

**KESAN SUHU FERMENTASI, JENIS IKAN DAN
KEPEKATAN GARAM TERHADAP SIFAT FIZIKO-
KIMIA BUDU**

AFIZA BINTI TAN SALI

UNIVERSITI SAINS MALAYSIA

2009

**KESAN SUHU FERMENTASI, JENIS IKAN DAN KEPEKATAN GARAM
TERHADAP SIFAT FIZIKO-KIMIA BUDU**

oleh

AFIZA BINTI TAN SALI

**Tesis yang diserahkan untuk memenuhi keperluan
bagi Ijazah Sarjana Sains**

Julai 2009

PENGHARGAAN

Setinggi-tinggi kesyukuran dipanjatkan kepada Ilahi kerana berjaya melengkapkan penulisan tesis sarjana saya ini. Ucapan penghargaan diberikan kepada penyelia saya iaitu Dr. Rosma Ahmad dalam segala bantuan, kesabaran dan tunjuk ajar yang diberikan sepanjang penyelidikan saya. Begitu juga ucapan terima kasih kepada penyelia bersama saya iaitu Pn. Wan Nadiyah Wan Abdullah dan Prof. Ibrahim Che Omar dalam segala bantuan yang dihulurkan serta Dr. Nurul Huda atas segala tunjuk ajar.

Ucapan terima kasih kepada Syarikat Perikanan Muthurai Pulau Pangkor dan Encik Ismail Pengkalan Kubur, Kelantan kerana membekalkan ikan bilis bagi kajian ini. Terima kasih juga kepada pembantu makmal di bahagian Teknologi makanan terutamanya Tuan Haji Zainoddin Osman dan Encik Joseph dalam segala bantuan dan kerjasama yang diberikan. Buat rakan-rakan seperjuangan iaitu Faradila, kak Dee, Kak Biha, Kak Zah, Kak Liza, Chen Chung, kak Yanti, kak Kuzma, kak Zura, Diha, Mardiana, Mun Wai serta semua rakan-rakan seperjuangan, terima kasih atas pertolongan dan semangat yang diberikan. Ucapan terima kasih juga buat insan istimewa Rozifman Mohd Nasir atas sokongan yang diberikan.

Akhir sekali penghargaan yang tidak terhingga kepada kedua ibu bapa dan keluarga yang banyak memberikan sokongan moral, galakan serta semangat sepanjang penyelidikan saya serta semua pihak yang terlibat dalam membantu menyempurnakan kajian dan tesis ini.

Tiada kejayaan tanpa usaha, tawakal dan doa...

AFIZA BINTI TAN SALI

Julai 2009

JADUAL ISI KANDUNGAN

Kandungan	Muka surat
PENGHARGAAN	ii
JADUAL ISI KANDUNGAN	iii
SENARAI JADUAL	x
SENARAI RAJAH	xiv
SENARAI SIMBOL & SINGKATAN	xviii
ABSTRAK	xx
ABSTRACT	xxii
BAB SATU: PENGENALAN	
1.1 Pengenalan	1
1.1.1 Latar Belakang Kajian	1
1.1.2 Objektif Kajian	5
BAB DUA: TINJAUAN LITERATUR	
2.1 Budu / sos ikan	6
2.1.1 Perbezaan produk fermentasi budu/sos ikan di antara negara	6
2.1.2 Bentuk pengambilan dalam diet	11
2.1.3 Penghasilan budu kaedah tradisional	12
2.1.4 Masalah dalam pengeluaran budu	16
2.1.4.1 Keadaan fermentasi yang tidak terkawal	16
2.1.4.2 Kekurangan pengetahuan berkaitan keselamatan makanan	18

2.1.4.3	Kualiti bahan mentah	18
2.1.4.4	Ketiadaan piawaian dalam fermentasi budu	19
2.1.4.5	Harga pasaran produk	19
2.1.4.6	Kekurangan bekalan bahan mentah	20
2.1.4.7	Kekurangan insentif	20
2.1.5	Kajian sifat fiziko-kimia budu mentah belum diproses	21
2.1.6	Akta makanan bagi budu dan sos ikan	22
2.2	Kualiti negatif budu	23
2.2.1	Penghasilan histamina dalam budu	23
2.2.2	Pembentukan komponen 3-Monokloropropan-1, 2-diol (3-MCPD)	25
2.2.3	Penghasilan komponen trimetilamina (TMA)	29
2.2.4	Penghasilan nitrogen meruap total (<i>Total volatile nitrogen</i> , TVN)	29
2.3	Faktor kawalan dalam fermentasi budu	30
2.3.1	Kandungan garam	30
2.3.2	Suhu fermentasi	32
2.3.3	Pengudaraan	33
2.4	Perubahan fiziko-kimia semasa fermentasi budu	34
2.4.1	Fasa awal	34
2.4.2	Fasa pertengahan (Fasa kedua)	35
2.4.3	Fasa akhir	36

2.5	Perubahan bakteriologikal semasa fermentasi budu	37
2.6	Nilai nutritif dan potensi produk budu	39
2.7	Penilaian kualiti protein budu	42
2.8	Pembangunan sifat fiziko-kimia budu	44

BAB TIGA: BAHAN DAN KAEDAH

3.1	Bahan mentah	45
3.2	Analisis budu mentah belum diproses di pasaran Kelantan bagi kajian sifat fiziko-kimia budu	46
3.3	Pendekatan kajian bagi fermentasi budu di dalam makmal	46
3.3.1	Kaedah penghasilan budu di makmal	48
3.3.2	Kaedah persampelan budu skala makmal	49
3.4	Analisis sampel budu	50
3.4.1	Peratusan Cecair	50
3.4.2	Analisis Garam	51
3.4.3	Protein Kasar	52
3.4.4	Aktiviti Protease	53
3.4.5	pH	54
3.4.6	Pepejal Terlarutkan Total	54
3.4.7	Analisis Lemak	55
3.4.8	Analisis Asid Amino	55
3.4.8.1	Penentuan asid amino menggunakan cecair kromatografi berprestasi tinggi.	55
3.4.8.2	Penyediaan fasa bergerak	56

