

PERUBAHAN PARAMETER BIOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN RUSIP SELAMA PERIODE FERMENTASI

Biochemical and Antioxidant Changes of Rusip during Fermentation Period

Farida Agustina*, Dina Mustika Rini, Muhammad Alfid Kurnianto, Anugerah Dany Priyanto
Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik dan Sains, Universitas Pembangunan Nasional
"Veteran" Jawa Timur

*e-mail: faridaagst@gmail.com

ABSTRAK

Rusip adalah produk fermentasi tradisional berbahan ikan teri dari Bangka Belitung yang kaya metabolit penentu cita rasa dan bioaktivitas. Selama fermentasi, parameter biokimia rusip mengalami perubahan, termasuk pH, protein, asam amino, dan asam lemak. Potensi aktivitas antioksidan pada rusip juga tinggi, namun dinamika perubahannya selama fermentasi masih jarang diteliti. Oleh karena itu, tujuan penelitian ini untuk melakukan kuantifikasi pada parameter biokimia dan antioksidan rusip selama fermentasi. Penelitian ini menganalisis perubahan biokimia dan antioksidan pada tiga durasi fermentasi (0, 10, 20 hari). Fermentasi dibuat menggunakan ikan teri, garam, dan gula aren yang difermentasi secara spontan. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis pH dengan pH meter, analisis protein terlarut dengan metode lowry, total asam amino bebas dengan spektrofotometri, asam lemak bebas dengan volumetri, serta uji antioksidan dengan AEAC. Hasil yang didapatkan adalah pH turun dari $6,59 \pm 0,247$ menjadi $3,60 \pm 0,424$, protein terlarut naik dari $2,41 \pm 0,170$ menjadi $7,57 \pm 0,396$, total asam amino bebas naik dari 14,06 g leusin (0 hari) menjadi 37,13 g leusin (20 hari), asam lemak bebas dari $4,43 \pm 0,14$ menjadi $14,15 \pm 0,36$, dan antioksidan setara 274,20–311,13 μg asam askorbat/g.

Kata kunci: rusip, protein, asam amino, asam lemak, antioksidan

ABSTRACT

Rusip is a traditional fermented product made from anchovies from Bangka Belitung, rich in metabolites that determine flavor and bioactivity. During fermentation, the biochemical parameters of rusip undergo significant changes, including pH, protein, amino acids, and fatty acids. The antioxidant potential of rusip is also high; however, the dynamics of these changes during fermentation have rarely been investigated. Therefore, this study aims to quantify the biochemical and antioxidant parameters of rusip during fermentation. This research analyzes biochemical and antioxidant changes at three fermentation durations (0, 10, and 20 days). The anchovies, salt, and palm sugar were mixed together and allowed to ferment spontaneously. The methods used in this study included pH analysis using a pH meter, soluble protein analysis using the Lowry method, total free amino acids using spectrophotometry, free fatty acids using volumetry, and antioxidant activity using the AEAC method. The results showed that the pH decreased from 6.59 ± 0.247 to 3.60 ± 0.424 , soluble protein increased from 2.41 ± 0.170 to 7.57 ± 0.396 , total free amino acids increased from 14.06g leucine (day 0) to 37.13g leucine (day 20), free fatty acids increased from 4.43 ± 0.14 to 14.15 ± 0.36 , and antioxidant activity ranged between 274.20 and 311.13 μg ascorbic acid equivalents/g during the fermentation.

Keyword: Rusip, Protein, Amino Acids, Fatty Acids, Antioxidants

PENDAHULUAN

Rusip adalah produk fermentasi ikan teri tradisional asal Bangka Belitung yang memiliki warna coklat muda sampai abu-abu tua, rasa yang manis, asam, dan asin serta memiliki flavor yang khas (Dyah Koesoemawardani *et al*, 2015; Susianti *et al*, 2020). Produk ini biasanya dikonsumsi sebagai campuran untuk sambal, baik dengan cara dimasak terlebih dahulu atau langsung dikonsumsi sebagai lauk tanpa melewati proses pemasakan (Binri, 2021). Bahan baku pembuatan produk fermentasi ikan teri diantaranya adalah ikan teri, garam, dan gula aren yang kemudian difermentasi selama satu sampai dua minggu (Koesoemawardani *et al*, 2015). Rusip dibuat dengan cara fermentasi spontan dengan menggunakan ikan yang berukuran kecil (Susianti *et al.*, 2020). Fermentasi spontan masih banyak diterapkan pada pembuatan rusip karena cara pembuatan yang relatif mudah. Fermentasi spontan pada produk pangan dapat memicu perkembangan beragam mikroorganisme yang berpotensi memengaruhi kualitas produk (Han *et al.*, 2023; Kim *et al*, 2022; Kurnianto *et al*, 2023).

Produk fermentasi ikan teri juga merupakan salah satu produk yang potensial, selama proses fermentasi, mikroorganisme yang ada dalam ikan menghasilkan berbagai senyawa metabolit yang berkontribusi terhadap sifat fungsional produk akhir. Metabolit ini termasuk vitamin, asam amino,

dan peptida bioaktif yang bermanfaat bagi kesehatan manusia (Anal, 2019). Makanan fermentasi dapat menjadi salah satu pangan fungsional karena dapat meningkatkan nilai gizi dan daya cerna makanan. Mikroorganisme khususnya Bakteri Asam Laktat (BAL), selain berperan dalam pengasaman, mampu menghasilkan sejumlah besar metabolit sekunder dengan manfaat kesehatan dan sifat pengawet yang sangat baik (misalnya, aktivitas antimikroba). Beberapa mikroorganisme dapat meningkatkan kadar beberapa senyawa bioaktif (misalnya, vitamin, senyawa antioksidan, peptida, dll.).

