***STUDY OF ANTIOXIDANT AKTIVITY, ANTICOLESTROL AND ANTIHYPERTENCE OF EXTRACT RUSIP***

**Hafif Subarka1, Rinto2, Ace Baehaki3**

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan

Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Indralaya 30662

Telp (0711) 580934

**ABSTRACT**

The purpose of this research was to be know antioxidant activity, anticolestrol and antihypertence of extract rusip. This research was conducted from May 2017 until October 2017 using experimental laboratory method and data analysis was done descriptively. The research stages included measurement of pH, salt content analysis, determination of protein content, determination of peptides, antioxidants testing with the ABTS method, the analysis of ACE inhibitors (*Angiotensin Converting Enzyme*) and analysis of HMG-CoA reductase inhibitors. The results showed that there are three types of rusip which has the complete label is rusip A, B and C. The pH value rusip ranged from 5.85 to 6.01. The salt contained in rusip ranged from 13.94 to 15.68%. Rusip protein content ranged from 14.71 to 18.39 mg / mL. The content of yield rusip extract ranged from 2.26 to 3.32 % and the content of peptide extract ranged from 13.05 to 14.80%. Rusip is a highly protein-rich food and contains many peptides. The antioxidant activity of rusip extract and activity of HMG-CoA inhibitor of russip extract are low. Rusip extract has a high activity as an ACE inhibitor (*Angiotensin-I Converting Enzyme*) of 95.75%.

Keywords:, Antioxidant, antikolestrol, antihypertensive, Rusip.

**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan, antikolestrol dan antihipertensi ekstrak rusip. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Mei 2017 sampai Oktober 2017. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratoris dan analisa data dilakukan secara deskriptif yaitu dengan mendeskripsikan hasil dari parameter. Penelitian ini terdiri dari pengukuran pH, analisis kadar garam, penentuan kadar protein, penentuan kadar peptida, pengujian antioksidan dengan metode ABTS, analisa inhibitor ACE (*Angiotensi Convertion Enzim)* dan analisa inhibitor HMG-KoA reduktase. Hasil penelitian menunjukan bahwa ada 3 jenis rusip yang memiliki label lengkap yaitu rusip A, B dan C. Nilai pH rusip berkisar antara 5,85-6,01. Kandungan kadar garam pada rusip berkisar antara 13,94-15,68 %. Kadar protein rusip berkisar antara 14,71-18,39 mg/mL. Kandungan rendemen ekstrak rusip berkisar antara 2,26-3,32 % dan kandungan kadar peptida ekstrak rusip berkisar antara 13,05-14,80 %. Rusip merupakan bahan pangan yang berprotein tinggi dan mengandung banyak peptida. Aktivitas antioksidan ekstrak rusip dan aktivitas inhibitor HMG-KoA ekstrak rusip tergolong rendah. Ekstrak rusip memiliki aktivitas yang tinggi sebagai inhibitor ACE ( *Angiotensin-I Converting Enzyme*) sebesar 95,75%.

Kata kunci : Antioksidan, antikolestrol, antihipertensi, rusip

**PENDAHULUAN**

**Latar Belakang**

Produk fermentasi hasil perikanan merupakan produk olahan yang berbahan dasar ikan dan mengalami proses fermentasi baik secara fermentasi spontan dan tidak spontan. Fermentasi adalah salah satu proses pengawetan dan penguraian senyawa menjadi lebih sederhana oleh enzim dari mikroorganisme (Khasanah, 2009). Manfaat dari proses fermentasi adalah dapat memperpanjang umur simpan, proses pengelolahannya sederhana, tidak mahal, memiliki nilai gizi yang lebih tinggi, mudah dicerna, dapat menghilangkan atau mengurangi zat antinutrisi, dapat memiliki nilai jual yang lebih tinggi dan meningkatkan cita dan rasa pada suatu produk (Hutkins, 2006).

Produk fermentasi ikan memiliki manfaat sebagai pangan fungsional karena produk tersebut mengandung senyawa bioaktif yang dapat menghambat hipertensi dan kolestrol, selain itu mampu menangkal radikal bebas seperti senyawa bioaktif antioksidan. Wikandari dan Yuanita( 2014), menyatakan bahwa bekasam berpotensi sebagai pangan fungsional untuk menghambat penyakit hipertensi. Selain bekasam di Sumatera Bagian Selatan (Sumbagsel) terdapat produk ferementasi lainya yaitu rusip. Rusip belum banyak dikaji sebagai pangan fungsional.

Rusip merupakan produk olahan tradisonal yang menggunakan bahan baku ikan berukuran kecil. Ikan yang biasa digunakan pada pembuatan rusip adalah ikan teri yang diolah secara fermentasi dengan penambahan garam dan gula aren dalam jumlah tertentu. (Koesoemawardani, 2007).

 Fungsi rusip sebagai komponen bioaktif penghambat radikal bebas, kolestrol dan hipertensi dapat diketahui dengan melakukan ekstraksi untuk memisahkan senyawa bioaktif. Namun zat pelarut yang tepat untuk menghasilkan aktivitas antioksidan, antikolestrol dan antihipertensi pada rusip belum diketahui. Oleh karena itu, peneliti tertarik melakukan pengujian untuk mendapatkan metode ektraksi pelarut polar yang terbaik.

**Kerangka Pemikiran**

Analisa komponen bioaktif dapat diektraksi dari berbagai tanaman, buah dan produk fermentasi. Nadila (2014), menyatakan bahwa hasil ekstraksi senyawa bioaktif yang menggunakan etanol dalam buah labu siam berfungsi sebagai antihipetensi adalah flavonoid. Rumput laut s*argassum duplicatum*  berpotensi sebagai antioksidan disebabkan mengandung senyawa bioaktif alkaloid, flavonoid dan saponin (Pratama *et al*,. 2015). Ekstraksi bekasam mampu menghasilkan komponen bioaktif yang menghambat enzim HMG-Koa reduktase berupa lovastatin (Rinto *et al*., 2015).