3.4.8.3	Penyediaan sampel	56
3.4.8.4	Penyediaan asid amino piawai	57
3.4.9	Penentuan kualiti protein	57
3.4.9.1	Skor kimia	57
3.4.9.2	Skor asid amino	58
3.4.9.3	Indeks asid amino perlu	59
3.4.10	Analisis kepekatan histamina	59
3.4.10.1	Prinsip penentuan histamina	59
3.4.10.2	Penyediaan sampel	60
3.4.10.3	Penyediaan keluk piawai histamina	60
3.4.10.4	Penentuan histamina sampel	61
3.4.11	Analisis Trimetilamina	61
3.4.12	Analisis komponen nitrogen meruap total	62
3.4.13	Analisis komponen 3-Monokloropropan-1, 2- <i>diol</i>	63
3.5	Analisis mikroorganisma	64
3.5.1	Hitungan plat total serta hitungan yis dan kulapuk	64
3.5.2	Hitungan <i>Coliform</i> , <i>V. parahaemolyticus</i> dan <i>V. Cholerae</i>	65
3.5.3	Hitungan <i>E. Coli</i>	66
3.6	Rekabentuk analisis statistik	66

BAB EMPAT: KEPUTUSAN DAN PERBINCANGAN

4.1	Kajian sifat fiziko-kimia budu mentah belum diproses di pasaran Kelantan.	68
4.1.1	Sifat fiziko-kimia budu mentah belum diproses	68
4.1.2	Paras histamina	73

4.1.3	Paras trimetilamina (TMA)	74
4.1.4	Paras nitrogen meruap total (<i>Total volatile nitrogen</i> , TVN)	74
4.1.5	Analisis sebatian 3-monokloropropan-1,2 diol (3-MCPD)	75
4.1.6	Hitungan mikroorganisma	76
4.1.7	Asid amino total	78
4.1.8	Sifat fiziko-kimia budu daripada tinjauan penyelidikan lain	82
4.2	Kesan nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1), suhu fermentasi (30 °C dan 40 °C) dan jenis ikan (<i>Stolephorus</i> spp. dan <i>Clupeidea</i> spp.) ke atas perubahan kimia budu.	82
4.3	Penentuan kualiti protein	114
4.4	Kualiti negatif budu kajian.	120
BAB LIMA:	KESIMPULAN DAN CADANGAN	135
RUJUKAN		139

SENARAI JADUAL

Tajuk

Muka surat

Jadual 2.1	Kaedah dan spesis ikan yang digunakan dalam penghasilan sos ikan di pelbagai negara.	8
Jadual 2.2	Komposisi kimia ikan bilis segar	14
Jadual 2.3	Amina biogenik dan prekursornya dalam tindak balas dekarboksilasi	23
Jadual 2.4	Paras maksimum atau spesifikasi bagi kehadiran kloropropanol dalam produk makanan	28
Jadual 2.5	Perbandingan asid amino (mg/ml) sos ikan di pelbagai negara	41
Jadual 2.6	Komposisi kimia budu komersil yang dibotolkan.	42
Jadual 2.7	Keperluan asid amino perlu (g/100 g) bagi kanak-kanak pra-sekolah (2-5 tahun) dan nilai protein rujukan (protein telur) g/100 g.	43
Jadual 3.1	Profil gradien untuk analisis penentuan asid amino menggunakan HPLC	56
Jadual 3.2	Kondisi GC-MS bagi penentuan kepekatan 3-MCPD	64
Jadual 4.1	Nilai pH dan paras protein, garam PTT, histamina, TVN, TMA dan 3-MCPD dalam sampel budu mentah yang belum diproses yang diperolehi dari 11 pengusaha di Kelantan.	69
Jadual 4.2	Cadangan kualiti bagi sifat fiziko-kimia budu mentah belum diproses.	70
Jadual 4.3	Perbandingan paras asid amino total (mg/g) budu mentah belum diproses di pasaran Kelantan	79
Jadual 4.4	Profil kuantitatif paras asid amino yang mempunyai sifat perisa dalam budu mentah belum diproses daripada pelbagai pengusaha di Kelantan.	80
Jadual 4.5	Data kajian serta peyelidikan penyelidik lain bagi budu dan sos ikan belum diproses.	81
Jadual 4.6	Paras asid amino (mg/g) budu daripada ikan bilis (a) Kelantan dan (b) Pulau Pangkor yang difermentasi selama 1, 3 dan 6 bulan.	111
Jadual 4.7	Nilai menunjukkan (a) Skor asid amino dan skor kimia serta (b) Indeks asid amino perlu bagi budu daripada ikan bilis Kelantan yang difermentasi selama 1, 3 dan 6 bulan.	115
Jadual 4.8	Nilai menunjukkan (a) Skor asid amino dan skor kimia dan (b) Indeks asid amino perlu bagi budu terfermen 1, 3 dan 6 bulan daripada ikan bilis Pulau Pangkor.	118

SENARAI GAMBARFOTO

	Tajuk	Muka surat
Gambarfoto 2.1	<i>Stolephorus indicus</i> .	12
Gambarfoto 2.2	Ikan Hering (<i>Clupeidae</i>).	13
Gambarfoto 2.3	Fermentasi budu yang dilakukan secara tradisional di kawasan lapang yang terdedah kepada sinaran matahari.	17
Gambarfoto 3.1	Ikan bilis yang digunakan bagi penghasilan budu kajian yang berumur sebulan daripada sumber (a) Kelantan, ikan bilis tamban (<i>Clupeidae</i>) dan (b) Pulau Pangkor, spesis <i>Stolephorus indicus</i> .	46
Gambarfoto 3.2	Gambarfoto menunjukkan (a) Garam kasar digaulkan kedalam ikan bilis dan (b) Sebanyak 400 g campuran ikan-garam diagihkan ke dalam setiap bikar.	48
Gambarfoto 3.3	Gambarfoto menunjukkan (a) Campuran ikan-garam yang telah sedia untuk proses fermentasi (b) Fermentasi budu kajian di dalam inkubator 30 °C dan 40 °C sepanjang tempoh 12 bulan.	49
Gambarfoto 3.4	Rajah menunjukkan (a) Pengeraman budu kajian dan (b) Sisa-sisa tulang ikan setelah pengemparan budu.	50

