

**Penghambatan Kemunduran Mutu Ikan
Bandeng (*Chanos chanos*) dengan
Melibatkan Inhibitor Protease Alami**

**Dr. Tati Nurhayati, SPi, MSi
Dra. Ella Salamah**



**DEPARTEMEN TEKNOLOGI HASIL PERAIRAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2009**

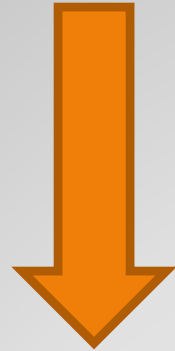


PENDAHULUAN

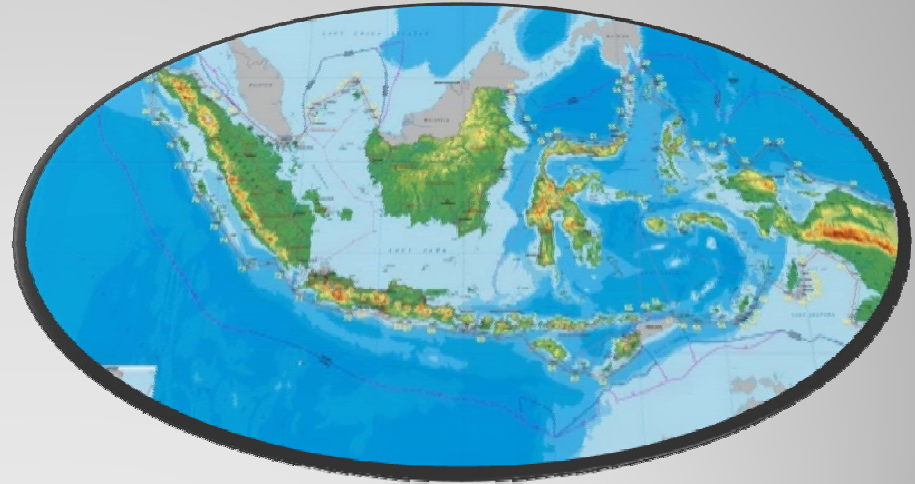


Latar Belakang

Perairan Indonesia kaya
sumberdaya



Ikan



Tahun 2002

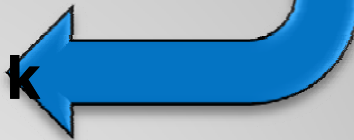


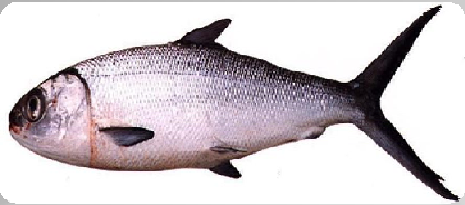
**Produksi Perikanan Indonesia
5,6 juta ton (Mulyawan 2006)**

**Ikan bandeng
(*Chanos chanos*)**



**Saat ini hasil
perikanan bentuk
segar makin
diminati**





Mati

**Kemunduran
mutu**



Mikroorganisme



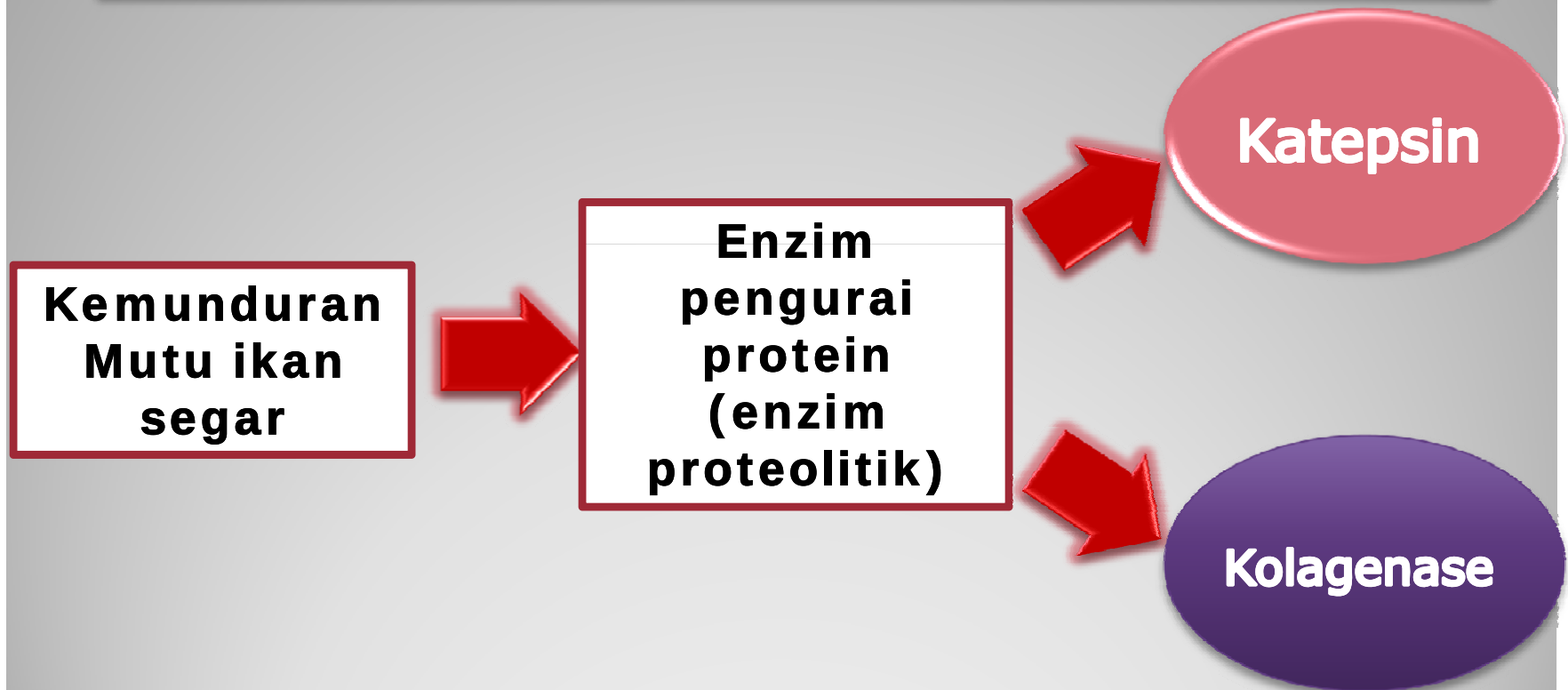
Aktivitas enzim



kimiawi



Penurunan mutu ikan segar diawali dengan proses perombakan protein oleh enzim (Huss 1995)



Hidrolisis
protein
oleh
enzim

Akumulasi
metabolit

Perubahan
cita rasa

Terbentuk
komponen
volatil

Penghambatan
oleh
Inhibitor
alami



**Inhibitor
alami**

**Inhibitor
katepsin**

**Daging
bandeng**

**Inhibitor
kolagenase**

**Kulit
bandeng**



Tujuan Penelitian

- (a). mempelajari pola kemunduran mutu ikan bandeng
- (b). mengekstrak inhibitor katepsin dan kolagenase dari ikan bandeng yang dapat menghambat aktivitas katepsin dan kolagenase yang terlibat dalam kemunduran mutu ikan;
- (c). mengaplikasikan inhibitor tersebut untuk menghambat kemunduran mutu ikan bandeng.





METODOLOGI



WAKTU PENELITIAN

➤ 2008-2009

TEMPAT PENELITIAN

- Laboratorium di Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan IPB
- Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Hewan IPB



TAHAPAN PENELITIAN

- (1). pengamatan pola kemunduran mutu ikan bandeng
- (2). ekstraksi inhibitor katepsin dan kolagenase dari ikan bandeng yang dapat menghambat aktivitas katepsin dan kolagenase yang terlibat dalam kemunduran mutu ikan;
- (3). aplikasi inhibitor tersebut untuk menghambat kemunduran mutu ikan bandeng.