Perbedaan durasi fermentasi berpengaruh terhadap metabolit yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Primurdia, (2019) mengungkapkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, semakin banyak bakteri asam laktat yang berkembang biak, sehingga kemampuan bakteri dalam memecah glukosa menjadi metabolit primer dan metabolit sekunder semakin meningkat. Proses fermentasi pada ikan merupakan proses penguraian secara biologis atau semibiologis terhadap senyawa-senyawa kompleks terutama protein menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan enzim yang berasal dari tubuh ikan atau mikroorganisme serta berlangsung dalam keadaan terkontrol (Koesoemawardani, 2019). Terjadi reaksi katabolisme substrat

utama oleh enzim dan metabolit hasil produksi mikroorganisme selama fermentasi yang berpengaruh terhadap sifat fisikokimia dan sensoris produk (Kurnianto *et al*, 2024).

Biotransformasi makromolekul yang terjadi selama fermentasi diatur oleh sifat kimia dan komposisi mikrobiota yang terdapat dalam bahan baku dan lingkungan fermentasi. Keberadaan mikrobiota ini umumnya berasal dari bahan baku. Interaksi mikroba dengan substrat (jenis ikan) dan komposisinya akan mempengaruhi karakteristik akhir produk fermentasi yang dihasilkan. Terbentuk setelah serangkaian reaksi enzimatik dan non-enzimatik yang mendegradasi protein, lemak, dan karbohidrat. (Rachmawati *et al.*, 2024). Selama proses fermentasi, parameter biokimia rusip, seperti pH, protein, asam amino, dan asam lemak, mengalami perubahan yang memengaruhi karakteristik akhir produk. Selain itu, rusip juga berpotensi memiliki aktivitas antioksidan, namun informasi mengenai dinamika perubahan biokimia dan aktivitas antioksidan selama fermentasi masih terbatas. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perubahan biokimia dan aktivitas antioksidan pada berbagai tahap fermentasi.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilakukan di laboratorium Analisa Pangan FTS UPN "Veteran" Jatim pada bulan Agustus 2024-Agustus 2025. Bahan baku yang digunakan dalam penelitian

ini adalah ikan teri jengki, garam, dan gula aren. Adapun bahan untuk analisa lainnya adalah *Bovine Serum Albumin (BSA)*, reagen lowry, reagen *folin-ciocalteu*, aquabides, reagen ninhidrin, standar leusin, reagen DPPH, metanol, dan asam askorbat.

Prosedur penelitian

Pembuatan Rusip

Rusip dibuat dengan menggunakan ikan teri, garam, dan gula aren. Ikan teri dilakukan pencucian dengan menggunakan garam. Selama pencucian kontaminan yang ada pada ikan dihilangkan. Ikan teri ditambahkan garam sebanyak 15% b/b dan gula aren sebanyak 10% b/b. Setelah itu dimasukkan ke dalam botol dan difermentasi selama 0, 10, dan 20 hari.

Analisis pH

Sebanyak 5 gram rusip dimasukkan dalam gelas beaker 100ml dan ditambahkan 45ml aquadest. Campuran ini kemudian disaring selama minimal 5 menit. Pengukur pH diaktifkan hingga stabil selama 15 menit. Setiap analisis yang dilakukan dengan pH meter akan dikalibrasi menggunakan dua larutan buffer standar yang berbeda, khususnya larutan buffer pH 4 dan pH 7. Elektroda harus direndam dalam larutan sampel sampai pembacaan stabil tercapai, sehingga memungkinkan penentuan pH sampel. Selanjutnya elektroda dibilas dengan aquades dan dikeringkan dengan kertas tisu. Pembacaan dilakukan dengan total pengulangan sebanyak 2 kali.

Analisa Protein Terlarut

Kadar protein terlarut diuji dengan metode lowry. Pembuatan pereaksi dalam analisa lowry sebagai berikut:

Pereaksi A: 2 gram Na_2CO_3 ke dalam 100ml NaOH

Pereaksi B: 0,025 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ke dalam (0,05 gram Na Tartrat + 5 ml aquades)

Pereaksi C: 50 ml pereaksi A + 1 ml pereaksi B

Pereaksi D: 3 ml folin + 3 ml aquades.

Analisa lowry dilakukan dengan cara pembuatan larutan BSA standar, memasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing larutan BSA sebanyak 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1 ml, menambahkan aquades sampai volume 4 ml, penambahan 5,5 pereaksi D lalu divortex dan diamkan selama 10-15 menit. Sebanyak 0,5 ml pereaksi D ditambahkan lalu divortex, kemudian diamkan selama 30 menit. Sebanyak 1 gram sampel diambil, kemudian diencerkan sampai volume 100ml, dan diambil 1 ml. Tambahkan aquades sampai volume menjadi 4 ml, tambahkan 5,5 ml pereaksi C kemudian divortex dan didiamkan selama 10-15 menit. Sebanyak 0,5 ml pereaksi D ditambahkan lalu divortex dan didiamkan selama 30 menit. Panjang gelombang diukur dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 650nm.