SENARAI RAJAH

	Tajuk	Muka surat
Rajah 2.1	Carta alir penghasilan budu Malaysia kaedah tradisional.	15
Rajah 2.2	Struktur molekul komponen histamina.	23
Rajah 2.3	Tindak balas histamina pada tubuh.	24
Rajah 3.1	Carta alir rekabentuk eksperimen budu kajian makmal.	47
Rajah 4.1a	Peratusan cecair budu ikan bilis Kelantan yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentkan pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C .	83
Rajah 4.1b	Peratusan cecair budu ikan bilis Pulau Pangkor yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentkan pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C .	84
Rajah 4.2a	Peratusan garam kasar budu ikan bilis Kelantan yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentkan pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C.	87
Rajah 4.2b	Peratusan garam kasar budu ikan bilis Pulau Pangkor yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentkan pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C.	88
Rajah 4.3a	Peratusan protein kasar budu ikan bilis Kelantan yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentkan pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C.	90
Rajah 4.3b	Peratusan protein kasar budu ikan bilis Pulau Pangkor yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentkan pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C.	91
Rajah 4.4a	Aktiviti protease (IU/ml) budu ikan bilis Kelantan yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentkan pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C.	94
Rajah 4.4b	protease (IU/ml) budu ikan bilis Pulau Pangkor yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentkan pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C .	95

	Tajuk	Muka surat
Rajah 4.5a	Nilai pH budu ikan bilis Kelantan yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentasi pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C .	97
Rajah 4.5b	Nilai pH budu ikan bilis Pulau Pangkor yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentasi pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C .	98
Rajah 4.6a	Nilai pepejal terlarutkan total (°Brix) budu ikan bilis Kelantan yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentasi pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C .	101
Rajah 4.6b	Nilai pepejal terlarutkan total (°Brix) budu ikan bilis Pulau Pangkor yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentasi pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C .	102
Rajah 4.7a	Peratusan lemak kasar budu ikan bilis Kelantan yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentasi pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C.	104
Rajah 4.7b	Peratusan lemak kasar budu ikan bilis Pulau Pangkor yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan: garam (3:2 dan 1:1) dan difermentasi pada suhu fermentasi 30 °C dan 40 °C.	105
Rajah 4.8	Kromatogram asid amino piawai menggunakan HPLC pengesanan fluoresen dengan suhu kolum, 45 °C dan kadar aliran, 0.5-1.00 ml/min yang dioperasikan selama 40 minit.	106
Rajah 4.9	Kromatogram asid amino budu daripada ikan bilis Kelantan yang mengandungi nisbah 3:2, bahagian ikan:garam dan difermentasi pada 40 °C selama (a) 3 bulan dan (b) 6 bulan	108
Rajah 4.10	Kromatogram asid amino budu daripada ikan bilis Pulau Pangkor yang mengandungi campuran nisbah 3:2, bahagian ikan:garam dan difermentasi pada 30 °C selama (a) 3 bulan dan (b) 6 bulan.	109
Rajah 4.11	Paras histamina (mg/100 g) budu daripada ikan bilis (a) Kelantan dan (b) Pulau Pangkor yang difermentasi 1, 3, 6 dan 9 bulan	121
Rajah 4.12	Kepekatan TMA (mg/100 g) budu daripada ikan bilis (a) Kelantan dan (b) Pulau Pangkor yang difermentasi 1, 3, 6 dan 9 bulan.	124
Rajah 4.13	Kepekatan TVN (mg/100 g) budu daripada ikan bilis (a) Kelantan dan (b) Pulau Pangkor yang difermentasi 1, 3, 6 dan 9 bulan	126
Rajah 4.14a	Graf hitungan plat total (Log CFU/ml) budu daripada ikan bilis Kelantan yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan:garam (1:1 dan 3:2) dan difermentasi pada suhu 30 °C dan 40 °C.	129

	Tajuk	Muka surat
Rajah 4.14b	Graf hitungan plat yis dan kulapuk (Log CFU/ml) budu daripada ikan bilis Kelantan yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan:garam (1:1 dan 3:2) dan difermentkan pada suhu 30 °C dan 40 °C.	130
Rajah 4.15a	Graf hitungan plat total (Log CFU/ml) budu daripada ikan bilis Pulau Pangkor yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan:garam (1:1 dan 3:2) dan difermentkan pada suhu 30 °C dan 40 °C.	132
Rajah 4.15b	Graf hitungan yis dan kulapuk (Log CFU/ml) budu daripada ikan bilis Pulau Pangkor yang dihasilkan dengan campuran ikan dan garam pada nisbah ikan:garam (1:1 dan 3:2) dan difermentkan pada suhu 30 °C dan 40 °C	133

SENARAI SIMBOL & SINGKATAN

Singkatan	Definisi
Ala	Alanina
AMP	Amalam Pengilangan Baik
ANOVA	Analisis kepelbagaian (Analysis of Variance)
Arg	Arginina
b/b	Berat per berat
b/i	Berat per isipadu
BSA	Albumin serum bovin (Bovine serum albumin)
CFU	Colony-forming units
DAO	Diamine Oxidase
DMA	Dimetilamina
FAO	Food and Agricultural Organization
FDA	Food and Drug Administration
FSANZ	Food Standards Australia New Zealand
Gli	Glisina
GLM	General Linear Model
Glu	Glutamat
HACCP	Hazard Analysis of Critical Control Point
HPLC	Kromatografi cecair berprestasi tinggi (High performance liquid chromatography)
His	Histidina
HMP	Hitamina-N-metiltransferase
HVP	Hydrolyzed vegetable protein
ISO	International Organization For Standardization
Isoleu	Isoleusina
Leu	Leusina
Lis	Lisina
3-MCPD	3-Monochloropropan-1,2-diol.
Met	Metionina
MSG	Monosodium Glutamate
NRC	National Research Council
OPA	Ortophtalaldehid
Phe	Fenilalanina

PVC	Polyvinyl Chloride
RDA	Recommended Dietary Allowances
Sis	Sistina
Thr	Threonina
TMA	Trimetilamina
TMAO	Trimetilamina oksida
Trip	Triptofan
TVN	Total Volatile Nitrogen
UNU	United Nation University
WHO	World Health Organization