Komponen bioaktif yang terkandung dalam rusip belum banyak dikaji. Oleh karena itu analisa aktivitas antioksidan, antikolestrol dan antihipertensi dari rusip sangat dipengaruhi oleh metode ekstraksi dan zat pelarut yang digunakan. Ekstraksi merupakan proses pemisahan komponen dari suatu bahan dengan komponen yang lainya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Rusip sebagai produk fermentasi yang berasal dari ikan banyak mengadung komponen bersifat polar. Beberapa peptida bioaktif antioksidan yang bersifat hidrofilik polar yaitu his-ala-his (Kusumaningtyas *et al*, 2015), peptida antikolestrol yaitu ser-ala-cys, ser-pro-cys dan ser-glu-cys (Hernawan dan Setyawan, 2003) dan Peptida antihipertensi yaitu gln-lys, his-lys dan gln-met-lys (Hermanto, 2016) Salah satu untuk pengoptimalan senyawa bioaktif yang dimiliki produk rusip adalah dengan metode ekstraksi menggunakan pelarut polar sehingga efektif untuk memisahkan komponen senyawa bioaktif tersebut. Oleh karena itu ekstraksi rusip dengan pelarut polar dilakukan untuk memperoleh metode ekstraksi yang terbaik dan memperoleh komponen bioaktif sebagai antioksidan, antikolestrol dan antihipertensi pada rusip

**Tujuan**

Penelitian ini bertujuan mengetahui aktivitas antioksidan, antikolestrol dan antihipertensi ekstrak rusip.

**Kegunaan Penelitian**

Kegunaan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan dan memberikan informasi mengenai fungsi rusip sebagai antioksidan, antikolestrol dan antihipertensi.

**PELAKSANAAN PENELITIAN**

**Tempat dan Waktu**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian, Laboraturium Kimia Organik UPT Laboraturium Terpadu dan Laboratorium jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya Penelitian ini dilakasanakan pada bulan Mei sampai Oktober 2017.

**Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan untuk analisa adalah, botol gelap, bunsen, erlenmeyer,gelas ukur, *hot plate*, inkubator, kertas label, kertas saring, kuvet, *microtube*, mikropipet, *sentrifuge* dingin, *shaker*, spatula, spektrofotometer uv-vis, spektrofotometer visible, suntikan, tabung reaksi, tip, timbangan analitik, *vakum ratory evaporator* dan vortex.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah rusip dari Bangka yang memiliki label.. Sedangkan bahan untuk analisa adalah akuades, akuabides, alkohol 70%, asam *ortofosfat*, BSA (*bovine serum albumin*), *Commasie brilliant blue*, formaldehid 40%, indikator PP, KIT HMG-KoA, ACE Inhibitor, larutan ABTS, buffer fosfat, BHT, larutan potassium persulfat.

**Metode Penelitian**

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratories dan analisa data dilakukan secara deskriptif yaitu dengan mendeskripsikan hasil dari setiap parameter uji. Penelitian ini terdiri dari analisis kadar garam, pengukuran pH, penentuan kadar protein, penentuan kadar peptida, pengujian antioksidan dengan metode ABTS, analisa inhibitor ACE (*Angiotensi Convertion Enzim)* dan inhibitor HMG-KoA reduktase.

**Cara Kerja**

**Ekstraksi Sampel**

Ekstraksi rusip dilakukan dengan ekstraksi secara meserasi tunggal. Menggunakan pelarut polar yaitu akuabides. Berikut cara ekstraksi rusip menurut Itou dan Akahene (2009; 2010) sebagai berikut :

1. Sampel rusip ditimbang beratnya 10 g dan dimasukan kedalam erlemeyer, kemudian dihomogenkan dengan 40 mL pelarut akuabides. Lalu di *shaker* selama 30 menit dengan kecepatan 140 rpm. Setelah selesai disaring dengan kertas saring untuk menghasilkan fitrat dan residu dari masing-masing pelarut.
2. Residu hasil penyaringan dihomogenisani dengan pelarut akuabides sebanyak 50 mL dan kembali di *shaker*. Setelah selesai disaring dengan kertas saring untuk menghasilkan fitrat dan residu dari masing-masing pelarut yang digunakan.
3. Setalah itu hasil dari filtrat 1 dan 2 dicampurkan, filtrat yang diperoleh dari setiap perlakuan kemudian disentifugasi dingin selama 15 menit dengan kecepatan 6.000 rpm dengan suhu 4 oC untuk menghasilkan supernatan dan presipitat.
4. Supernatan yang dihasilkan kemudian di saring dengan membran filter 0,45 μm .
5. Hasil dari penyaringan di evaporasi menggunakan *vacuum rotary evaporator* sampai larutan mengental.

**Parameter**

 Parameter yang diamati dalam penelitian ini yaitu, pengukuran nilai pH, analisis kadar garam dan analisis kadar protein pada rusip A, B dan C. Analisis kadar peptida, analisis antioksidan dengan metode ABTS, analisis antihipertensi dengan metode inhibitor ACE *(Angiotensi Convertion Enzim)*, dan analisis antikolestrol dengan metode inhibitor HMG-CoA *reduktase* pada hasil ekstraksi rusip A, B dan C.

**Pengukuran Nilai pH pada rusip**

Pengukuran nilai pH mengacu pada AOAC (1995) yaitu sebagai berikut:

1. Pengukuran pH dilakukan dengan menggunakan pH meter.
2. Terlebih dahulu pH meter dinyalakan, kemudian elektroda pH meter dikalibrasi dalam buffer pH 4,00 dan 6,00.
3. Sampel ditimbang sebanyak 1 g dan dilarutkan dengan 10 mL akuades.
4. Pengukuran dilakukan dengan mencelupkan elektroda pH meter kedalam larutan sampel dan dibiarkan beberapa saat sampai diperoleh nilai yang menunjukkan nilai pH tetap.

