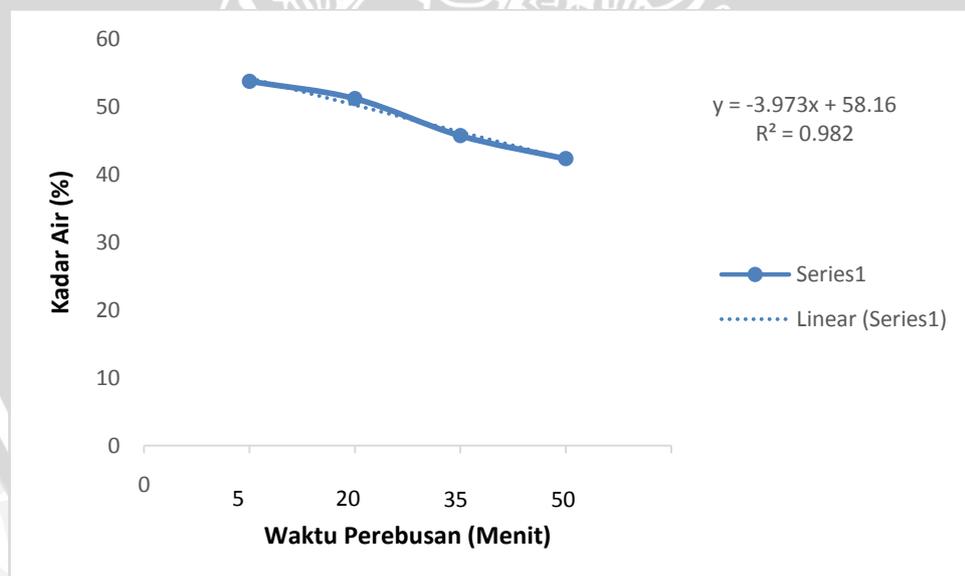
Keterangan :

Notasi yang berbeda menunjukkan terdapat perbedaan yang nyata

Notasi yang sama menunjukkan tidak terdapat perbedaan yang nyata

Berdasarkan uji lanjut Beda Nyata Terkecil yang terdapat pada Tabel 10.dapat diketahui bahwa perlakuan A, B, C, dan D terdapat perbedaan yang nyata.

Hasil analisis menunjukkan terjadinya kenaikan rendemen seiring dengan lamanya waktu perebusan. Grafik regresi antara perbedaan perlakuan waktu perebusan terhadap kadar air dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik Regresi Antara Perbedaan Perlakuan Waktu Perebusan Terhadap Kadar Air

Berdasarkan Gambar 8. dapat dilihat persamaan regresi antara perbedaan perlakuan waktu perebusan terhadap kadar air yaitu $Y = -3.9735x + 58.163$ dengan $R^2 = 0.9823$. Persamaan ini menunjukkan perlakuan waktu

perebusan yang berbeda berpengaruh terhadap kadar air dengan nilai koefisien determinasi 0.9823 yang artinya 98% penurunan kadar air dipengaruhi oleh perbedaan waktu perebusan.

Pada pelakuan waktu perebusan 5 menit sampai 50 menit terjadi penurunan kadar air. Menurut Prasetyo *et al.*, (2012), Perebusan menyebabkan cairan daging tereksudasi dan struktur tersier protein daging mengalami denaturasi, sehingga kemampuan daya mengikat air daging hilang. Hal ini yang menyebabkan kadar air dan protein terlarut mengalami penurunan. Ditambahkan oleh Sumiati (2008), Semakin besar panas yang diberikan dan semakin lama pemanasan akan mengakibatkan berkurangnya kadar air pada ikan dalam jumlah banyak.

4.6 Perlakuan Terbaik

Perlakuan terbaik ditentukan dengan menggunakan metode de Garmo. Parameter yang digunakan adalah parameter kimia yang meliputi kadar albumin, kadar protein dan rendemen. Berdasarkan hasil penentuan perlakuan terbaik de Garmo, perlakuan terbaik pada perlakuan A yaitu waktu perebusan 5 menit menunjukkan hasil terbaik dengan nilai rata-rata sebesar 1,1667, dengan kadar albumin 9,87%, kadar protein sebesar 22,53%, rendemen 75,65% dan kadar air 53,72%.

4.7 Profil Asam Amino

Asam amino adalah senyawa yang mempunyai rumus umum $^+H_3NCH - (R)COO^-$, bersifat iondan hidrofili. Asam amino saling berbeda gugus R-nya. Ada sekitar 20 macam asam amino penting yang merupakan pembentuk protein disebut asam amino hidrolisat, seperti Alanin (Ala), Arginin (Arg), Sistein (Sis), Glutamin (Gln), Asam Glutamat (Glu), Glisin (Gly), Histidin (His), Iso leusin (Leu), Lisin (Lys), Metionin (Met), Fenilalanin (Phe), Prolin (Pro), Serin (Ser), Treolin

(Thr), Triptofan (Trp), Tirosin (Tyr) dan Valin (Val). Analisis asam amino sangat diperlukan pada bahan pangan (Rediatning dan Kartini, 1987). Kadar asam amino ekstrak ikan gabus pada perlakuan A (perebusan 5 menit dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Kadar Asam Amino Ekstrak Ikan Gabus Pada Perebusan 5 Menit