KESAN SUHU FERMENTASI, JENIS IKAN DAN KEPEKATAN GARAM TERHADAP SIFAT FIZIKO-KIMIA BUDU

ABSTRAK

Kajian terhadap sifat fiziko-kimia budu merupakan faktor penting bagi pengkomersilan sesuatu produk. Sebanyak 12 sampel budu daripada 12 pengusaha di Kelantan telah digunakan bagi kajian sifat fiziko-kimia budu. Kajian penyelidikan lain yang berkaitan dengan budu dan sos ikan turut dijadikan perbandingan dan rujukan dalam kajian sifat fiziko-kimia budu. Analisis ANOVA satu hala telah digunakan bagi menganalisis data 12 sampel budu mentah belum diproses. Sifat fiziko-kimia budu mentah belum diproses yang dicadangkan terdiri daripada kandungan pepejal terlarutkan total, PTT (tidak kurang 33.0 °Brix), kandungan potein kasar (tidak kurang 13.0 %, b/i), kandungan garam (tidak kurang 15.0 %, b/i dan tidak melebihi 33.0 %, b/i), nilai pH (tidak kurang 5.3 dan tidak melebihi 6.2), kandungan asid amino perlu (tidak kurang 47.0 mg/g) dan asid amino komponen berperisa aktif (tidak kurang 31.0 mg/g). Manakala faktor-faktor yang memberikan kesan negatif terdiri daripada kandungan histamina (tidak melebihi 50.0 mg/100 g), kandungan trimetilamina, TMA (tidak melebihi 14.0 mg/100 g), kandungan nitrogen meruap total, TVN (tidak melebihi 40.0 mg/100 g), 3-MCPD (tidak melebihi 2.5 ug/ml budu), hitungan plat total (tidak melebihi 2.7 log CFU/ml) dan bakteria patogenik mestilah tidak hadir. Bagi kajian kesan suhu fermentasi, jenis ikan dan kepekatan garam terhadap sifat fiziko-kimia budu, tiga parameter telah digunakan iaitu suhu fermentasi (30 °C dan 40 °C), jenis ikan (*Stolephorus* spp. dan *Clupeidea* spp.) dan kepekatan garam (nisbah ikan: garam, 3:2 dan 1:1). Analisis statistik univariat dan analisis korelasi telah digunakan bagi melihat kesan signifikan dan interaksi antara parameter yang digunakan dengan komposisi kimia (PTT, pH, asiditi, protein kasar, lemak kasar, aktiviti protease, peratusan cecair, kandungan asid amino dan peratusan garam), mikrobiologi (hitungan plat total serta yis dan kulapuk) serta

kualiti negatif (histamina, TMA, TVN dan 3-MCPD) dalam budu kajian. Budu yang dieram selama 4 bulan pada suhu 40 °C dan nisbah campuran 3:2, bahagian ikan: garam (40 % garam) lebih berkualiti dan mencapai ciri fiziko-kimia budu yang dicadangkan. Memandangkan spesies ikan bilis yang berbeza digunakan maka perbezaan dari segi sifat fiziko-kimia yang terhasil dalam kedua-dua budu daripada ikan bilis Kelantan dan Pulau Pangkor memang dijangkakan. Didapati budu daripada ikan bilis Kelantan mempunyai kandungan protein kasar, asid amino dan peratusan cecair lebih tinggi ($p < 0.05$) berbanding budu daripada ikan bilis Pulau Pangkor. Namun begitu, ikan bilis sumber Pulau Pangkor juga berpotensi digunakan dalam penghasilan budu. Ini memandangkan ciri-ciri fiziko-kimianya berada dalam julat kajian sifat fiziko-kimia budu mentah belum diproses di Kelantan.

EFFECT OF FERMENTATION TEMPERATURE, TYPE OF FISH AND SALT CONCENTRATION ON PHYSICO-CHEMICAL CHARACTERISTICS OF BUDU

ABSTRACT

Study on the physico-chemical characteristics of budu are important factors for product development and commercialization. Twelve 'budu' samples from 12 manufacturer's in Kelantan were been used for study on the physico-chemical characteristics of budu. Other research on 'budu' and fish sauce also has been referred for the study on physico-chemical characteristics of budu. The data of twelve 'budu' samples have been analyzed using the One-Way ANOVA statistical analysis. The suggested physico-chemical characteristics for unprocessed 'budu' is soluble solids content, PTT (not less than 33.0 °Brix), crude protein (not less than 13.0 %, w/v), salt content (15.0-33.0 %, w/v), pH 5.3-6.2, essential amino acids (not less than 47.0 mg/g) and taste-active component (not less than 31.0 mg/g). Whereas for negative factors affecting 'budu' quality should be histamine content not more than 50.0 mg/100 g, trimethylamine content, TMA not more than 14.0 mg/100 g, total volatile nitrogen, TVN not more than 40.0 mg/100 g, 3-MCPD not more than 2.5 µg/ml budu, total plat count not more than 2.7 log CFU/ml and pathogenic microbial, nil. The effect of fermentation temperature (30 °C, 40 °C), type of fish (*Stolephorus* spp. and *Clupeidea* spp.) and salt concentration (ratio fish: salt, 3:2, 1:1). Univariate Statistical Analysis and Correlation Analysis have been used to monitor the significant effect and interaction of variables with chemical composition (PTT, pH, acidity, crude protein, crude fat content, protease activity, liquid percentage, amino acid content and salt content), microbiology (total plate count, yeast and mold) and negative contributions (histamine, TMA, TVN and 3-MCPD) to the 'budu' sample. The results showed that, 4 month old 'budu' fermented at 40 °C with a ratio 3:2, part of fish: salt (40 % salt) to be of higher quality and achieved the suggested physico-chemical characteristics of budu. The differences of fish species used cause the suspected variation in physico-chemical characteristics of budu from Kelantan

and Pulau Pangkor anchovies's. 'Budu' from Kelantan anchovies's contained higher ($p < 0.05$) crude protein content, amino acid and liquid percentage compared to 'budu' from Pulau Pangkor anchovies's. However, Pulau Pangkor anchovies's also has a potential to be used for 'budu' processing based on the study of physico-chemical characteristic in unprocessed 'budu' samples.