PROSEDUR ANALISIS

- Uji organoleptik (BSN 2006)
- Uji nilai pH (Apriyantono *et al.* 1989)
- Uji TPC (Fardiaz 1987)
- Uji TVB (Apriyantono *et al.* 1989)
- Assay aktivitas katepsin (Dinu *et al.* 2002)
- Assay aktivitas kolagenase (Moore dan Stein 1954 diacu dalam Park *et al.* 2002)
- Pengujian inhibitor katepsin (Dinu *et al.* 2002)
- Pengujian inhibitor kolagenase (Moore dan Stein 1954 diacu dalam Park *et al.* 2001)





HASIL DAN PEMBAHASAN





Penentuan Fase Post Mortem

Tahap	Suhu penyimpanan	
	Ruang	<i>chilling</i>
Pre rigor	0 jam	0 jam
Rigor awal	10 jam	84 jam
Post rigor awal	15 jam	300 jam
Busuk	19 jam	540 jam
Sangat busuk	-	972 jam



Dokumentasi Penentuan Fase *Post Mortem* Ikan Bandeng

Ikan Dipuasakan
Penyimpanan Suhu Ruang



Fase pre rigor



Fase rigor mortis



Fase post rigor



Fase busuk



Ikan Dipuasakan Penyimpanan Suhu *Chilling*



Fase pre rigor



Fase rigor mortis



Fase post rigor



Fase busuk

Ikan Tidak Dipuasakan Penyimpanan Suhu Ruang



Fase pre rigor



Fase rigor mortis



Fase post rigor



Fase busuk

Ikan Tidak Dipuasakan Penyimpanan Suhu *Chilling*



Fase pre rigor



Fase rigor mortis

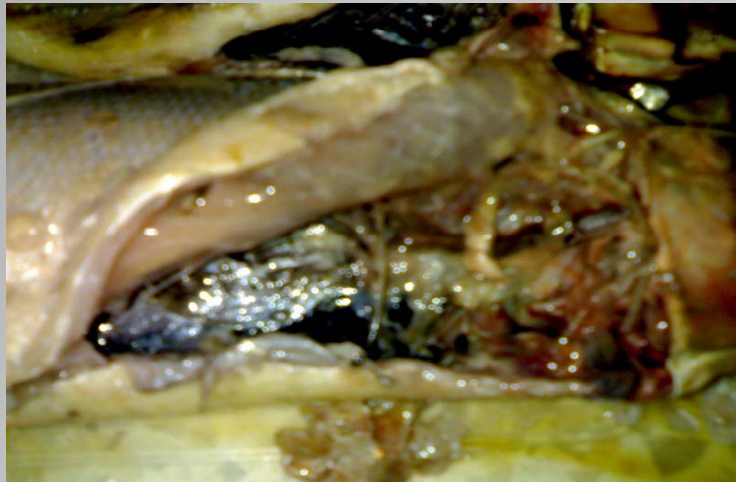


Fase post rigor



Fase busuk

Kondisi Isi Perut Saat Ikan Sudah Sangat Busuk



Ikan Dipuasakan



Ikan Tidak Dipuasakan

Pengamatan Laju Kemunduran Mutu Ikan

- Kulit ikan
- Daging ikan
- Jeroan ikan

Pengamatan Laju Kemunduran Mutu Ikan

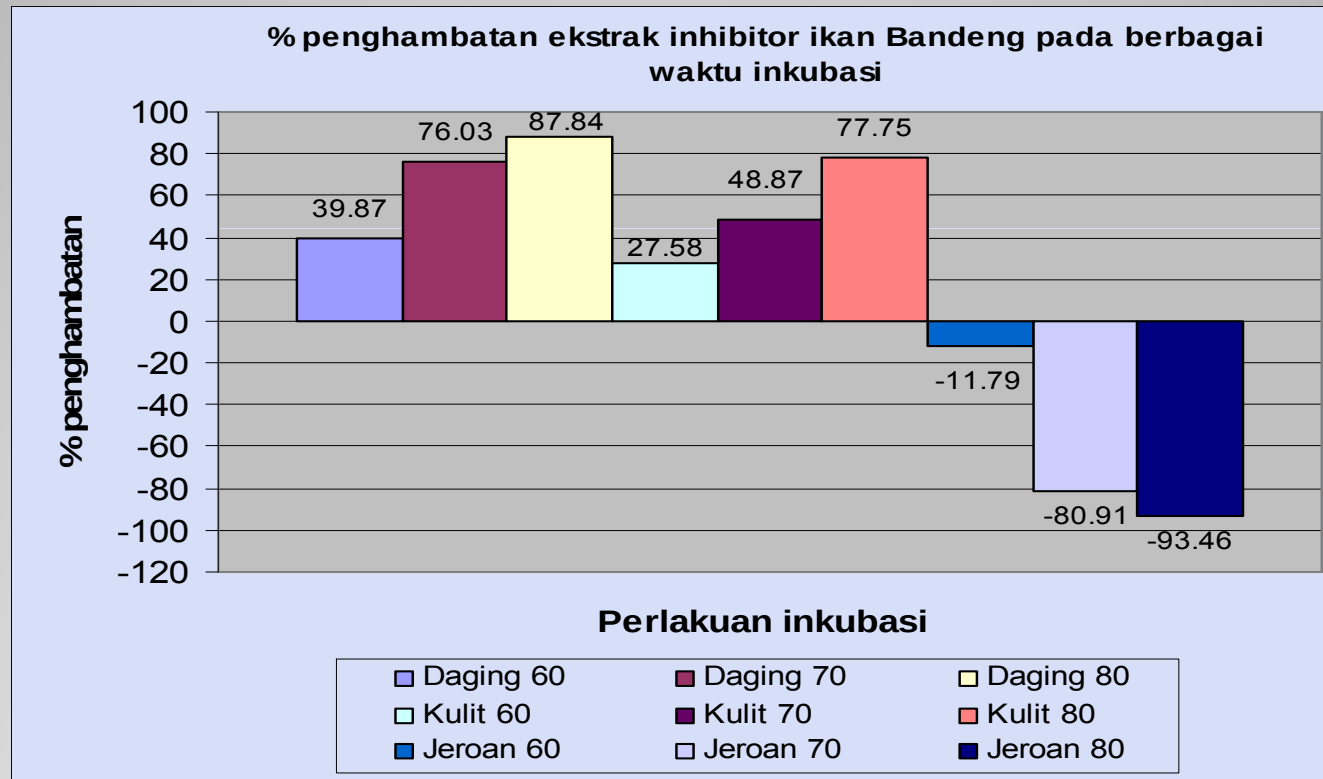
- Laju kerusakan jeroan ikan lebih cepat dibandingkan dengan kulit dan daging ikan, ditunjukkan oleh:
 - nilai organoleptik yang menurun tajam dibandingkan kulit dan daging ikan;
 - nilai TVB yang meningkat tajam walaupun masih dalam kondisi rigor ($> 40\%$);
 - Nilai TPC jeroan juga sudah melampaui batas aman untuk dikonsumsi pada fase rigor mortis ($> 5 \times 10^5$).

