



"Dan janganlah kamu berjalan di muka bumi ini dengan sombong, karena sesungguhnya kamu sekali-kali tidak dapat menembus bumi dan sekali-kali kamu tidak akan sampai setinggi gunung." (QS Al Israa' 37)

Imagine what you desire, will what you imagine, and create what you will (George Bernard Shaw)

*Teruntuk ibu dan bapak,
mba'Tati dan Adin*

IPB
1995
0016



Offic cipta milik IPB University

Halaman 1 dari 1
1. Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui pengaruh dari penambahan...
2. Metode penelitian adalah...
3. Hasil penelitian adalah...
4. Kesimpulan adalah...

OPTIMASI PEMANFAATAN PROTEIN LIMBAH PEMBUATAN KITOSAN DARI CANGKANG UDANG SEBAGAI BAHAN BAKU FLAVOR

Oleh
UMI FAHMIDA
F 27. 0289



1 9 9 5
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
B O G O R

IPB University

Perpustakaan IPB University

Umi Fahmida. F 27.0289. Optimasi Pemanfaatan Protein Limbah Pembuatan Kitosan dari Cangkang Udang sebagai Bahan Baku Flavor. Di bawah bimbingan Djumali Mangunwidjaja

RINGKASAN

Sebagai salah satu upaya pemanfaatan limbah, industri-industri yang memanfaatkan limbah sebagai bahan baku perlu semakin dikembangkan, salah satunya adalah industri kitosan. Kitosan diproduksi dari limbah kitin, yang salah satu sumbernya adalah limbah udang.

Dalam proses pembuatan kitosan dari limbah udang, terdapat beberapa tahap proses yang menghasilkan limbah, salah satunya adalah protein yang dihasilkan pada tahap deproteinasi. Protein ini sebenarnya berpotensi untuk diproses menjadi hidrolisat yang selanjutnya dapat digunakan pada proses pembuatan flavor.

Pada penelitian ini hidrolisat protein direaksikan dengan D-glukosa dan sistein-HCl untuk membentuk flavor berdasarkan prinsip reaksi Maillard. Tujuan penelitian adalah menentukan persen D-glukosa dan sistein-HCl yang dapat memberikan persen perubahan terbesar pada penurunan gula pereduksi, penurunan nitrogen total, peningkatan fosfat anorganik, dan peningkatan bahan anorganik (abu total). Keempat tanggapan tersebut merupakan indikator kimia yang mengiringi meningkatnya intensitas flavor. Metoda Tanggapan Permukaan (RSM = Response Surface

Methodology) dengan rancangan *Rotary Central Composite Design* digunakan pada optimasi ini.

Hasil optimasi pada selang konsentrasi 0,17 - 5,83 persen dengan dasar bobot kering (untuk D-glukosa dan sistein-HCl) menunjukkan bahwa selang optimum untuk penurunan gula pereduksi, berturut-turut konsentrasi D-glukosa dan sistein-HCl, pada (3,00-3,80% , 0,28%-3,00%), penurunan nitrogen total (1,72%-3,00% , 3,00-5,52%), peningkatan fosfat anorganik pada (0,19%-3,00% , 2,63%-3,00%), dan peningkatan bahan anorganik total pada (0,45%-3,00% , 3,00-4,23%). Nilai dan konsentrasi maksimal untuk penurunan gula pereduksi adalah 79.39 persen (3,68% , 0%), penurunan nitrogen total 17,07 persen (1,72% , 5,52%), peningkatan fosfat anorganik 302,00 persen (0,19% , 2,63%), dan peningkatan bahan anorganik total 38,28 persen (0,45% , 4,23%). Analisis hubungan dengan nilai organoleptik aroma menunjukkan kecenderungan adanya hubungan negatif dengan penurunan total nitrogen (taraf nyata 0,10-0,25) dan konsentrasi sistein-HCl (taraf nyata 0,025-0,05). Dengan hasil analisis organoleptik sebagai pembatas, diperoleh konsentrasi optimal pada selang antara 3,00-3,80 persen D-glukosa dan 0,28-3,00 persen sistein-HCl.



**OPTIMASI PEMANFAATAN PROTEIN
LIMBAH PEMBUATAN KITOSAN DARI CANGKANG UDANG
SEBAGAI BAHAN BAKU FLAVOR**

Oleh

UMI FAHMIDA

F 27.0289

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN

pada **JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN**

Fakultas Teknologi Pertanian

Institut Pertanian Bogor

1995

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

B O G O R

INSTITUT PERTANIAN BOGOR
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

**OPTIMASI PEMANFAATAN PROTEIN
LIMBAH PEMBUATAN KITOSAN DARI CANGKANG UDANG
SEBAGAI BAHAN BAKU FLAVOR**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
pada **JURUSAN TEKNOLOGI INDUSTRI PERTANIAN**
Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor

Oleh

UMI FAHMIDA

F 27.0289

Dilahirkan pada tanggal 20 Maret 1972
di Jakarta

Tanggal lulus : 7 Januari 1995

Disetujui,

Bogor, 11 Januari 1995



[Signature]
Dr. Djumali Mangunwidjaja, DEA

Dosen Pembimbing

KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirrobbil'alamin. Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karuniaNya sehingga skripsi yang merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana pada Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor ini, dapat diselesaikan dengan baik.

Ucapan terima kasih penulis haturkan kepada:

1. Dr.Ir. Djumali Mangunwidjaja selaku dosen pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingannya,
2. Ir.Noer Azam yang telah berkenan memberikan pengarahan khususnya mengenai metoda pengolahan data yang digunakan penulis,
3. Kedua orang tua, kakak, dan adik penulis, yang tak henti-hentinya memberikan dorongan dan doa selama penulis melaksanakan penelitian,
4. Nining, Suci, Erik atas kebersamaan dan dorongan semangat yang memacu penulis menyelesaikan laporan ini, dan
5. Teman-teman yang telah memberikan pendapat, saran, dan bantuan dalam penelitian ini serta berbagai pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Skripsi ini masih jauh dari sempurna. Penulis memohon maaf yang sebesar-besarnya jika dalam penulisan skripsi ini terdapat kata-kata yang kurang berkenan. Kritik dan saran yang membangun sangat penulis harapkan.

Semoga tulisan ini dapat bermanfaat sebagai bahan bacaan dan dapat menjadi masukan bagi yang membutuhkannya. Terima kasih.

Bogor, Januari 1995

Penulis

Halaman ini merupakan bagian dari dokumen yang digunakan untuk keperluan administrasi dan tidak boleh disebarluaskan. Untuk informasi lebih lanjut, silakan hubungi bagian administrasi di alamat email: ipb@ipb.ac.id.
1. Dokumen ini merupakan bagian dari dokumen yang digunakan untuk keperluan administrasi dan tidak boleh disebarluaskan. Untuk informasi lebih lanjut, silakan hubungi bagian administrasi di alamat email: ipb@ipb.ac.id.

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	3
A. KITIN DAN KITOSAN	3
B. PROTEIN LIMBAH PEMBUATAN KITOSAN	7
C. FLAVOR DAGING	10
D. FLAVOR SINTETIK DAGING	11
E. REAKSI MAILLARD	16
F. METODA TANGGAP PERMUKAAN	21
III. BAHAN DAN METODA	25
A. BAHAN DAN ALAT	25
1. Bahan	25
2. Alat	25
B. METODA	26
1. Pemilihan Metoda	26
2. Optimasi	27
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	29
A. PEMILIHAN METODA	29
B. OPTIMASI	32

Hita Citra, Penerbit: Lirisindo Utama
 1. Dilarang memperjual belikan atau menyewakan buku ini tanpa izin penerbit.
 2. Diperbolehkan untuk menyalin sebagian isi buku ini untuk keperluan pribadi.
 3. Dilarang menggunakan atau menyalin isi buku ini untuk tujuan komersial.
 4. Dilarang menggunakan atau menyalin isi buku ini untuk tujuan politik.
 5. Dilarang menggunakan atau menyalin isi buku ini untuk tujuan agama.
 6. Dilarang menggunakan atau menyalin isi buku ini untuk tujuan lainnya.
 7. Dilarang menggunakan atau menyalin isi buku ini untuk tujuan lainnya.
 8. Dilarang menggunakan atau menyalin isi buku ini untuk tujuan lainnya.
 9. Dilarang menggunakan atau menyalin isi buku ini untuk tujuan lainnya.
 10. Dilarang menggunakan atau menyalin isi buku ini untuk tujuan lainnya.

1. Tanggapan Penurunan Gula Pereduksi.....	33
2. Tanggapan Penurunan Nitrogen Total.....	34
3. Tanggapan Peningkatan Fosfat Anorganik.....	37
4. Tanggapan Peningkatan Bahan Anorganik - Total	39
5. Respon organoleptik terhadap Aroma dan Hubungannya dengan Data Kuantitatif ...	41
V. KESIMPULAN DAN SARAN	43
A. KESIMPULAN	43
B. SARAN	43
DAFTAR PUSTAKA	45
LAMPIRAN	49

Halo, Cipta, Berprestasi, Berprestasi, Berprestasi
 1. Dilakukan pengujian sebagai alat analisis yang baik dan benar untuk tujuan pemantauan dan pemeliharaan sumber
 2. Berperan penting dalam pemantauan sumber daya alam, lingkungan, pertanian, kehutanan, perikanan, peternakan, kesehatan, dan lain-lain untuk masalah
 3. Berperan penting dalam pemantauan sumber daya alam, lingkungan, pertanian, kehutanan, perikanan, peternakan, kesehatan, dan lain-lain untuk masalah
 4. Berperan penting dalam pemantauan sumber daya alam, lingkungan, pertanian, kehutanan, perikanan, peternakan, kesehatan, dan lain-lain untuk masalah

DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1.	Hasil analisis asam amino protein dari limbah udang windu	9
Tabel 2.	Analisis komponen hidrolisat untuk pembuatan flavor	15
Tabel 3.	Sandi dan taraf sebenarnya pada konsentrasi D-glukosa dan sistein-HCl	25
Tabel 4.	Analisis hidrolisat dari protein limbah pembuatan kitosan menggunakan HCl 6N	29
Tabel 5.	Definisi panel terhadap aroma hasil metoda refluks dan oven	33

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur kimiawi kitin	3
Gambar 2. Isolasi kitin dan senyawaan kimia dari limbah udang windu	6
Gambar 3. Pengolahan kitin menjadi garam kitosan dan kitosan asam	7
Gambar 4. Kromatogram cuplikan hasil protein' limbah kitosan.....	9
Gambar 5. Reaksi prolin dan glukosa sebagai salah satu contoh reaksi Maillard ...	17
Gambar 6. Skema reaksi Maillard	19
Gambar 7. Tahap awal reaksi Maillard	20
Gambar 8. Diagram alir studi tanggap permukaan	23
Gambar 9. Hubungan konsentrasi D-glukosa dan sistein HCl terhadap penurunan kadar gula pereduksi	32
Gambar 10. Hubungan konsentrasi D-glukosa dan sistein HCl terhadap penurunan nitrogen total	34
Gambar 11. Hubungan konsentrasi D-glukosa dan sistein HCl terhadap peningkatan kadar fosfat anorganik	37
Gambar 12. Hubungan konsentrasi D-glukosa dan sistein HCl terhadap peningkatan kadar abu (bahan anorganik total) ..	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Tatacara analisis	50
Lampiran 2. Hasil analisis keempat tanggapan sebagai data masukan RSM	54
Lampiran 3. Hasil perhitungan RSM untuk tanggapan penurunan kadar gula pereduksi	55
Lampiran 4. Hasil perhitungan RSM untuk tanggapan penurunan nitrogen total	57
Lampiran 5. Hasil perhitungan RSM untuk tanggapan peningkatan kadar fosfat anorganik	59
Lampiran 6. Hasil perhitungan RSM untuk tanggapan peningkatan bahan anorganik total	62
Lampiran 7. Nilai hedonik yang diberikan panel terhadap aroma	64
Lampiran 8. Hasil analisis hubungan berjenjang Spearman antara respon organoleptik dan hasil analisis kuantitatif	65
Lampiran 9. Analisis sidik ragam dua arah Friedman	66

I. Ditulis sebagai syarat tugas akhir dan sebagai prasyarat untuk melanjutkan ke jenjang pendidikan yang lebih tinggi.
 2. Berfungsi sebagai sumber informasi dan pengetahuan.
 3. Berfungsi sebagai alat bantu untuk memahami dan menguasai materi yang disajikan.
 4. Berfungsi sebagai alat bantu untuk memahami dan menguasai materi yang disajikan.
 5. Berfungsi sebagai alat bantu untuk memahami dan menguasai materi yang disajikan.
 6. Berfungsi sebagai alat bantu untuk memahami dan menguasai materi yang disajikan.
 7. Berfungsi sebagai alat bantu untuk memahami dan menguasai materi yang disajikan.
 8. Berfungsi sebagai alat bantu untuk memahami dan menguasai materi yang disajikan.
 9. Berfungsi sebagai alat bantu untuk memahami dan menguasai materi yang disajikan.
 10. Berfungsi sebagai alat bantu untuk memahami dan menguasai materi yang disajikan.



BAB I. PENDAHULUAN

Flavor merupakan salah satu bahan baku utama yang banyak digunakan pada industri pangan seperti produk mie instan dan produk makanan ringan. Produk-produk makanan tersebut umumnya menggunakan flavor seperti flavor daging ayam, sapi, ikan, udang, lain-lain.

Di Indonesia, industri yang menggunakan flavor tersebut sebagian besar masih mengimpor dari Jepang, Taiwan, dan Amerika Serikat. Indonesia Flavour dan Fragrance, suatu industri yang memproduksi flavor secara komersial, masih terbatas pada usaha mencampur dan menyajikan dalam bentuk serbuk, sedangkan bahan bakunya didatangkan dari luar negeri. Bahan baku serbuk flavor yang dipakai oleh industri makanan tersebut harganya ternyata cukup mahal. Oleh karena itu apabila bahan ini dapat dibuat di dalam negeri maka akan berarti suatu penghematan devisa (Bustaman et al., 1984).

Di lain pihak, ternyata ada salah satu bahan hasil pemanfaatan limbah yang berpotensi untuk digunakan sebagai bahan baku untuk pembuatan flavor. Bahan yang dimaksud adalah protein yang diperoleh sebagai hasil samping pada pembuatan kitosan dari limbah cangkang udang. Protein tersebut sampai saat ini pemanfaatannya masih terbatas sebagai suplemen protein pada pakan ternak, khususnya unggas.

Upaya pemanfaatan protein tersebut perlu diperhatikan karena walaupun di Indonesia belum berdiri suatu pabrik kitosan, terdapat kecenderungan adanya peningkatan total produksi udang yang akan berdampak pada bertambahnya limbah cangkang yang perlu diolah. Menurut data Ditjen Perikanan tahun 1990, total produksi pada tahun 1986 mencapai peningkatan volume sebesar 31,64 persen dibandingkan pada tahun 1976 dengan pertambahan nilai yang mencapai 876,10 persen selama kurun waktu 10 tahun tersebut. Hal ini juga menunjukkan bahwa nilai udang semakin bertambah karena dengan peningkatan volume yang relatif tidak besar telah dicapai suatu peningkatan nilai jual yang sangat besar.