BAB SATU : PENGENALAN

1.1 PENGENALAN

1.1.1 Latar belakang kajian

Makanan terfermen berupaya mengawet kuantiti besar makanan yang berkhasiat dengan pelbagai perisa, aroma dan tekstur serta mampu mempelbagaikan lagi diet masyarakat dunia. Kajian mengenai makanan terfermen penting memandangkan makanan berprotein tinggi semakin terhad di pasaran dunia disebabkan permintaan yang semakin meningkat (Visessanguan *et al.*, 2004). Kelebihan kajian berkaitan makanan terfermen ialah tidak memerlukan peralatan yang terlalu canggih berbanding kajian dalam bidang biologi yang lain. Penambahbaikan dalam aspek pemprosesan, kualiti dan piawaian makanan terfermen membolehkan penambahbaikan makanan yang sudah sedia diterima oleh sesetengah masyarakat dunia.

Terdapat pelbagai jenis produk ikan terfermen yang terkenal di negara Asia dan mempunyai nama yang berbeza berdasarkan negara pengeluarannya iaitu 'Patis' di Filipina, 'Shottsuru' di Jepun, budu di Malaysia, 'Nam-pla' di Thailand, 'Nuoc-mam' di Vietnam, 'Ketjap-ikan' atau 'Bakasang' di Indonesia, 'Yu-lu' di China dan 'Ngapi' di Myanmar (Kilinc, 2003). Produk 'Nuoc-mam', 'Shottsuru', 'Nam-pla', 'Patis' dan Budu merupakan antara produk sos ikan yang mempunyai kualiti yang baik dan terkenal (Orejana, 1983; Lopetcharat *et al.*, 2001). Sos ikan merupakan cecair jernih yang berwarna keperangan pada bahagian atas hasilan fermentasi dan tiada ampaiian kelihatan pada produk. Manakala budu merupakan keseluruhan hasilan fermentasi iaitu bahagian cecair yang jernih di bahagian atas dan cecair keruh di bahagian bawah dikacau sebati sebelum dibotolkan. Namun begitu, sos ikan dan budu terhasil daripada proses fermentasi yang sama.

Di Malaysia, budu biasanya dihasilkan di kawasan pantai timur seperti Kelantan dan Terengganu. Fermentasi budu mula dilakukan apabila pengeringan ikan tidak dapat dilakukan kerana keadaan cuaca seperti musim hujan. Di Malaysia budu serta sos ikan bukan sahaja

digunakan sebagai ramuan dalam makanan tetapi sesetengah tempat menjadikannya sebagai sumber protein utama.

Menurut Ismail (1977) terdapat tiga jenis gred kualiti bagi budu iaitu gred pertama melibatkan campuran ikan bilis bersama garam dan diletakkan di atas buah asam jawa yang dihancurkan. Campuran tersebut ditekan untuk mengeluarkan udara dan gula nira diletakkan pada bahagian atas campuran. Bekas tersebut ditutup rapat dan difermen selama lebih kurang 6 minggu. Setelah matang, tisu ikan hancur dan cecair berwarna gelap dan mempunyai aroma budu yang manis terhasil.

Bagi budu gred ke-2, pemrosesannya lebih ringkas iaitu melibatkan campuran ikan bersama garam dalam nisbah 3:2, bahagian ikan:garam. Campuran diletakkan di dalam pasu yang tertutup rapat untuk mengelakkan kemasukan udara. Bekas tersebut diletakkan di tempat teduh dan gelap untuk mematangkannya. Produk yang terhasil tidak mempunyai perisa seperti produk kualiti pertama. Manakala budu kualiti ke-3 terhasil dengan menggunakan kaedah berbeza iaitu bekas yang digunakan diletakkan di bawah cahaya matahari untuk mempercepatkan proses fermentasi (Ismail, 1977). Tetapi mempunyai kualiti yang rendah dan mempunyai aroma serta rasa yang kuat. Budu bukan sahaja merupakan produk yang mempunyai rasa yang unik tetapi mengandungi sumber vitamin, mineral dan elemen-elemen penting yang lain.

Manakala bagi sos ikan, setelah ikan dicampur bersama garam ia diisikan ke dalam tangki besar dan dibiarkan dikawasan terdedah kepada cahaya matahari selama 9-12 bulan. Selepas difermen selama setahun, cecair dibahagian atas dituras ke dalam bekas dan dibiarkan beberapa minggu bagi menghilangkan aroma sos ikan yang kuat. Cecair yang dituras kemudian dimasak dan merupakan sos ikan gred pertama. Sos ikan yang berkualiti tinggi mempunyai warna yang jernih dan tiada ampai kelihatan pada produk (Loha, 2005). Sos ikan gred ke-2 dihasilkan dengan penambahan air garam ke dalam bekas fermentasi pertama yang mengandungi

tisu-tisu ikan yang tertinggal dan dibiarkan selama 2-3 bulan sebelum cecair dituras dan dibotolkan (Loha, 2005). Akhirnya tisu ikan yang tertinggal dimasak bersama air garam dan kemudian dituras serta ditapis dan air yang diperolehi dibotolkan menghasilkan sos ikan gred ke-3 yang berkualiti rendah. Pengusaha sos ikan biasanya akan mencampurkan sos ikan gred ke-3 dengan sos ikan gred pertama dan ke-2 bagi mencapai had protein pada sos ikan untuk dipasarkan (Loha, 2005).

Antara masalah dalam penghasilan budu serta sos ikan ialah keadaan fermentasi yang tidak terkawal dari segi suhu fermentasi dan campuran bahan mentah. Ini menyukarkan penghasilan budu serta sos ikan dengan kualiti yang konsisten. Pengusaha budu juga kurang pengetahuan berkaitan keselamatan makanan dan tidak menitikberatkan kebersihan semasa pemprosesan budu. Penggunaan bahan mentah yang kurang berkualiti merendahkan kualiti dan harga budu dipasaran. Ini menyukarkan pemasaran budu di peringkat antarabangsa. Ketiadaan piawaian dan spesifikasi bagi budu berkualiti menyebabkan para pengusaha menggunakan pengetahuan yang diwarisi bagi menentukan kualiti budu yang dihasilkan. Pengkomersilan budu juga sukar dilakukan memandangkan bekalan sumber ikan bilis yang semakin berkurangan terutamanya di kawasan Pantai Timur.