Pengamatan Laju Kemunduran Mutu Ikan

- Kondisi ini terjadi pada kulit dan daging ikan setelah memasuki fase kebusukan.
- Selama proses kemunduran mutu ikan, terjadi peningkatan aktivitas katepsin dan kolagenase
- Peningkatan paling tajam terjadi pada fase post rigor

Optimasi proses ekstraksi

Persen (%) penghambatan ekstrak inhibitor ikan bandeng



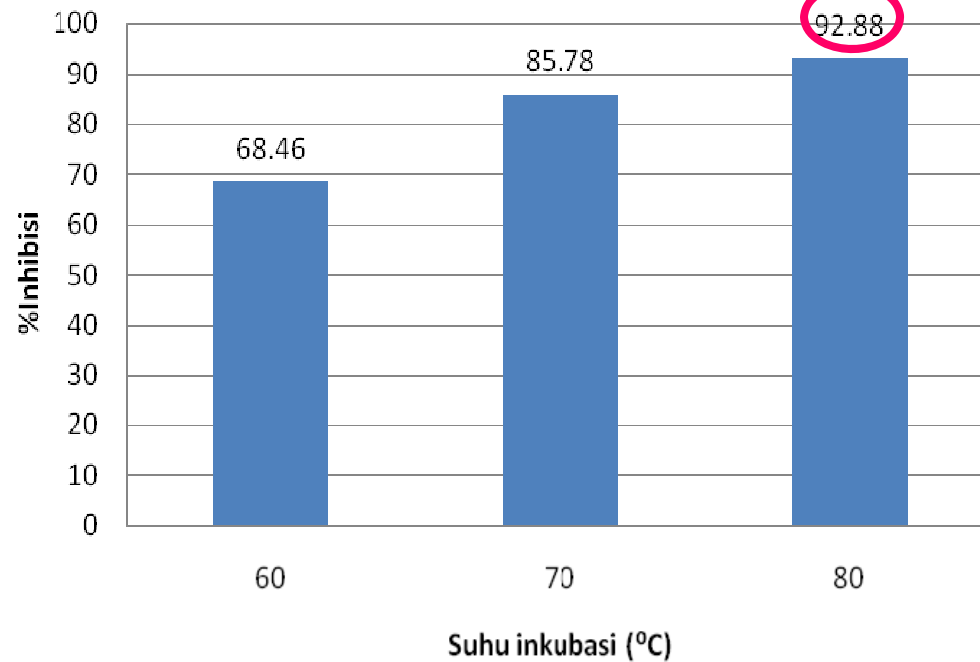
PENENTUAN KONDISI OPTIMUM INHIBITOR KATEPSIN DAN KOLAGENASE

Inhibitor katepsin bandeng



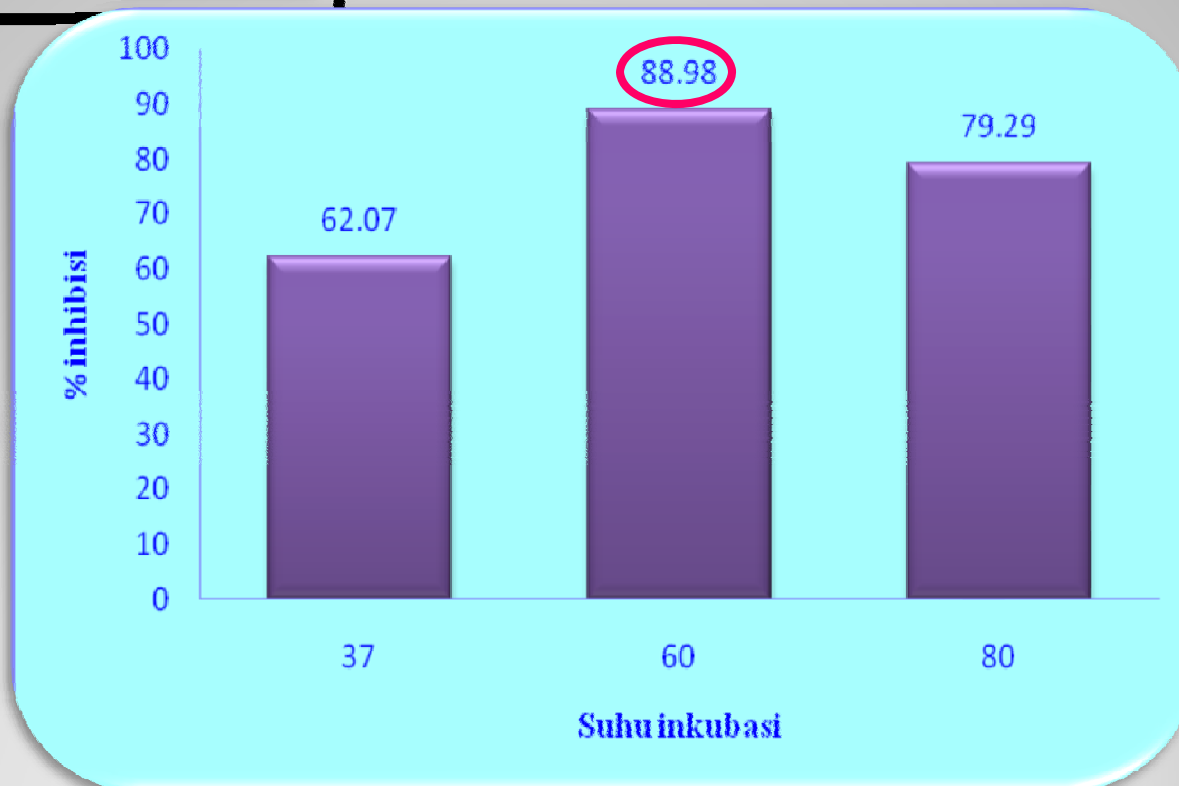
PENENTUAN KONDISI OPTIMUM INHIBITOR KATEPSIN DAN KOLAGENASE

Inhibitor katepsin patin



PENENTUAN KONDISI OPTIMUM INHIBITOR KATEPSIN DAN KOLAGENASE

Inhibitor kolagenase



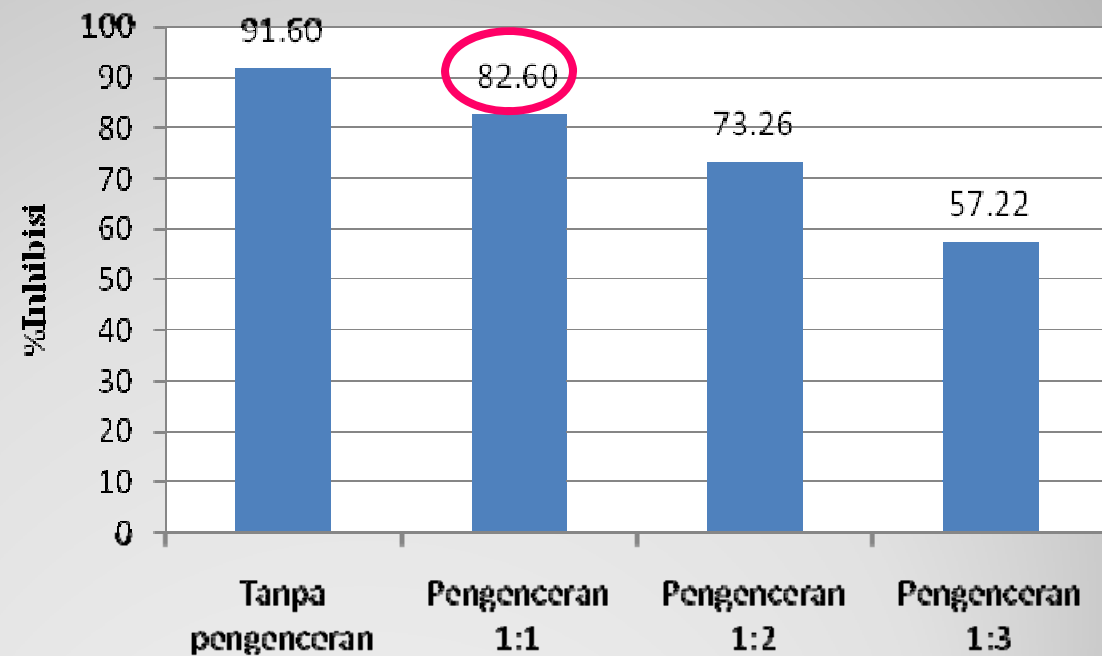
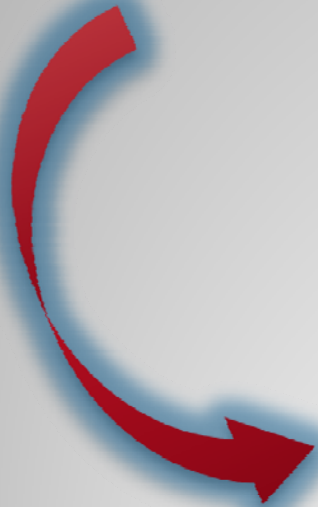
UJI AKTIVITAS INHIBITOR KATEPSIN DAN INHIBITOR KOLAGENASE