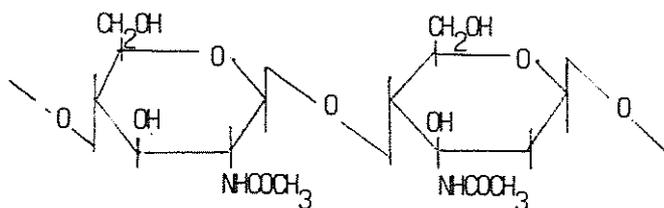
Penelitian ini bertujuan untuk menemukan metoda yang tepat untuk menghasilkan meat flavor dari protein recovery yang dihasilkan pada pengolahan kitosan serta optimasi penggunaan prekursor, yaitu D-glukosa dan sistein-HCl, sehingga diperoleh hasil yang optimal. Diharapkan hasil dari penelitian ini dapat menjadi masukan pada industri kitosan untuk meningkatkan nilai tambahnya sebagai salah satu industri pemanfaatan limbah yang perlu didukung, serta sebagai usaha untuk meninggalkan ketergantungan pada produk flavor impor.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. KITIN DAN KITOSAN

Kitin merupakan senyawaan poli-beta-N-asetil-D-glukosamin, suatu biopolimer alami penyusun cangkang (kulit keras) udang-udangan dan serangga, dan penyusun dinding sel khamir dan kapang (Austin et al., 1981).

Menurut Neville (1975), struktur kimiawi kitin sangat menyerupai struktur selulosa. Perbedaan dengan selulosa terletak pada atom C-2 pada selulosa yang pada kitin digantikan dengan gugus asetamido (CH_3CONH) sehingga kitin juga merupakan polimer gula amin asetil-glukosamin (gambar 1). Pada sejumlah kecil residu kitin, seringkali gugus asetil menghilang dan meninggalkan glukosamin yang bermuatan positif dan memegang peranan penting pada ikatan kitin-protein. Pemurnian dengan basa akan mengubah pH menjadi sekitar 3.5 sehingga lebih banyak gugus asetil terdeasetilasi dan semakin banyak gugus amin ($-\text{NH}$) membentuk kompleks dengan proton menjadi NH_3 .



Gambar 1. Struktur kimiawi kitin (Neville, 1975)

Karena sifat-sifat khas yang dimilikinya, kitin memberikan kegunaan yang dapat diterapkan di berbagai bidang. Sifat-sifat khas tersebut antara lain adalah aktivitas biologis, dapat didegradasi secara biologis, dan sifat keliatannya (Austin et al., 1981 dan Santoso, 1990).

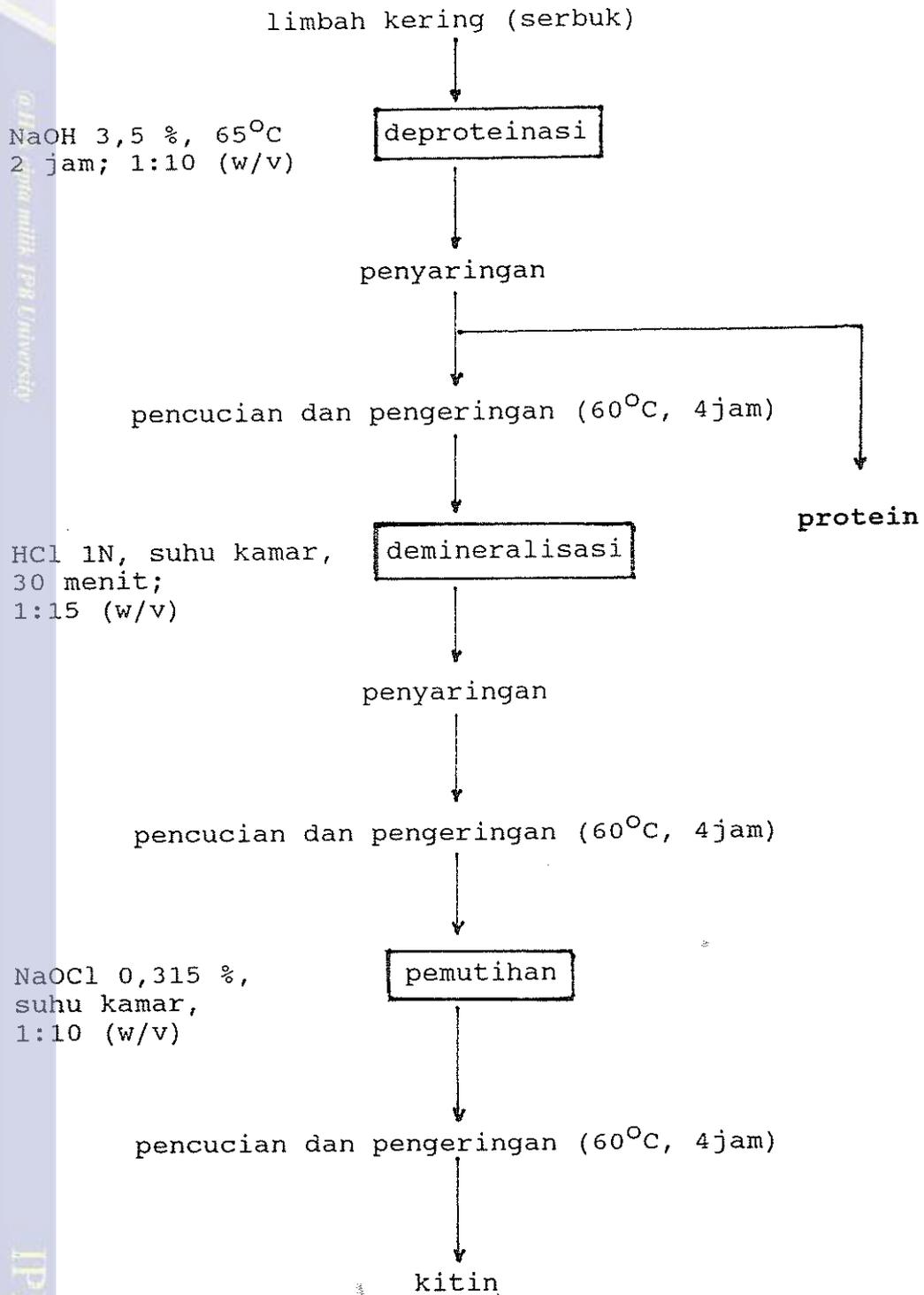
Kitin merupakan bahan dasar untuk bahan-bahan kimia yang diperlukan secara luas di berbagai bidang seperti bidang biokimia, obat-obatan atau farmakologi, pangan dan gizi, enzimologi, pertanian, industri kertas, tekstil, film, dan lain-lain. Dalam bidang pengolahan pangan kitin dapat digunakan sebagai pemantap sistem emulsi, sebagai pereaksi pengikat air atau lemak, menaikkan volume roti tawar (Knoor, 1982), sebagai pengikat pewarna makanan (Knoor, 1983), dan lain sebagainya. Selain itu kitin merupakan sumber asetil glukosamin dan glukosamin yang dapat dipakai sebagai pengawet dan antibiotika. Dalam bidang enzimologi kitin digunakan sebagai media untuk immobilisasi enzim (Santoso, 1990).

Kitosan merupakan hasil deasetilasi kitin atau kitin yang telah dihilangkan gugus asetilnya. Bila kitin bersifat tidak larut dalam air (hanya dapat larut dalam pelarut dimetil-asetamida yang mengandung 5 persen litium klorida), maka kitosan larut dalam air sehingga penggunaannya lebih mudah. Kitosan telah lama

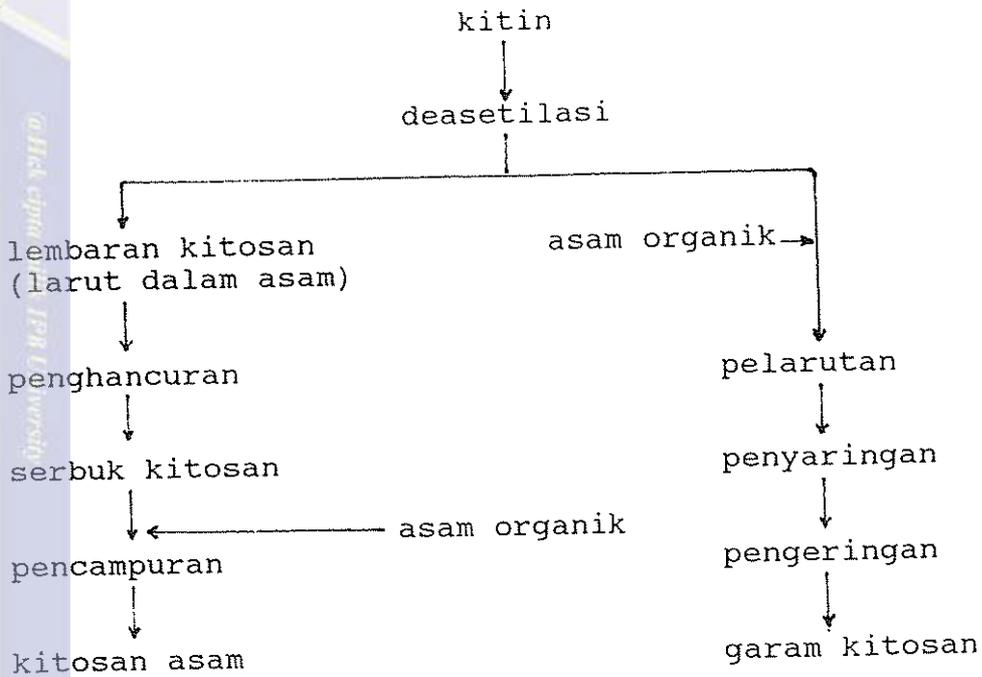
digunakan sebagai pengikat logam dalam penanganan air limbah dan bahkan saat ini telah diketahui bahwa kitosan dapat menurunkan kadar kolesterol darah (Sugano et al., 1988). Baik kitin maupun kitosan digunakan sebagai bahan pembungkus atau kapsul obat-obatan, juga sebagai benang operasi dalam pembedahan (Santoso, 1990). Bahan baku untuk pembuatan kitin dan kitosan yang paling banyak tersedia adalah limbah cangkang udang-udangan (krustasea). Cangkang tersebut selain mempunyai kandungan kitin yang tinggi, yaitu sekitar 20-30 persen (dasar kering), juga merupakan sumber yang berlimpah yang dapat menunjang berlangsungnya suatu pabrik pembuatan kitin atau kitosan (Johnson dan Peniston, di dalam Martin et al., 1982).

Gambar 2 menunjukkan isolasi kitin dan senyawaan kimia lain yang dihasilkan dari bahan baku limbah udang. Untuk menghasilkan kitosan, kitin yang dihasilkan masih harus mengalami pengolahan lanjutan yaitu dengan deasetilasi, biasanya menggunakan natrium hidroksida 50 persen.

Gambar 3 menunjukkan proses lanjutan kitin menjadi kitosan, yang hasil akhirnya dapat berupa garam kitosan yang larut dalam air maupun kitosan yang berikatan dengan asam sehingga bersifat dapat larut dengan segera (Knoor, 1982).



Gambar 2. Isolasi kitin dan senyawaan kimia dari limbah udang windu (Purwantiningsih, 1990)



Gambar 3. Proses pengolahan kitin menjadi garam kitosan dan kitosan asam (Knoor, 1982)

B. PROTEIN LIMBAH PEMBUATAN KITOSAN

Protein limbah pembuatan kitosan dihasilkan sebagai hasil samping pada pembuatan kitosan dari cangkang udang, khususnya pada tahapan deproteinasi. Pada tahapan deproteinasi ini digunakan NaOH encer yang mengikat protein dalam serbuk kulit udang sebagai Na-proteinat sehingga protein dapat dipisahkan (Johnson dan Peniston di dalam Martin et al., 1982).

Menurut Johnson dan Peniston di dalam Martin et al. (1982), protein ini diperoleh dengan menggunakan NaOH 1-2 persen pada suhu 60-70°C sehingga diperoleh Na-proteinat dengan konsentrasi 6 persen atau lebih.

Dengan mengatur pH sampai dengan pH isoelektrik (antara 4-5), protein diendapkan dan dikeringkan sehingga diperoleh hasil akhir dengan kandungan protein 90 persen atau lebih dengan kadar abu sekitar 5 persen atau kurang.

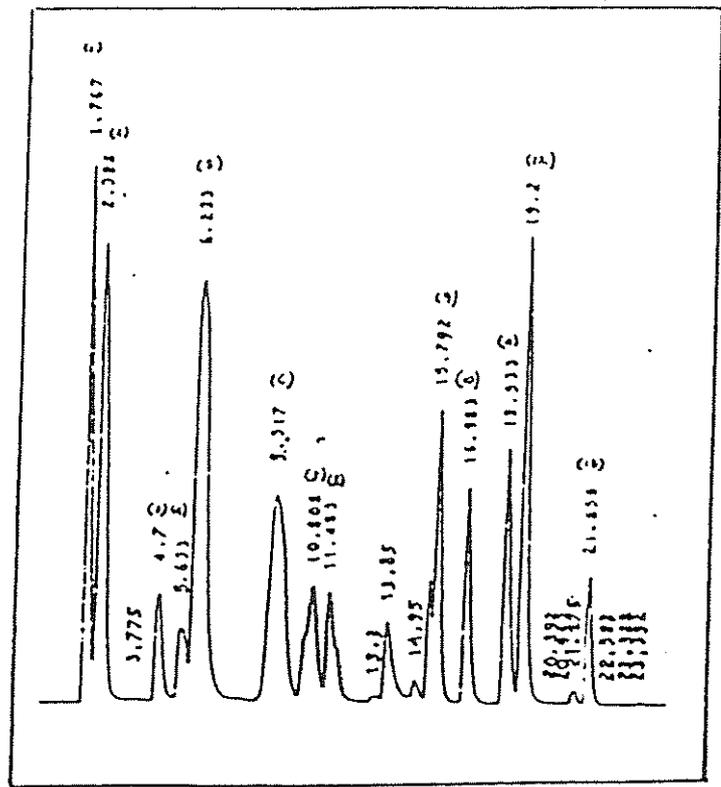
Hasil penelitian Purwantiningsih (1990) menunjukkan bahwa filtrat hasil deproteinasi dalam pembuatan kitosan dari limbah udang mengandung protein dalam bentuk Na-proteinat dengan kadar protein sebesar 90,38 persen yang masih mengandung kadar abu 4,24 persen. Adanya kadar abu diduga berasal dari silika (SiO_2) yang ada pada rangka udang yang ikut terlarut pada saat ekstraksi pemisahan protein dengan basa.

Terdapat 14 jenis asam amino yang terdapat pada protein tersebut, dimana asam aspartat, asam glutamat, glisin, threonin, dan leusin merupakan asam amino yang dominan. Asam amino dalam jumlah terbesar adalah tirosin (12,13%) dan asam amino dalam jumlah terendah adalah serin (1,65%).

Menurut Johnson dan Peniston di dalam Martin et al. (1982), protein hasil recovery tersebut mempunyai susunan asam amino yang mirip dengan kandungan asam amino pada kasein. Perbedaannya terletak pada kurangnya kandungan sistein dan metionin pada protein limbah pembuatan kitosan tersebut.