No.	Jenis Asam Amino	Kadar Asam Amino (ppm)
1.	Aspartat	321,59
2.	Glutamat	374,92
3.	Serin	97,09
4.	Histidin	104,58
5.	Glisin	282,33
6.	Treonin	93,02
7.	Arginin	121,80
8.	Alanin	535,68
9.	Tirosin	94,81
10.	Metionin	38,52
11.	Valin	91,58
12.	Fenilalanin	182,83
13.	Isoleusin	95,04
14.	Leusin	231,43
15.	Lisin	453,98

Berdasarkan Tabel 11. Kadar asam amino ekstrak ikan gabus dengan waktu perebusan 5 menit dapat diketahui bahwa kandungan asam amino tertinggi pada asam amino Alanin 535,68 ppm dan Lisin 453,98 ppm. Sedangkan asam amino terendah yaitu pada asam amino Metionin 38,52 ppm. Dengan tingginya asam amino Alanin dan Lisin ekstrak ikan gabus ini dapat dikonsumsi guna meningkatkan asupan asam amino esensial dan non esensial. Menurut Winarno (2004), asam amino esensial merupakan asam amino yang harus didapatkan dari makanan sehari-hari. Jenis asam amino yang tergolong asam amino esensial adalah lisin, leusin, isoleusin, treolin, metionin, valin, fenilalanin, histidin dan arginin.

Asam amino pada ekstrak ikan gabus ini ada 15 macam. Asam amino yang tidak terdapat pada ekstrak ikan gabus ini yaitu, Sistin, Sistein, Sitrulin,

Triptofan, dan Asparagin. Hal ini dikarenakan terjadinya denaturasi akibat proses pemanasan selama proses ekstraksi. Proses ekstraksi ini menggunakan suhu 60°C. Salah satu asam amino yang tidak terdapat dalam ekstrak ikan gabus ini adalah Triptofan. Triptofan tidak stabil dalam lingkungan asam, sehingga rusak dalam hidrolisis asam. Dengan hidrolisis asam ini, treonin dan serin akan mengalami kersakan sebagian, sedangkan glutamin dan asparagin akan terhidrolisis sempurna menjadi asam glutamat dan asam aspartat dengan membesbaskan ion amonim (Linder, 1992 ; Sumarno *et al.*, 2002).



5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa:

- a) Perlakuan waktu perebusan yang berbeda dengan menggunakan waterbath (5 menit, 20 menit, 35 menit, 50 menit) dapat memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar albumin, protein dan rendemen ekstrak ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*) serta waktu perebusan yang berbeda dapat menurunkan kadar albumin dan protein namun menaikkan rendemen ekstrak ikan gabus.
- b) Ekstrak ikan gabus terbaik diperoleh pada waktu perebusan 5 menit dengan kadar albumin sebesar 9,87%, kadar protein sebesar 22,53 %, rendemen 75,65 %, kadar air 53,72 % serta terdapat 15 asam amino..

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan dalam penelitian ini adalah:

- a) Untuk membuat ekstrak ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*) dengan kadar albumin, protein dan rendemen terbaik dapat dilakukan dengan menggunakan waktu perebusan 5 menit.
- b) Perlu adanya penelitian lanjutan tentang masa simpan ekstrak ikan gabus (*Ophiocephalus striatus*) serta penelitian lanjutan mengenai pemurnian ekstrak ikan gabus.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, D. 2009. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional. Kebidanan Poltekkes Surakarta. Hal 5.
- Adyana, IK., JI. Sigit dan Nurlina. 2012. Pengaruh Pemberian Konsentrat Ikan Gabus (*Chana striata*) Terhadap Profil Darah Mencit BALB/c Model Trombositopenia. Jurnal Medika Planta **2** (1) : Hal 16.
- Afrianto, E dan E. Liviawaty. 1989. Pengawetan dan Pengolahan Ikan. Kanisius.Yogyakarta. Hal19.
- Afrianto, E dan E. Liviawaty. 2005. PakanIkan. Kanisius. Yogyakarta. Hal 30.
- Anies. 2009. Pengaruh Radiasi Elektromagnetik Ponsel dan Berbagai Peralatan Elektronik. Elex Media Komputindo. Jakarta. Hal 126.
- Ardiansari, YM. 2012. PengaruhJenisGadung Dan Lama PerebusanTerhadap Kadar SianidaGadung. UniversitasJember. Jember.Hal20.
- Asfar, M., AB Tawall, N. Nurlallah and M. Mahendradatla. 2014. Extraction Of Albumin Of Snakehead Fish (*Channa striatus*) In Producing The Fish Protein Concentrate (FPC). International Journal Of Scientific and Technology Research **3** (4) : Page83-88.
- Asrullah, M., A.Mathar., Citrakesumasar., N. Jafar Dan S. Fatimah. 2012. Denaturasi Dan Daya Cerna Protein Pada Proses Pengolahan Lawa Bale (MakananTradisional Sulawesi Selatan). Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin. Makassar. Artikel Penelitian. Media Gizi Masyarakat Indonesia **1** (2) : Hal 85.
- Aulanni'am, 2005. Protein dan Analisanya. Mentari Group. Malang. Hal 57.
- Chang, R.2003. Kimia Dasar.Edisi 3 Jilid 2.Erlangga.Hal299.
- De Man, JM. 1997. Kimia Makanan Edisikedua. ITB. Hal 109-115.
- Devi, N. 2010. Nutrition and Food. PT Kompas Media Nusantara. Jakarta. Hal 37-38.
- Fessenden, RJ. 1992. Kimia Organik. Edisi Ketiga. Erlangga. Jakarta. Hal 147.
- Foegeding, EA.,CE. Allen and WR. Dayton. 1986. Effect of Heating Rate on Thermally Formed Myosin, Fibrinogen and Albumin Gels. *Journal Food Science***51** (1) : page 104.
- Folawiyo, YL. And ORK. Apenten. 1996. The Effect of Heat Acid Treatment on the Structure of Rapeseed Albumin (Napin). J. Food Sci. Page 237-239.