Justeru itu, kajian ini telah dijalankan bagi menghasilkan suatu impak yang positif dalam meningkatkan kualiti budu Malaysia. Pertama, kajian ini bertujuan bagi mengkaji sifat fiziko-kimia bagi budu mentah belum diproses daripada 12 pengusaha budu di Kelantan. Ini bertujuan memberikan arah panduan kepada pengusaha dalam menentukan kualiti budu yang dihasilkan. Hal ini disebabkan budu dihasilkan secara tradisional dan tiada pengaplikasian terhadap piawaian keselamatan makanan. Dengan adanya kajian terhadap sifat fiziko-kimia budu maka dapat dijadikan rujukan dalam penghasilan kualiti budu yang lebih baik dan konsisten.

Kedua, kajian ini memfokuskan kesan suhu fermentasi, jenis ikan dan kepekatan garam terhadap sifat fiziko-kimia budu daripada ikan bilis Kelantan dan Pulau Pangkor.

Permintaan produk fermentasi ikan terutamanya sos ikan semakin meningkat dan melebihi jumlah pengeluaran. Pengeluaran sos ikan serta budu dihadkan oleh tempoh fermentasi yang lama iaitu 6-12 bulan (Sanceda *et al.*, 1996). Melalui kajian ini, dua kondisi suhu (30 °C dan 40 °C) telah digunakan bagi melihat potensinya mempercepatkan fermentasi budu. Kesan parameter lain turut dikaji iaitu spesies ikan bilis (*Stolephorus* spp dan *Clupeidea* spp) dan nisbah ikan kepada garam (3:2 dan 1:1) bagi melihat kesannya terhadap sifat fiziko-kimia budu. Melalui kajian ini diharap usaha bagi membantu peningkatan industri budu ke pasaran dunia dapat direalisasikan.

1.1.2 Objektif kajian

Objektif utama dalam pelaksanaan kajian ini ialah:

- 1) Mengkaji sifat fiziko-kimia dan keselamatan mikrobiologi budu mentah belum diproses yg dihasilkan oleh pengusaha budu di Kelantan.
- 2) Mengkaji kesan suhu fermentasi (30 °C dan 40 °C), jenis ikan (*Stolephorus* spp, daripada Pulau Pangkor dan *Clupeidea* spp, daripada Kelantan) dan kepekatan garam [nisbah ikan kepada garam; 3:2 (40 % garam) dan 1:1 (50 % garam)] terhadap sifat fiziko-kimia budu.
- 3) Menentukan nilai nutrisi, kesan negatif dan tahap keselamatan budu yang dihasilkan di dalam makmal.

Dengan adanya projek penyelidikan ini, diharapkan dapat menjadi salah satu kajian yang boleh membantu dalam penambahbaikan dan penghasilan kawalan piawaian dalam industri fermentasi budu. Hal ini memandangkan industri fermentasi budu dan sos ikan semakin mendapat tempat dipasaran dan berpotensi dalam membantu peningkatan ekonomi negara.

BAB DUA: TINJAUAN LITERATUR

2.1 Budu / sos ikan

Budu dihasilkan melalui campuran ikan bilis jenis *Stolephorus* spp. atau campuran ikan kecil yang lain dengan garam dalam nisbah campuran 3:2, bahagian ikan: garam. Campuran difermen 6-12 bulan di dalam tangki konkrit atau simen sehingga cecair berwarna keruh seakan-akan coklat keperangan terhasil yang mempunyai kepekatan garam 25-30 % (Ismail, 1977; Beddows, *et al.*, 1979). Budu yang telah matang dimasak selama 2 jam dan ditambah bahan ramuan lain seperti asam jawa, gula merah dan Monosodium glutamat (MSG) bagi menambahkan kemanisan dan menghasilkan warna lebih gelap (Van Veen, 1965). Isipadu maksimum cecair terhasil selepas 140 hari iaitu 760 ml cecair terhasil per kg ikan bilis (Beddows *et al.*, 1979). Kualiti budu yang terhasil bergantung kepada jenis ikan, kepekatan garam, tempoh fermentasi dan kaedah pemprosesan budu (Rao, 1967; Amonthiparat, 1979).

Aroma budu terhasil melalui gabungan 3 jenis aroma iaitu ammonia, berkeju dan berdaging (Dougan & Howard, 1975; Beddows *et al.*, 1976). Bau seperti ammonia terhasil melalui produk degradasi protein seperti komponen amina, ammonia dan komponen asas yang mengandungi nitrogen (Saisithi *et al.*, 1966; Dougan & Howard, 1975). Aroma berdaging disumbangkan oleh asid amino seperti asid glutamat manakala aroma berkeju terhasil melalui molekul-molekul asid lemak meruap berberat molekul rendah. Komponen meruap dalam budu atau sos ikan dipengaruhi oleh spesies ikan yang digunakan (Van-Chom, 1958; Saisithi *et al.*, 1966; Beddows *et al.*, 1976; Sanceda *et al.*, 1983).

2.1.1 Perbezaan produk fermentasi budu / sos ikan di antara negara.

Setiap negara mempunyai produk ikan terfermen yang tersendiri dengan resipi dan kaedah penghasilan yang berbeza. **Jadual 2.1** menunjukkan perbezaan kaedah penghasilan produk ikan terfermen di antara negara.

Sos ikan di Vietnam dikenali sebagai ‘nuoc-mam’ yang merupakan cecair jernih berwarna coklat dan tinggi kandungan garam. ‘Nuoc-mam’ yang berkualiti tinggi mempunyai bau yang kuat seakan-akan berkeju dan mempunyai rasa yang masin. Produk ini kebanyakannya dihasilkan di kawasan Binh-Thuan (Annam selatan) dan Pulau Phu Quoc. ‘Nuoc-mam’ dihasilkan menggunakan pelbagai jenis ikan laut kecil seperti spesies *Decapterus*, *Engraulis*, *Dorosoma*, *Clupeodes*, *Stolephorus* dan sebagainya. ‘Nuoc-mam’ boleh dihasilkan menggunakan udang dan dikenali sebagai ‘nuoc-mam ruoc’ yang dihasilkan di kawasan perairan Thailand tetapi mempunyai rasa yang berlainan daripada ‘nuoc-mam’ yang asli (Van Veen, 1965).