Total Asam Amino Bebas

Pengujian total asam amino bebas mengacu pada (Laksmiwati *et al*, 2024)

Ekstrak rusip yang digunakan pada penelitian ini adalah 10% b/v. Larutan stock dengan standar leusin dibuat 0,0153/ml. Larutan stock dipipet 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 dilarutkan hingga 1 ml air. Sehingga menjadi 0; 0,00306; 0,00612; 0,00918; 0,01224; 0,0153 gram/ml. Masing-masing ditambahkan sebanyak 4 ml aquades, kemudian ditambahkan reagen ninhidrin sebanyak 1 ml dengan konsentrasi 0,1%. Ekstrak rusip diambil sebanyak 3 ml dan ditambahkan 2 ml aquades, serta ditambahkan 1 ml reagen ninhidrin. Tabung reaksi ditutup rapat dengan parafilm, lalu dipanaskan pada suhu 90°C selama 8-13 menit sampai terbentuk warna ungu. Kadar asam amino bebas diketahui dengan mengukur absorbansinya pada panjang gelombang 570 nm dengan alat spektrofotometer. Kurva kalibrasi diperoleh dengan cara memplot nilai absorbansi terhadap konsentrasi standar leusin. Kurva standar ini digunakan untuk menghitung nilai asam amino bebas yang terdapat pada sampel rusip.

Analisis Antioksidan (AEAC)

Pengujian antioksidan dilakukan dengan menggunakan sampel berupa ekstrak rusip 10% b/v. Ekstrak rusip diambil masing-masing 2 ml, ditambahkan dengan 4 ml metanol, dan 1 ml DPPH. Reagen DPPH ditimbang sebanyak 0,0035 gram dilarutkan dalam 10 ml metanol. Larutan stock asam askorbat dibuat 0,0000625/ml, kemudian

diambil 0; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; dan 1 untuk digunakan sebagai standar. Masing-masing ditambahkan dengan 5 ml metanol dan 1 ml DPPH. Selanjutnya larutan diinkubasi pada temperatur 37° C selama 30 menit di ruang gelap. Absorbansi larutan tersebut diukur dengan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 517 nm. Hasil absorbansi asam askorbat dibuat kurva standar yang akan digunakan untuk menentukan nilai antioksidan pada masing-masing sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

pH

Rusip merupakan produk fermentasi ikan teri yang dalam penelitian ini difermentasi spontan. Fermentasi menyebabkan perubahan pH pada rusip oleh adanya aktivitas bakteri asam laktat yang merombak substrat (Koesoemawardani et al., 2015). Adapun pH rusip selama fermentasi adalah sebagai berikut.

Tabel 1. Perubahan pH rusip selama fermentasi

Durasi Fermentasi	pH
Fermentasi 0 Hari	6,59 ± 0,247 ^b
Fermentasi 10 Hari	4,61 ± 0,223 ^b
Fermentasi 20 Hari	3,60 ± 0,424 ^a

Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa pH terus mengalami penurunan dari 6,59 menurun menjadi 4,61 dan pada fermentasi 20 hari menurun kembali menjadi 3,60. Analisis statistik menunjukkan perbedaan signifikan pada ($p \leq 0,05$). Nilai ini konsisten dengan yang terjadi pada penelitian

(Kurnianto *et al*, 2024) yang mengungkapkan bahwa pada fermentasi 0 hari 6,48. Adapun penelitian oleh Koesoemawardani *et al*, (2015) mengungkapkan bahwa fermentasi 0-14 hari dengan konsentrasi garam 10-25% menurunkan pH antara 6,54-4,57.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pH rusip mengalami tren penurunan seiring berjalannya waktu fermentasi. Hal ini dapat terjadi oleh adanya gula aren yang dapat dirombak menjadi asam laktat oleh bakteri asam laktat. Adapun penurunan pH juga dapat disebabkan oleh adanya pemecahan senyawa NaCl yang terurai menjadi molekul penyusunnya berupa ion Na⁺ dan Cl⁻. Ion Cl⁻ akan berikatan dengan air bebas, sehingga air bebas berkurang dan menyebabkan lingkungan asam karena terbentuknya senyawa HCl (Koesoemawardani et al., 2015). Peningkatan lama fermentasi menurunkan nilai pH rusip. Hal ini diakibatkan oleh adanya proses pemecahan glukosa oleh bakteri asam laktat menghasilkan energi untuk aktivitas bakteri, sehingga total bakteri asam laktat akan semakin tinggi yang berakibat pada semakin tinggi pula asam laktat yang dihasilkan (Koesoemawardani, et al., 2015).

Protein Terlarut

Protein terlarut dihasilkan dari pemecahan protein oleh bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat mendegradasi protein pada ikan menjadi peptida-peptida sederhana serta asam amino bebas untuk digunakan

sebagai sumber nutrisi dan sumber energinya. Adapun hasil analisis protein terlarut pada rusip yang didapatkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut.

Tabel 2. Perubahan kandungan protein terlarut rusip selama fermentasi

Durasi Fermentasi	Protein Terlarut
Fermentasi 0 Hari	$2,41 \pm 0,170^a$
Fermentasi 10 Hari	$5,36 \pm 0,064^b$
Fermentasi 20 Hari	$7,57 \pm 0,396^c$

Protein terlarut mengalami tren peningkatan seiring berjalannya waktu fermentasi. Fermentasi 0 hari memiliki protein terlarut 2,41 dan mengalami peningkatan menjadi 7,57 pada fermentasi 20 hari. Hasil analisis statistik menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan nilai ($p \leq 0,05$). Peningkatan kadar protein terlarut juga terjadi pada penelitian Cristabela, (2025) yang menunjukkan adanya peningkatan 3,24 menjadi 6,36 pada rusip yang difermentasi 0 dan 20 hari.