Tabel 1. Hasil analisis asam amino protein dari limbah udang windu (Purwantiningsih, 1990)

NO	ASAM AMINO	BM	WAKTU RETENSI	LUAS AREA	[AA]	% AA		
			STAND CONTOH	STAND CONTOH	u mol			
1.	Asam aspartat	133,1	1,758	1,767	672.621	2.672.849	9,93445	7,5173
2.	Asam glutamat	147,13	2,258	2,368	740.195	3.976.138	13,42936	11,3555
3.	Serin	105,09	4,717	4,7	825.606	900.048	2,72542	1,6461
4.	Histidin	155,16	5,617	5,633	710.475	748.437	2,63358	2,3484
5.	Glisin	75,06	6,23	6,233	352.840	5.810.149	41,16702	17,7586
6.	Treonin	119,12	6,508	-	1.304.383	-	-	-
7.	Tirosin	181,19	9,493	9,317	769.066	3.582.883	11,64686	12,1281
8.	Arginin	174,20	10,975	10,808	628.041	1.546.063	4,66783	4,6732
9.	Alanin	89,09	11,723	11,483	737.631	1.238.883	4,19886	2,1449
10.	Valin	117,15	16,005	15,792	844.760	2.607.885	7,71783	5,1962
11.	Metionin	149,21	15,693	-	640.662	-	-	-
12.	Fenilalanin	165,19	17,243	16,983	645.751	1.502.504	5,81689	5,5224
13.	Isoleusin	131,17	18,763	18,533	787.791	1.736.872	5,51184	4,1554
14.	Leusin	131,17	19,427	19,2	676.969	3.108.507	11,4759	8,6538
15.	Lisin	146,19	21,937	21,858	372.265	812.119	5,45390	4,5822



Keterangan :

1. Asam aspartat
2. Asam glutamat
3. Serin
4. Histidin
5. Glisin/treonin
6. Tirosin
7. Arginin
8. Alanin
9. Valin
10. Fenilalanin
11. Isoleusin
12. Leusin
13. Lisin



Gambar 4 Kromatogram cuplikan hasil protein limbah kitosan (Purwantiningsih, 1990)

Hal. Cara: Penelitian, Laporan Penelitian
 1. Melakukan penelitian dengan cara ilmiah yang baik dan benar menggunakan data yang valid dan akurat
 2. Mengetahui dan memahami konsep-konsep, prinsip-prinsip, prosedur, dan teknik yang berkaitan dengan penelitian
 3. Mengetahui dan memahami konsep-konsep, prinsip-prinsip, prosedur, dan teknik yang berkaitan dengan penelitian
 4. Mengetahui dan memahami konsep-konsep, prinsip-prinsip, prosedur, dan teknik yang berkaitan dengan penelitian
 5. Mengetahui dan memahami konsep-konsep, prinsip-prinsip, prosedur, dan teknik yang berkaitan dengan penelitian

Dilanjutkan oleh Johnson dan Peniston di dalam Martin et al. (1982), protein tersebut hingga saat ini belum cukup mendapat perhatian. Peluang yang ada saat ini adalah penggunaan protein tersebut secara langsung sebagai bahan tambahan pada pakan ternak atau sebagai pengganti kasein. Pemanfaatan protein tersebut menjadi produk yang mempunyai nilai tambah akan sangat berguna untuk memberikan tambahan keuntungan pada suatu industri kitin-kitosan.

C. FLAVOR DAGING

Flavor daging pada dasarnya mencakup seluruh flavor yang berasal dari daging, seperti flavor yang berasal dari daging sapi, ayam, kambing, dan lain-lain. Sebagian besar flavor tersebut lebih banyak terdapat dalam saripati (ekstrak) daripada dalam otot atau daging. Pada umumnya flavor tersebut dapat dihasilkan melalui degradasi termal protein (May Di dalam Ashurst, 1991).

Salah satu flavor yang banyak diinginkan dan karenanya cukup banyak mendapat perhatian adalah flavor daging sapi. Menurut May di dalam Ashurst (1991), ekstrak daging sapi mengandung sekitar 30 jenis asam amino, beberapa jenis peptida, satu jenis gula-amin, serta tiga jenis gula. Asam-asam amino yang berada

dalam jumlah besar adalah sistein, beta-alanin, asam glutamat, dan triptofan. Tiga jenis gula tersebut adalah glukosa, fruktosa, dan ribosa, sedangkan gula amin berupa glukosamin. Hasil uji dengan kromatografi pada ekstrak yang telah dimasak menunjukkan kehilangan pada kandungan sistein dan ribosa, sedangkan asam-asam amino lainnya juga berkurang jumlahnya. Kenyataan tersebut menunjukkan bahwa ribosa dan sistein serta asam-asam amino lain merupakan senyawaan penyusun komponen flavor pada flavor daging sapi. Bila senyawa-senyawa tersebut dipanaskan bersama-sama di dalam air maka dihasilkan flavor yang khas daging sapi. Menurut Hornstein di dalam Schultz et al. (1967), berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, terdapat bukti kuat bahwa asam amino dan gula merupakan prekursor dari sedikitnya 17 dari 21 senyawa volatil yang terdapat di dalam ekstrak daging sapi yang dimasak.

D. FLAVOR SINTETIK DAGING

Selain berasal dari sumber alami, flavor juga dapat dihasilkan secara sintetik dan dapat berupa satu atau lebih senyawa yang dapat ditambahkan ke dalam makanan/minuman untuk menimbulkan cita rasa tertentu (The Society of Flavor Chemists, 1968).

Menurut Karmas (1982), terdapat beberapa sumber flavor yang dapat memberikan kesan sebagai flavor

daging. Sumber tersebut dapat berupa ekstrak daging, hidrolisat protein tumbuhan (HVP), ekstrak khamir, serta campuran asam amino.

Menurut Wong (1989) dan May di dalam Ashurst (1991), bahan utama penyusun flavor dalam pembuatan flavor adalah senyawa sumber belerang, sumber amino-nitrogen, serta komponen gula. Sebagai tambahan dapat digunakan lemak (dalam bentuk lemak hewani atau nabati, asam lemak, atau ester), garam, peningkat citarasa (flavor enhancer), serta bumbu-bumbu.

Senyawa sumber belerang yang paling banyak digunakan adalah sistein dalam bentuk sistein hidroklorida (sistein-HCl). Selain karena mudah diperoleh, sistein-HCl dapat dengan cepat bereaksi dengan gula pereduksi (May di dalam Ashurst, 1991). Sistein (asam beta-thio-alfa-aminopropionat) merupakan asam amino dengan gugus R berupa $\text{CH}_2\text{-S-H}$. Bila sistein dan gula pentosa dipanaskan bersama-sama dengan air maka akan terbentuk flavor khas daging (Herz dan Chang di dalam Chichester et al., 1970).

Sumber amino-nitrogen adalah asam amino yang biasanya dihasilkan melalui hidrolisis protein dengan menggunakan asam, basa, atau secara enzimatik. Jenis protein yang digunakan serta kondisi hidrolisis akan menentukan jenis flavor yang dihasilkan. Hidrolisis dengan basa tidak dianjurkan karena selain merusak

sistein dan arginin, juga dihasilkan rasa yang kurang diinginkan (May di dalam Ashurst, 1991). Ditambahkan oleh Hall (1946), walaupun hidrolisis dengan basa tidak menghancurkan asam amino triptofan, cita rasa yang dihasilkan kurang baik dibandingkan dengan hidrolisa asam.

Hidrolisis dengan asam, menurut Johnson dan Peterson (1974), tidak menguntungkan karena triptofan, asparagin, glutamin, dan sejumlah asam amino lain hancur. Walaupun demikian, menurut May di dalam Ashurst (1991), hidrolisis dengan asam merupakan pilihan yang cukup efisien, terutama bila ditunjang dengan kondisi yang sesuai.

Bahan-bahan kimia yang umum dipergunakan untuk hidrolisis protein adalah HCl pada konsentrasi 3 - 12 N (umumnya 6 N) dan H_2SO_4 pada konsentrasi 4 - 8 N (West dan Todd, 1964). Asam yang digunakan biasanya adalah asam khlorida (HCl). Asam belerang (H_2SO_4) digunakan bila diinginkan kadar garam yang rendah pada hidrolisat dan sulfat yang tidak larut setelah netralisasi dapat dipisahkan dengan penyaringan. Namun, flavor yang dihasilkan dari hidrolisis menggunakan H_2SO_4 biasanya kurang baik dibandingkan dengan hidrolisat yang berasal dari hidrolisis menggunakan HCl (May di dalam Ashurst, 1991). Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa hasil optimal diperoleh dengan HCl 6 N dengan

perbandingan HCl : adonan = 1 : 1 dan pemanasan selama 2 jam pada suhu 75-80°C. HCl 6 N juga digunakan untuk pembuatan hidrolisat ikan dengan perbandingan adonan : HCl = 2 : 1, selama 18 jam dan suhu 80°C.

Cara lain yang efisien untuk menghasilkan asam-asam amino melalui hidrolisis protein adalah dengan menggunakan enzim. Enzim menghasilkan peptida-peptida yang kurang kompleks dan mudah dipecah serta dapat melindungi produk dari yang dihasilkan dari kerusakan dan perubahan yang bersifat non-hidrolitik. Selain itu asam amino tirosin dan triptofan tidak rusak (Johnson dan Peterson, 1974). Kelemahan hidrolisis secara enzimatis ini adalah rasa yang sedikit pahit, untuk itu maka diperlukan kontrol pada kondisi hidrolisis yang dilakukan, khususnya dalam penentuan pH optimum enzim yang digunakan, kestabilan panas, serta pengaruh aktivator dan inhibitor. Untuk penerapan pada skala industri selain pertimbangan-pertimbangan tersebut perlu ditambah dengan pertimbangan kegunaan enzim dan harganya (Muljanah, 1993).

Hidrolisat sebagai bahan baku reaksi pembentukan flavor, menurut May di dalam Ashurst (1991), biasanya mempunyai kandungan bahan-bahan seperti ditunjukkan pada tabel 2. Hidrolisat yang optimal untuk reaksi tersebut adalah yang mempunyai berat 1,25 gram per mililiter dan pH 5,6. Sebelum digunakan dalam proses

pembuatan flavor, hidrolisat perlu disaring untuk memisahkan padatan yang cenderung mengendap dan mengganggu jalannya proses bahkan dapat menimbulkan rasa pahit.

Tabel 2. Analisis komponen hidrolisat untuk pembuatan flavor ^b

Komponen	Kadar (persen)
Padatan total	40.0
NaCl	18.5
Nitrogen total	2.8
Protein	17.5
Amino nitrogen	2.1

^bMay di dalam Ashurst (1991)

Adapun komponen gula yang pernah diteliti untuk digunakan adalah pentosa, heksosa, gula-keto, dan disakarida. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pentosa memberikan flavor yang lebih baik daripada heksosa, serta lebih reaktif terhadap sistein dan asam amino lain sehingga dapat menghemat waktu reaksi (dengan pemanasan). Pentosa yang memberikan hasil terbaik adalah ribosa, xilosa, arabinosa, dan lixosa. Hasil terbaik diberikan oleh ribosa dan xilosa, sedangkan arabinosa dan lixosa terlalu mahal sehingga secara finansial dapat dianggap kurang layak untuk diterapkan dalam skala industri. Penggunaan polisakarida dan pati juga tidak efektif (May di dalam Ashurst, 1991).

Beberapa flavor sintetik daging dibuat dengan prinsip reaksi Maillard dan menggunakan satu macam atau lebih asam amino sumber belerang, hidrolisat protein

sebagai sumber asam amino, dan satu macam atau lebih gula. Reaksi paling sederhana menggunakan hidrolisat protein, L-sistein HCl, dan salah satu dari D-xylosa atau D-glukosa (May di dalam Ashurst, 1991), hidrolisat protein dengan asam amino taurin dan xilosa (Hack dan Konigsdorf, 1969). Beberapa reaksi pembuatan flavor lainnya melibatkan lebih dari satu macam asam amino sumber belerang, gula, dan bahkan campuran hidrolisat protein tumbuhan dengan ekstrak khamir. Asam amino sumber belerang yang paling sering digunakan antara lain adalah L-sistein HCl, methionin, glisin-HCl, beta-alanin, taurin, dan tiamin-HCl sedangkan gula yang telah dicobakan antara lain sukrosa, dekstrosa, D-glukosa, L-arabinosa, xilosa, dan D-xilosa.

E. REAKSI MAILLARD

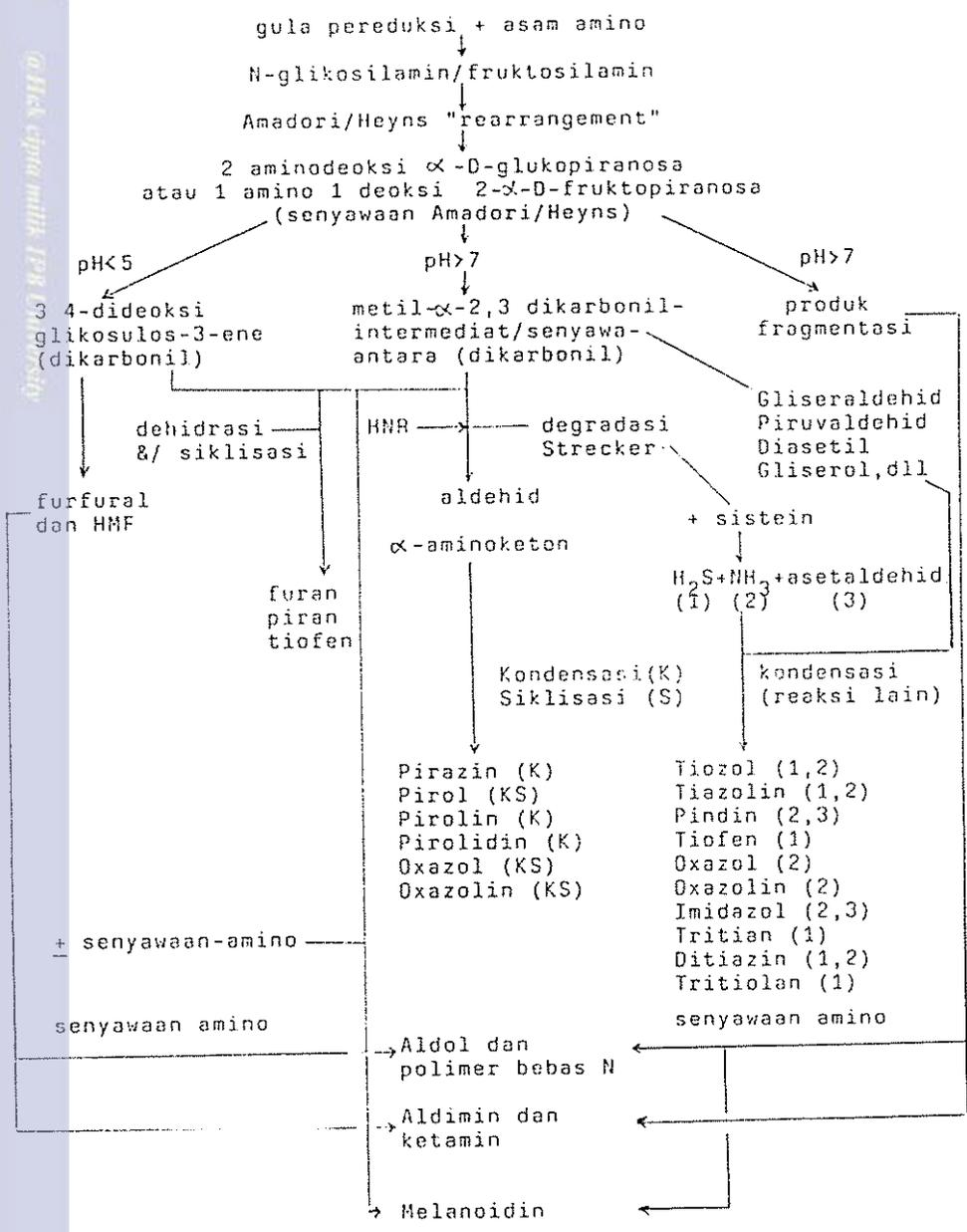
Reaksi pembentukan flavor yang merupakan reaksi termal antara gula pereduksi dengan asam amino dikenal sebagai reaksi Maillard. Reaksi ini pertama kali ditemukan oleh seorang ahli kimia Perancis, Maillard (1912), yang mengamati terbentuknya melanoidin atau pigmen coklat pada saat memanaskan campuran glukosa dan asam amino glisin. Reaksi tersebut dan reaksi-reaksi lain yang melibatkan amina, asam amino, atau protein dengan gula, aldehida, atau keton selanjutnya disebut

sebagai reaksi Maillard (Hodge, 1953; Ellis, 1959; Reynolds, 1963 dan 1965).