- Hermiastuti, M. 2013. Analisis Kadar Protein dan Identifikasi Asam Amino pada Ikan Patin (*Pangasius djambal*). Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Jember. Hal16.
- Hidayat, AA. 2008. Pengantar Ilmu Kesehatan Anak Untuk Pendidikan Kebidanan. Salemba Medika. Jakarta. Hal 100.
- Hidayat, T. 2011. Profil Asam Amino Kerang Bulu (*Anadara antiquata*) Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal 67.
- Horne, MM. dan PL. Swearigen. 2001. Keseimbangan Cairan Elektrolit dan Asam Basa. Kedokteran BOC. Jakarta. Hal 46.
- Jaedun, A. 2011. Metodologi Penelitian Eksperimen. Universitas Negeri Yogyakarta. Hal 5-6.
- Jauhari, A. 2013. Dasar-Dasar Ilmu Gizi. Jaya Ilmu. Yogyakarta. Hal 75.
- Kusumaningrum, G., M. Alamsjah Dan E. Masithah. Uji Kadar Albumin Dan Pertumbuhan Ikan Gabus (*Channa Striata*) Dengan Kadar Protein Pakan Komersial Yang Berbeda. Fakultas Perikanan Dan Kelautan Universitas Airlangga. Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan **6** (1) : Hal 25.
- Linder M. C. 1992. Biokimia, Nutrisi dan Metabolisme. Diterjemahkan oleh Aminuddin dan Amwila A,Y). Universitas Indonesia Perss. Jakarta. Hal 89-115.
- Liviawaty, E. Dan E. Afrianto. 2014. Penentuan Waktu Rigor Mortis Ikan Nila Merah (*Oreochromis niloticus*). Berdasarkan Pola Perubahan Derajat Keasaman. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Universitas Padjajaran. Jurnal Akuatika **5** (1) : Hal 42.
- Manurung, D. M. 2009. Komposisi Kimia, Asam Lemak Dan Kolesterol Udang Ronggeng (*Harpisquilla raphidea*) Akibat Perebusan. Skripsi. Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Hal 43.
- Marks, DB., AD. Marks dan CM. Smith. 2000. Biokimia Kedokteran Dasar. Kedokteran EGC. Hal 34.
- Muchtadi, D. 2009. Pengantar Ilmu Gizi. Alfabeta. Bandung. Hal 33.
- Mukti, A. 2009. Efek Bawang Putih (*Allium Sativum*) Dan Cabe Jawa (*Piper retrofractum Vahl.*) Terhadap Kadar Albumin Pada Tikus Yang Diberi Suplemen Kuning Telur. Fakultas Kedokteran. Universitas Diponegoro. Semarang. Hal 6.
- Mulyadi, AF., M. Effendi dan JM. Maligan. 2011. Modul Teknologi Pengolahan Ikan Gabus. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya. Malang. Hal 3.

- Murray, RK., DK. Granner dan VW. Rodwell. 2009. Biokimia Harper Edisi 27. Alih bahasa: Brahm U. Kedokteran EGC. Jakarta. Hal 608-609.
- Murwani, R. 2010. Modul Perkuliahan Mata Kuliah Biokimia. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro. Semarang. Hal 2.
- Mustar.2013. Studi Pembuatan Abon Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*) Sebagai Makanan Suplemen. Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin. Makassar. Hal 1.
- Novia, H. Yuliyati dan R. Yuliandhika. 2009. Pemanfaatan Biji Karet Sebagai Semi Drying Oil Dengan Ekstraksi Menggunakan Pelarut N-Hexana. Jurnal Teknik Kimia **4** (16) : hal 4.
- Nugroho, M. 2012. Pengaruh Suhu dan Lama Ekstraksi Secara Pengukusan Terhadap Rendemen dan Kadar Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*). Jurnal Teknologi Pangan **3** (1) : Hal 68-69.
- Nugroho, M. 2013. Uji Biologis Ekstrak Kasar Dan Isolat Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*) Terhadap Berat Badan Dan Kadar Serum Albumin Tikus Mencit. Jurnal Teknologi Pangan **5** (1) :Hal 13-17.
- Palupi, NS. FR. Zakaria dan E. Prangdimurti. 2007. Pengaruh Pengolahan terhadap Nilai Gizi Pangan. Module-Learning ENBP, Departemen Ilmu & Teknologi Pangan. Institut Pertanian Bogor. Hal 2.
- Parman, S. 2007. Kandungan Protein dan Abu Tanaman Alfalfa (*Medica gosativa* L.) setelah Pemupukan Biorisa. Jurusan Biologi FMIPA Univeritas Diponegoro. **9** (2) : Hal 43.
- Poedjiadi, AdanFM. Titin. 2006. Dasar-Dasar Biokimia. UI Press: Jakarta. Hal 109-115.
- Pramitasari, A., L. Dewi dan S. Sastrodihardjo. 2013. Pengaruh Perbandingan Kacang Koro Pedang (*Canavalia ensiformis* L. DC) dan Kedelai (*Glycine max* L) Pada Tempe Ditinjau Dari Kadar Protein Terlarut dan Uji Organoleptik. Proseding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta. Hal 2.
- Prasetyo, MN., N. Sari, dan CS. Budiwati. 2012. Pembuatan Kecap dari Ikan Gabus secara Hidrolisis Enzimatis menggunakan Sari Nanas. Jurnal Teknologi Kimia dan Industri **1** (1) : Hal 329-330.
- Putri, K. 2011. Pemanfaatan Rumput Laut Coklat (*Sargassum* sp.) Sebagai Serbuk Minuman Pelangsing Tubuh. Skripsi. Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor. Bogor. Hal 15.
- Rahmani, F. 2015. Produk Perikanan Bernilai Tambah Pembuatan Albumin dari Ikan Gabus. Dinas Perikanan dan Kelautan. Kalimantan Selatan. Hal 5.