**Analisis Kadar Garam (NaCl) pada rusip**

Analisa kadar garam mengacu pada Riana, (2015). Analisis kadar garam ini menggunakan metode Khoman. Lebih kurang 5 gram sampel yang dihaluskan lalu diekstrak dengan menggunakan 15 ml aquabides panas (100oC), dibiarkan selama 15 menit hingga semua garam NaCl larut dan terpisah dengan sampel. Cairan hasil ektraksi ditampung dalam wadah lalu tambahkan dengan 3 ml kalium khromat (K2CrO4) 5% dan dititrasi dengan AgNO3 0,1 N secara perlahan-lahan sampai warnanya menjadi merah bata. Kemudian dilakukan perhitungan dengan rumus :

$$\%NaCl=\frac{ml AgNO3 x N AgNo3 x 58,46}{(gram bahan x 1000)}x 100\%$$

**Kadar Protein pada Rusip (Bradford, 1976)**

Adapun cara kerja analisis kadar protein ialah sebagai berikut:

1. Pembuatan larutan standar

Adapun cara pembuatan larutan standar BSA (*Bovine Serum Albumin*) yaitu dengan melarutkan 10 mg BSA ke dalam 10 ml akuades kemudian homogenkan Masing-masing larutan yang telah dicampurkan dimasukkan ke dalam tabung, lalu ditambahkan 5 mL larutan Bradford dan di *vortex* sampai homogen. Larutan standar BSA di inkubasi pada suhu 37 oC selama 30 menit. Setelah itu, absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm. Setelah itu buat larutan deret standar protein sesuai pada takaran yang tertera pada Tabel 3.1.

Tabel 3.1. Deret Standar BSA

|  |  |
| --- | --- |
| Konsentrasi BSA (mg/mL) | Absorbansi |
| 0,1 | 0,2958 |
| 0,2 | 0,3033 |
| 0,3 | 0,3385 |
| 0,4 | 0,3538 |
| 0,8 | 0,3840 |
| 1 | 0,4127 |

1. Persiapan pereaksi Bradford

Bahan yang digunakan terdiri dari CBB (*Coomasie Briliant Blue*) G-250 sebanyak 10 mg, ethanol 95 % sebanyak 5 mL, dan asam ortofosfat sebanyak 10 mL. 10 mg CBB (*Coomasie Briliant Blue*) dilarutkan dengan 5 mL etanol 95% dan 10 mL asam ortofosfat kemudian dihomogenkan. Setelah itu, akuades ditambahkan sebanyak 100 mL dengan menggunakan labu takar. Larutan diaduk pelan hingga terhomogenkan dengan baik. Larutan Bradford disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman no. 1 dan ditampung dalam botol gelap. Larutan Bradford disimpan dalam refrigerator.

1. Pengukuran sampel

sebanyak 0,5 mL sampel ditambahkan dengan pereaksi Bradford sebanyak 4,5 mL. Sampel di vortex sampai homogen dan di inkubasi pada suhu 37 oC selama 30 menit. Sampel diukur absorbansinya dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm.

Perhitungan jumlah konsentrasi protein yang dicari dapat menggunakan regresi:

$$y=ax+b$$

Keterangan :

y = absorbansi sampel

a = slope

b = intersep

x = konsentrasi protein pada sampel

**Penentuan Kadar Peptida pada Rusip**

Penetuan kadar peptida mengacu pada Wikandari dan Yuanita (2016) yaitu sebagai berikut :

1. Sebanyak 1 mL ekstrak sampel dimasukan dalam erlemeyer 100 mL.
2. Sampel ditambahkan 20 mL aquades kurang lebih 1 mL indikator PP.
3. Kemudian sampel dititrasi dengan NaOH 0,1 N sampai berwarna merah muda.
4. Sampel ditambah 2 mL larutan Formaldehid 40 % dan dititrasi kembali dengan NaOH. Kadar peptida ekstrak rusip diperoleh dengan persamaan :

$$\%N=\frac{a}{(b x 10)}x N NaOH x Ar N x fp$$

Keterangan:

 a = volume titrasi formol

 b = berat sampel

fp = faktor pengenceran

**Analisis antioksidan dengan metode ABTS**

Analisis aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS mengacu pada Thaipong *et al* (2006) *dalam* Kusumaningtyas (2016) yaitu sebagai berikut :

1. Sebanyak 34,142 mg larutan stok ABTS dibuat dengan melarutkan ABTS dalam pelarut akuabides.
2. Larutan stok potassium persulfat dibuat sebanyak 203,019 mg kedalam pelarut akuabides.
3. Larutan ABTS dan larutan potassium persulfat dicampurkan dengan perbandingan 1:1.
4. Larutan yang telah dicampurkan didiamkan di selama 16-18 jam dalam kondisi yang gelap.
5. Larutan diambil masing-masing 200 μL untuk pengujian antioksidan .
6. Masing-masing larutan tersebut dicampur dengan antioksidan BHT sebanyak 100 μL. Standar BHT yang dibuat dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm.
7. Larutan dicampurkan dengan hasil ektraksi rusip sebanyak 100 μL.
8. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri VIS pada panjang gelombang 405 nM.
9. Aktivitas antioksidan pada uji ABTS dapat dihitung dengan rumus :

$$Aktvitas antioksidan \%=\frac{Abs blanko-Abs sampel}{Abs blanko}x 100 \%$$

Keterangan :

A blangko = Absorbansi hasil reaksi larutan ABTS dan akuabides

 A sampel = Selisih absobansi antara sampel (hasil reaksi ABTS )

**Analisis inhibitor ACE *(Angiotensi Convertion Enzim)***

Analisis aktivitas antihipertensi uji ini berdasarkan pembebasan asam hipurat dari substrat Hip-His-Leu yang dikatalisis oleh ACE yang mengacu pada Mirdhayati *et al*  (2016) sebagai berikut :