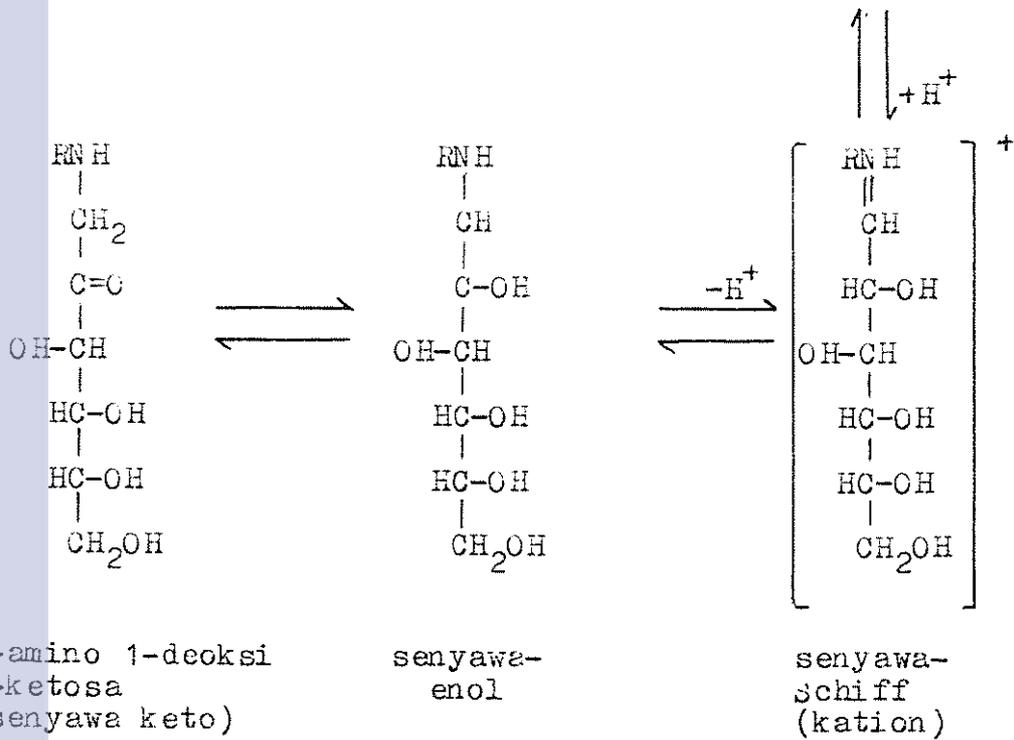
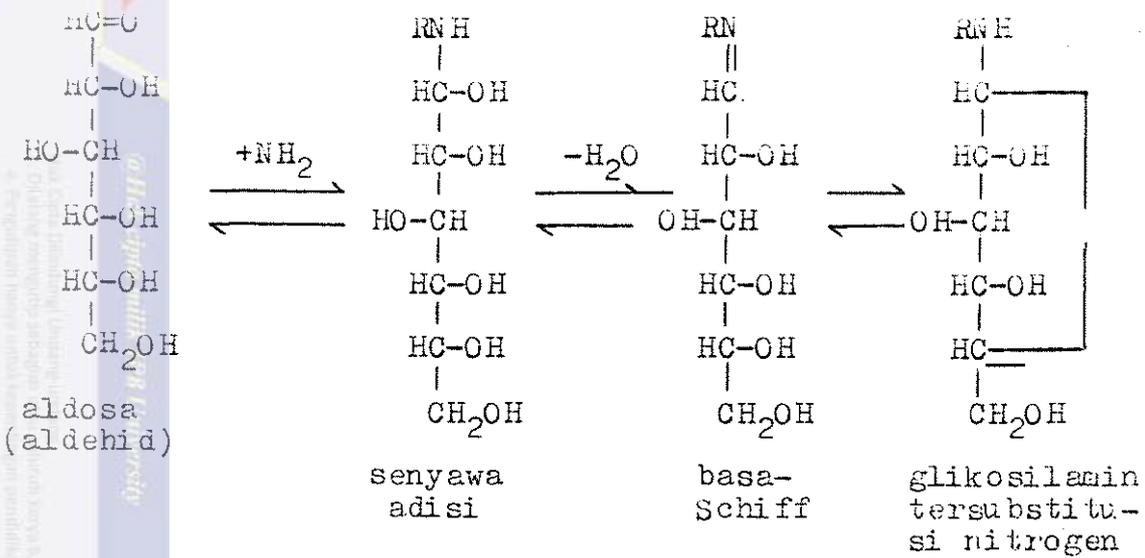
Skema reaksi Maillard ditunjukkan pada gambar 6. Reaksi ini menghasilkan senyawa-senyawa penyusun flavor yang sangat banyak jumlahnya, mulai dari senyawaan sederhana seperti H_2O , NH_3 , H_2S , hingga senyawa furan dan pirazin serta melanoidin, suatu kompleks pigmen berwarna coklat (May di dalam Ashurst, 1991). Pirazin, pirol, tiozol, tiazolin dan trition merupakan senyawa-senyawa yang sangat mempengaruhi tipe flavor yang dihasilkan (Nagodawithana, 1992; Wong, 1989). Tahapan awal reaksi ini dapat dilihat pada gambar 7.

Menurut Ho dan Charlin (1989), alkil pirazin merupakan senyawa kelumit dalam flavor yang menentukan citarasa khas seperti halnya makanan yang dimasak. Thiazol mempunyai peran yang penting dalam menentukan citarasa flavor dan kemungkinan dihasilkan melalui degradasi termal dari sistein atau sistin (di-sistein).

Menurut Eskin et al. (1971), beberapa kondisi yang berpengaruh terhadap reaksi pencoklatan (browning) non enzimatik seperti halnya reaksi Maillard adalah pH, suhu, kadar air, dan jenis gula yang digunakan. Reaksi karbonil-amino dapat terjadi baik pada keadaan asam maupun basa. Walaupun demikian beberapa studi menunjukkan terjadinya peningkatan laju reaksi dengan meningkatnya pH (Lea dan Hannan, 1949; Underwood et al.,



Gambar 6 . Skema reaksi Maillard (Nagodawithana, 1992)



Gambar 7. Tahap awal reaksi Maillard (May di dalam Ashurst, 1991)

1959). Laju reaksi yang meningkat juga terjadi dengan meningkatnya reaksi (Lea dan Hannan, 1949).

Reaksi Maillard lebih cepat terjadi bila terdapat air yang ditunjukkan dengan menurunnya gugus amino bebas. Untuk reaksi pembuatan flavor biasanya lebih efisien bila digunakan hidrolisat dengan kadar air sekitar 60 persen (May di dalam Ashurst, 1991).

Gula pereduksi sangat penting peranannya dalam reaksi Maillard dan dapat berupa monosakarida maupun disakarida (Karel dan Labuza, 1968). Disakarida lebih rendah aktivitasnya daripada monosakarida, dan aldopen-tosa lebih reaktif daripada aldoheksosa (Spark, 1969).

Menurut Hornstein di dalam Schultz et al. (1967), meningkatnya kesan flavor ditandai dengan menurunnya kadar fosfat organik, gula pereduksi, dan asam amino bebas, serta meningkatnya jumlah fosfat anorganik. Ekstrak flavor daging yang telah diproduksi secara komersial mengandung lebih banyak kreatinin dan hipox-antin. Pada ekstrak segar, peptida imidazol tidak ditemui dan konsentrasi bahan-bahan anorganik lebih tinggi.

F. METODA TANGGAP PERMUKAAN

Metoda Tanggap Permukaan atau *Response Surface Methology* (RSM) merupakan salah satu metoda yang mempelajari hubungan antara suatu respon (Y) dan k faktor

(X_1, \dots, X_k) . Hubungan tersebut dapat dinyatakan sebagai $Y = f(X_1, \dots, X_k)$, dimana f merupakan fungsi permukaan atau fungsi respon. RSM telah digunakan sejak tahun 1950 pada berbagai bidang seperti teknik kimia, pertanian, dan teknik mesin (Peng, 1967).

RSM dapat memperkirakan kondisi operasi yang optimum atau memperkirakan daerah operasi yang dicari. Efektivitas metoda ini tergantung pada perkiraan nilai f dengan polinomial orde rendah dalam beberapa peubah daerah bebas. Metoda ini banyak digunakan dalam masalah proses peubah ganda dimana ada banyak peubah yang akan ditetapkan jika interaksi antara peubah percobaan dan respon ditemukan tidak linier (Dash, 1983)

Tahapan analisis yang dilakukan dalam RSM terdiri atas tiga tahap :

1. Analisis sidik ragam. Analisis ini dimaksudkan untuk memperkirakan parameter dari model dengan metoda kuadrat terkecil (least square). Selain itu juga dapat dilihat dengan analisis ini apakah hasil yang diperoleh berpengaruh nyata terhadap model yang digunakan.
2. Analisis kanonik. Analisis ini dilakukan untuk mengetahui kecenderungan kurva yang dihasilkan dalam memperkirakan kondisi yang diinginkan. Dari perkiraan titik diam (stationary point) yang diperoleh dapat ditentukan apakah kurva tersebut mempunyai

titik maksimum, minimum, atau titik belok (saddle point).

3. Analisis daerah. Analisis ini digunakan untuk memperkirakan daerah optimum jika titik optimum yang diperoleh dari analisis sebelumnya berada di luar daerah percobaan (Anonim, 1988).

Gambar 8 menunjukkan diagram alir studi respon permukaan.



III. BAHAN DAN METODA

A. BAHAN DAN ALAT

1. Bahan

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah limbah protein yang dihasilkan dari tahap deproteinasi pembuatan kitosan. Bahan baku pembuatan flavor, selain protein tersebut, adalah D-glukosa dan sistein HCl (sistein HCl diperoleh dari IFF Jakarta).

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah HCl pekat (37 persen), NaOH, larutan PbO setengah basa, larutan Na_2CO_3 8 persen, pereaksi *Dinitro Salycilic Acid* (DNS), pereaksi molibdat, HNO_3 , H_2SO_4 , etanol 50 persen, indikator phenolphthalein, dan bahan-bahan kimia lain untuk analisa protein, kadar garam, dan analisa proksimat.

2. Alat

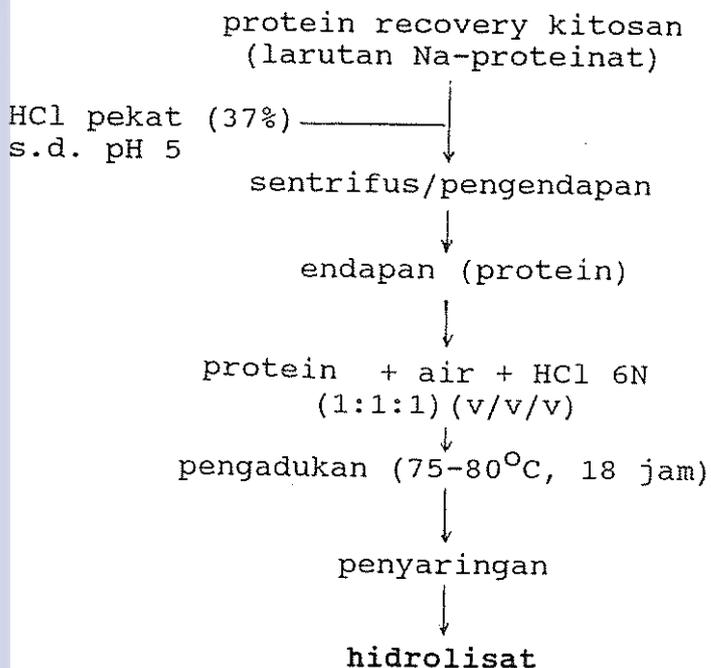
Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pH-meter, pengaduk magnetis yang dilengkapi pemanas, gelas piala, labu erlenmeyer, gelas ukur, pipet ukur, labu takar, buret, alat destilasi Kjeldahl, spektrofotometer, sentrifus, penyaring vakum, neraca, pemanas, dan oven.

Hak Cipta Ditanggung Lembaga Penerbit
1. Dilindungi undang-undang sebagai karya ilmiah yang merupakan hak cipta dan merupakan aset intelektual.
2. Diperbolehkan untuk digunakan secara terbatas untuk keperluan pendidikan, penelitian, dan informasi yang berkaitan dengan IPB University.
3. Dilarang mengutip, menyalin, dan menyebarkan kembali seluruh atau sebagian isi buku ini ke dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

B. METODA

1. Pembuatan Hidrolisat dan Pemilihan Metoda

Hidrolisis protein limbah kitosan dilakukan menggunakan HCl 6N dengan proses menurut Suparno dan T.Boedari dengan beberapa modifikasi.



Gambar 4. Diagram alir pembuatan hidrolisat dari protein limbah kitosan

Hidrolisat yang dihasilkan selanjutnya direaksikan dengan D-glukosa dan sistein-HCl dengan beberapa metoda. Metoda yang dicobakan terdiri atas metoda refluks dan metoda oven. Pada metoda refluks dicobakan satu kondisi suhu yaitu $90 \pm 5^\circ\text{C}$, sedang kondisi oven dicobakan pada 2 tingkat suhu yaitu 120°C dan 180°C .

Hasil dari ketiga metoda yang dilakukan kemudian dianalisa terhadap penurunan kadar gula pereduksi dan definisi aroma menurut tanggapan panelis. Metoda yang memberikan tanggapan organoleptik terbaik dan atau penurunan gula pereduksi yang terbesar merupakan metoda yang akan digunakan pada tahap optimasi formula selanjutnya.