Inhibitor katepsin bandeng



UJI AKTIVITAS INHIBITOR KATEPSIN DAN INHIBITOR KOLAGENASE

Inhibitor katepsin patin

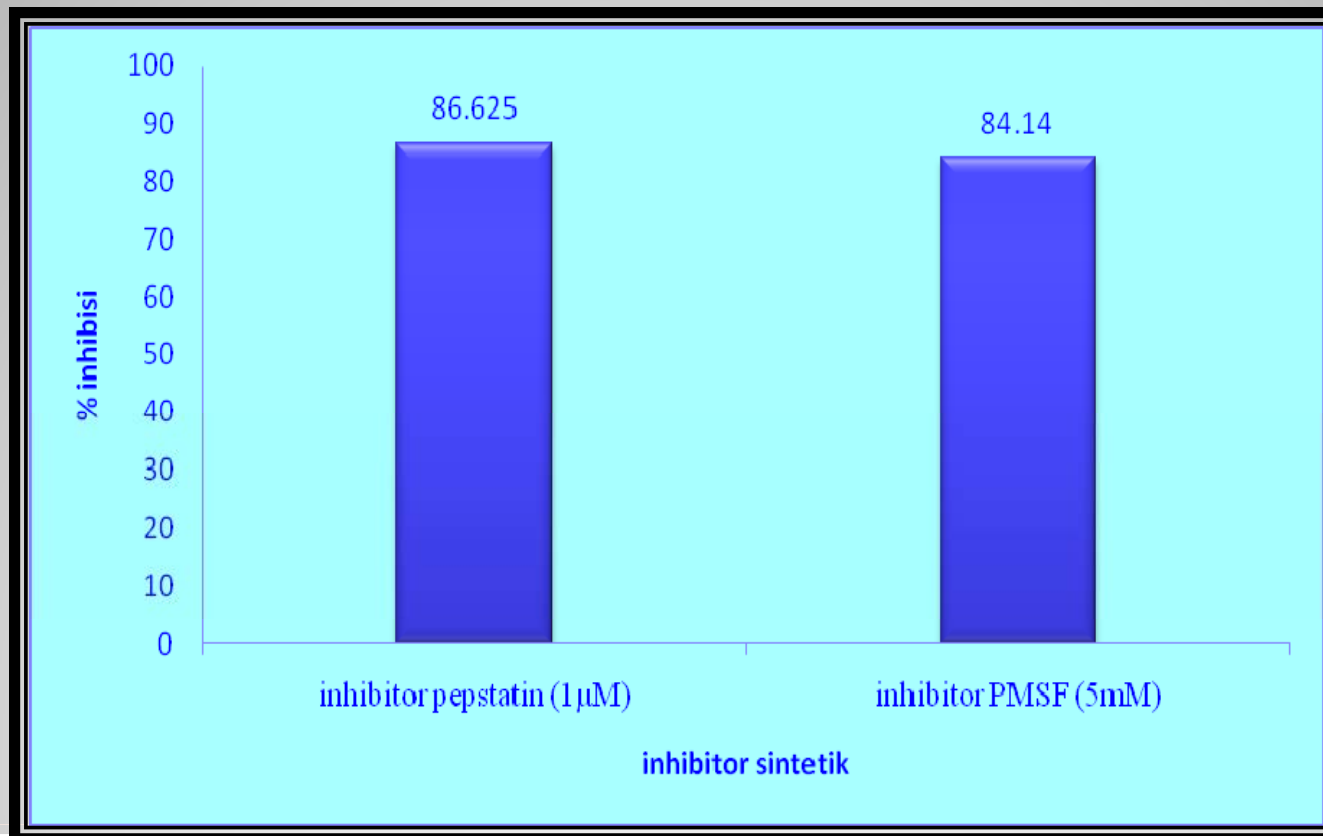


UJI AKTIVITAS INHIBITOR KATEPSIN DAN INHIBITOR KOLAGENASE

Inhibitor
kolagenase



Aktivitas inhibitor komersial dalam menghambat aktivitas katepsin dan kolagenase



APLIKASI INHIBITOR KATEPSIN IKAN BANDENG UNTUK MENGHAMBAT KEMUNDURAN MUTU IKAN BANDENG

- Inhibitor katepsin dengan pengenceran 1:1 digunakan untuk aplikasi
- Perbandingan volume masing-masing inhibitor yaitu 1:1 (inhibitor katepsin:inhibitor kolagenase)
- Perendaman ikan dalam inhibitor campuran selama satu jam



APLIKASI INHIBITOR KATEPSIN IKAN PATIN UNTUK MENGHAMBAT KEMUNDURAN MUTU IKAN BANDENG

- Inhibitor katepsin dengan pengenceran 1:1 digunakan untuk aplikasi
- Perbandingan volume masing-masing inhibitor yaitu 1:1 (inhibitor katepsin:inhibitor kolagenase)
- Perendaman ikan dalam inhibitor campuran selama satu jam



APLIKASI INHIBITOR KOLAGENASE IKAN BANDENG UNTUK MENGHAMBAT KEMUNDURAN MUTU IKAN BANDENG

- Inhibitor kolagenase dengan pengenceran 1:1 digunakan untuk aplikasi
- Perbandingan volume masing-masing inhibitor yaitu 1:1 (inhibitor katepsin:inhibitor kolagenase)
- Perendaman ikan dalam inhibitor campuran selama satu jam