Kenaikan protein terlarut dapat disebabkan oleh adanya aktivitas bakteri asam laktat. Sebagaimana yang terdapat pada Matti et al. (2021) bahwa bakteri asam laktat memerlukan sumber asam amino dan peptida eksogen yang tersedia oleh adanya hidrolisis protein dengan enzim proteolitik. Enzim ini dihasilkan oleh baik bakteri asam laktat proteolitik yang ditambahkan ataupun endogen yang berasal dari ikan.

Total Asam Amino Bebas

Pengujian asam amino bebas dilakukan karena dalam fermentasi ikan teri,

asam amino merupakan produk utama dari pemecahan protein oleh mikroba. Asam amino bebas juga berkontribusi terhadap cita rasa dan aroma rusip (Maharani & Junianto, 2024). Asam amino bebas diuji dengan menggunakan instrumen spektrofotometer dengan standar berupa leusin. Produk fermentasi ikan teri (*rusip*) yang digunakan dalam pengujian ini adalah dalam bentuk ekstrak 10% (b/v) dengan menggunakan pelarut aquabides. Hasil yang didapatkan dalam penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan total asam amino bebas pada produk fermentasi ikan teri (*rusip*) dengan durasi fermentasi 0 hari, 10 hari, dan 20 hari yang ditampilkan pada **Tabel 3** berikut.

Tabel 3. Perubahan total asam amino bebas rusip selama fermentasi

Durasi Fermentasi	Total asam amino bebas g leusin/100g rusip
Fermentasi 0 Hari	$14,06 \pm 0,027^a$
Fermentasi 10 Hari	$24,16 \pm 0,028^a$
Fermentasi 20 Hari	$37,13 \pm 0,021^b$

Hasil menunjukkan bahwa seratus gram produk fermentasi ikan teri (*rusip*) yang difermentasi selama 0, 10, dan 20 hari memiliki nilai total asam amino bebas secara berturut-turut setara dengan 14,06; 24,16; dan 37,13 gram leusin. Nilai total asam amino bebas mengalami peningkatan seiring jalannya waktu fermentasi yaitu sebanyak 0,141, 0,242, dan 0,371 g leusin/g rusip. Penelitian oleh Batubara et al., (2019) menunjukkan hasil absorbansi pengujian

asam amino bebas pada rusip yang difermentasi 0 sampai 8 hari yang menunjukkan absorbansi 0,32 sampai 1,39 dengan garam 5% dan gula aren 5%, serta dengan penambahan starter. Hasil ini lebih tinggi dibandingkan dengan hasil absorpsi pada penelitian ini, namun hal ini tidak dapat dibandingkan karena dalam penelitian tersebut tidak digunakan standar, sehingga belum dapat diketahui hasil perhitungan lebih lanjut. Penelitian oleh Anggo *et al.*, (2015) menghitung total kandungan asam amino bebas pada fermentasi ikan teri dengan kandungan garam 2% yakni sebesar 32,32 mg/100 g sampel pada waktu fermentasi 8 hari (basis basah). Maharani & Junianto, (2024) menyebutkan bahwa semakin lama fermentasi, rasa dan aroma rusip menjadi semakin kuat akibat aktivitas mikroorganisme yang menguraikan protein dan menghasilkan asam amino. Penelitian oleh Sun *et al.*, (2016) melaporkan kandungan total asam amino bebas pada kelompok percobaan yang difermentasi dengan *Aspergillus oryzae* OAY1 adalah $18,04 \pm 1,20$ mg/mL, yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan sampel sebelum fermentasi ($15,65 \pm 0,94$ mg/mL). Peningkatan total asam amino bebas ini menunjukkan bahwa protein atau peptida ikan teri terhidrolisis secara signifikan oleh mikroba.

Uji statistik one-way ANOVA dilakukan untuk mengetahui signifikansi perbedaan pada data total asam amino

bebas. Hasil uji statistik menunjukkan *p-value* 0,006 yang artinya total asam amino bebas pada penelitian ini berbeda nyata. Perbedaan jumlah masing-masing asam amino disebabkan oleh perbedaan keseimbangan asam amino bebas yang dihasilkan oleh autolisis dan aktivitas mikroba (D. Koesoemawardani *et al*, 2018). Penelitian oleh Anggo *et al.*, (2015) menyebutkan bahwa kandungan asam amino bebas pada pasta ikan fermentasi fluktuatif selama periode fermentasi namun sebagian besar asam amino bebasnya meningkat. Peningkatan total asam amino bebas menunjukkan bahwa protein atau peptida ikan teri terhidrolisis secara signifikan oleh mikroba.

Kenaikan total asam amino bebas ini dapat disebabkan oleh akumulasi asam amino bebas yang ada pada didalamnya. Penelitian oleh Anggo *et al.* (2015) melakukan kuantifikasi asam amino pada fermentasi selama 8 hari dan 32 hari, diketahui terdapat peningkatan asam amino Glutamic acid $4.61 + 1.00$ menjadi $5.52 + 0.13$, Threonin $1.61 + 0.09$ menjadi $1.85 + 0.22$, Lysine $2.87 + 0.59$ menjadi $3.12 + 0.00$, Aspartic acid $3.08 + 0.62$ menjadi $3.69 + 0.16$, dan DL alanin $1.97 + 0.22$ menjadi $2.38 + 0.17$. Hal ini berarti bahwa beberapa asam amino ini dapat menjadi metabolit yang bertanggung jawab akan peningkatan total asam amino bebas seiring bertambahnya waktu fermentasi.