‘Nuoc-mam’ diproses menggunakan kaedah tradisional iaitu ikan kecil diramas dan ditekan dengan tangan kemudian dicampur garam. Jumlah garam yang digunakan bergantung kepada jenis ikan dan biasanya 4-5 bahagian garam ditambahkan kepada 6 bahagian ikan (Orejana, 1983). Campuran diletakkan di dalam bekas kedap udara serta bertutup rapat dan ditanam di dalam tanah. Selepas fermentasi selama 3 hari cecair yang keruh dan berwarna merah (‘nuoc-boi’) akan disaring keluar. Separuhnya diletakkan semula di dalam bekas fermentasi sehingga menutupi kedalaman 10 cm dan separuh lagi disimpan untuk digunakan semula (Van-Veen, 1965; Dougan & Howard, 1975). Campuran tersebut ditutup dengan buluh dan diletakkan pemberat dan proses fermentasi bermula.

Jadual 2.1: Kaedah dan spesies ikan yang digunakan dalam penghasilan sos ikan di pelbagai negara (Beddows, 1985).

Negara	Sos ikan	Spesies ikan	Kaedah (ikan:garam) dan masa fermentasi
Malaysia	Budu	<i>Stolephorus</i> spp.	5:1-3:1, ditambah gula melaka dan asam jawa; 3-12 bulan
Jepun	Shottsuru, Uwo-shoyu, Ika-shoyu	<i>Astrosopus japonicus</i> (ikan air tawar), <i>Clupea pilchardus</i> (sardin), <i>Omnastrephis sloani</i> (sotong), <i>Omnastrephis pacificus</i> (sotong)	5:1, ditambah bijirin beras dan koji (3:1) ditambah; 6 bulan
Korea	Aek-jeat	Udang	4:1; 6 bulan
Vietnam	Nuoc-mam, Nuoc-mam-gau-ca	<i>Stolephorus</i> spp., <i>Ristrelliger</i> spp., <i>Engraulis</i> spp, <i>Decapterus</i> spp., <i>Ophicephalus</i> spp., <i>Clarius</i> spp, <i>Clupea</i> spp., <i>Dorosoma</i> spp.	3:1-3:2; 3-12 bulan
Thailand	Nampla	<i>Stolephorus</i> spp., <i>Ristrelliger</i> spp., <i>Cirrhinus</i> spp.	5:1-1:1; 5-12 bulan
Burma	Ngapi	-	5:1; 3-5 bulan
Filipina	Patis	<i>Stolephorus</i> spp, <i>Clupea</i> spp, <i>Decapterus</i> spp., <i>Leionathus</i> spp.	3:1-4:1; 3-12 bulan
Indonesia	Ketjap-Ikan	<i>Stolephorus</i> spp, <i>Clupea</i> spp, <i>Leiagnathus</i> spp. <i>Osteochilus</i> spp (ikan air tawar), <i>Puntius</i> spp. (ikan air tawar), <i>Ctenops</i> spp. (ikan air tawar)	6:1; 6 bulan

Hanya beberapa bulan diperlukan untuk menghasilkan 'nuoc-mam' yang baik daripada ikan kecil tetapi tempoh yang lebih panjang sehingga 18 bulan diperlukan untuk ikan yang lebih besar (Orejana, 1983). Lebih tinggi kepekatan garam yang digunakan lebih cepat kadar hidrolisis protein kepada asid amino dan produk lain yang berberat molekul rendah serta lebih baik kualiti penyimpanan 'nuoc-mam'. 'Nuoc-mam' mempunyai kandungan karbohidrat yang tinggi (7-20 %) disebabkan penambahan tepung beras iaitu mengandungi 9-15 % garam mineral, 45-58 % lembapan dan 26 % protein (Van-Veen, 1965; Dougan & Howard, 1975).

Produk sos ikan Thailand dikenali sebagai 'nam-pla' dihasilkan menggunakan spesies ikan bilis *Stolephorus* spp., *Scomber*, *Rastrelliger*, *Cirrhinus* dan *Clupeidae*. Produk 'nam-pla' menyerupai 'nuoc-mam' di Vietnam tetapi pemrosesannya lebih mudah dan lebih komersil berbanding 'nuoc-mam' (Van-Veen, 1965; Dougan & Howard, 1975). 'Nam-pla' terhasil dengan mencampurkan 4 bahagian ikan kepada 1 bahagian garam ke dalam bekas yang terbuka sedikit. Tempoh fermentasi mengambil masa selama 6-12 bulan. Kemudian dibiarkan terdedah kepada cahaya matahari selama 1-3 bulan untuk pematangan (Saisithi *et al.*, 1966). Cecair yang terhasil dikisar bersama 'meiki' iaitu produk sampingan yang terhasil semasa penghasilan monosodium glutamat. Penambahan 'Meiki' mempengaruhi rasa dan aroma sos ikan yang terhasil. Dalam penghasilan 'nam-pla' kepekatan garam yang digunakan lebih rendah berbanding sos ikan lain (Beddows & Ardeshir, 1979).

Manakala di Indonesia, cecair yang terhasil daripada penggaraman ikan dimasak dan dipekatkan (Van Veen, 1965). Proses penghasilannya menyamai kaedah penghasilan 'nuoc-mam' dan dikenali sebagai 'Ketjap-ikan'. Ia dihasilkan menggunakan ikan *Clupea*, *Stolephorus*, *Leiognathus* spp. dan ikan air tawar seperti *Osteochilus* dan *Puntias* (Saainin, 1954).

Di Jepun sos ikannya dikenali sebagai 'shottsuru' yang dihasilkan menggunakan ikan sardin, *Stolephorus* spp. dan *Mollusks* (Rao, 1967). Lebih lama tempoh fermentasi lebih tinggi penghasilan asid lemak meruap. Selepas matang, cecair yang terhasil dituras dan dimasak serta

boleh disimpan selama beberapa tahun. 'Shottsuru' mempunyai aroma berbeza daripada 'nuoc-mam' dan dipengaruhi oleh jenis ikan yang digunakan. 'Shottsuru' boleh diproses menghasilkan 'Shoyu' dengan penambahan kacang soya atau koji (gandum yang difermen bersama yis) (Orejana, 1983).