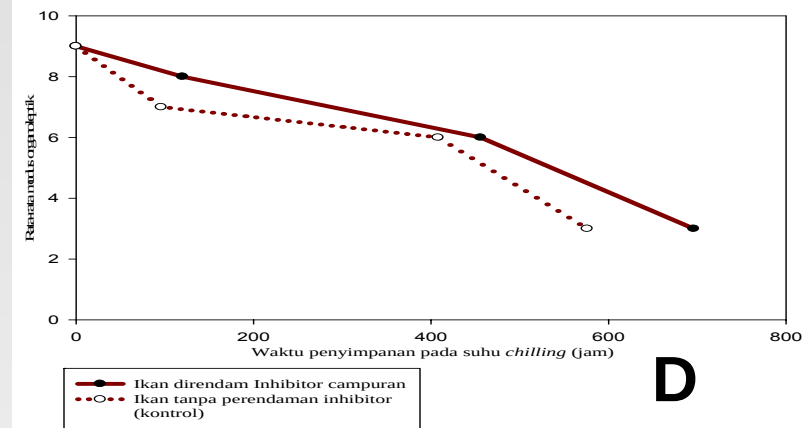
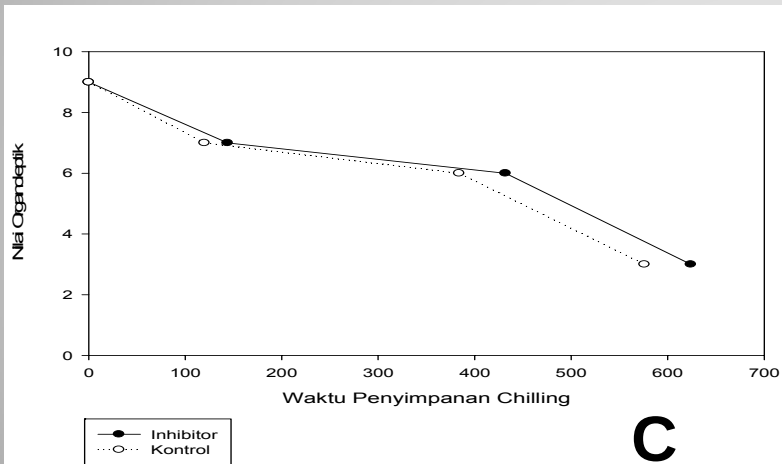
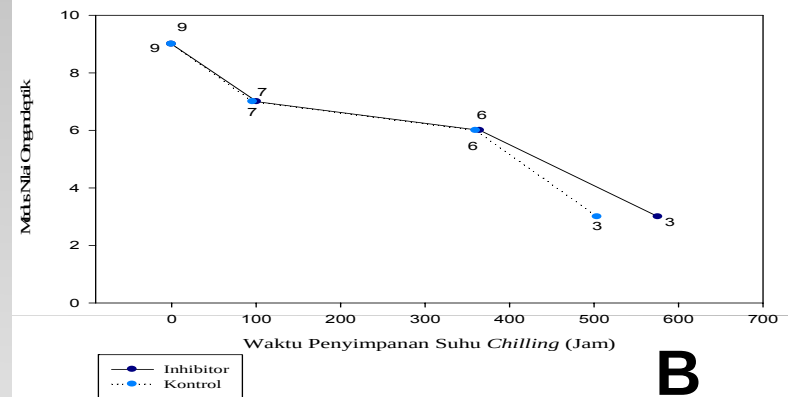
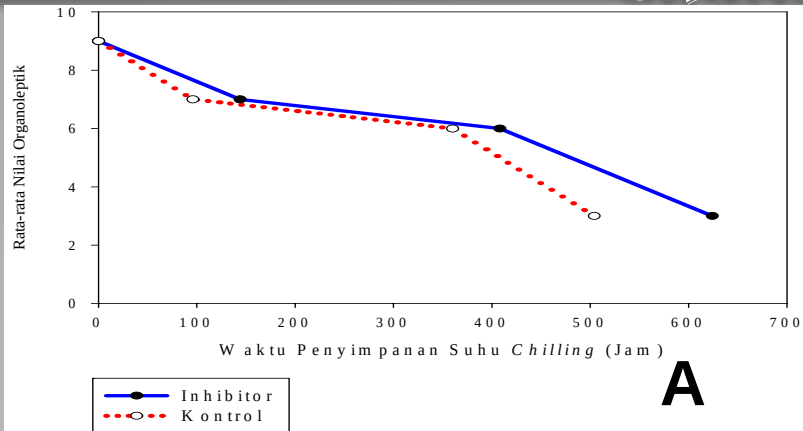


APLIKASI INHIBITOR KATEPSIN DAN INHIBITOR KOLAGENASE

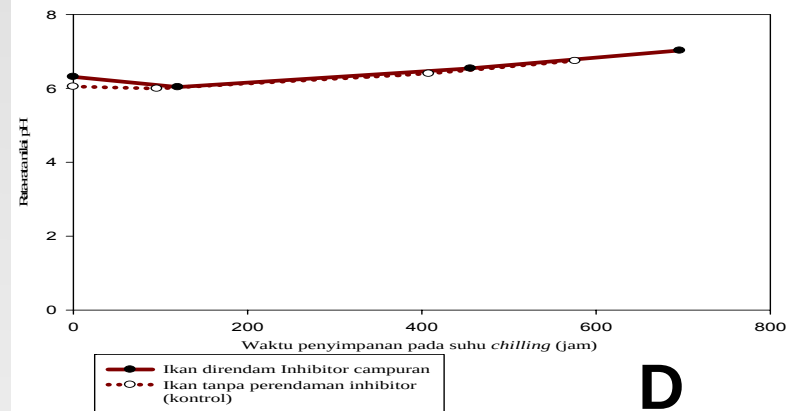
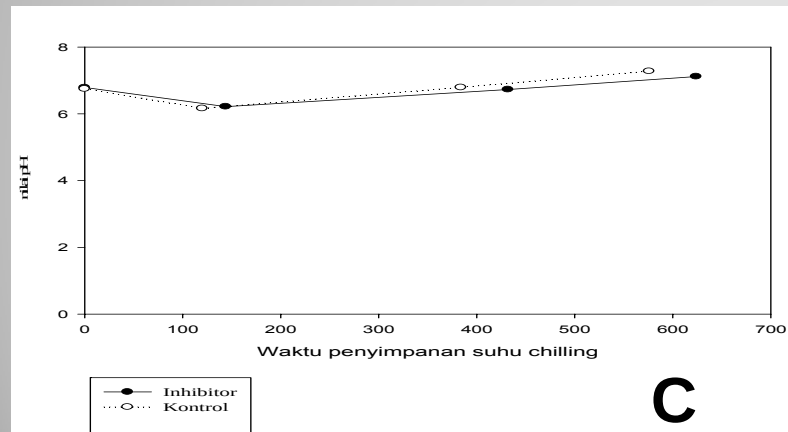
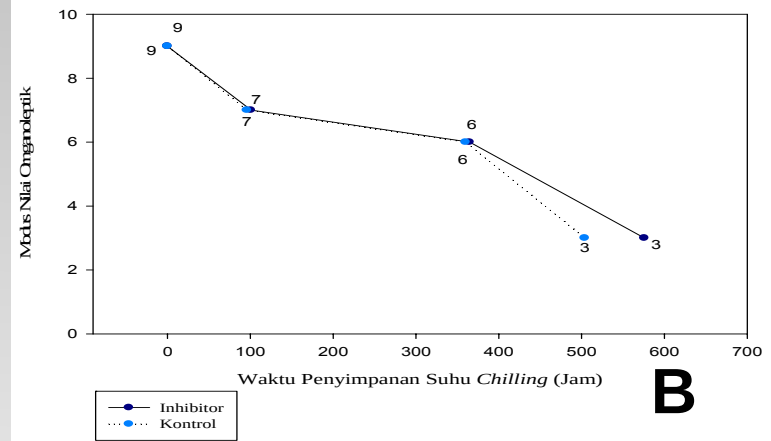
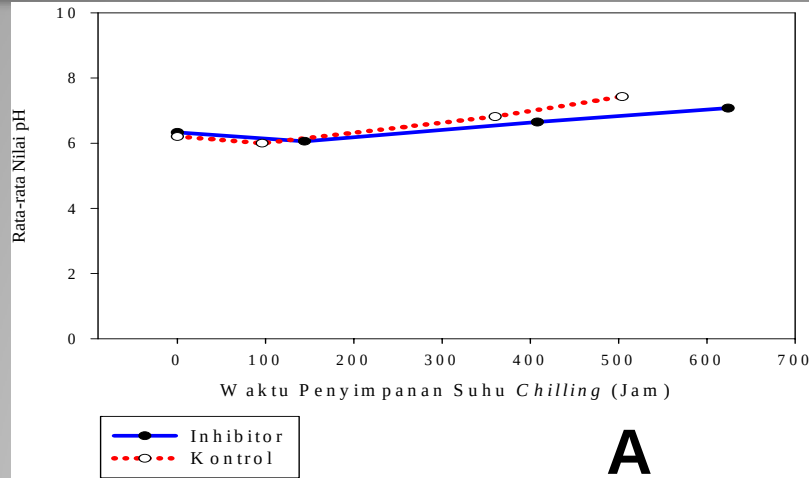
- Pencampuran inhibitor katepsin dan inhibitor kolagenase dengan faktor pengenceran terbaik yaitu 1:1 dari masing-masing inhibitor
- Perbandingan volume masing-masing inhibitor yaitu 1:1 (inhibitor katepsin:inhibitor kolagenase)
- Perendaman ikan dalam inhibitor campuran selama satu jam