1. Sebanyak 20 μL sampel dicampurkan dengan 125 μL larutan subrat dan 15 μL
2. Larutan substrat terdiri atas 7.6 mM Hip-His-Leu dan 608 mM NaCl, di dalam larutan penyangga Na-borat 100 mM pH 8.3.
3. Campuran sampel dan substrat dipreinkubasi pada suhu 37 oC selama 10 menit.
4. Sebanyak 50 μL enzim *ACE* (50 mU mL-1) ditambahkan untuk menjalankan reaksi enzimatik, setelah diinkubasi pada suhu 37 oC selama 30 menit.
5. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 200 μL larutan HCl 1 N. Asam hipurat diekstrak dengan etil asetat dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 228 nm (Shimadzu, model UV 2100, Jepang).
6. Aktivitas penghambatan (%) ditunjukkan oleh penurunan nilai absorbansi dan dihitung melalui persamaan:

$$\%Penghambatan=\frac{Abs Kontrol-Abs Sampel}{Abs Kontrol}x 100 \%$$

**Analisa inhibitor HMG-KoA Reduktase**

 Hasil ektraksi rusip digunakan untuk analisis penghambat aktivitas enzim HMG-KoA reduktase menggunakan KIT HMG-KoA reduktase CS 1090 (Sigma-Aldrich). Prosedur uji dilakukan mengacu pada sigma-Aldrich *dalam* Lachenmeir *et al.* (2012), adalah sebagai berikut :

1. Semua pereaksi yang digunakan (Enzim HMG-KoA reduktase, buffer, NADPH, subtrat HMG-KoA, dan pravastatin dicairkan dalam refrigerator atau dalam es untuk menjaga suhu dingin).
2. Sebelum dimulai spektrofometer diatur pada panjang gelombang 340 nm dan pereaksi ditambahkan sesuai prosedur pada tabel 3.
3. Inhibitor kontrol terhadap HMG-KoA reduktase yang digunakan adalah pravastatin.

Tabel 3.2. Volume pereaksi uji inhibitor HMG-KoA reduktase

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Sampel | Buffer | Inhibitor | NADPH | Subtrat HMG-KoA | EnzimHMG-KoA | Aquabides |
| Blanko | 91,5µL | - | 2 µL | 6 µL | - | 900 |
| Aktivitas | 91 µL | - | 2 µL | 6 µL | 1 µL | 900 |
| Inhibisi Pravastatin/ sampel | 90,5µL | 0,5 µL | 2 µL | 6 µL | 1 µL | 900 |

 Setiap 1 mL sampel, dibaca dengan spektrofotometer (340 nm) setiap 25 detik selama 6 menit.

Aktivitas enzim dihitung dengan persamaan:

$$Unit/mgP=\frac{(ΔA340/minsampel – ΔA340/minblank) x TV}{12,44 x V x 0,6 x LP}$$

Keterangan:

12.44 = 2 kebutuhan NADPH selama reaksi (Koefisien untuk NADPH pada 340 nm adalah 6.22/mM.cm).

TV = Volume total reaksi (1 mL)

V = Volume enzim yang digunakan

0.6 = Konsentrasi enzim dalam mg-protein (mgP)/mL

LP = *Light path* (1 untuk *cuvettes*)

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Nilai pH Rusip**

Nilai pH menunjukan derajat keasaman suatu bahan. Nilai pH merupakan konsentrasi ion hidrogen yang terdapat didalam suatu larutan. Dalam pengolahan pangan pH sangat berperan terutama dalam menentukan daya awet suatu makanan Rusip merupakan produk fermentasi ikan yang berbahan baku ikan yang berukuran kecil yang dibuat dengan penambahan garam dan gula aren yang memiliki citarasa asin dan asam. Nilai pH rusip dalam penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 4.1

Gambar. 4.1. Rerata pH rusip

Gambar 4.1. menunjukan nilai pH rusip berkisaran antara 5,85-6,01. Koesoemawardani (2007), menyatakan bahwa pH rusip Bangka berkisar antara 5,01-6,10. Rusip termasuk bahan pangan yang bersifat asam. Nilai kisaran pH rusip yang berada diatas 4,5 menunjukan rusip masuk dalam kelompok bahan pangan berasam rendah. Muhtadi (2008) mengelompokan bahan pangan berdasarkan tingkat keasamannya dalam tiga (3) kelompok, yaitu bahan pangan berasam rendah (pH>4,5); bahan pangan asam (pH 4-4,5); dan bahan pangan berasam tinggi (pH < 4,0). Tingkat keasaman pada rusip disebabkan karena fermentasi rusip melibatkan berbagai mikroorganisme yang didominasi oleh kelompok bakteri asam laktat baik bakteri asam laktat hemofermentatif maupun hetefermentatif yaitu *Lactobaciluss*, *Streptococus*, dan *Leunconostoc* (Yuliana, 2007). Rusip asal Bangka merupakan rusip yang difermentasi secara spontan tanpa starter. Koesoemarwardani *et al*., (2013) menyatakan bahwa rusip yang difermentasi secara spontan memiliki tingkat keasaman lebih rendah (5,98) dari pada rusip yang diproduksi menggunakan starter bakteri asam laktat(5,69).

**Kadar Garam Rusip**

Garam dalam proses fermentasi berperan sebagai pengawetan dan penyeleksi organisme karena dapat mengontrol pertumbuhan mikroorganisme dan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk. Pada penelitian ini penentuan kadar garam NaCl dilakukan dengan metode khoram yaitu dengan prinsip mengekstraksi sampel sehingga garam NaCl tepisah kemudian dititrasi secara perlahan-lahan sampai warna menjadi merah bata. Nilai rata-rata kandungan garam yang terdapat pada rusip dapat pada Gambar 4.2.

Gambar. 4.2. Rerata kadar garam rusip

Gambar 4.2. menunjukan bahwa kadar garam pada rusip berkisar antara 13,94-15,68 %. Rusip termasuk bahan pangan yang memiliki konsentrasi kadar garam yang tinggi. Yuniati dan Almashuri (1994) menyatakan bahwa rata-rata kadar garam pada produk-produk perikanan tergolong tinggi pada kisaran 5,27-21,2%. Sampel A pada rusip memiliki kandungan garam yang tinggi yaitu 15,68%, Hal ini menunjukan bahwa semakin tinggi konsentrasi garam yang terdapat pada rusip maka semakin tinggi kadar garam pada rusip, sedangkan sampel B pada rusip memiliki kandungan garam yang rendah dengan rata-rata yaitu 13,94 %, nilai kadar garam rendah diakibatkan pecahnya senyawa kompleks NaCl menjadi molekul-molekul penyusunya yaitu ion Na+ dan Cl (Desniar *et al*., 2009).