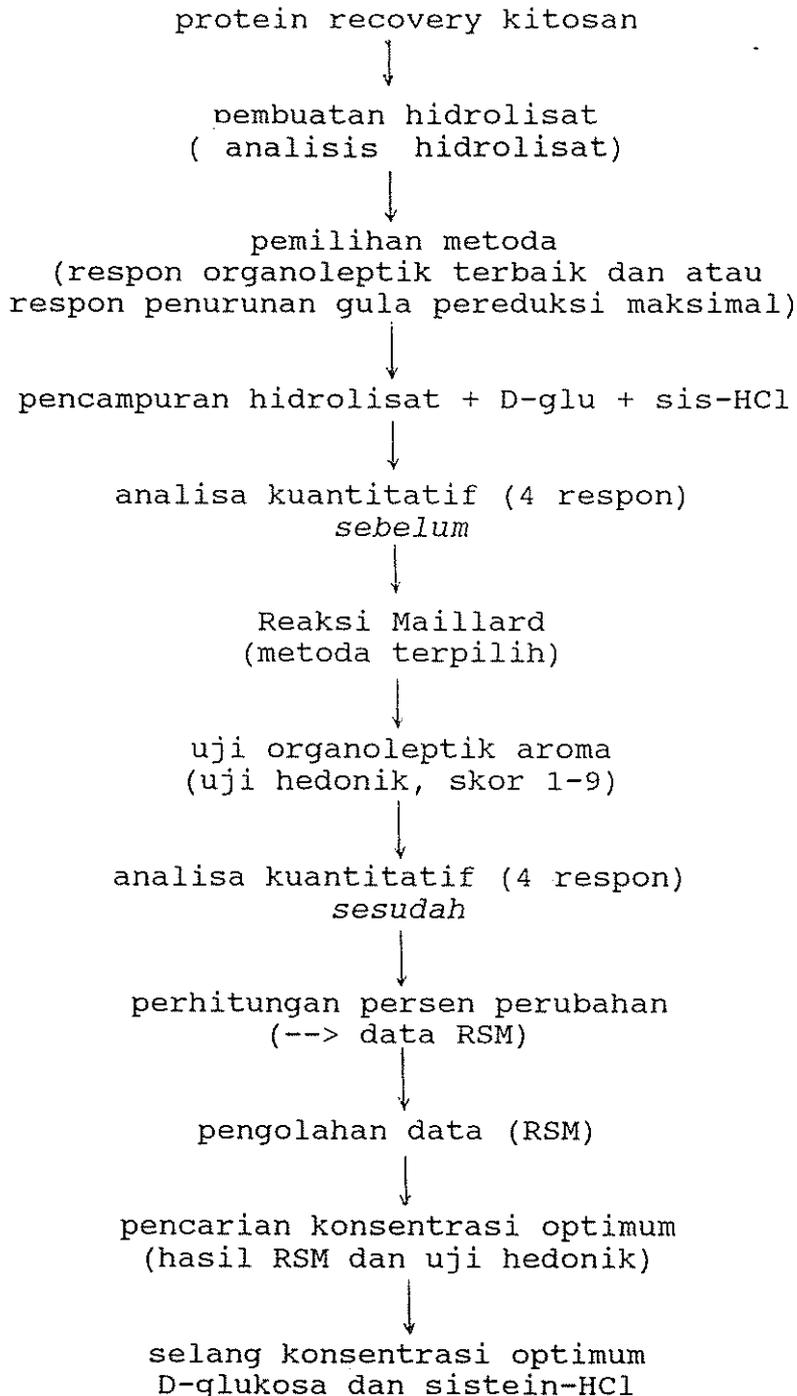
2. Optimasi Konsentrasi D-Glukosa dan Sistein HCl

Optimasi formulasi dilakukan terhadap konsentrasi sistein-HCl dan D-glukosa, menggunakan Metoda Respon Permukaan (RSM). Konsentrasi yang dicobakan ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Sandi dan taraf sebenarnya untuk konsentrasi sistein-HCl dan D-glukosa

Sandi	[D-glukosa],%	[sistein-HCl],%
(-1,-1)	1	1
(+1,-1)	5	1
(-1,+1)	1	5
(+1,+1)	5	5
(0, 0)	3	3
(-1.41 , 0)	0.17	3
(+1.41 , 0)	5.83	3
(0 , -1.41)	3	0.17
(0 , +1.41)	3	5.83

Secara keseluruhan diagram alir penelitian ini ditunjukkan pada gambar berikut.



Gambar 7. Diagram alir kerja penelitian

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. PEMILIHAN METODA

Hidrolisat yang dihasilkan melalui hidrolisis endapan protein limbah pembuatan kitosan dengan HCl 6N memiliki karakteristik seperti ditunjukkan pada tabel 4.

Tabel 4. Analisis hidrolisat dari protein limbah pembuatan kitosan menggunakan HCl 6N

Komponen	Analisis	Standar ^b
Padatan total (persen)	15,88	40,00
Nitrogen total (persen)	1,90	2,80
Protein (persen)	12,25	17,50

^bMay di dalam Ashurst (1991)

Kadar air pada hidrolisat yang dihasilkan masih sangat tinggi (84,12 persen) dan cukup jauh dari standar hidrolisat yang umum digunakan untuk pembuatan flavor (40,00 persen total padatan). Namun bila dilihat dari kandungan proteinnya, jumlahnya hampir mendekati standar. Dengan demikian kadar protein pada hidrolisat yang dihasilkan cukup tinggi dibandingkan hidrolisat yang umum digunakan yang umumnya adalah hidrolisat protein tumbuhan (dengan dasar kering masing-masing 77,14 persen untuk hidrolisat protein limbah pembuatan kitosan dan 43,75 persen untuk

hidrolisat standar). Berdasarkan hasil tersebut maka diputuskan untuk tidak melakukan pemekatan hidrolisat terlebih dahulu untuk menghemat tahapan proses. Perlakuan pendahuluan yang dilakukan adalah penyesuaian pH menjadi sekitar 5,6 (pH optimal) dengan penambahan NaOH 6N.

Pemilihan metoda dilakukan melalui pendekatan kuantitatif dan kualitatif. Pendekatan kuantitatif dilakukan dengan mengamati penurunan gula pereduksi (D-glukosa) setelah reaksi, sedangkan pendekatan kualitatif didasarkan pada tanggapan panel terhadap jenis aroma yang dihasilkan.

Hasil analisis terhadap persen penurunan gula pereduksi menunjukkan perubahan terbesar pada metoda oven pada suhu 180°C (64,75 persen), sedangkan pada kedua metoda yang lain penurunan gula pereduksi lebih kecil, masing-masing 55,25 persen pada metoda oven 120°C dan 23,08 persen pada metoda refluks. Hal ini dapat dikaitkan dengan kadar air optimal untuk reaksi Maillard, yaitu sekitar 13,0 persen (Lea dan Hannan, 1949). Dengan metoda oven keadaan tersebut suatu waktu dapat tercapai (dengan menguapnya air) namun hal ini tidak akan terjadi pada metoda refluks sehingga jumlah gula pereduksi yang bereaksi pada metoda oven lebih banyak. Dengan waktu reaksi yang lebih lama, metoda

refluks menghasilkan penurunan gula pereduksi yang lebih kecil. Selain itu dengan bertambahnya waktu reaksi (lebih lama dari 4 jam) tidak terjadi penurunan gula pereduksi yang berarti.

Aroma yang diperoleh dari metoda-metoda tersebut menunjukkan tanggapan yang berbeda dari panel. Berbagai tanggapan panel terhadap definisi aroma yang dihasilkan ditunjukkan pada tabel 5. Hasil ini menunjukkan bahwa aroma yang dihasilkan dari metoda oven lebih dapat diterima. Pemanasan pada suhu 180°C juga memberikan flavor yang lebih baik daripada pemanasan pada suhu 120°C . Hal ini dimungkinkan karena pada suhu yang tinggi (150°C atau lebih), seperti dinyatakan oleh Mason dan Katz (1976), akan terjadi penguraian gula terjadi lebih cepat membentuk hidrokarbonil dan komponen-komponen dikarbonil. Senyawa-senyawa karbonil tersebut dengan segera akan bereaksi dengan amonia atau amin membentuk pirazin.

Tabel 5. Definisi panel terhadap aroma hasil metoda refluks dan oven

Metoda (kondisi)	Definisi aroma
Refluks (90°C)	amoniak, H_2S , telur rebus
Oven (120°C)	terasi, petis
Oven (180°C)	emping, emping udang, udang bakar



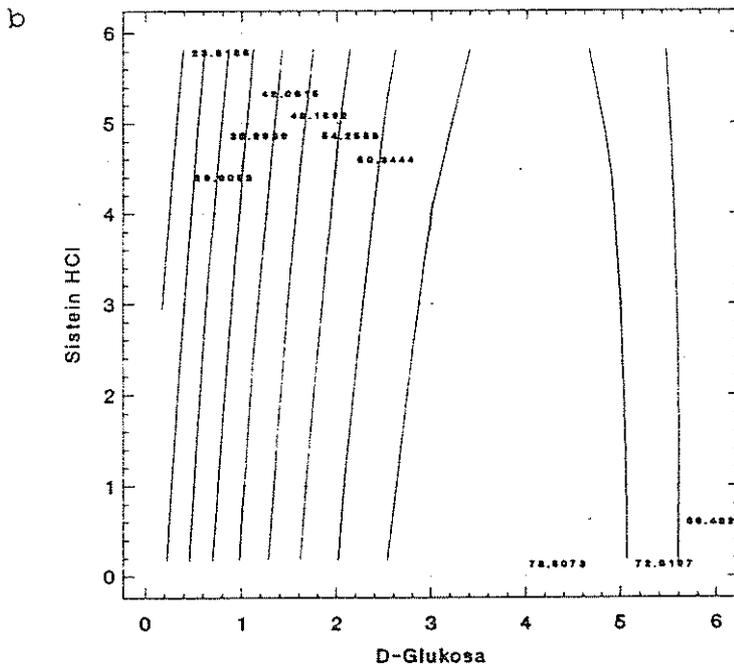
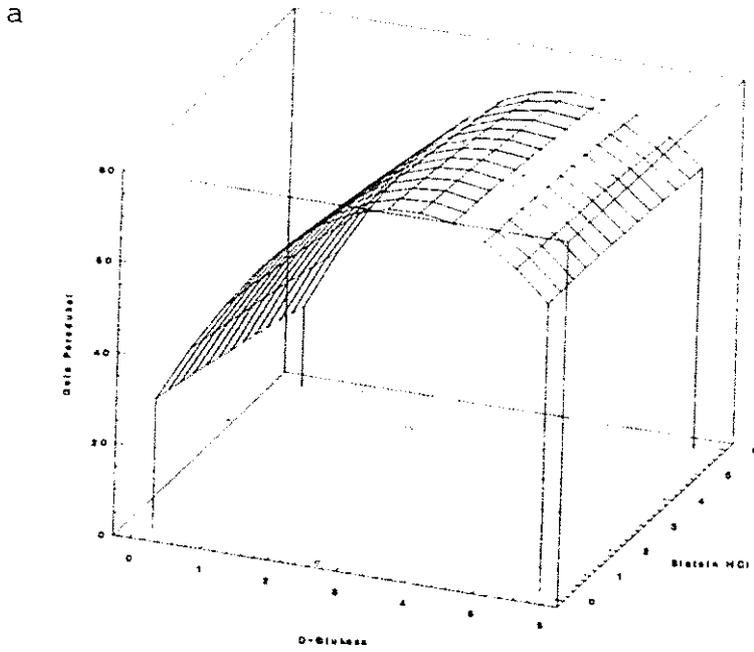
Berdasarkan hasil tersebut maka dipilih metoda oven dengan suhu 180°C. Bentuk akhir flavor yang dihasilkan metoda oven adalah padat (berupa serpihan) dan karenanya juga lebih praktis karena tidak memerlukan pengeringan semprot lebih lanjut. Jikapun diperlukan pengeringan semprot untuk penambahan bahan pengisi, materi yang rendah kadar airnya tentu akan memerlukan energi panas yang lebih kecil daripada materi yang berupa cairan.

B. OPTIMASI

Dengan menggunakan metoda terpilih, optimasi formula dilakukan untuk menentukan konsentrasi D-glukosa dan sistein-HCl optimal. Kedua bahan tersebut merupakan bahan utama reaksi Maillard yang merupakan reaksi utama pembentukan flavor pada penelitian ini.

1. Tanggapan Penurunan Gula Pereduksi

Persamaan untuk penurunan gula pereduksi adalah $Y = 24,02 + 28,77X_1 - 1,54X_2 - 3,78X_1^2 + 0,30X_1X_2 - 0,07X_2^2$. Dari persamaan tersebut diketahui bahwa persen penurunan gula pereduksi semakin besar pada konsentrasi D-glukosa yang tinggi dan pada konsentrasi sistein-HCl yang rendah. Pengaruh konsentrasi D-glukosa nyata pada taraf nyata 0.05 (linier) dan 0.06 (kuadratik) sedangkan pengaruh konsentrasi



Gambar 9. Hubungan konsentrasi D-glukosa dan sistein HCl terhadap penurunan kadar gula pereduksi, (a) Grafik tiga dimensi, (b) Fungsi tanggap dugaan

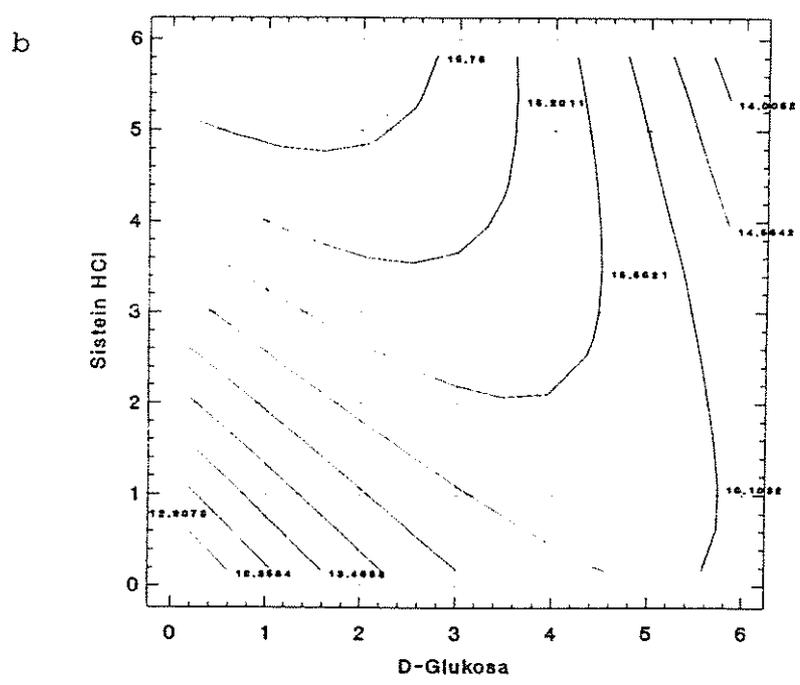
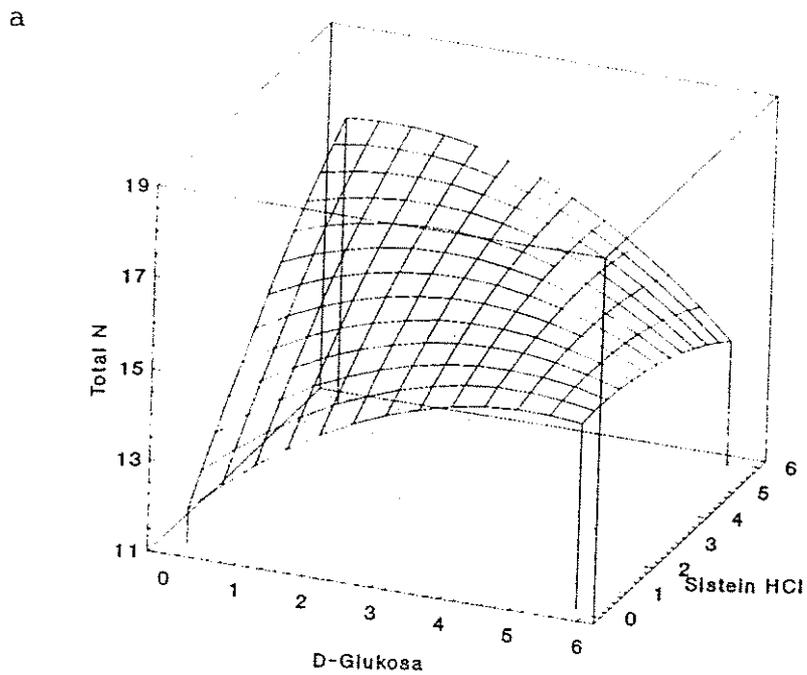
sistein-HCl tidak nyata sehingga disimpulkan bahwa penurunan gula pereduksi tidak dipengaruhi oleh konsentrasi sistein-HCl.

Peningkatan intensitas flavor dengan meningkatnya penurunan gula pereduksi dapat berasal dari komponen-komponen volatil yang terbentuk dari degradasi D-glukosa. Senyawa-senyawa volatil tersebut, menurut Mason dan Katz (1976), dapat berupa asetaldehid, asetoin, aseton, atau diasetil.

Analisis daerah optimum memberikan pilihan konsentrasi D-glukosa antara 3,00 - 3,80 persen dan konsentrasi sistein-HCl antara 0,28 - 3,00 persen. Penurunan maksimum kadar gula pereduksi adalah pada konsentrasi D-glukosa 3,68 persen dan sistein-HCl dalam jumlah yang sangat kecil, kemungkinan besar hanya dalam beberapa ppm.