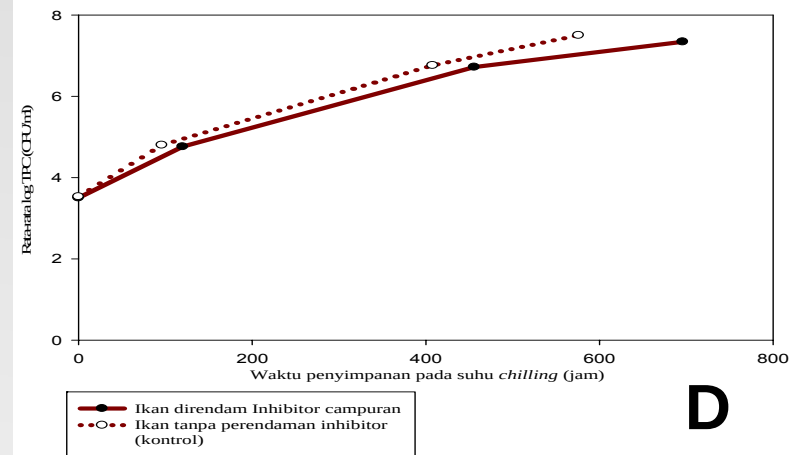
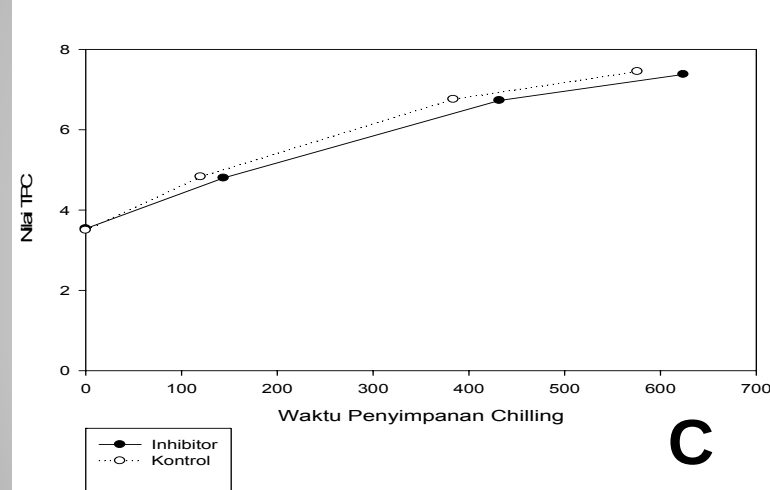
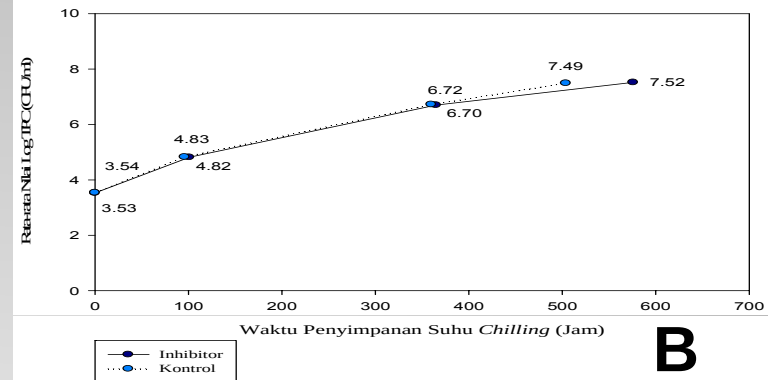
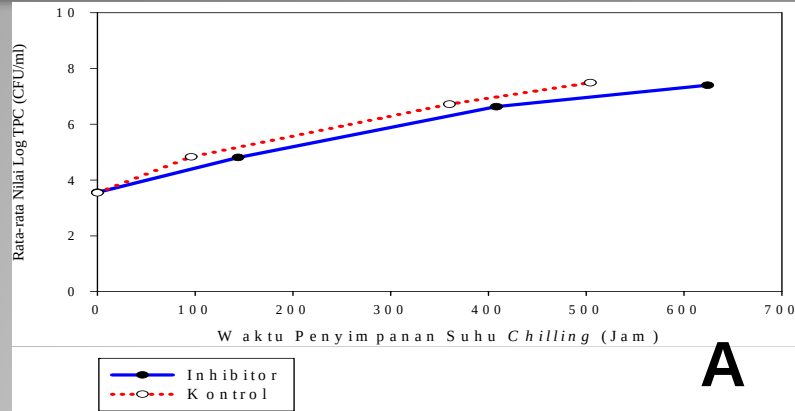
PENGHAMBATAN KEMUNDURAN MUTU IKAN: ORGANOLEPTIK



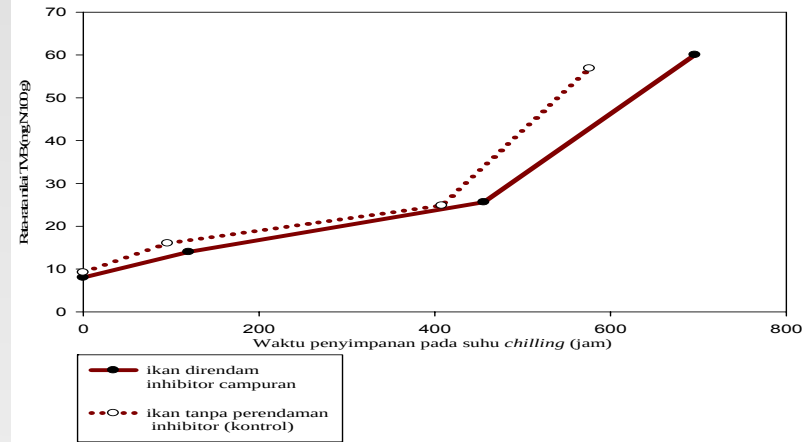
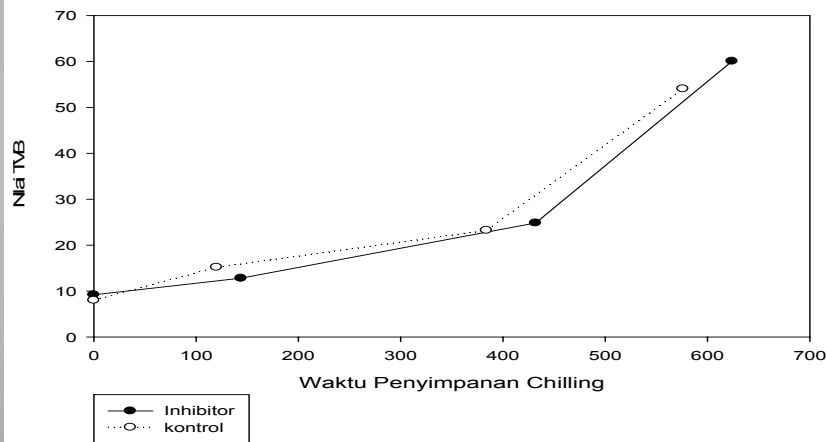
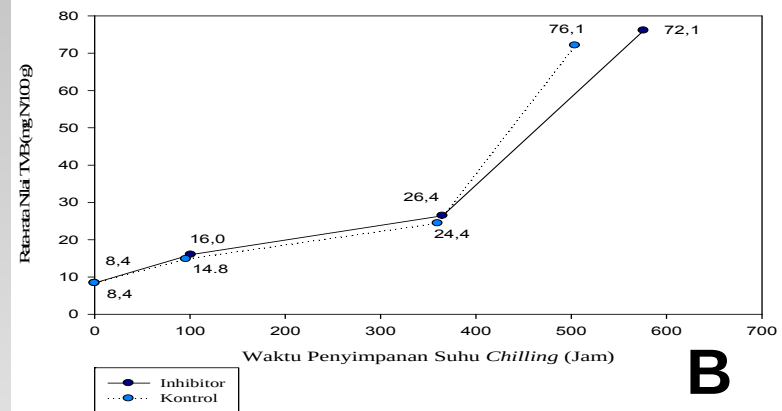
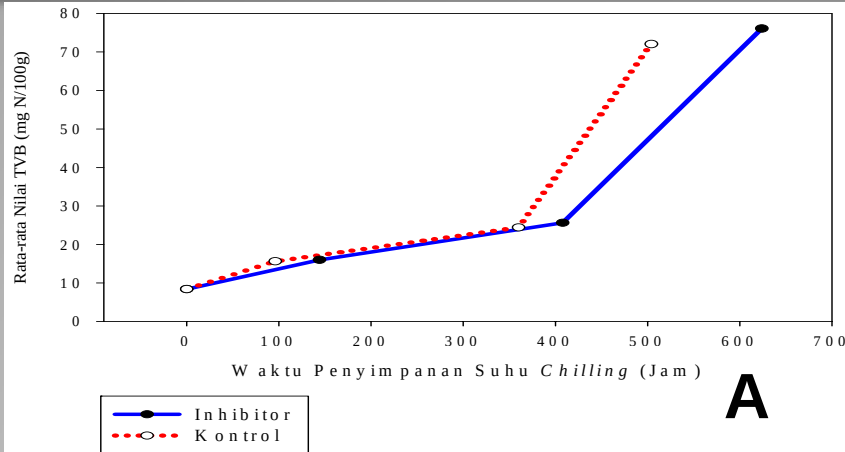
PENGHAMBATAN KEMUNDURAN MUTU IKAN: PH