**Kadar Protein Rusip**

 Protein merupakan senyawa organik kompleks tersusun atas asam amino yang mengandung unsur C (karbon), H (hidrogen), O (oksigen) dan N (nitrogen). Protein termasuk komponen kedua terbesar setelah air pada sebagian besar jaringan tubuh. Protein termasuk salah satu komponenpenting didalah tubuh. Ikan merupakan sumber protein yang tinggi. Rusip merupakan produk yang terbuat dari ikan, sehinga memiliki protein yang tinggi.

Perhitungan kadar protein bertujuan untuk mengukur jumlah protein total dalam suatu larutan yang melibatkan *Commasie Brilliant Blue* yang berikatan dengan protein dalam laurtan bersifat asam sehingga membentuk warna biru. Hasil kadar protein dalam rusip dapat dilihat pada Gambar 4.3

Gambar 4.3. Rerata kadar protein pada rusip

**Rendemen Ekstrak Rusip**

Rendemen ekstrak merupakan perbandingan antara ektrak yang dihasilkan dengan jumlah sampel awal yang diekstrak dan dinyatakan dalam hitungan persen. Perhitungan rendemen dilakukan untuk mengukur efektivitas pelarut untuk mengekstrak komponen bioaktif. Pelarut yang digunakan untuk mengektrak rusip yaitu pelarut akuabides. Rusip merupakan produk olahan fermentasi yang menghasilkan peptida yang bersifat polar, oleh karena itu akuabides baik digunakan untuk mengekstrak peptida dari rusip, karena akuabides merupakan pelarut yang bersifat polar.

Gambar 4.4. Rendemen ekstrak rusip

Pada Gambar 4.4. Menunjukan hasil rendemen ekstrak rusip pada penelitian ini memiliki persentase rata-rata nilai 2,32-2,26 %. Proses evaporasi pada saat ekstraksi rusip mengakibatkan menguapnya pelarut akuabides sehingga menyebab larutan menjadi mengental dan menghasilkan rendemen. Nilai rendemen ekstrak rusip yang dihasilkan pada penelitian ini lebih kecil dibandingkan dengan nilai rendemen ekstrak daging lintah laut dengan pelarut akuabides yaitu sebesar 7,20 % (Andriyanti, 2009) dan nilai rendemen ekstrak bekasam ikan seluang yaitu sebesar 15,0% (Oktaviani, 2016). Pada penelitian (Liastri, 2017), menyatakan bahwa hasil rendemen ekstrak dengan pelarut akuabides menunjukan bahwa komponen bioaktif yang paling banyak terkandung pada bekasam ikan seluang merupakan komponen bioaktif yang memiliki kepolaran yang tinggi, hasil tersebut menunjukan bahwa pelarut akuabides memiliki kemampuan yang baik untuk mengektraksi sejumlah bahan simplisia.

**Kadar Peptida Ekstrak Rusip**

Peptida merupakan molekul yang terbentuk dari 2-50 asam amino yang terikat melalui ikatan peptida. Penentuan kadar peptida ini dilakukan dengan titrasi. Nilai rata-rata kandungan peptida yang terdapat pada rusip dapat dilihat pada Gambar 4.5.

Gambar. 4.5. Rerata kadar peptida ekstrak rusip

Berdasarkan hasil penelitian penentuan kadar peptida, bahwa rata-rata kadar peptida yang dihasilkan berkisar 13,05 – 14,80% . dapat dilihat rusip memiliki kandungan kadar peptida, secara umum peptida bioaktif pada produk fermentasi akan menyebabkan produk akan memiliki fungsi sebagai pangan fungsional. Beberapa peptida dari produk fermentasi ikan yang telah terbukti memiliki sifat fungsional yaitu peptida dari beberapa bakteri asam laktat dan dari bekasam (Rinto *et al.* 2015a). Beberapa peptida terbukti dapat memiliki sifat fungsional sebagai antihipertensi (Wikandari dan Yuanita, 2014), antikolesterol (Rinto *et al.* 2015b), dan antioksidan (Kusumaningtyas, *et al.,* 2015).

**Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rusip**

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan yang mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal bebas. Untuk mengetahui senyawa antioksidan dalam suatu bahan dapat diketahui dengan melakukan uji aktivitas antioksidan. Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode ABTS [*(2, 2’-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)*] yang merupakan subtrat dari peroksidase dimana ketika dioksidasi dengan kehadiran h2o2 akan membentuk senyawa radikal kation. ABTS merupakan ABTS merupakan radikal terlarut lemak maupun air (Damgaard *et al.* 2014).

Intensitas perubahan warna yang terjadi pada ABTS dapat diukur absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 405 nm. Setelah itu, perhitungan inhibisi dari ekstrak rusip dan antioksidan BHT (*butylated hydroxytoluene*) dapat dilakukan. Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian menggunakan metode ABTS. Antioksidan pembanding (kontrol) yang digunakan pada penelitian ini adalah antioksidan sintetik BHT dapat dilihat pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6. Hasil rerata % inhibisi aktivitas antioksidan dari BHT

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| No | Standar (ppm) | Inhibisi (%) |
| 1 | 10 | 21,61 |
| 2 | 20 | 31,50 |
| 3 | 30 | 37,08 |
| 4 | 40 | 43,93 |
| 5 | 50 | 71,80 |
| 6 | 60 | 86,10 |

Hasil dari uji aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai inhibisi yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai inhibisi yang dihasilkan akan semakin tinggi aktivitas antioksidan. Nilai rata-rata inhibisi ekstrak rusip dengan metode ABTS dapat dilihat pada Gambar 4.6.