- Rediatning, W dan N. Kartini. 1987. Analisis Asam amino dengan kromatografi Cairan Kinerja Tinggi Secara Derivatisasi prakolom dan pascakolom. Proceedings ITB 20 (1) : Hal 42.
- Rhoades, R and R. Pflanzler, 1996. Human Physiology Third Edition. Saunders College Publishing. Page 515.
- Saanin, H. 1986. Taksonomi dan Kunci Identifikasi Ikan. Binacipta Anggota IKAPI. Bogor. Hal 251.
- Sani, R. N., F. C. Nisa., R. D. Andriani., J. M. Maligan. 2014. Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*. Jurnal Pangan dan Agroindustri 2 (2): Hal 124.
- Santoso, AH., M. Astawan dan T. Wresdiyati. 2008. Potensi Ekstrak Ikan Gabus (*Channa striata*) Sebagai Stabilisator Albumin SGOT dan SGPT Tikus yang Diinduksi dengan Parasetamol Dosis Toksik. *Jurnal Suplement* 6 (3) : Hal 30.
- Saputra, YE. 2009. Spektrofotometri. <http://www.chem-is-try.com>. Diakses 12 Agustus 2015, pukul 15.00 WIB. Hal 1.
- Sasmito, B. S. 2005. Dasar-dasar Pengawetan Bahan Pangan. Universitas Brawijaya. Malang. Hal 93.
- Sasongko, WT., LM. Yusiati, Z. Bachruddin dan mugiono. 2010. Optimalisasi Pengikatan Tanin Daun Nangka Dengan Protein Bovine Serum Albumin . Buletin peternakan 34 (3) : Hal 154-158.
- Sastrohamidjojo, H. 2005. Kimia Organik: Stereokimia, Karbohidrat, Lemak, dan Protein. GadjahMada University Press. Yogyakarta. Hal 118.
- Sediaoetama, AD. 2012. Ilmu Gizi. Jilid 1. Dian Rakyat. Jakarta. Hal 53.
- Sethiyarini. 2008. Pengaruh Suhu dan lama Pemanasan Dengan Menggunakan Ekstraktor Vakum Terhadap Kualitas dan Rendemen Crude Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*) Dari Perairan Madura. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. Hal 68.
- Shofa. 2012. Sifat-Sifat Protein. Nawa-shofa.blogspot.co.id. diakses tanggal 12 Agustus 2015, pukul 15:50. Hal 1.
- Subagyo, WC. 2014. Karakteristik Protein Daging Sapi Bali dan Waktu setelah direbus. Thesis. Program Pascasarjana. Universitas Udayana. Hal 18.
- Sugiono, 2002. Pengaruh Suhu dan Lama Pengukusan Terhadap Kadar Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*). Skripsi. Fakultas Perikanan Universitas Brawijaya Malang. Hal 65.

- Sulistiyati, TD. 2011. Pengaruh Suhu dan Lama Pemanasan dengan Menggunakan Ekstraktor Vakum terhadap *Crude Albumin Ikan Gabus (Ophiocephalus striatus)*. Jurnal Protein **15**(2) : Hal 174.
- Sulthoniyah, S., TD. Sulistiyati Dan E. Suprayitno. 2013. Pengaruh Suhu Pengukusan Terhadap Kandungan Gizi Dan Organoleptik Abon Ikan Gabus (*Ophiocephalus striatus*). Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan. Thpi Student Journal **1** (1): Hal 33.
- Sumardjo, D. 2009. Pengantar Kimia. Kedokteran EGC. Hal 161-172.
- Sumarno. 2012. Albumin Ikan Gabus (*Snakehead fish*) dan Kesehatan. Jurnal Ilmiah Agri Bios **10** (1) : Hal 60-63.
- Sumarno, Noegrohati S, Narsito dan Falah. 2002. Estimasi kadar protein dan Bahan Pangan Melalui Analisis Nitrogen Total dan Analisis Asam Amino. Majalah Farmasi Indonesia. **13**(1): Hal 34-43.
- Sumiati. T. 2008. Pengaruh Pengolahan terhadap Mutu Cerna Protein Ikan Mujair (*Tilapia mossambica*). Program Studi Gizi Masyarakat dan Sumberdaya Keluarga. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Hal 31-32.
- Sundarsih dan Y. Kurniaty. 2009. Pengaruh Waktu dan Suhu Perendaman Kedelai Pada Tingkat Kesempurnaan Ekstraksi Protein Kedelai Dalam Proses Pembuatan Tahu. Makalah Penelitian. Universitas Diponegoro. Semarang. Hal 7.
- Suprayitno, E. 2003. Penyembuhan Luka Dengan Ikan Gabus. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Universitas Brawijaya. Malang. Hal 3-5.
- Suprayitno, 2006. Potensi serum Albumin dari Ikan Gabus. Kompas. Cybermedia. Hal 1.
- Suprayitno, E. 2014. Profile albumin fish cork (*Ophicephalusstriatus*) of different ecosystems. *International Journal of Current Research and Academic Review*. ISSN: 2347-3215. **2** (12) : Page 202.
- Tamsuri, A. 2009. Klien Gangguan Keseimbangan Cairan dan Elektrolit. Jakarta. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hal9.
- Winarno, FG. 2004. Kimia Pangan dan Gizi. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. Hal 50-62.
- Yuniarifin, H., V. P. Bintoro, dan A. Suwarastuti. 2006. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Asam Fosfat Pada Proses Perendaman Tulang Sapi Terhadap Rendemen, Kadar Abu Dan Viskositas Gelatin. Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro, Semarang . J.Indon.Trop. Anim.Agric **31**(1) : Hal 58.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Prosedur Analisis Kadar Albumin (Aulanni'am, 2005)