PENGHAMBATAN KEMUNDURAN MUTU IKAN: TPC



PENGHAMBATAN KEMUNDURAN MUTU IKAN: TVB



PURIFIKASI DAN KARAKTERISASI INHIBITOR KATEPSIN

Peningkatan aktivitas inhibitor protease pada berbagai tahap pemurnian

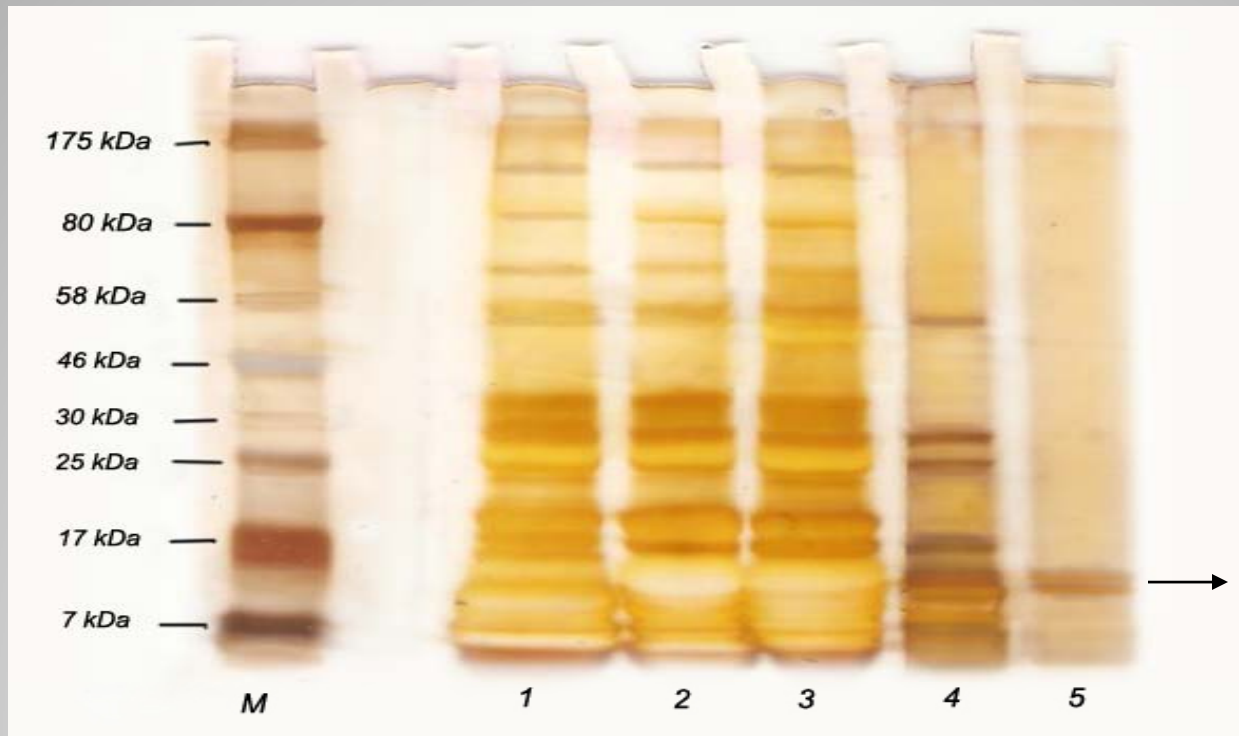
tahap pemurnian	volume (ml)	Protein (mg/ml)	aktivitas inhibitor (U/ml)	total protein (mg)	total aktivitas	aktivitas spesifik (U/mg)	Yield (%)	kelipatan pemurnian
ekstrak kasar	300	0.408	1.6450	122.438	493.506	4.030	100.00	1.00
pengendapan	50	0.322	1.7222	16.103	86.111	5.347	17.45	1.33
dialisis	30	0.272	1.5794	8.160	47.381	5.806	9.60	1.44
ion exchange	5	0.105	1.9867	0.529	9.933	18.762	2.01	4.65
gel filtrasi	5	0.026	1.8281	0.134	9.141	68.159	1.85	16.91

Karakterisasi inhibitor katepsin

Parameter	Nilai
Suhu optimum	40°C
pH optimum	8
Stabilitas panas	Sampai suhu 50°C
Stabilitas pH	7-8