Gambar. 4.6. Rerata inhibisi aktivitas antioksidan rusip

Berdasarkan Gambar 4.6. dapat diketahui bahwa aktivitas antioksidan rata-rata 37,90-51,36 %. Inhibisi aktivitas antioksidan yang tertinggi terdapat pada sampel A dengan rata-rata inhibisi 51,36% sedangkan inhibisi yang terendah terdapat pada sampel C dengan rata-rata 37,90 %. Pada penelitian Oktaviani (2016), menyatakan bahwa aktivitas antioksidan produk fermentasi bekasam ikan seluang pada ekstrak dengan evaporasi menghasilkan nilai aktivitas antioksidan sebesar 69,75%. Hal tersebut menunjukan bahwa uji aktivitas antioksidan atau penghambat radikal bebas menggunakan metode ABTS menunjukan bahwa ekstrak rusip menggunakan pelarut akuabides memiliki aktivitas antioksidan yang rendah. Menurut Andriyanti (2009), bahwa penghambat aktivitas antioksidan yang baik yaitu diatas 75%. Penghambat aktivitas antioksidan ekstrak rusip pada sampel A ini setara dengan antioksidan pembanding BHT yaitu berkisaran antara 40-50 ppm. BHT pada konsentrasi 40-50 ppm masing-masing menghambat radikal bebas sebesar 43,93-71,80 %, Persentasi penghambatan tinggi dan rendahnya BHT membuktikan bahwa BHT bersifat antioksidan yang kuat, tetapi hasil yang didapatkan pada penelitian menunjukan aktivitas antioksidan rendah dikarenakan penghambatan tidak mencapai 75 %, Hal ini diduga senyawa aktif yang ada pada ektrak belum murni sehingga ada senyawa pengotor aktif lainnya, mengingat bahwa rusip merupakan produk fermentasi yang menghasilkan senyawa biokimia seperti asam laktat, asetat dan bakteriosin. Senyawa ini berguna sebagai pengawet dan pemberi rasa pada produk (Rahayu *et al*., 1992). Perbedaan nilai aktivitas antioksidan pada ektraksi juga mungkin disebabkan hilangnya beberapa senyawa antioksidan pada saat proses ektraksi.

**Analisa Inhibitor ACE (*Angiotensin-I Converting Enzyme*) Ekstrak Rusip**

Uji aktivitas ACE inhibitor bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambat ektrak rusip terhadap enzim ACE yang dinyatakan dalam bentuk persen penghambatan. Analisa kemampuan inhibisi dari ektrak rusip terhadap aktivitas enzim inhibitor ACE (*Angiotensin-I Converting Enzyme*) menunjukan daya inhibisi inhibitor ACE berkisaran rata-rata 63,79-95,76% dapat dilihat pada Gambar. 4.7.

Gambar 4.7. Daya inhibisi ektrak rusip terhadap enzim inhibitor ACE ( *Angiotensin-I Converting Enzyme*).

Gambar 4.7. menunjukan bahwa ekstrak rusip memiliki komponen bioaktif yang berperan sebagai inhibitor ACE. Komponen tersebut diduga adalah peptida. Menurut Wikandari (2014), peptida dalam produk fermentasi memiliki aktivitas sebagai inhibitor ACE dan peptida seperti Pro-Thr-His-Ile-Lys-Trp-Gly-Asp berperan sebagai ACE inhibitor. C memiliki daya penghambat yang tinggi yaitu 95,76% sedangkan sampel B merupakan sampel dengan penghambat terendah yaitu 58,16%. Hal tesebut diduga karena ekstak rusip pada sampel C memiliki kandungan protein yang paling tinggi sehingga kadar peptida yang dihasilkan juga lebih tinggi sehingga aktivitas penghambatan ACE lebih tinggi dibandingkan sampel lainya Wikandari *et al* (2012), menyatakan bahwa aktivitas ACE inhibitor bakteri asam laktat proteolitik isolat bekasam menunjukan penghambatan tertinggi dihasilkan oleh *stain L. Plantarum* dengan penghambatan sebesar 68,17%. Penelitian tentang aktivitas inhibitor ACE pada produk ikan telah dilakukan dari hasil hidrolisis protein ikan dengan enzim protease aktivitas yang dihasilkan antara 63-79 % (Bougatef *et all*., 2008). Pada penelitian ini aktivitas penghambat pada ekstrak rusip berpotensi menunjukan penghambat aktivitas yang tinggi terhadap ACE. Saputro (2016), menyatakan bahwa produk kasein dan *whey* susu mampu menghambat ACE dengan aktivitas 93,66% (kasein) dan 81,07% *(whey* susu). Hal ini menunjukan bahwa sampel C memiliki daya penghambat ACE yang tinggi dan diduga peptida pada ekstrak rusip mampu menghambat ACE. Menurut Wikandari (2014), Ekstrak bekasam menghasilkan peptida yang lebih banyak dan berpotensi sebagai antihipertensi, peptida yang dihasilkan dan lebih berpotensi sebagai antihipertensi pada umunya adalah peptida pendek dengan susunan 2-12 asam amino. Besarnya aktivitas penghambat ACE diketahui berkorelasi dengan peningkatan peptida yang terbentuk selama proses fermentasi. Adanya korelasi ini ditunjukan Fuglsang *et al*., (2003) dan Quiros *et al.,* (2007) pada penelitian tentang aktivitas penghambat ACE oleh bakteri asam laktat yang diisolasi dari susu. Aktivitas penghambat ACE pada ektrak rusip diduga berkaitan dengan terbentuknya peptida dengan jumlah yang relatif besar, dengan demikian rusip berpotensi untuk dikembangkan menjadi pangan fungsional anthipertensi.

**Analisa Inhibisi HMG-KoA Reduktase Ekstrak Rusip**

Peptida merupakan molekul yang terbentuk dari dua atau lebih asam amino. Peptida biokatif merupakan fragmen protein spesifik yang memiliki dampak positif pada fungsi atau kondisi tubuh. Analisa terhadap kemampuan inhibisi dari ektrak rusip terhadap aktivitas enzim HMG-KoA reduktase menunjukan daya inhibisi HMG-KoA reduktase berkisar rata-rata 16,66-50 %. dapat dilihat pada Gambar 4.8.