Total Asam Lemak Bebas

Asam lemak bebas menjadi salah satu parameter biokimia yang mengalami perubahan seiring berjalannya waktu fermentasi. Hal ini oleh akibat dari lipolisis yang dikendalikan oleh enzim-enzim tertentu, yaitu lipase dan fosfolipase, yang menyebabkan pelepasan asam lemak bebas (FFA). FFA merupakan substrat utama untuk oksidasi lipid dan berperan penting dalam pembentukan cita rasa pada produk daging fermentasi (Xu *et al.*, 2018). Asam lemak bebas (FFA) dari lipolisis merupakan prekursor rasa utama (Han *et al.*, 2024). Hasil yang didapatkan dalam penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan total asam lemak bebas pada rusip dengan durasi fermentasi 0 hari, 10 hari, dan 20 hari yang ditampilkan pada **Tabel 4** berikut.

Tabel 4. Perubahan total asam lemak bebas rusip selama fermentasi

Durasi Fermentasi	Total asam lemak bebas (% b/b)
Fermentasi 0 Hari	$4,43 \pm 0,14^a$
Fermentasi 10 Hari	$7,87 \pm 0,10^b$
Fermentasi 20 Hari	$14,15 \pm 0,36^c$

Berdasarkan data hasil pengujian, diketahui bahwa produk rusip tanpa fermentasi memiliki nilai asam lemak bebas $4,43 \pm 0,14$ yang kemudian mengalami kenaikan menjadi $7,87 \pm 0,10$ pada fermentasi 10 hari. Sedangkan nilai asam lemak bebas paling tinggi adalah pada saat fermentasi 20 hari, yaitu sebesar $14,15 \pm$

$0,36$. Penelitian oleh Ibrahim *et al.* (2022) melakukan kuantifikasi pada saus ikan teri yang melalui penyimpanan 20 hari dengan kadar garam 20% memiliki nilai 0.88 ± 0.02 mg/100 ml. Hal ini dapat terjadi karena perbedaan pada perlakuan dimana pada penelitian tersebut saus ikan dilakukan filtrasi, sehingga kemungkinan kadar asam lemaknya lebih sedikit. Kadar lemak ikan teri tanpa melalui proses fermentasi oleh penelitian Nilda *et al.* (2023) adalah berkisar 1,02%-1,30%.

Dilakukan uji statistik *one-way* ANOVA untuk mengetahui signifikansi perbedaan pada hasil uji. Diketahui bahwa nilai signifikansi 0,000 sehingga dapat disimpulkan bahwa asam lemak bebas dengan variasi durasi fermentasi berbeda nyata. Nilai total asam lemak bebas mengalami peningkatan seiring berjalannya waktu fermentasi. Hal ini dapat terjadi oleh adanya akumulasi asam lemak bebas yang terdapat pada rusip. Adapun asam lemak bebas yang dapat memberikan sumbangsih pada tingginya total asam lemak bebas adalah Adipic acid dan Eicosapentanoic acid. Konsentrasi adipic acid pada penelitian oleh Wang *et al.* (2022) mencapai nilai maksimum pada hari ke-8 fermentasi, yang dapat menekan rasa pahit selama proses fermentasi dan membantu mengatur cita rasa ikan mandarin hingga tingkat tertentu. Eicosapentanoic acid pada penelitian oleh Anggo *et al.* (2015) juga mengalami

peningkatan, hampir semua asam lemak mengalami penurunan selama proses fermentasi, kecuali asam stearat, EPA, dan DHA. Kandungan EPA tercatat sebesar $1,18 \pm 0,91$ pada hari ke-8 fermentasi, dan meningkat menjadi $1,92 \pm 0,87$ pada hari ke-32 fermentasi. Hal ini berarti bahwa beberapa asam lemak ini dapat menjadi metabolit yang bertanggung jawab akan peningkatan total asam lemak bebas seiring bertambahnya waktu fermentasi.

Analisis Antioksidan

Berdasarkan penelitian terdahulu, diketahui bahwa salah satu potensi rusip adalah sebagai antioksidan. Oleh karena itu, dilakukan uji antioksidan untuk mengonfirmasi potensi tersebut. Uji antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode *Ascorbic Acid Equivalent Antioxidant Capacity* (AEAC) untuk mengetahui aktivitas penghambatan senyawa yang terdapat pada ekstrak rusip terhadap radikal DPPH dengan pembandingan berupa kurva standar asam askorbat. Nilai antioksidan ini mencerminkan kapasitas antioksidan sampel dalam hal kesetaraannya dengan asam askorbat (Rahman *et al.*, 2025). Ketika antioksidan menyumbangkan proton atau elektron ke radikal DPPH, radikal tersebut akan dinetralkan, sehingga absorbansinya berkurang (Najafian & Babji, 2018). Rusip yang digunakan dalam pengujian ini adalah dalam bentuk ekstrak 10% (b/v) dengan menggunakan pelarut aquabides. Hasil yang

didapatkan dalam penelitian ini menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antioksidan pada produk fermentasi ikan teri (rusip) dengan durasi fermentasi 0 hari, 10 hari, dan 20 hari yang ditampilkan pada **Tabel 5** berikut.