2. Tanggapan Penurunan Total Nitrogen

Optimasi terhadap tanggapan penurunan nitrogen total memerlukan pengalihan (transformasi) data respon sehingga persamaan yang dihasilkan adalah $\ln(Y^2) = 11,37 + 1,43X_1 + 1,29X_2 - 0,14X_1^2 - 0,21X_1X_2 - 0,05X_2^2$. Dengan demikian penurunan nitrogen total semakin besar pada konsentrasi D-glukosa yang semakin rendah dan konsentrasi sistein-HCl yang semakin tinggi.

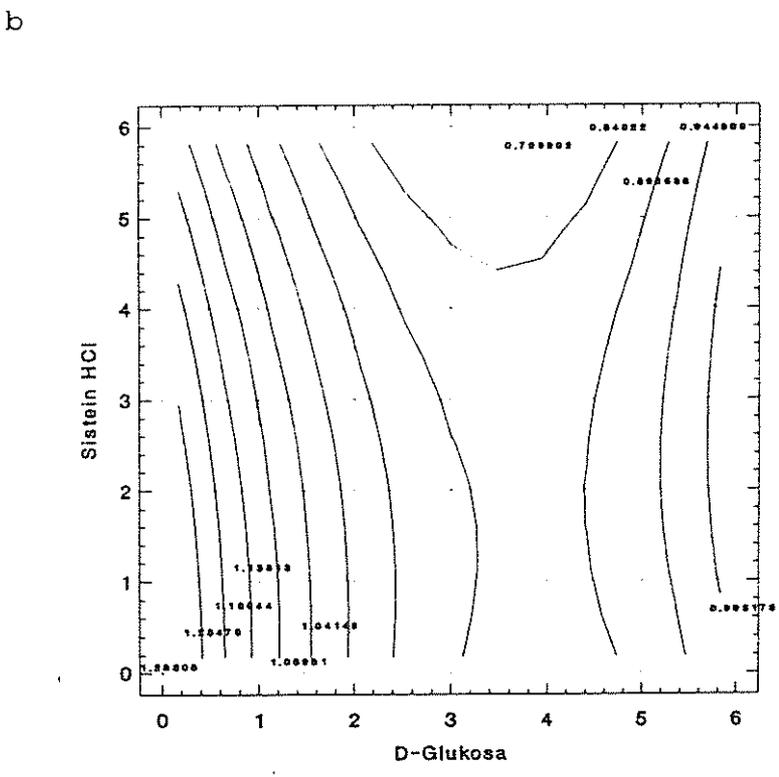
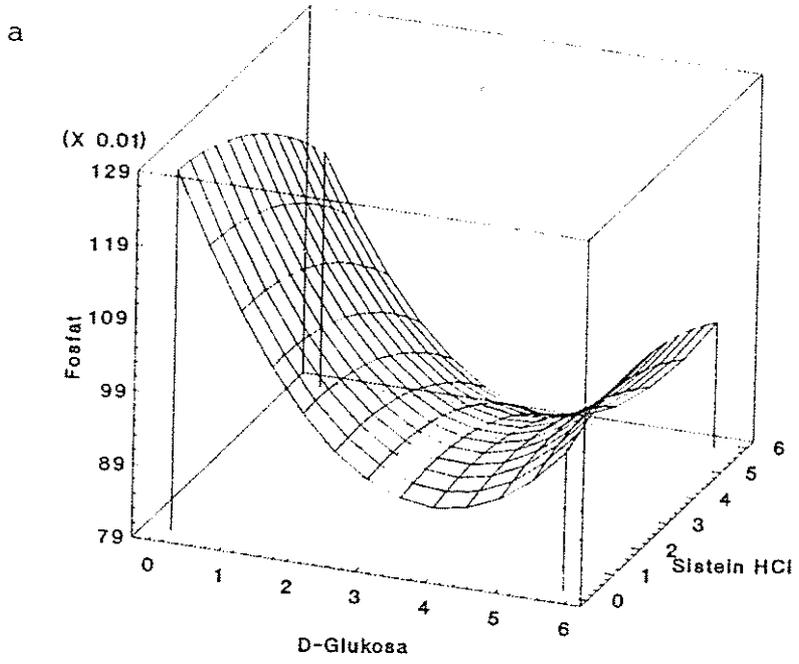


Gambar 10. Hubungan konsentrasi D-glukosa dan sistein HCl terhadap penurunan nitrogen total, (a) Grafik tiga dimensi, (b) Fungsi tanggap dugaan

3. Tanggapan Peningkatan Fosfat Anorganik

Hasil analisis terhadap kadar fosfat anorganik sebelum dan setelah reaksi menunjukkan nilai-nilai yang berbeda sangat nyata. Selain terjadi peningkatan fosfat anorganik, yang pada beberapa kombinasi konsentrasi meningkat menjadi beberapa kali lipat konsentrasi semula, terjadi pula penurunan fosfat setelah reaksi (pada konsentrasi D-glukosa 5 persen dan sistein-HCl 1 persen). Peranan fosfat anorganik terhadap flavor belum dapat dijelaskan, namun menurut Mason dan Katz (1976) fosfat secara umum akan menyebabkan gula menjadi lebih reaktif dan karenanya lebih cepat menghasilkan komponen-komponen volatil.

Persamaan untuk respon peningkatan fosfat anorganik setelah pengalihan (transformasi) adalah $\ln(\text{sqr}(\text{abs}(Y))) = 1,322 - 0,227X_1 - 0,004X_2 + 0,029X_1^2 + 0,005X_1X_2 - 0,004X_2^2$. Dengan persamaan transformasi ini perkiraan nilai tanggap mendekati nilai yang sebenarnya (*lack of fit* tidak nyata), sehingga diduga yang lebih berperan adalah nilai perubahan yang terjadi dan bukannya pada jenis perubahan (peningkatan atau penurunan kadar fosfat anorganik). Selain itu, seperti dinyatakan Alexeyev (1967), senyawa-senyawa pereduksi dan ion Cl^- merupakan faktor pengganggu pada analisis karena dapat



Gambar 11. Hubungan konsentrasi D-glukosa dan sistein HCl terhadap peningkatan kadar fosfat anorganik, (a) Grafik tiga dimensi, (b) Fungsi tanggapan duga

menyebabkan ion molibdat tereduksi menjadi molibdenum biru ($\text{Mo}_3\text{O}_8 \cdot x\text{H}_2\text{O}$) sehingga tidak dapat dengan sempurna mengendapkan ion fosfat sebagai amonium fosfomolibdat atau $(\text{NH}_4)_3(\text{H}_3\text{O})_4[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6]$.

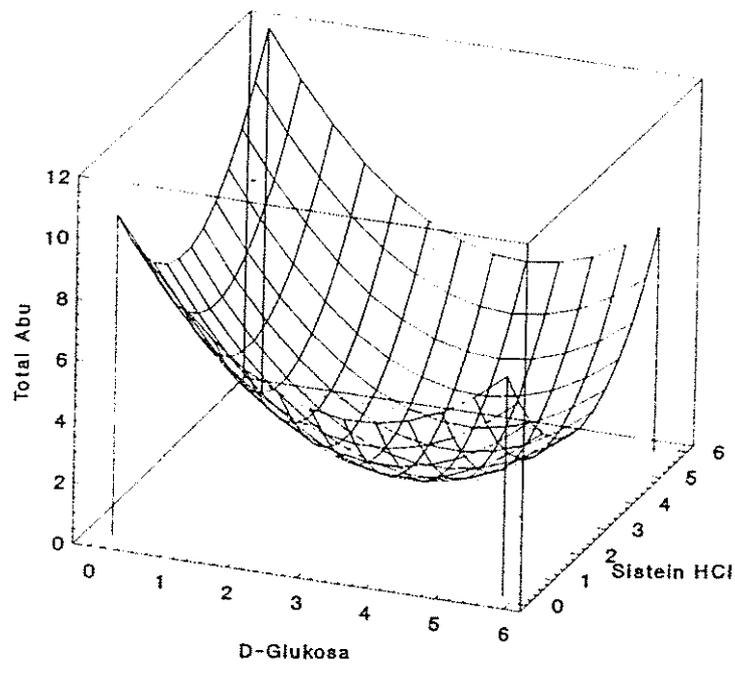
Perkiraan daerah optimum untuk maksimasi perubahan kadar fosfat anorganik menunjukkan kisaran konsentrasi antara 0,19 - 3,00 persen D-glukosa dan 2,63 - 3,00 persen sistein-HCl. Perubahan terbesar adalah peningkatan sebesar 302,00 persen pada konsentrasi D-glukosa dan sistein-HCl masing-masing 0,19 persen dan 2,63 persen.

4. Tanggapan Peningkatan Total Bahan Anorganik (Abu)

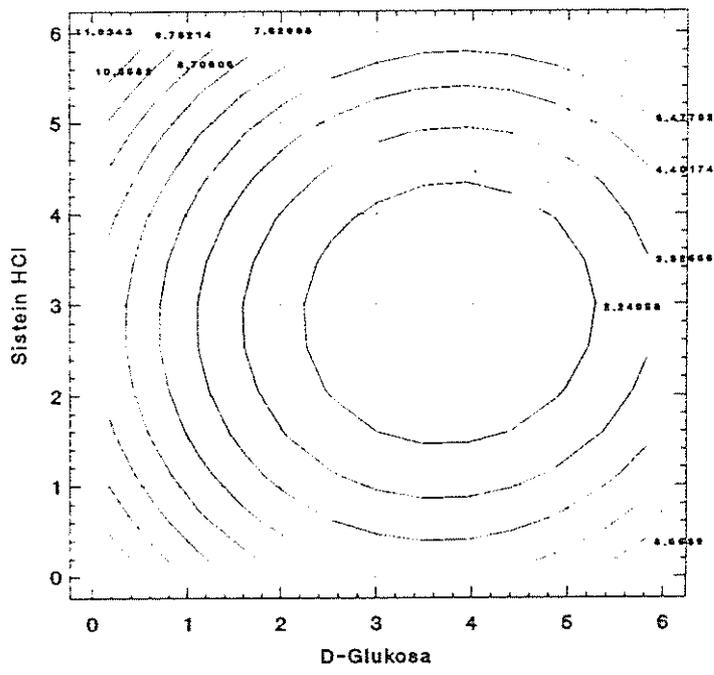
Persamaan pengalihan (transformasi) yang diberikan untuk peningkatan kadar abu adalah $\ln(Y^2) = 11,57 - 3,37X_1 - 2,83X_2 + 0,46X_1^2 - 0,04X_1X_2 + 0,51X_2^2$. Pada tanggapan ini, baik konsentrasi D-glukosa dan sistein-HCl berpengaruh nyata (masing-masing pada taraf nyata 0,035 dan 0,057 untuk hubungan linier dan 0,039 dan 0,029 untuk hubungan kuadratik).

Peran bahan anorganik (yang diwakili dengan abu total ini) tidak dapat diabaikan dalam flavor daging, khususnya yang berasal dari ikan dan udang-udangan (Konosu dan Yamaguchi di dalam Martin,

a



b



Gambar 12. Hubungan konsentrasi D-glukosa dan sistein HCl terhadap peningkatan kadar abu (bahan anorganik total), (a) Grafik tiga dimensi, (b) Fungsi tanggap dugaan

1982). Bahan-bahan anorganik, dalam bentuk garam anorganik, yang terdapat dalam flavor ini diduga adalah yang mengandung ion Na^+ , Cl^- , dan PO_4^{3-} (yang terakhir diduga berasal dari bahan baku limbah udang yang digunakan).

Daerah optimum untuk peningkatan total bahan anorganik (abu total) adalah pada konsentrasi D-glukosa 0,45 - 3,00 persen dan konsentrasi sistein-HCl antara 3,00 - 4,23 persen. Peningkatan total bahan anorganik maksimal diperoleh sebesar 38,28 persen yaitu pada konsentrasi D-glukosa dan sistein-HCl berturut-turut 0,45 persen dan 4,23 persen.

5. Tanggapan Organoleptik terhadap Aroma dan Hubungannya dengan Data Kuantitatif

Analisis korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan antara skor hedonik panel terhadap aroma dan keempat tanggapan yang dianalisis. Analisis hubungan berjenjang Spearman menunjukkan bahwa nilai hedonik tidak berhubungan dengan tanggap peningkatan fosfat anorganik, gula pereduksi, maupun abu total, namun berbanding terbalik dengan penurunan nitrogen total (taraf nyata = 0,10 - 0,25). Berdasarkan nilai koefisien tersebut disimpulkan bahwa nilai yang lebih tinggi cenderung diberikan pada konsentrasi kedua bahan yang rendah. Selain itu

berdasarkan hubungan nilai organoleptik dengan hasil analisis, disimpulkan bahwa panelis cenderung lebih menyukai intensitas aroma yang tidak terlalu tinggi namun lebih mementingkan tipe aroma yang dihasilkan.

Selanjutnya dengan uji lanjutan Friedman (uji perbandingan pasangan), disimpulkan bahwa penggunaan sistein-HCl sebesar 3 persen atau lebih cenderung berbanding terbalik dengan nilai hedonik panel terhadap aroma. Selain itu perbandingan sistein-HCl terhadap D-glukosa yang lebih besar dari nilai 1,00 diperkirakan cenderung memberikan flavor yang kurang disukai (sebagai contoh sampel 1% : 5%).

Berdasarkan hasil tersebut maka disimpulkan bahwa optimasi tidak dilakukan pada dua respon yang daerah optimumnya berada dalam konsentrasi di atas 3 persen, yaitu tanggapan peningkatan abu total dan penurunan nitrogen total. Dengan kendala yang diberikan, yaitu $X_2/X_1 \leq 1,0$ (X_1 = konsentrasi D-glukosa dan X_2 = konsentrasi sistein-HCl), tanggapan fosfat anorganik berada di luar wilayah layak. Dengan demikian optimasi yang dilakukan adalah optimasi terhadap tanggapan penurunan gula pereduksi. Dengan melihat perkiraan daerah optimum untuk respon ini, hasil optimum diperkirakan berada pada selang konsentrasi D-glukosa antara 3,00 - 3,80 persen dan sistein-HCl antara 3,00 - 0,28 persen.

belerang, dan hidrolisat) dapat memberikan flavor yang lebih lengkap. Lemak juga dapat memberikan kesan khusus pada flavor yang tidak dapat dihasilkan dengan menggunakan asam amino, gula, dan sumber sulfur saja.

DAFTAR PUSTAKA

- Alexeyev, V.N. 1967. Qualitative Analysis. Mir Publishers, Moscow.
- Anonim. 1988. SAS/STAT User's Guide, Release 6.03 ed. SAS Institute Inc., Carry, New Castle.
- AOAC. 1980. Official Methods of Analysis of Association of Official Agricultural Chemists ed.14. AOAC Inc., Arlington-Virginia.
- Austin, P.R., C.J.Brine, J.E.Castle, dan J.P.Zikakis. 1981. Chitin : New Facets of Research di dalam Science 212 (4494). American Association for The Advancement of Science (AAAS).
- Box, G.E.P. 1978. Statistics for Experimenters. An Introduction to Designs, Data Analysis, and Model Buildings. John Wiley and Son, New York.
- Bustaman, S., J.T.Murtini, N.Rahayu, dan S.Putro. 1984. Studi Pendahuluan Identifikasi dan Isolasi Flavour Udang dan Bandeng. Di dalam. Laporan Penelitian Teknologi Perikanan no.30, Balai Penelitian Teknologi Perikanan, Jakarta.
- Daniel, W.W. 1989. Statistika Nonparametrik Terapan. Terjemahan. Gramedia, Jakarta.
- Dash, A.A., R.Gonzales, dan M.Ciol. 1983. Response Surface Methodology in The Control of Thermoplastic Extrusion of Starch. J.Food Eng.2 : 129
- Ditjen Perikanan. 1990. Buletin Warta Mina. Media Informasi dan Komunikasi Pertanian IV(38). Ditjen Perikanan, Jakarta.
- Ellis, G.P. 1959. The Maillard Reaction. Advan.Carbohyd.Chem.14 : 63.
- Eskin, N.A.M., H.M.Henderson, dan R.J.Townsend. 1971. Biochemistry of Foods. Academic Press, New York-San Francisco-London.
- Herz, K.O. dan S.S.Chang. 1970. Meat Flavor. Di dalam. C.O.Chichester, E.M.Mrak, dan G.F.Stewart (eds.). Advances in Food Research vol.18. Academic Press, New York - London.