1. 2 ml sampel ditambah dengan 8 ml reagen biuret, kemudian dikocok.
2. Dipanaskan pada suhu 37°C selama 10 menit
3. Dinginkan kemudian ukur dengan spektrometri dengan panjang gelombang 550 nm dan catat absorbansinya
4. Hitung hasilnya dengan rumus :

$$\text{ppm} = \frac{\text{absorbansi sampel}}{0,0000526 A}$$

$$\% = \frac{\text{ppm} \times 25}{\text{berat sampel} \times 10^6} \times 100\%$$

Pembuatan reagen biuret :

1. 0,1500 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ + 25 ml aquades
2. 0,6000 g Na K-tartat + 25 ml aquades

Reagen 1 dan 2 dicampur ditambah dengan 30 ml NaOH 10%, diaduk kemudian diencerkan menjadi 100 ml larutan. Kocok sampai homogen

Lampiran 2. Prosedur Analisis Kadar Protein Metode Spektrofotometri
(Prमितasari *et al.*, 2013)

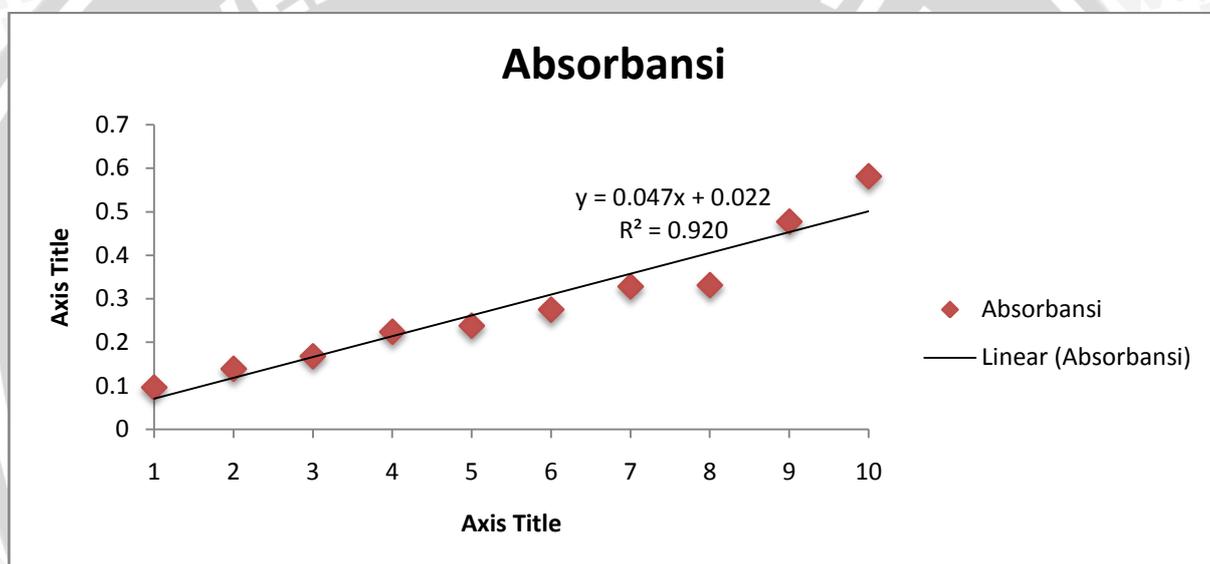
1. Pengukuran sampel dilakukan dengan cara mengambil 1 ml sampel.
2. Ditambah 1 ml NaOH 1 M dan 9 ml aquades.
3. Dipanaskan dalam *waterbath* selama 10 menit.
4. Diambil 1 ml supernatan dan ditambah 4 ml reagen biuret.
5. Campuran dihomogenisasi dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar.
6. Aborbansi sampel diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 550 nm.
7. Hitung hasilnya dengan rumus :

$$Y = 0,0478x + 0,0225 \quad r^2 = 0,9205$$



Lampiran 3. Kurva Standart Analisa Protein

Konsentrasi	Absorbansi
1	0,096
2	0,139
3	0,168
4	0,224
5	0,238
6	0,275
7	0,328
8	0,331
9	0,477
10	0,581



Lampiran 4. Prosedur Analisis Kadar Air

Penentuan kadar air dengan menggunakan metode pengeringan dalam oven. Prinsipnya mengeluarkan air dalam bahan dengan jalan pemanasan kemudian menimbng bahan sampai berat konstan yang berarti semua air bebas sudah diuapkan. Adapun prosedur dari analisis kadar air adalah sebagai berikut:

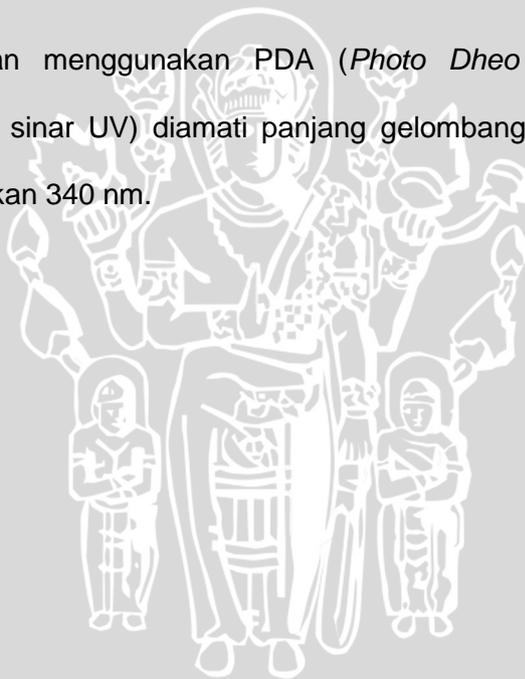
1. Botol timbang yang bersih dengan tutup setengah terbuka dimasukkan kedalam oven dengan suhu 105°C selama 24 jam.
2. Botol timbang dikeluarkan dari dalam oven dan segera ditutup kemudian didinginkan dalam desikator selama 15 menit.
3. Ditimbang botol timbang dalam keadaan kosong.
4. Ditimbang sampel yang telah berupa serbuk atau bahan yang telah dihaluskan sebanyak 1-2 gram dalam botol timbang yang telah diketahui beratnya.
5. Dikeringkan dalam oven pada suhu 100-105°C selama 3-5 jam tergantung bahannya. Kemudian dinginkan dalam desikator dan ditimbang, perlakuan ini diulang sampai tercapai berat konstan (selisih penimbangan berturut-turut kurang dari 0,2 mg).
6. Pengurangan berat merupakan banyaknya air dalam bahan.
7. Rumus perhitungan kadar air dalam bahan pangan sebagai berikut.

$$\text{Kadar Air} = \frac{(\text{beratbotoltimbang} + \text{beratsampel}) - \text{beratak hir}}{\text{beratsampel}} \times 100\%$$

Lampiran 5. Prosedur Analisis Profil Asam Amino (Sethiyarini, 2008)

Uji asam amino dilakukan dengan metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC) khusus deteksi dengan larutan Ophthaldialdehyde (OPA). Prosedur analisis kadar asam amino adalah sebagai berikut :

1. Elusi gradient dengan methanol 65% dan cairan aquabides untuk regenerasi kolom. Elusi methanol 65% terdiri dari THT 20 ml + methanol 20 ml dan Na asetol 0,05 N 96 ml.
2. Kecepatan aliran total (total flow 1 ml/menit) sebagai fase gerak.
3. Elusi diam menggunakan kolom shimpack CLCODS (m) dengan panjang kolom 25 cm.
4. Deteksi dengan menggunakan PDA (*Photo Dheo Array*) dektektor (menggunakan sinar UV) diamati panjang gelombang 190-400 nm dan yang dimunculkan 340 nm.



Lampiran 6. Penentuan Perlakuan Terbaik (de Garmo)

Untuk menentukan kombinasi perlakuan terbaik digunakan metode indeks efektifitas dengan prosedur pembobotan sebagai berikut :

1. Memberikan bobot nilai pada setiap parameter. Bobot mulai yang diberikan untuk tingkat kepentingan setiap parameter dalam mempengaruhi penerimaan konsumen yang diwakili oleh panelis.
2. Mengelompokkan parameter yang dianalisa kedalam dua kelompok, yaitu :

- Kelompok A adalah kelompok yang terdiri dari parameter yang jika semakin tinggi rendahnya semakin baik.
- Kelompok B adalah yang terdiri dari parameter yang jika semakin tinggi reratanya semakin jelek.

3. Menghitung nilai efektifitas dengan rumus :

$$Ne = \frac{Np-y}{x-y}$$

Dimana :

Ne : nilai efektifitas x : nilai terbaik

Np : nilai perlakuan y : nilai terjelek

4. Untuk parameter dengan rerata semakin baik maka nilai terendah sebagai nilai terjelek dan nilai tertinggi sebagai nilai terbaik dan sebaliknya. Nilai produk diperoleh dari hasil perkalian nilai efektifitas dengan nilai robot.
5. Menterjemahkan nilai produk dari semua parameter.
6. Kombinasi perlakuan terbaik dipilih dari kombinasi perlakuan yang memiliki nilai produk tertinggi.