Tabel 5. Perubahan aktivitas antioksidan rusip selama fermentasi

Sampel	Antioksidan μg AEAC/g rusip
Fermentasi 0 Hari	$274,20 \pm 1,17$
Fermentasi 10 Hari	$287,06 \pm 9,59$
Fermentasi 20 Hari	$311,13 \pm 1,37$

Hasil tersebut menunjukkan bahwa setiap gram produk fermentasi ikan teri yang difermentasi selama 0, 10, dan 20 hari secara berturut-turut memiliki nilai antioksidan setara dengan 274,20; 287,06; dan 311,13 μg asam askorbat. Penelitian oleh Najafian & Babji (2018) menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak Budu yang merupakan produk fermentasi ikan teri dengan menggunakan garam dan difermentasi selama 120 hari adalah $1,06 \pm 0,03$ mg/ml. Nilai ini lebih tinggi dibandingkan dengan rusip mengingat durasi fermentasi yang enam kali lipat lebih lama. Uji statistik one-way ANOVA dilakukan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar perlakuan. Hasil uji menunjukkan angka *p*-value 0,016 yang artinya secara statistik berbeda nyata.

Antioksidan mengalami peningkatan seiring berjalannya waktu fermentasi, hal ini dapat disebabkan oleh peningkatan kandungan asam amino fungsional setelah fermentasi. Chen *et al.*, (2021) membahas

terkait dengan asam amino aromatik yang dapat mendonorkan proton kepada radikal yang kekurangan elektron, sehingga meningkatkan sifat penangkap radikalnya. Asam amino hidrofobik juga dapat melindungi dari oksidasi makromolekul dengan mendonorkan foton kepada radikal reaktif. Penelitian oleh Najafian & Babji (2018) menunjukkan bahwa kehadiran asam amino hidrofobik (Ile dan Leu), asam amino asam (Asp) dan basa (His) dalam urutan peptida diyakini berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan tinggi dari ekstrak ikan teri (Budus) yang difermentasi. Cumi asin fermentasi *Weissella* spp. memiliki kapasitas antioksidan yang meningkat dengan meningkatnya kandungan asam amino bebasnya (treonin, glutamin, dan isoleusin) (Le & Hwan, 2018). Penelitian lain yang terdapat dalam Anggo *et al.*, (2015) menyebutkan bahwa Produk Reaksi Maillard (MRP) yang terbentuk selama proses fermentasi juga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan. Sedangkan dalam Pramudia *et al.*, (2018) disebutkan bahwa rusip merupakan produk fermentasi ikan yang juga kemungkinan menunjukkan aktivitas antioksidan yang diperoleh dari kandungan asam lemaknya.

Selain asam amino, antioksidan juga dapat disebabkan oleh beberapa metabolit lain. Terkait dengan alanin, Najafian & Salam (2018) melaporkan bahwa ikan yang difermentasi *Lactobacillus plantarum* memiliki kapasitas antioksidan yang ditingkatkan

melalui peningkatan kandungan asam amino bebasnya (alanin, leusin dan prolin). Nicotianamine adalah asam amino non-proteinogenik yang mengkelat Cu, Zn, Mn, dan Fe, serta mengurangi defisiensi logam pada tanaman. Sebagai mekanisme toleransi, nicotianamine memiliki peran antioksidan dan sebagai senyawa non-tiol (Singh *et al.*, 2021). Beberapa turunan indol telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan. Cincin indol dalam melatonin telah diindikasikan sebagai pusat yang bertanggung jawab atas sifat antioksidan, karena stabilitas resonansinya yang tinggi dan hambatan energi aktivasi yang rendah dalam reaksi langsung melawan radikal bebas (Demurtas *et al.*, 2019). Piperidine adalah amina sekunder heterosiklik jenuh yang dikaitkan dengan beragam aktivitas biologis seperti aktivitas antioksidan. Nitroksida piperidin merupakan agen antioksidan kuat karena kemampuannya untuk membersihkan radikal bebas reaktif (Manjusha *et al.*, 2018). Turunan octapamine, yang termasuk dalam keluarga amida asam hidroksisinamat, diidentifikasi sebagai konstituen antioksidan utama dari kulit bawang putih (Wu *et al.*, 2012).

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa beberapa parameter biokimia rusip mengalami perubahan seiring dengan lamanya fermentasi. pH rusip mengalami