- Hodge, J.E. 1953. Chemistry of Browning Reactions in Model System. J.Agr.Food Chem. 1 : 928.
- Hornstein. 1967. Flavor of Red Meats. Di dalam. H.W.Schultz, E.A.Day, dan L.M.Libbey (eds). Symposium on Foods : The Chemistry and Physiology of Flavors, p.228. AVI Publishing Company Inc., Westport dan Connecticut.
- Indriaty, S. 1992. Pengaruh Penambahan HCl dan Waktu Hidrolisis terhadap Mutu Hidrolisat Protein Kepala Udang. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Konosu, S. dan K.Yamaguchi. 1982. The Flavor Components in Fish and Shellfish. Di dalam. R.E.Martin (ed.). Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products. AVI Publishing Co., Inc., Westport, Connecticut.
- Karel, M. dan T.P.Labuza. 1968. Nonenzymatic Browning in Model Systems Containing Sucrose. J.Agr.Food Chem.16 :717.
- Karmas, E. 1982. Meat, Poultry, and Seafood Technology. Noyes Data Corporation, New York.
- Kirk, P.L. 1950. Quantitative Ultramicroanalysis. John Wiley and Sons Inc., New York-London.
- Knoor, D. 1982. Functional Properties of Chitin and Chitosan. J.Food Sci.47 : 593
- Knoor, D. 1983. Dye Binding Properties of Chitin and Chitosan. J.Food Sci.48 : 36
- Knoor, D. 1991. Recovery and Utilization of Chitin and Chitosan in Food Processing Waste Management. J.Food Tech.
- Kuenzel, H. dan D.Bahri. 1991. Synthetic Ingredients of Food Flavours. Di dalam. Ashurst, P.R.(ed.). Food Flavours, p.115. Blackie, Glasgow dan London.
- Lea, C.H. dan R.S. Hannan. 1949. Studies of The Reaction Between Proteins and Redcing Sugars in The "Dry" State I. The Effect of Activity of Water, of pH, and of Temperature on The Primary Reaction Between Casein and Glucose. Biochim.Biophys.Acta 3 : 313.

- Lees, R. 1975. Food Analysis : Analytical and Quality Control Methods for The Food Manufacturers and Buyers. Leonard Hill Books, London.
- May, C.G. 1991. Process Flavourings. Di dalam. Ashurst, P.R.(ed.). Food Flavourings, p.257. Blackie, Glasgow dan London
- Muljanah, I. 1993. Hidrolisat Protein Ikan. Di dalam. Kumpulan Hasil-hasil Penelitian Pasca Panen Perikanan, p.142. Balai Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan, Jakarta.
- Nagodawithana, T. 1992. Yeast-Derived Flavors and Flavors Enhancers and Their Probable Mode of Action. J.Food Techology 46(11) : 140
- Neville, A.C. 1975. Biology of The Arthropod Article. Springer-Verlag, Berlin-Herderburg-New York.
- Peng, K.C. 1967. The Design and Analysis of Scientific Experiments. An Inroduction with Some Emphasis on Computation. Addison-Wesley Publishing Co., Massachusetts.
- Purwantiningsih. 1990. Isolasi Kitin dan Senyawaan Kimia dari Limbah Udang Windu (*Penaeus monodon*). Jurusan Kimia FMIPA-IPB, Bogor.
- Reynolds, T.M. 1963. Chemistry of Nonenzymic Browning I. Advan.Food Res.12 : 1.
- Reynolds, T.M. 1965. Chemistry of Nonenzymic Browning II. Advan.Food Res.14 : 168.
- Santoso, U. 1990. Studi tentang Kitin Cangkang Udang (*Penaeus margulensis*) I : Isolasi menggunakan *Actinase E* dan EDTA. Agritech 10(3) : 3
- Society of Flavor Chemists. 1968. Flavor Chemists Devine Flavor Two Ways. Food Technol. 22 : 1496
- Spark, A.A. 1969. Role of Amino Acids in Nonenzymic Browning. J.Sci.Food Agr.20 :308.
- Sugano, M., S.Watanabe, A.Kishi, M.Izume, dan K.Ohtakara. 1982. Lipids 23(3) : 187
- Suparno dan T.Boedari. 1982. Pembuatan Kecap Ikan dari Ikan Kembung (*Rastreligger sp.*) secara Hidrolisa Asam. Laporan Penelitian Teknologi Perikanan.

Susana. 1982. Pengaruh Penambahan HCl dan waktu Hidrolisa terhadap Mutu Hidrolisat Protein Jengger Udang. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Takeuchi, M. 1984. Fish as Health Food in Japan. Info.Fish Marketing Digest 1 : 26

West, E.S. dan W.R.Todd. 1964. Textbook of Biochemistry. 3rd edition. The Macmillan Co., New York.

Widjaja, K. 1987. Mempelajari Pembuatan dan Pengawetan Hidrolisat Protein Ikan Lemuru (*Sardinella sp.*). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Wong, D.W.S. 1989. Mechanism and Theory in Food Chemistry. Van Nostrand Reinhold, New York.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Tatacara analisis

1. Penentuan konsentrasi gula pereduksi metoda DNS (AOAC, 1980)

Sebanyak 2,5 ml contoh dimasukkan ke dalam labu takar 10 ml dan ditambahkan larutan PbO setengah basa tetes demi tetes untuk mengendapkan bahan-bahan yang terendapkan. Penetesan dilakukan sampai dengan tidak menimbulkan perubahan lagi. Selanjutnya ditambahkan air sampai dengan tanda tera, dikocok, dan disaring.

Filtrat kemudian dibebaskan dari kelebihan Pb dengan penambahan Na_2CO_3 tetes demi tetes sampai dengan penetesan tidak lagi menimbulkan endapan putih. Selanjutnya ditambahkan aquades sampai dengan tanda tera, dikocok, dan sampel didiamkan satu malam atau disentrifus selama lima menit untuk mengendapkan endapan putih Pb. Filtrat yang terbentuk siap untuk dianalisa kadar gula pereduksinya.

Sebanyak 1 mililiter filtrat tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 3 mililiter pereaksi Dinitro Salicylic Acid (DNS), dan dikocok. Tabung dipanaskan dalam air mendidih selama 5 menit dan didinginkan hingga mencapai suhu ruang. Pembacaan absorbansi dilakukan

pada panjang gelombang 550 nm. Absorbansi terukur selanjutnya dibandingkan dengan kurva standar untuk mendapatkan konsentrasi gula pereduksi.

Kurva standar dibuat dengan larutan glukosa dengan berbagai konsentrasi pada selang 0.2 - 0.5 mg glukosa per ml. Untuk blanko (100 % transmians) digunakan 1 ml aquades sebagai pengganti sampel.

2. Penentuan kadar nitrogen dengan metoda mikro Kjeldahl (AOAC, 1980)

Sebanyak 1 ml contoh dimasukkan ke dalam labu kjeldahl dan ditambahkan 1 gram katalis CuSO_4 dan Na_2SO_4 (1 : 1.2) dan 2,5 ml H_2SO_4 pekat. Campuran kemudian didestruksi sampai dengan terbentuk cairan bening kehijauan dan didinginkan sampai mencapai suhu ruang.

Campuran dimasukkan ke dalam alat destilasi kjeldahl dan dibilas dengan aquades, kemudian ditambahkan 15 ml NaOH 50 persen. Destilasi dilakukan dan destilat ditampung ke dalam erlenmeyer 10 ml yang telah berisi 25 ml HCl 0,02 N dan 3-4 tetes indikator mengsel. Setelah tertampung sekitar 25 ml destilat, destilasi dihentikan dan segera dilakukan titrasi dengan NaOH 0.02 N sampai warna ungu mengsel menjadi hijau atau

kehijauan. Blanko dikerjakan dengan mengganti contoh dengan 1 ml aquades.

Persen nitrogen dalam sampel dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\text{Persen N} = \frac{(a-b) \times 14 \times N \text{ NaOH}}{\text{mg contoh}} \times 100\%$$

dimana : a = ml titer blanko
b = ml titer contoh

3. Penentuan kadar fosfat anorganik (Kirk, 1950)

Sebanyak 1 ml contoh dimasukkan ke dalam erlenmeyer 100 ml dan ditambahkan 1 ml larutan asam nitrat-sulfur dan 4 ml pereaksi molibdat. Campuran dikocok dan dibiarkan selama satu malam sehingga endapan fosfat-molibdat yang terbentuk mengendap sempurna. Untuk mencegah penguapan, labu ditutup dengan tutup yang rapat dan agak berat.

Endapan kuning kemudian disaring dengan penyaring asbes dan dibilas dengan sedikitnya 20 tetes etanol 5 persen. Penyaring asbes dan endapan yang tertahan selanjutnya dimasukkan kembali ke dalam erlenmeyer semula dan ditambahkan NaOH 1 N sampai berlebih (sekitar 50 ml).. Campuran dipanaskan selama 5 menit pada suhu di bawah 100°C kemudian ditambahkan sejumlah volume yang sama (50 ml) HCl 1 N dan beberapa tetes

indikator phenolftalein. Titrasi dilakukan menggunakan NaOH 0.1 N sampai terbentuk merah jambu. Titrasi dilakukan dengan pengaduk magnetis dan panas sedang.

Blanko dilakukan dengan mengganti sampel dengan 1 ml aquades. Konsentrasi fosfat anorganik ditentukan sebagai berikut :

$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi fosfat anorganik (mikrogram)} \\ = (\text{ml contoh} - \text{ml blanko}) \times 10^3 \times 0,1107 \end{aligned}$$

4. Kadar Abu (AOAC, 1980)

Cawan porselen dipanaskan di dalam tanur, kemudian didinginkan di dalam desikator dan ditimbang secepatnya setelah mencapai suhu kamar. Contoh sebanyak 3 - 5 gram ditimbang di dalam cawan kemudian dibakar pada suhu 550°C sampai beratnya tetap dan didinginkan dalam desikator lalu ditimbang secepatnya setelah mencapai suhu kamar. Kadar abu dihitung dengan rumus :

$$\text{Kadar abu} = \frac{W_2 - W_1}{\text{berat contoh}} \times 100\%$$

dengan, W2 = berat cawan dan isi setelah diabukan

W1 = berat cawan

Lampiran 2. Hasil analisa keempat respon sebagai masukan RSM

[D-glu] (%)	[Sis-HCl] (%)	Persen perubahan (%)			
		GULA	NITROGEN	FOSFAT	ABU
1,00	1,00	56,69	7,75	75,00	21,49
5,00	1,00	64,98	8,63	-17,58	12,85
1,00	5,00	47,97	12,37	143,24	28,61
5,00	5,00	61,02	9,88	47,92	12,56
3,00	3,00	74,58	15,38	67,57	-1,41
3,00	3,00	72,84	16,59	66,67	-2,94
0,17	3,00	12,15	19,99	344,44	-92,21
5,83	3,00	75,98	20,90	260,87	-2,34
3,00	0,17	75,37	21,16	244,00	-9,68
3,00	5,83	72,19	21,15	31,48	17,43

Lampiran 3. Hasil perhitungan RSM untuk tanggapan penurunan kadar gula pereduksi

X1	X2	Gula Pereduksi
1	1	56.69
5	1	64.98
1	5	47.97
5	5	61.02
3	3	74.58
3	3	72.84
0.17	3	12.15
5.83	3	75.98
3	0.17	75.37
3	5.83	72.19

SAS

Coding Coefficients for the Independent Variables

Factor	Subtracted off	Divided by
X1	3.000000	2.830000
X2	3.000000	2.830000

SAS

Response Surface for Variable GULA_RED

Response Mean	61.377000
Root MSE	12.313747
R-Square	0.8252
Coef. of Variation	20.0625

	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
Regression					
Linear	2	1594.484926	0.4595	5.258	0.0759
Quadratic	2	1263.151645	0.3640	4.165	0.1052
Crossproduct	1	5.664400	0.0016	0.0374	0.8562
Total Regress	5	2863.300972	0.8252	3.777	0.1111

	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
Residual					
Lack of Fit	3	604.999638	201.666546	133.2	0.0636
Pure Error	1	1.513800	1.513800		
Total Error	4	606.513438	151.628360		

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T
INTERCEPT	1	24.017683	22.163398	1.084	0.3395
X1	1	28.767510	10.029027	2.868	0.0455
X2	1	-1.541945	10.029027	-0.154	0.8853
X1*X1	1	-3.780862	1.438777	-2.628	0.0583
X2*X1	1	0.297500	1.539218	0.193	0.8562
X2*X2	1	-0.070615	1.438777	-0.0491	0.9632

Parameter	Parameter Estimate from Coded Data
INTERCEPT	73.708583
X1	19.738786
X2	-3.036970
X1*X1	-30.280548
X2*X1	2.382648
X2*X2	-0.565548

IPB University
 Institut Pertanian Bogor
 Jl. Raya Pajadjaran, Bogor, Jawa Barat 16155
 Telp. (0251) 8717344
 www.ipb.ac.id

SAS

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
X1	3	2610.345373	870.115124	5.738	0.0623
X2	3	42.901898	14.300633	0.0943	0.9592

SAS

Canonical Analysis of Response Surface
(based on coded data)

Factor	Critical Value		
	Coded	Uncoded	
X1	0.240204	3.679777	Konsentrasi D-glukosa
X2	-2.178992	-3.166546	Konsentrasi Sistein-HCl

Predicted value at stationary point 79.388016

Eigenvalues	Eigenvectors	
	X1	X2
-0.517862	0.039995	0.999200
-30.328234	0.999200	-0.039995

Stationary point is a maximum.