Lampiran 7. *Analysis of Variance* Data Hasil Uji Kadar Albumin

Rerata Kadar Albumin

Waktu	ULANGAN						Rata-Rata	SD
	1	2	3	4	5	6		
5 menit	9,92	8,97	10,03	9,73	10,78	9,80	9,87	0,58
20 menit	8,32	7,79	8,65	8,36	7,99	9,06	8,36	0,46
35 menit	6,93	6,95	7,27	6,45	6,78	7,08	6,91	0,28
50 menit	6,59	6,08	6,63	5,57	6,01	6,38	6,21	0,41

Analisis Sidik Ragam

SK	db	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	47,5092	15,8364	80,00	3.10	4.94
Galat	20	3,9591	0,1980			
Total	23					

F 5% < F hit > 1% = sangat berbeda nyata

Analisis Uji Lanjut Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	Rerata	50 menit	35 menit	20 menit	5 menit	Notasi
		6,21	6,91	8,36	9,87	
50 menit	6,21	0				a
35 menit	6,91	0,7006	0			a
20 menit	8,36	2,1536	1,4530	0		b
5 menit	9,87	3,6606	2,9599	1,5069	0	c

BNT 5% = 0.5

Lampiran 8. Analysis of Variance Data Hasil Uji Kadar Protein

Rerata Kadar Protein

Waktu	ULANGAN						Rata-Rata	SD
	1	2	3	4	5	6		
5 menit	21,04	24,27	24,49	20,63	21,49	23,22	22,53	0,6
20 menit	18,36	17,68	18,94	18,32	18,71	19,75	18,63	0,7
35 menit	16,31	15,06	15,81	12,38	14,88	14,05	14,75	0,4
50 menit	14,68	11,85	12,90	13,59	14,51	12,82	13,39	0,8

Analisis Sidik Ragam

SK	ddb	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	304,99	101,66	62,72	3.10	4.94
Galat	20	32,4157	1,62			
Total	23					

F 5% < F hit > 1% = sangat berbeda nyata

Analisis Uji Lanjut Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	Rerata	50 menit	35 menit	20 menit	5 menit	Notasi
		13,39	14,75	18,63	22,53	
50 menit	13,39	0				a
35 menit	14,75	1,3594	0			a
20 menit	18,63	5,2374	3,8780	0		b
5 menit	22,53	9,1329	7,7734	3,8954	0	c

BNT 5% = 1,5

Lampiran 9. Analysis of Variance Data Hasil Rendemen

Rerata Rendemen

perlakuan	ULANGAN						Rata-Rata	SD
	1	2	3	4	5	6		
5 menit	74,81	75,38	75,19	76,87	75,38	75,94	75,60	0,7
20 menit	76,43	76,92	77,62	76,06	77,78	75,38	76,70	0,9
35 menit	78,67	78,00	78,95	79,73	78,71	79,08	78,86	0,5
50 menit	81,53	79,74	79,35	80,00	80,39	80,89	80,32	0,7

Analisis Sidik Ragam

SK	ddb	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	81.0594	27.0198	472.4141	3.10	4.94
Galat	20	1.1439	0.0572			
Total	23					

F 5% < F hit > 1% = sangat berbeda nyata

Analisis Uji Lanjut Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	Rerata	50 menit	35 menit	20 menit	5 menit	Notasi
		75,60	76,70	78,86	80,32	
50 menit	75,60	0				a
35 menit	76,70	1,1035	0			b
20 menit	78,86	3,2611	2,1576	0		c
5 menit	80,32	4,7223	3,6189	1,4613	0	d

BNT 5% = 0.3

Lampiran 10. Analysis of Variance Data Hasil Kadar Air

Rerata Kadar Air

perlakuan	ULANGAN						Rata-Rata	SD
	1	2	3	4	5	6		
5 menit	53,62	53,17	55,12	52,70	53,62	54,10	53,72	0,8
20 menit	50,73	51,21	51,47	50,97	51,20	51,45	51,17	0,2
35 menit	46,60	45,36	46,37	44,17	45,41	46,34	45,71	0,9
50 menit	42,36	40,77	42,71	42,51	43,41	42,02	42,30	0,8

Analisis Sidik Ragam

SK	ddb	JK	KT	F hit	F 5%	F 1%
Perlakuan	3	482,19	160,73	269,64	3.10	4.94
Galat	20	11,92	0,60			
Total	23					

F 5% < F hit > 1% = sangat berbeda nyata

Analisis Uji Lanjut Beda Nyata Terkecil

Perlakuan	Rerata	50 menit	35 menit	20 menit	5 menit	Notasi
		42,30	45,71	51,17	53,72	
50 menit	42,30	0				a
35 menit	45,71	3,4093	0			b
20 menit	51,17	8,8747	5,4654	0		c
5 menit	53,72	11,4232	8,0138	2,5484	0	d