penurunan dari $6,59 \pm 0,247$ menjadi $3,60 \pm 0,424$, sedangkan protein terlarut ($2,41 \pm 0,170$ menjadi $7,57 \pm 0,396$), total asam amino bebas ($14,06 \pm 0,027$ menjadi $37,13 \pm 0,021$), dan total asam lemak bebas ($4,43 \pm 0,14$ menjadi $14,15 \pm 0,36$) mengalami kenaikan seiring berjalannya waktu fermentasi. Selain itu, aktivitas antioksidan mengalami kenaikan dari $274,20 \pm 1,17$ menjadi $311,13 \pm 1,37$ seiring berjalannya waktu fermentasi. Temuan ini menunjukkan bahwa proses fermentasi pada rusip dapat meregulasi komponen biokimia yang penting dalam mempengaruhi kualitas rusip sekaligus memberikan manfaat sebagai antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis ucapkan kepada PT. Indofood Sukses Makmur Tbk atas dukungan pendanaan yang diberikan melalui program Indofood Riset Nugraha, sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Anal, A. K. (2019). Quality Ingredients and Safety Concerns For Traditional Fermented Foods and Beverages From Asia: A Review. *Fermentation*, 5(8).
<https://doi.org/10.3390/fermentation5010008>
- Anggo, A. D., Ma, W. F., Swastawati, F., & Rianingsih, L. (2015). Changes Of Amino And Fatty Acids In Anchovy (*Stolephorus Sp*) Fermented Fish Paste With Different. *Procedia Environmental Sciences*, 23(Ictcred 2014), 58–63.
<https://doi.org/10.1016/j.proenv.2015.01.009>
- Batubara, P. A. P., Desinar, & Setyaningsih, I. (2019). Pengaruh Starter Bakteri Asam Laktat Probiotik Terhadap Perubahan Kimiawi Dan Mikrobiologis Rusip [Influence of Probiotic Lactic Acid Bateria Starter on the Chemical and Microbiological Changes of Rusip]. *J. Teknol. Dan Industri Pangan*, 30(1), 28–35.
<https://doi.org/10.6066/jtip.2019.30.1.28>
- Binri, K. (2021). Implementasi Kebijakan Pemberdayaan Usaha Mikro Kecil dan Menengah (UMKM) Produk Rusip di Kota Pangkalpinang Provinsi Kepulauan Bangka Belitung. *Skripsi*.
- Chen, Y., Hsieh, S., Gao, W., Yin, L., Dong, C., Chen, C., ... Chen, S. (2021). and Intracellular Antioxidant Action in Fish Bone Fermented with *Monascus purpureus*. *Molecules*, 26(5288).
- Cristabela, T. D. A. (2025). *Analisis Fisikokimia dan Komunitas Bakteri pada Ikan Fermentasi (Rusip) Menggunakan Pendekatan Metagenomik*. UPN "Veteran" Jawa Timur.
- Demurtas, M., Baldisserotto, A., Lampronti, I., Moi, D., Balboni, G., Pacifico, S., ... Onnis, V. (2019). Bioorganic Chemistry Indole derivatives as multifunctional drugs: Synthesis and evaluation of antioxidant , photoprotective and antiproliferative activity of indole hydrazones. *Bioorganic Chemistry*, 85 (January), 568–576.
<https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.02.007>
- Han, J., Jiang, J., Zhao, X., Zhao, X., Kong,

- T., Li, P., & Gu, Q. (2024). Comparative analysis of key precursors and metabolites involved in flavor formation of different rapid-fermented Chinese fish sauces based on untargeted metabolomics analysis. *Food Chemistry*, 433 (July 2023), 136998. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.136998>
- Han, J., Kong, T., Jiang, J., Zhao, X., Zhao, X., Li, P., & Gu, Q. (2023). Characteristic Flavor Metabolic Network of Fish Sauce Microbiota With Different Fermentation Processes Based on Metagenomics. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1–18. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1121310>
- Ibrahim, M. A., Talab, A. S., Abouzied, A. S., & Ibrahim, S. M. (2022). Production and quality evaluation of spiced anchovy fish sauce. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 48(4), 401–408. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2022.05.001>
- Kim, J. H., Lee, E. S., Kim, B. M., & Oh, M. H. (2022). Potential Correlation between Microbial Diversity and Volatile Flavor Compounds in Different Types of Korean Dry-Fermented Sausages. *Foods*, 11(20). <https://doi.org/10.3390/foods11203182>
- Koesoemawardani, D., Hidayati, S., & Subeki, S. (2018). Amino acid and fatty acid compositions of Rusip from fermented Anchovy fish (*Stolephorus* sp.). *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 344(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/344/1/012005>
- Koesoemawardani, Dyah. (2019). *Teknologi Pengolahan Ikan*. Lampung: Graha Ilmu.
- Koesoemawardani, Dyah, Rizal, S., & Susilowati, R. (2015). Perubahan Sifat Mikrobiologi dan Kimia Rusip dengan Perbedaan Waktu Penambahan Gula Aren Cair. *Prosiding Seminar Agroindustri Dan Lokakarya Nasional FKPT-TPI Program Studi TIP-UTM*, 2-3 September 2015, (September), 132–139.
- Koesoemawardani, Dyah, Yuliana, N., & Sari, M. (2015). Sifat Kimiawi dan Mikrobiologi Rusip Selama Fermentasi dengan Konsentrasi Garam yang Berbeda. *Prosiding Seminar Nasional PATPI 2015*, 593–604.
- Kurnianto, M. A., Syahbanu, F., Hamidatun, H., Yushinta, & Sanjaya, A. (2023). Prediction and Mapping of Potential Bioactive Peptides from Traditional Fermented Anchovy (Rusip) using Bioinformatics Approaches. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 18(2), 93–105. <https://doi.org/10.15578/squalen.725>
- Kurnianto, M. A., Winarti, S., & Puspita, A. A. (2024a). Profil Fisikokimia, Mikrobiologi dan Organoleptik Rusip Ikan Teri (*Stolephorus* sp.) dengan Lama Fermentasi Berbeda. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 19(1), 51. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v19i1.1011>
- Kurnianto, M. A., Winarti, S., & Puspita, A. A. (2024b). Profil Fisikokimia, Mikrobiologi dan Organoleptik Rusip Ikan Teri (*Stolephorus* sp.) dengan Lama Fermentasi Berbeda. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi*