SAS

Estimated Ridge of Maximum Response for Variable GULA_RED

Coded Radius	Estimated Response	Standard Error	Uncoded Factor X1	Uncoded Factor X2
0.0	73.708583	8.707128	3.000000	3.000000
0.1	75.407734	8.642310	3.277388	2.943919
0.2	76.525200	8.454301	3.540176	2.830986
0.3	77.143166	8.163918	3.729099	2.565011
0.4	77.492321	7.810886	3.796176	2.195309
0.5	77.748103	7.461330	3.814720	1.843083
0.6	77.962482	7.215806	3.818772	1.512446
0.7	78.151379	7.207755	3.816950	1.195297
0.8	78.321276	7.575908	3.812152	0.886684
0.9	78.475358	8.413429	3.805622	0.583767
1.0	78.615393	9.738306	3.797986	0.284836



Lampiran 4. Hasil perhitungan RSM untuk tanggapan penurunan nitrogen total

SAS

Scaling Coefficients for the Independent Variables

Factor	Subtracted off	Divided by
X1	3.000000	2.830000
X2	3.000000	2.830000

SAS

Response Surface for Variable TOTALN

Response Mean	15.380000
Root MSE	7.975888
R-Square	0.0324
Coef. of Variation	51.8588

Regression	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
Linear	2	4.296971	0.0163	0.0338	0.9671
Quadratic	2	1.382068	0.0053	0.0109	0.9892
Crossproduct	1	2.839225	0.0108	0.0446	0.8430
Total Regression	5	8.518264	0.0324	0.0268	0.9994

Residual	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
Lack of Fit	3	253.727086	84.575695	115.5	0.0683
Pure Error	1	0.732050	0.732050		
Total Error	4	254.459136	63.614784		

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T
INTERCEPT	1	11.374242	14.355726	0.792	0.4725
X1	1	1.432956	6.496024	0.221	0.8362
X2	1	1.286971	6.496024	0.198	0.8526
X1*X1	1	-0.136870	0.931928	-0.147	0.8903
X2*X1	1	-0.210625	0.996986	-0.211	0.8430
X2*X2	1	-0.048218	0.931928	-0.0517	0.9612

Parameter	Parameter Estimate from Coded Data
INTERCEPT	15.972610
X1	-0.055984
X2	1.035178
X1*X1	-1.096174
X2*X1	-1.686875
X2*X2	-0.386174

SAS

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
X1	3	4.224373	1.408124	0.0221	0.9948
X2	3	7.293514	2.431171	0.0382	0.9886

SAS

Canonical Analysis of Response Surface
(based on coded data)

Factor	Critical Value		
	Coded	Uncoded	
X1	1.553627	7.396763	Konsentrasi D-glukosa
X2	-2.052953	-2.809858	Konsentrasi Sistein-HCl

Predicted value at stationary point 14.865758

Eigenvalues	Eigenvectors	
	X1	X2
0.173928	-0.553202	0.833047
-1.656276	0.833047	0.553202

Stationary point is a saddle point.

SAS

Estimated Ridge of Maximum Response for Variable TOTALN

Coded Radius	Estimated Response	Standard Error	Uncoded Factor Values	
			X1	X2
0.0	15.972610	5.639801	3.000000	3.000000
0.1	16.074358	5.597816	2.948553	3.278284
0.2	16.175064	5.476039	2.850676	3.545947
0.3	16.277034	5.287940	2.729970	3.804913
0.4	16.381272	5.059234	2.597243	4.057928
0.5	16.488266	4.832782	2.457585	4.306909
0.6	16.598271	4.673756	2.313608	4.553084
0.7	16.711438	4.668640	2.166773	4.797246
0.8	16.827858	4.907324	2.017950	5.039920
0.9	16.947590	5.450149	1.867692	5.281466
1.0	17.070675	6.308730	1.716364	5.522138

Lampiran 5. Hasil perhitungan RSM untuk tanggapan peningkatan kadar fosfat anorganik

SAS

OBS	X1	X2	FOSFAT1	FOSFAT2 (ln(sqrt(abs(fosfat1))))
1	0.17	3.00	344.44	1.26856
2	1.00	1.00	75.00	0.93753
3	1.00	5.00	143.24	1.07803
4	3.00	0.17	244.00	1.19369
5	3.00	3.00	67.57	0.91488
6	3.00	3.00	54.05	0.86640
7	3.00	5.83	31.48	0.74902
8	5.00	1.00	-17.58	0.62251
9	5.00	5.00	47.92	0.84026
10	5.83	3.00	260.87	1.20821

SAS
Coding Coefficients for the Independent Variables

Factor	Subtracted off	Divided by
X1	3.000000	2.830000
X2	3.000000	2.830000

SAS
Response Surface for Variable FOSFAT1

Response Mean	125.099000
Root MSE	136.176188
R-Square	0.4157
Coef. of Variation	108.8547

Regression	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
Linear	2	15193	0.1197	0.410	0.6889
Quadratic	2	37586	0.2961	1.013	0.4405
Crossproduct	1	1.876900	0.0090	0.0001	0.9925
Total Regress	5	52781	0.4157	0.569	0.7258

Residual	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
Lack of Fit	3	74084	24695	270.2	0.0447
Pure Error	1	91.395200	91.395200		
Total Error	4	74176	18544		

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T
INTERCEPT	1	328.961167	245.102255	1.342	0.2507
X1	1	-140.786483	110.909752	-1.269	0.2731
X2	1	-8.544032	110.909752	-0.0770	0.9423
X1*X1	1	20.362733	15.911258	1.280	0.2698
X2*X1	1	-0.171250	17.022024	-0.0101	0.9925
X2*X2	1	-0.228734	15.911258	-0.0144	0.9892

Parameter	Parameter Estimate from Coded Data
INTERCEPT	60.634364
X1	-54.120451
X2	-29.517426
X1*X1	163.083093
X2*X1	-1.371524
X2*X2	-1.831907

SAS

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
X1	3	42083	14028	0.756	0.5738
X2	3	3488.886360	1162.962120	0.0627	0.9768

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T
INTERCEPT	1	1.322138	0.459687	2.876	0.0452
X1	1	-0.227019	0.208010	-1.091	0.3364
X2	1	-0.004032	0.208010	-0.0194	0.9855
X1*X1	1	0.028779	0.029841	0.964	0.3895
X2*X1	1	0.004828	0.031925	0.151	0.8871
X2*X2	1	-0.004563	0.029841	-0.153	0.8859

Parameter	Parameter Estimate from Coded Data
INTERCEPT	0.890375
X1	-0.112816
X2	-0.047901
X1*X1	0.230484
X2*X1	0.038666
X2*X2	-0.036544

SAS

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
X1	3	0.113037	0.037679	0.578	0.6599
X2	3	0.012190	0.004063	0.0623	0.9771

SAS

Canonical Analysis of Response Surface
(based on coded data)

Factor	Critical Value		
	Coded	Uncoded	
X1	0.286975	3.812139	Konsentrasi D-glukosa
X2	-0.503562	1.574920	Konsentrasi Sistein-HCl

Predicted value at stationary point 0.886248

Eigenvalues	Eigenvectors	
	X1	X2
0.231877	0.997416	0.071840
-0.037936	-0.071840	0.997416

Stationary point is a saddle point.

SAS

Estimated Ridge of Maximum Response for Variable FOSFAT2

Coded Radius	Estimated Response	Standard Error	Uncoded Factor Values X1	X2
0.0	0.890375	0.180593	3.000000	3.000000
0.1	0.904749	0.179249	2.729904	2.915518
0.2	0.923543	0.175349	2.451397	2.860751
0.3	0.946881	0.169326	2.170467	2.819235
0.4	0.974809	0.162002	1.888682	2.784603
0.5	1.007346	0.154749	1.606552	2.753977
0.6	1.044503	0.149652	1.324272	2.725884
0.7	1.086286	0.149481	1.041926	2.699491
0.8	1.132698	0.157113	0.759551	2.674296
0.9	1.183741	0.174482	0.477166	2.649974
1.0	1.239417	0.201960	0.194781	2.626311

This document is the property of Institut Pertanian Bogor (IPB) and is not to be distributed outside the institution. All rights reserved.

SAS

Canonical Analysis of Response Surface
(based on coded data)

Factor	Critical Value		
	Coded	Uncoded	
X1	0.131844	3.373119	Konsentrasi D-glukosa
X2	-8.105831	-19.939501	Konsentrasi Sistein-HCl

Predicted value at stationary point 176.698259

Eigenvalues	Eigenvectors	
	X1	X2
163.085945	0.999991	-0.004158
-1.834758	0.004158	0.999991

Stationary point is a saddle point.

SAS

Estimated Ridge of Maximum Response for Variable FOSFAT1

Coded Radius	Estimated Response	Standard Error	Uncoded Factor Values	
			X1	X2
0.0	60.634364	96.291047	3.000000	3.000000
0.1	68.164355	95.574229	2.732448	2.907777
0.2	78.689514	93.495051	2.450605	2.863908
0.3	92.375901	90.283451	2.166312	2.839482
0.4	109.276756	86.378224	1.881726	2.824250
0.5	129.413512	82.510722	1.597274	2.814030
0.6	152.796364	79.793144	1.313024	2.806831
0.7	179.430769	79.701505	1.028961	2.801592
0.8	209.319906	83.770503	0.745057	2.797697
0.9	242.465757	93.030889	0.461282	2.794763
1.0	278.869615	107.681705	0.177614	2.792541

SAS

Coding Coefficients for the Independent Variables

Factor	Subtracted off	Divided by
X1	3.000000	2.830000
X2	3.000000	2.830000

SAS

Response Surface for Variable FOSFAT2

Response Mean	0.967908
Root MSE	0.255397
R-Square	0.3617
Coef. of Variation	26.3865

Regression	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
Linear	2	0.060054	0.1469	0.460	0.6608
Quadratic	2	0.086333	0.2112	0.662	0.5646
Crossproduct	1	0.001492	0.0036	0.0229	0.8871
Total Regress	5	0.147878	0.3617	0.453	0.7957

Residual	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
Lack of Fit	3	0.259736	0.086579	73.677	0.0854
Pure Error	1	0.001175	0.001175		
Total Error	4	0.260911	0.065228		

Lampiran 6. Hasil perhitungan RSM untuk tanggapan peningkatan bahan anorganik total

SAS

Coding Coefficients for the Independent Variables

Factor	Subtracted off	Divided by
X1	3.000000	2.830000
X2	3.000000	2.830000

SAS

Response Surface for Variable TOTALABU

Response Mean	4.555237
Root MSE	1.315961
R-Square	0.8558
Coef. of Variation	28.8890

Regression	Degrees of Freedom	Type I Sum of Squares	R-Square	F-Ratio	Prob > F
Linear	2	16.334843	0.3399	4.716	0.0887
Quadratic	2	24.694563	0.5139	7.130	0.0480
Crossproduct	1	0.095478	0.0020	0.0551	0.8259
Total Regress	5	41.124884	0.8558	4.750	0.0782

Residual	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
Lack of Fit	3	5.847097	1.949032	1.805	0.4893
Pure Error	1	1.079921	1.079921		
Total Error	4	6.927018	1.731754		

Parameter	Degrees of Freedom	Parameter Estimate	Standard Error	T for H0: Parameter=0	Prob > T
INTERCEPT	1	11.572533	2.368587	4.886	0.0081
X1	1	-3.367417	1.071795	-3.142	0.0348
X2	1	-2.834823	1.071795	-2.645	0.0573
X1*X1	1	0.463709	0.153761	3.016	0.0393
X2*X1	1	-0.038624	0.164495	-0.235	0.8259
X2*X2	1	0.514594	0.153761	3.347	0.0287

Parameter	Parameter Estimate from Coded Data
INTERCEPT	1.422925
X1	-1.983924
X2	0.387334
X1*X1	3.713803
X2*X1	-0.309339
X2*X2	4.121331

SAS

Factor	Degrees of Freedom	Sum of Squares	Mean Square	F-Ratio	Prob > F
X1	3	31.580711	10.526904	6.079	0.0569
X2	3	20.091717	6.697239	3.857	0.1121

SAS

Canonical Analysis of Response Surface
(based on coded data)

Factor	Critical Value		
	Coded	Uncoded	
X1	0.265559	3.751533	Konsentrasi D-glukosa
X2	-0.037025	2.895219	Konsentrasi Sistein-HCl

Predicted value at stationary point 1.152329

Eigenvalues	Eigenvectors	
	X1	X2
4.173384	-0.318965	0.947766
3.661750	0.947766	0.318965

Stationary point is a minimum.

SAS

Estimated Ridge of Maximum Response for Variable TOTALABU

Coded Radius	Estimated Response	Standard Error	Uncoded Factor Values	
			X1	X2
0.0	1.422925	0.930525	3.000000	3.000000
0.1	1.662981	0.923598	2.723524	3.060413
0.2	1.979081	0.903505	2.450026	3.133732
0.3	2.371556	0.872470	2.180179	3.220669
0.4	2.840765	0.834733	1.914698	3.321780
0.5	3.387090	0.797367	1.654305	3.437411
0.6	4.010937	0.771122	1.399698	3.567659
0.7	4.712719	0.770271	1.151509	3.712350
0.8	5.492860	0.809646	0.910266	3.871039
0.9	6.351778	0.899207	0.676365	4.043038
1.0	7.289884	1.040873	0.450049	4.227458



Lampiran 7 Skor hedonik yang diberikan panelis terhadap aroma

Panelis	A	B	C	D	E
P1	6	4	3	3	3
P2	5	3	3	7	6
P3	7	6	3	6	6
P4	5	6	3	6	5
P5	2	2	2	6	7
P6	6	2	1	1	1
P7	6	5	4	3	3
P8	6	6	3	2	3
P9	6	7	4	2	3
P10	2	3	6	4	1
P11	3	3	6	2	3
P12	6	6	4	3	1
P13	2	3	7	6	4
P14	6	4	1	2	3
P15	7	6	3	3	3
P16	7	6	3	3	5
P17	7	7	6	4	5
P18	7	6	4	3	6
P19	3	7	3	2	7
P20	6	5	6	6	7

Keterangan :

A (1% , 1%)

B(5% , 1%)

C(1% , 5%)

D (5% , 5%)

E(3% , 3%)

Nilai :

1 = amat sangat tidak suka

6 = agak suka

2 = sangat tidak suka

7 = suka

3 = tidak suka

8 = sangat suka

4 = agak tidak suka

9 = amat sangat suka

5 = netral

Lampiran 8. Hasil analisa korelasi berjenjang Spearman antara rata-rata skor hedonik aroma dan data kuantitatif Skor panel vs Gula-reduksi

Rata-rata						
skor (Xi)	Yi	R(Xi)	R(Yi)	di	di ²	
5.25	56.6	5.0	2.0	3.0	9.0	
4.93	65.0	4.0	4.0	0.0	0.0	
3.75	47.9	2.0	1.0	1.0	0.0	
3.68	61.0	1.0	3.0	-2.0	4.0	
4.1	73.6	3.0	5.0	-2.0	4.0	
						rs=0.1

Skor panel vs Total-N

Rata-rata						
skor (Xi)	Yi	R(Xi)	R(Yi)	di	di ²	
5.25	7.8	5.0	1.0	4.0	16.0	
4.93	8.6	4.0	2.0	2.0	4.0	
3.75	12.4	2.0	4.0	-2.0	4.0	
3.68	9.9	1.0	3.0	-2.0	4.0	
4.1	15.3	3.0	5.0	-2.0	4.0	
						rs=-0.6

Skor panel vs fosfat anorganik

Rata-rata						
skor (Xi)	Yi	R(Xi)	R(Yi)	di	di ²	
5.25	75.0	5.0	4.0	1.0	1.0	
4.93	-17.6	4.0	1.0	-3.0	9.0	
3.75	143.2	2.0	5.0	-3.0	9.0	
3.68	47.9	1.0	2.0	-1.0	1.0	
4.1	64.9	3.0	3.0	0.0	0.0	
						rs=0.0

Skor panel vs total abu

Rata-rata						
skor (Xi)	Yi	R(Xi)	R(Yi)	di	di ²	
5.25	21.5	5.0	4.0	1.0	1.0	
4.93	12.9	4.0	3.0	1.0	1.0	
3.75	28.6	2	5	-3	9	
3.68	12.56	1	2	-1	1	
4.1	-1.4	3	1	2	4	
						rs=0.2



Lampiran 9. Analisa varians dua arah Friedman

$$\begin{aligned}
 \chi^2_r &= \frac{12}{(20)(5)(5+1)} (78,5^2 + 72,5^2 + 58^2 + 46^2 + 49^2) \\
 &\quad - (3)(20)(5+1) \\
 &= 25,99 > 14,86 \quad (\text{df} = 4)
 \end{aligned}$$

Kesimpulan : antar sampel berbeda nyata

Uji perbandingan

Hasil perbandingan (sampel yang dihubungkan satu garis menunjukkan tidak berbeda nyata) :

A	B	C	D	E
(1,1)	(5,1)	(1,5)	(5,5)	(3,3)