BNT 5% = 0.9

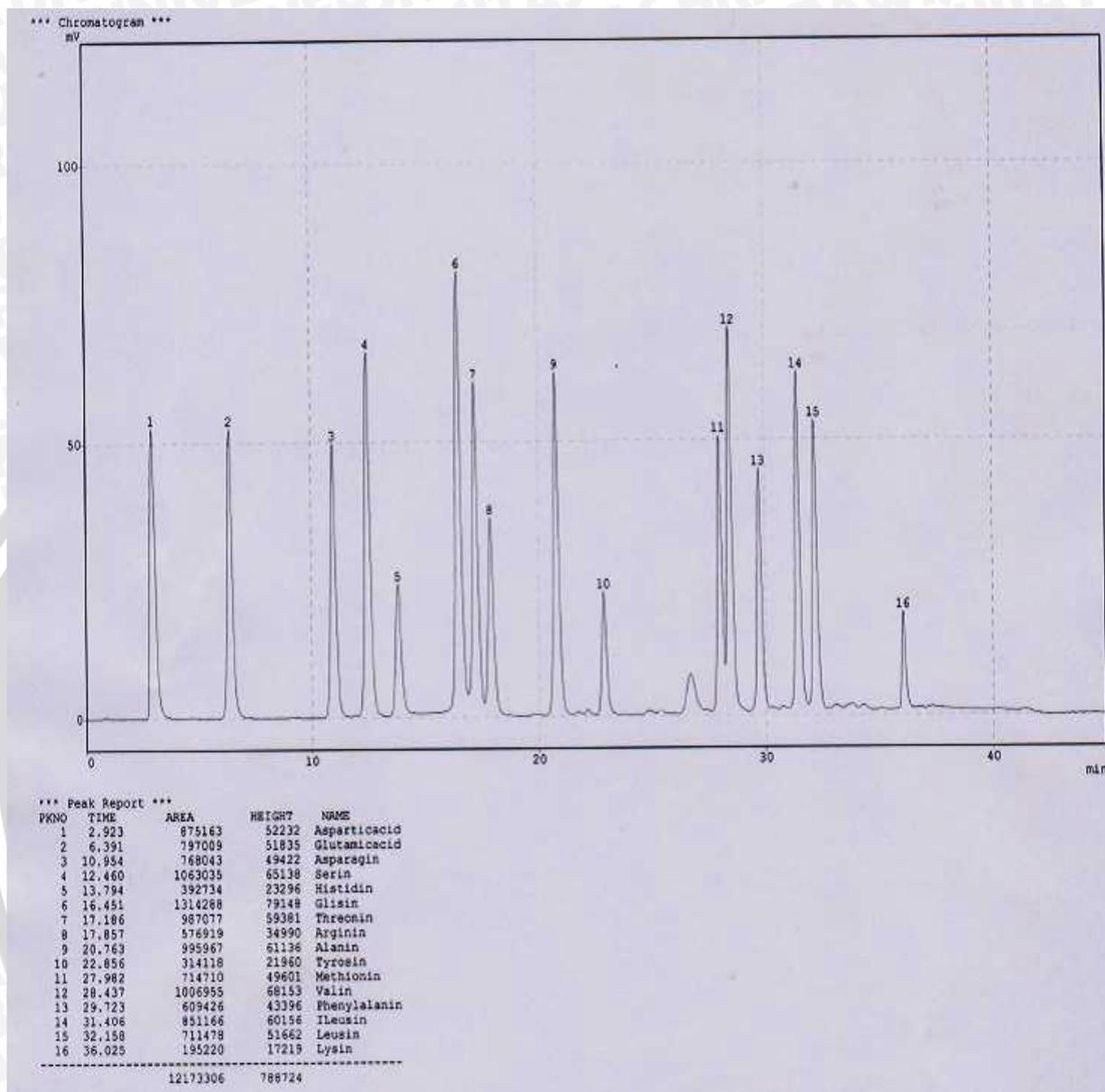


Lampiran 11. Perlakuan Terbaik

PARAMETER	SAMPEL				TERBAIK	TERJELEK	SELISIH
	A1	A2	A3	A4			
Kadar Albumin	0.4600	0.4100	0.3800	0.3600	0.4600	0.3600	0.1000
Kadar Protein	1.0400	0.9100	0.8200	0.7700	1.0400	0.7700	0.2700
Rendemen	75.6000	76.7000	78.8600	80.3200	80.3200	75.6000	4.7200

PARAMETER	BOBOT	5 menit		20 menit		35 menit		50 menit	
		NE	NP	NE	NP	NE	NP	NE	NP
Kadar Albumin	0.5	1.0000	0.5	0.5	0.25	0.2	0.1	0	0
Kadar Protein	0.6667	1.0000	0.6667	0.5185	0.3457	0.1852	0.1235	0	0
Rendemen	0.5	0.0000	0	0.2331	0.1165	0.6907	0.3453	1	0.5
			1.1667		0.7122		0.5688		0.5

Lampiran 12. Kurva Kromatografi Profil Asam Amino



Lampiran 13. Dokumentasi Alat

Pisau



Talenan



Timbangan Digital



Baskom



Gelas Ukur 100 ml



Beaker Glass 500 ml



Waterbath



Erlenmeyer



Corong pisah



Lampiran 14. Proses Ekstraksi Ikan Gabus

<p>Ikan segar</p>	
<p>Daging yang sudah di fillet</p>	
<p>Daging yang sudah di potong kecil-kecil</p>	
<p>Penimbangan daging sebelum diekstraksi</p>	

Persiapan waterbath suhu 60°C



Proses ekstraksi



Pemisahan residu dengan filtrat



Diukur jumlah filtrat



Ditimbang total residu



Diukur total n-hexan



Dimasukkan n-hexan kedalam filtrat



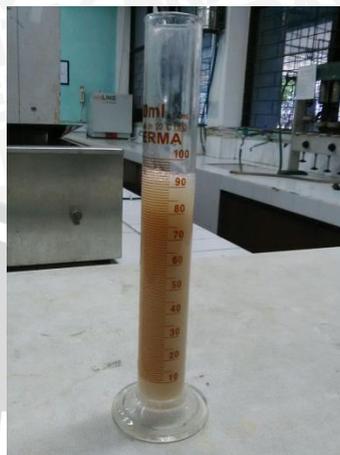
Digomogenkan selama 30 menit



Dipisahkan dengan corong pisah untuk memisahkan dengan lemak



Diukur ekstrak ikan gabus



Hasil akhir ekstrak ikan gabus



Lampiran 15. Hasil Ekstrak Ikan Gabus

Perlakuan	Gambar
Waktu pemanasan 5 menit	
Waktu pemanasan 20 menit	
Waktu pemanasan 35 menit	
Waktu pemanasan 50 menit	