Gambar 4.8. Daya inhibisi ektrak rusip terhadap enzim HMG-KoA reduktase. Pravastatin sebagai kontrol (pravas), Sampel A, Sampel B dan Sampel C.

Gambar 4.8. Menunjukan bahwa adanya inhibisi ekstrak rusip terhadap HMG-KoA reduktase dimana keberadaan komponen bioaktif pada ektrak rusip berfungsi sebagai inhibitor HMG-KoA reduktase. Menurut Oktaviani (2016), analisa kemampuan inhibisi dari ekstrak bekasam ikan seluang terhadap aktivitas enzim HMG-KoA reduktase menunjukan daya inhibisi HMG-KoA reduktase berkisar antara 66,67-93 %. Sampel C ekstrak rusip memiliki daya inhibisi HMG-KoA reduktase yang tinggi yaitu sebesar 50% dibandingkan sampel yang lainnya. namun daya inhibisi ini sangat kecil dibandingkan dengan kontrol (Pravastatin). Hal ini dikarenakan pravastatin yang digunakan merupakan pravastatin komersil (Sigma Aldrich). Pada penelitian ini inhibisi ekstrak rusip terhadap enzim HMG-KoA reduktase tergolong rendah dibandingkan dengan ekstrak bekasam ikan seluang yang memiliki kemampuan inhibisi yang tinggi terhadap HMG-KoA reduktase hal ini diduga bahwa peptida yang dihasilkan dari ekstrak rusip tergolong rendah terhadap HMG-KoA reduktase..

**KESIMPULAN DAN SARAN**

**Kesimpulan**

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian tentang Kajian aktivitas antioksidan, antikolestrol dan antihipetensi ini adalah sebagai berikut :

1. Nilai pH rusip berkisar antara 5,85-6,01, nilai kadar garam rusip berkisar antara13,94-15,56%, dan nilai kadar protein rusip berkisar antara 14,71-18,39 mg/mL.
2. Nilai rendemen ekstrak rusip berkisar antara 2,26-2,32 sedangkan nilai peptida ekstrak rusip berkisar antara 13,05-14,80%.
3. Aktivitas antioksidan dan inhibitor HMG-KoA ekstrak rusip pada penelitian tergolong rendah.
4. Rusip memiliki aktivitas inhibitor ACE yang tinggi (> 90%) sehingga berpotensi sebagai antihipertensi

**Saran**

Saran yang dapat diberikan dari hasil penelitian ini adalah perlu dilakukan analisa aktivitas inhibitor ACE pada analisa profil peptida rusip.

**DAFTAR PUSTAKA**

Afrianto, E., Liviawaty G., 1991. Pengawetan dan Pengolahan Ikan. Kanisus. Yogyakarta.

Andriyanti, R., 2009. Ekstraksi Senyawa Aktif Antioksidan dari Lintah Laut (*Discodoris* sp.) Asal Perairan Kepulauan Belitung. Teknologi Hasil perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Instuti Pertanian Bogor

AOAC,. 1995. Official Methods of Analisys Chemist. Vol. 1A. AOAC Inc., Washington.

Bougatef, A., Naima, N-A., Rozen, R-P., Yves, L., Didier, G., Ahmed, B. dan Moncef, N. (2008). ACE inhibitory activities of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-product protein hydrolysates obtained by treatment with microbial and visceral fi sh serine protease. *Food* *Chemistry* 111: 350-356.

Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microorganisms quantities of protein in utilizing the principle of protein‐dye binding. Anal. Biochem 72:248‐254.

Damgaard, TD., Otte, J.A.H., Meinert L, Jensen K, Lametsch R. 2014. Antioxidant capacity of hydrolyzed porcine tissues. *Food Sci Nutr*. 2: 282-288

Desniar, Poernomo,. D, Wijatur W., 2009. Pengaruh konsentrasi garam pada peda ikan kembung (Rastrelliger sp.) dengan fermentasi spontan. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia 12(1):73-87.

Effendi. S., 2009. *Teknologi Pengolahan dan Pengawetan Pangan*. Bandung(ID):Alfabeta. Hal. 177.

Fuglsang, A., Rattray F.P. Nilsson, D. dan Nyborg, N.C.B.,. 2003. Lactic acid bacteria: inhibition of angiotensin converting enzyme in vitro and in vivo. *Antonie van* *Leeuwenhoek* 83: 27–34

Hermanto, S., 2016. *Virtual Screening* Peptida Bioaktif Antihipertensi dari Hidrolisat Kasein Susu Kambing Etawa. Fakultas Sains dan Teknologi Jurusan Kimia. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta. Vol. 5(2) : 45-54.

Hernawan, U.K., Setyawan A.D., 2003. Senyawa Organosulfur Bawang Putih (*Allium sativum L*.) dan Aktivitas Biologinya. Fakultas MIPA Jurusan Biologi Universitas Negeri Surakarta. Vol 1(2): 65-76.

Hutkins, R.W., 2006. Microbiology and technology of fermented food. Australia, Blackwell Publishing Asia.

Irianto. H.E. dan Giyatmi. S., 2009. *Teknologi Pengolahan Hasil Perikanan*. Jakarta (ID). Universitas Terbuka. Hal 14-16.

Itou K and Akahane Y. 2009. Effect of extract from heshiko, a fermented mackerel product, on cholestrol metabolism in wistar rats. Fish Science. 76 : 241-248.

Itou K dan Akahane Y. 2010. Effect of extract from heshiko, a fermented mackerel product, on cholestrol metabolism in wistar rats. Fish Science. 76 : 537-546.

Khasanah N., 2009. Pengaruh Konsentrasi Garam Terhadap Protein Hasil Fermentasi Ikan Kembung (Rastrelliger sp.) pada Pembuatan Peda Sebagai Alternatif Sumber Belajar Kimia SMA/MA pada Materi Pokok Makromolekul [*Skripsi*]. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga. Yogyakarta.

Koeseomawardani, D., 2007. Karakterisasi rusip Bangka. *Prosiding Seminar* *Hasil Penelitian dan Pengabdian* *Kepada Masyarakat*. Universitas Lampung. 6-7 September 2007. Hal 304-313.