- Kelautan dan Perikanan*, 19(1), 51.
<https://doi.org/10.15578/jpbkp.v19i1.1011>
- Laksmiwati, A. A. I. M., Sahara, & Ariati, N. K. (2024). Penentuan Kadar Asam Amino Bebas dan Kadar Protein Terlarut dari Ekstrak Kecambah Kacang Merah (*Phaseolus vulgaris* L.) dengan Variasi Waktu Perkecambahan. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, 18(1), 73–79.
- Le, B., & Hwan, S. (2018). *Isolation of Weissella strains as potent probiotics to improve antioxidant activity of salted squid by fermentation*. 61.
- Maharani, A. N., & Junianto. (2024). Metode Pengolahan Rusip : In Review Rusip Processing Method : In Review. *Jurnal Kolaboratif Sains*, 7(12), 4812–4820.
<https://doi.org/10.56338/jks.v7i12.6191>
- Manjusha, R. K., Begum, S., Begum, A., & Bharathi, K. (2018). *Antioxidant Potential of Piperidine Containing Compounds-A Short Review*. 11(8), 4–11.
- Matti, A., Utami, T., Hidayat, C., & Rahayu, E. S. (2021). Fermentasi Chao Ikan Tembang (*Sardinella gibbosa*) Menggunakan Bakteri Asam Laktat Proteolitik. *AgriTECH*, 41(1), 34.
<https://doi.org/10.22146/agritech.56155>
- Najafian, L., & Babji, A. S. (2018). Purification and Identification of Antioxidant Peptides from Fermented Fish Sauce (Budu) Purification and Identification of Antioxidant Peptides from. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 00(00), 1–11.
<https://doi.org/10.1080/10498850.2018.1559903>
- Najafian, L., & Salam, A. (2018). Fractionation and identification of novel antioxidant peptides from fermented fish (pekasam). *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 2174–2183.
<https://doi.org/10.1007/s11694-018-9833-1>
- Nilda, W., Effendy, A., Muhamad, L., Nadia, H., Annaastasia, N., Huli, L. O., ... Hasidu, A. F. (2023). Komposisi Kimia Ikan Teri (*Stolepharus* sp) Asin. *J. Fish Protech*, 6(1), 1–6.
<https://doi.org/10.33772/jfp.v6i1>
- Pramudia, M., Salim, A., Prasetyo, T., Chavarry, J. M., Law, K. L., Dewinta, A. F., & Imam, K. (2018). Amino acid and fatty acid compositions of Rusip from fermented Anchovy fish (*Stolephorus* sp). *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*, 0–6. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/344/1/012005>
- Primurdia, E. . dan J. K. (2019). Aktivitas Antioksidan Minuman Probiotik Sari Kurma (*Phoenix dactylifera* L.) dengan Isolat *L. Plantarum* dan *L. casei* Antioxidant. *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 2(3), 98–109.
- Rachmawati, S. H., Widiastuti, I., Ridhowati, S., Umami, A., Vandiwina, I., & Lestari, S. D. (2024). Characterization of Flavor-Related Compounds and Sensory Profiles of Four Fermented Fish Products Prepared from Silver Rasbora (*Rasbora argyroteenia*) and Anchovy (*Stolephorus* sp.). *Food Research*, 8, 162–169.
[https://doi.org/10.26656/fr.2017.8\(S2\).131](https://doi.org/10.26656/fr.2017.8(S2).131)
- Rahman, D. Y., Praharyawan, S., Apriastini, M., Nurcahyani, P. R., Nafisyah, A. L., Fatriasari, W., ... Farobie, O. (2025). Phycocyanin Production from *Galdieria sulphuraria* 009 in Palm Oil Mill Effluent: Growth,

- Extraction, and Antioxidant Activity. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 28(5), 494–509. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v28i5.63115>
- Singh, R., Misra, A. N., & Sharma, P. (2021). Effect of arsenate toxicity on antioxidant enzymes and expression of nicotianamine synthase in contrasting genotypes of bioenergy crop *Ricinus communis*. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Sun, J., Yu, X., Fang, B., Ma, L., Xue, C., Zhang, Z., & Mao, X. (2016). Effect of fermentation by *Aspergillus oryzae* on the biochemical and sensory properties of anchovy (*Engraulis japonicus*) fish sauce. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(1), 133–141. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12981>
- Susianti, S., Amalia, U., & Rianingsih, L. (2020). Penambahan Gum Arab dengan Konsentrasi yang Berbeda Terhadap Kandungan Senyawa Volatil Bubuk Rusip Ikan Teri (*Stolephorus* sp.). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Perikanan*, 2(1), 10–19. <https://doi.org/10.14710/jitpi.2020.8083>
- Wang, Y., Nie, S., Li, C., Xiang, H., Zhao, Y., Chen, S., ... Wu, Y. (2022). Application of Untargeted Metabolomics to Reveal the Taste-Related Metabolite Profiles during Mandarin Fish (*Siniperca chuatsi*) Fermentation. *Foods*, 11(7). <https://doi.org/10.3390/foods11070944>
- Wu, Z., Zheng, L., Li, Y., Su, F., Yue, X., Tang, W., & Ma, X. (2012). Synthesis and structure – activity relationships and effects of phenylpropanoid amides of octopamine and dopamine on tyrosinase inhibition and antioxidation. *Food Chemistry*, 134(2), 1128–1131. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.152>
- Xu, Y., Li, L., Regenstein, J. Mac, Gao, P., Zang, J., Xia, W., & Jiang, Q. (2018). The contribution of autochthonous microflora on free fatty acids release and flavor development in low-salt fermented fish. *Food Chemistry*, 256, 259–267. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.142>