Karakterisasi Inhibitor Katepsin

Penentuan Bobot Molekul

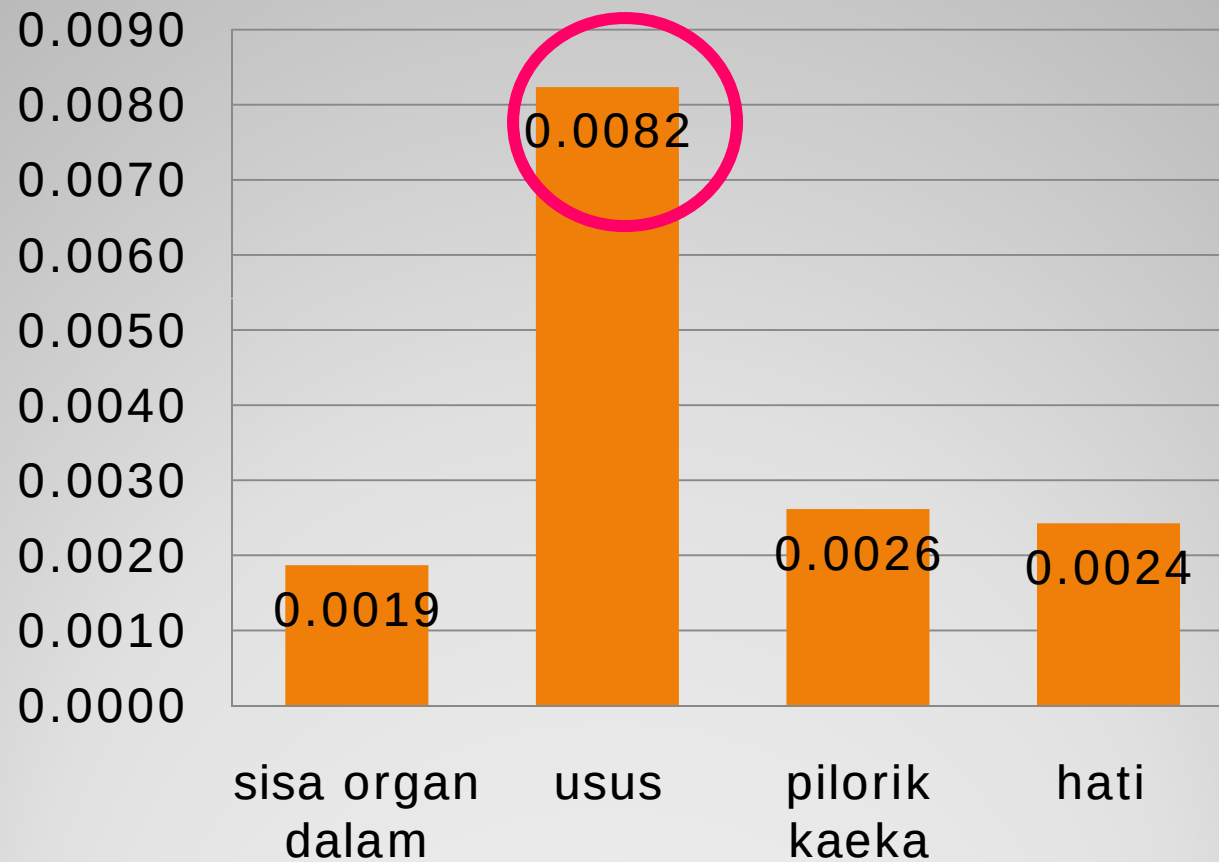


15,65 kDa

Hasil elektroforesesis : (M) Marker, (1) ekstrak kasar, (2) ppengendapan ammonium sulfat, (3) hasil dialisis, (4) penukar Ion, (5) filtrasi gel.

PURIFIKASI DAN KARAKTERISASI KOLAGENASE

PEMILIHAN SUMBER ENZIM



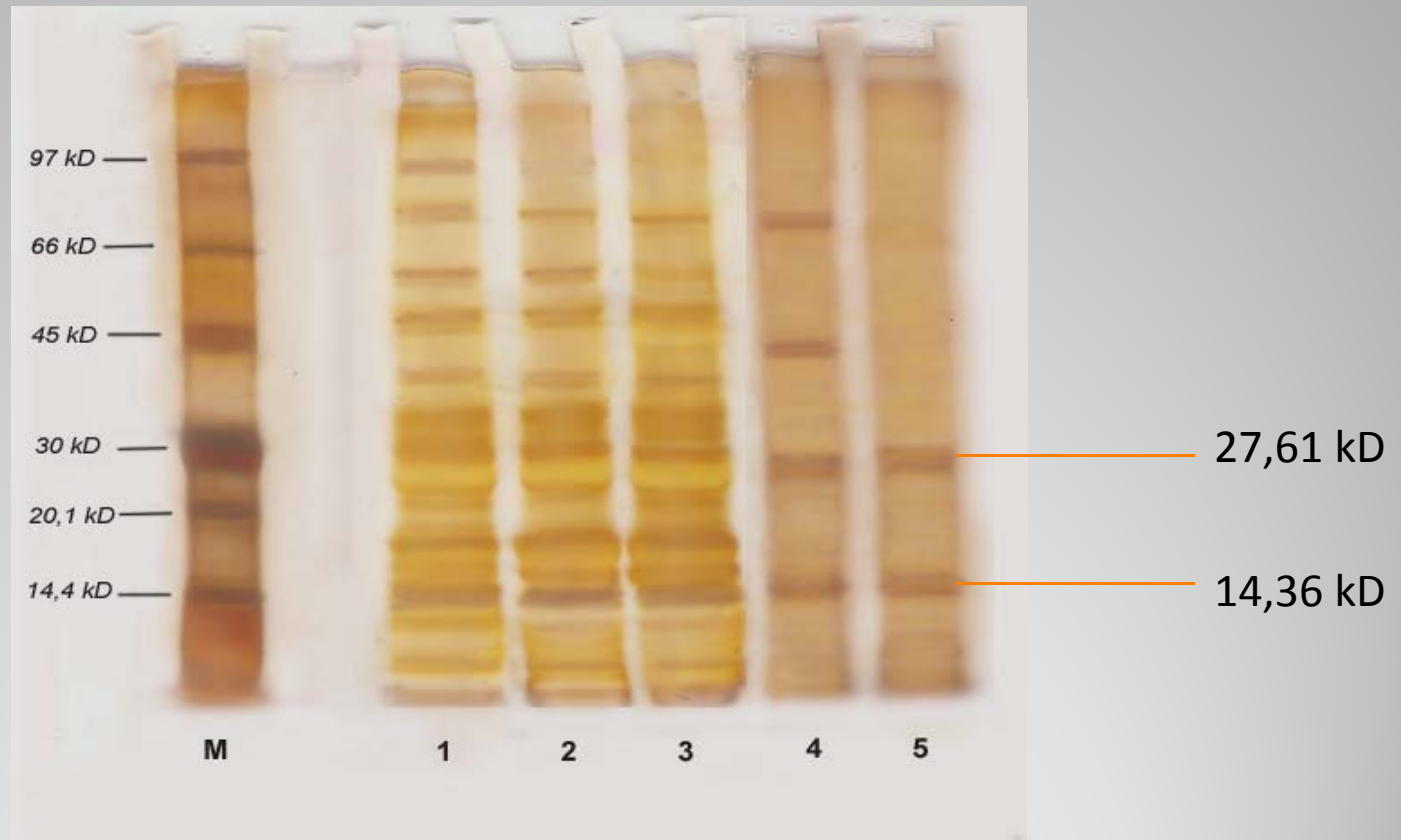
HASIL PEMURNIAN KOLAGENASE

Tahapan	Vol (ml)	Aktivitas Unit/ml	Aktivitas (U)	Protein (mg/ml)	Protein (mg)	Aktivitas spesifik U/mg	Derajat kemurnian
Ekstraksi	450	0.140	63.000	0.785	353.250	0.178	1.000
Hasil pengendapan 70% ZA	45	0.496	22.320	1.185	53.325	0.419	2.347
Dialisis	20	0.451	9.02	1.020	23.260	0.388	2.484
DEAE Sephadex A-50	5	0.657	1.314	0.095	0.190	6.916	38.778
Sephadex G-100	5	0.133	0.798	0.0065	0.039	20.462	114.731

Karakterisasi kolagenase

Parameter	Nilai
Suhu optimum	50°C
pH optimum	8
Stabilitas panas	Sampai suhu 50°C
Stabilitas pH	8-9

Penentuan berat molekul





KESIMPULAN



KESIMPULAN

1. Suhu penyimpanan dan bagian tubuh ikan berpengaruh terhadap laju kemunduran mutu ikan bandeng
2. Inhibitor katepsin dapat diekstrak dengan baik dari bagian daging ikan dengan suhu ekstraksi 80°C
3. Inhibitor kolagenase dapat diekstrak dengan baik dari bagian kulit ikan dengan suhu ekstraksi 60°C
4. Penggunaan inhibitor dapat menghambat laju kemunduran mutu ikan bandeng yang disimpan suhu chilling: 5 hari (inhibitor katepsin bandeng), 2 hari (inhibitor katepsin patin), 3 hari (inhibitor kolagenase), dan 5 hari (campuran inhibitor katepsin dan kolagenase)

4. Inhibitor katepsin dapat dimurnikan dengan gel filtrasi sephadex G-100 dengan kelipatan pemurnian 16,91 kali
5. Karakteristik inhibitor katepsin: suhu dan pH optimum 40°C dan 8; stabil sampai suhu 50°C; stabil pada pH 7-8; berat molekul: 15,65 kDa
6. Kolagenase dapat diekstrak dengan baik dari bagian usus.
7. Enzim ini dapat dimurnikan menggunakan gel filtrasi sephadex G-100 dengan kelipatan pemurnian: 114,731 kali
8. Karakteristik kolagenase: suhu dan pH optimum 50°C dan 8; stabil sampai suhu 50°C, stabil pada pH 8-9; berat molekul: 27,61 dan 14,36 kDa.