Kusumaningtyas. E., 2016. Peptida Bioaktif Susu Kambing dan Susu Kuda Hasil Hidrolisis Bromelin dan Protease *bacillus thuringiensis* [*Thesis*]. Bogor. Sekolah Pascasarjana Institut Petanian Bogor.

Kusumaningtyas. E., Widiastuti R., Kusumaningrum HD., Suhartono MT. 2015. Aktivitas Antibakter dan Antioksidan Hidrolisat Hasil Hidrolisis Protein Susu Kambing Dengan Ekstrak Kasar Bromelin. Fakultas Teknologi Pertanian, Instituti Pertanian Bogor. Vol. 26(2) : 179-188.

Lachenmeier DW, Monakhova YB, Kuballa T, Lobell-Behrends S, Maixner S, Kohl-Himmelseher M, Waldner A, Steffen C. 2012. NMR evaluation oftotal statin content and HMG-CoA reductase inhibitor in red yeast ricefood supplements. *Chinese Medicine*. 7 (8): 1-7.

Liastri Y. 2017. Pengaruh penggunaan pelarut polar terhdapa kandungan lovastatin dan aktivitas antioksidan ekstrak bekasam ikan seluang dengan penambahan stater *Lactobacillus acidophilus*. Teknologi Hasil Peikanan. Universitas Sriwijaya. [Tidak dipublikasi].

Mirdhayati I. Hermanianto J. Wijaya CH. Sajuthi D. Arihara K. 2016. Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory and antihypertensive activities of protein hydrolysate from meat of Kacang goat (Capra aegagrus hircus). *J Sci Food Agri*. 96 : 3536-3542

Muhtadi TR. 2008. Teknologi Pengolahan Pangan (*Food Processing Technology*) Direktorat jenderal tinggi pusat antar universitas pangan dan gizi. Institute Pertanian Bogor. Bogor

Nadila F. 2014. Potensi Antihipetensi dari Buah Labu Siam Ekstrak Untuk Pengobatan Hipertensi. [*Artikel review].* Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung. Vol. 3(7) : 36-37.

Oktaviani S. 2016. Fraksinasi peptida bioaktif antioksidan dan antikolsetrol dari bekasam ikan seluang dengan penamabahan stater *Lactobacillus acidophilus.* Teknologi Hasil Peikanan. Universitas Sriwijaya. [Tidak dipublikasi].

Pratama. D.M., Yuliawati. MK., dan Kodir. R.A., 2015. Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Rumput Laut Sargassum duplicatum J.G. Agardh dari Pantai Ujung Genteng. Prosiding Penelitian SpeSIA Unisba. Fakultas MIPA Unisba. Bandung.

Quiros. A., Ramos, M., Muguerza, B., Delgado, M.A., Miguel, M., Alexendre, A. dan Recio, I. (2007). Identifi cation of novel antyhypertensive peptides in milk fermented with *Enterococcus faecalis*. *International Dairy Journal* **17**(1): 33-41.

Rahayu W.P., Ma’oen S., Suliantari dan Fardiaz S. 1992. *Teknologi Fermentasi Produk Perikanan*. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Riana., 2015. Kandungan Formalin dan Kadar Garam Pada Ikan Sunu Asin dari Pasar Tradisional Makassar Sulawesi Selatan (*Skripsi*). Fakultas Kedokteran, Universitas Hasanudin.

Rinto. Ratih. D., Sedarnawati Y., dan Maggy T.S., 2015. Potency of Bekasam Indonesian Traditional Fermented Fish Product As a Hmg-CoA Reductase Inhibitor . ISSN: 2315-5094 Vol. 4(8) pp. 467-473.

Rinto, Ratih D, Sedarnawati Y. dan Maggy TS. 2015a. Isolasi dan identifikasi bakteri asam laktat penghasil inhibitor enzim HMG-KoA reduktase dari bekasam sebagai agen pereduksi kolesterol. *Agritech.* 35 (3).

Rinto, Ratih D, Sedarnawati Y. dan Maggy TS. 2015b. Potency of bekasam “Indonesia tradisional fermented fish product” as a HMG-CoA reductase inhibitor. *Journal of Agricultural Science.* 4(8) pp. 467-473

Rinto. 2015c. *Inhibitor 3-hidroksi-3-metilglutaril koenzim a Reduktase dari (Lactobacillu acidophilus) Asal Bekasam*. Disertasi (Tidak dipublikasikan). Sekolah pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Saputro. M.N.B., 2016. Profil Protein, Aktivitas Antioksidan, dan Inhibitor ACE dari Susu Kuda dan Hidrolisatnya [Tesis]. Sekolah Pascasarjana Instituti Pertanian Bogor. Bogor.

Sastra. W., 2008. Fermentasi Rusip [*Skripsi*]. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan Instituti Pertanian Bogor. Bogor

Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimatin antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Comp Anal*. 19:669-676.

Wikandari. P.R., Suparmo. Marsono Y., Rahayu. E.S., 2012. Potensi baketeri asam laktat yang diisolasi dari bekasam sebagai penghasil angiotensin converting enzyme pada fermentasi “Bekasam-like” Product. *Agritech.* Vol 32.

Wikandari PR dan Yuanita L. 2016. Pengaruh Degradasi Enzim Proteolitik Terhadap Aktivitas Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor Bekasam dengan *Lactobacillus plantarum* B1765. *Agritech.* 36 (2) : 170-175*.*

Wikandari PR dan Yuanita L. 2014. Potensi Bekasam yang Difermentasi dengan Lactobacillus plantarum B1765 dalam Menurunkan Tekanan Darah Tikus Hipertensi. *Prosiding Seminar Nasional Kimia. Jurusan MIPA Kimia FMIPA Universitas Negeri Surabaya,* Surabaya*.*

Yuniati H dan Almasyhuri. 1994. Kandungan natrium (Na) dan Garam (Nacl) dalam ikan asin kering mentah dan goreng dipasar Anyar Bogor. p-ISSN 0125-9717. E-ISSN 2338-8358.