'Patis' merupakan produk sos ikan Filipina yang mempunyai warna kuning keperangan yang mempunyai sebatian larut air terutama komponen peptida dan asid-asid amino. Kawasan Malabon dan Navotas di Rizal Filipina merupakan industri 'patis' yang terkenal di Filipina. 'Patis' mempunyai bau dan perisa seakan-akan berkeju dan mempunyai rasa yang masin. 'Patis' menyerupai 'nuoc-mam' tetapi lebih rumit dan memerlukan masa lebih panjang. 'Patis' merupakan cecair produk sampingan fermentasi 'bagoong'. Cecair daripada fermentasi 'bagoong' itu diasingkan dan dimasak untuk menghasilkan 'patis' (Miller *et al.*, 1946). 'Patis' dihasilkan menggunakan ikan sardin, ikan bilis serta udang pada nisbah 2.5-3 bahagian ikan kepada 1 bahagian garam (b/i). Kemudian campuran diletakkan di dalam bekas yang bertutup rapat dan bahagian atas ditindih dengan pemberat (batu besar) dan difermen selama 6-12 bulan (Van Veen, 1965).

Pada kebiasaannya fermentasi lengkap selepas 6-12 bulan (Baens-Arcega, 1977). Apabila ikan telah terfermen dengan sempurna, cecair dituras menghasilkan 'patis' yang berwarna jernih dan merupakan patis gred pertama. Residu yang terhasil diproses menghasilkan 'bagoong'. 'Patis' gred ke-2 dan ke-3 terhasil apabila campuran tersebut dibasuh semula dengan larutan garam tepu menghasilkan 'patis' (Baens-Arcega, 1977). Kandungan protein menurun daripada 10 % (gred pertama) kepada 6 % (gred ke-2) dan 3 % (gred ke-3). 'Patis' yang berkualiti tinggi mempunyai 60-70 % nitrogen total sebagai nitrogen terlarut dan kepekatan garam sekurang-kurangnya 200 g/liter (Baens-Arcega, 1977).

Di negara barat seperti Greek, sos ikan dihasilkan menggunakan hati ikan spesies *Scomber colias* (Orejana, 1983). Larva atau ikan kecil spesies *Aphya peluerda*, *Gobius*,

Atherina, *Mellela* dan *Engraulis* spp digunakan dalam penghasilan sos ikan yang dikenali sebagai 'pissala' di negara Perancis. Cecair tersebut dituras selepas difermen bersama garam selama 10-12 hari (Orejana, 1983). Di sesetengah negara seperti Eropah produk ikan terfermen selalunya digunakan sebagai penambah perisa tetapi di sesetengah tempat seperti bahagian Selatan-Timur Asia pelbagai produk ikan terfermen digunakan sebagai bahan makanan utama (Beddows *et al.*, 1979).

Kaedah fermentasi yang berbeza di antara negara boleh dibahagikan kepada 4 kategori. Kategori pertama melibatkan kepekatan garam lebih tinggi iaitu 15-20 % dalam produk akhir. Kaedah fermentasi ini diamalkan di Timur-Selatan Asia seperti produk sos ikan 'nam-pla', budu, 'patis' dan 'nuoc-nam'. Ia digunakan sebagai bahan penambah perisa dan pengambilannya dihadkan oleh kandungan garam yang tinggi. Kaedah ke-2, merupakan kaedah fermentasi yang melibatkan penambahan asid organik atau bahan mentah lain seperti beras sebagai sumber karbohidrat. Kaedah ini digunakan dalam produk fermentasi tradisional dengan penggabungan kesan enzim ikan dan enzim mikrobial yang ditambah dengan garam sebagai bahan pemula. Contoh produk fermentasi ini seperti 'Funasuzhi' (Jepun) dan 'burong-dalag' Filipina (Orejana, 1983). Kaedah ke-3 melibatkan penambahan asid mineral seperti asid sulfurik dan asid hidroklorik bagi menghalang pertumbuhan mikrob. Kaedah ini memerlukan pengendalian yang cermat bagi mengelakkan pembentukan sebatian 3-Monokloropropan-1,2-diol. Manakala kaedah ke-4 melibatkan penambahan asid organik atau bahan pengawet lain ke dalam sampel ikan untuk pengawetan (Tatterson, 1998).

2.1.2 Bentuk pengambilan dalam diet

Budu biasanya diambil oleh kebanyakan masyarakat Asia sebagai penambah perisa atau dimakan bersama hidangan nasi dan pencicah kepada ulam-ulaman. Budu juga digunakan sebagai pengganti garam dalam penyediaan makanan (Klomklao *et al.*, 2006). Kuantiti yang

diambil berbeza antara individu iaitu antara 20-40 ml per individu setiap hari (Beddows & Ardishir, 1979).

2.1.3 Penghasilan budu kaedah tradisional

Budu biasanya dihasilkan secara tradisional menggunakan peralatan yang ringkas iaitu bekas campuran dan tangki fermentasi untuk keperluan keluarga serta penduduk setempat. Bahan mentah yang digunakan ialah ikan bilis dan garam dan biasanya menggunakan ikan kecil seperti ikan air tawar atau air masin yang mempunyai nilai yang rendah sebagai bahan mentah dalam makanan. **Gambarfoto 2.1** menunjukkan jenis ikan bilis yang selalu digunakan dalam penghasilan budu.



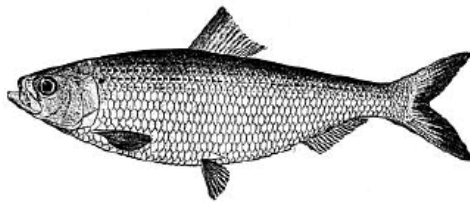
Gambarfoto 2.1: *Stolephorus indicus*

Famili	: <i>Engraulidae</i>
Order	: <i>Clupeiformes</i>
Nama saintifik	: <i>Stolephorus indicus</i>
Nama tempatan	:Ikan bilis

Stolephorus indicus merupakan ikan pelagik yang hidup berkumpulan dan biasanya terdapat di perairan tropikal pada kedalaman 20.0-50.0 m. Tempoh minimum spesies ini mengganda ialah kurang daripada 15 bulan. Spesies ini selalu berada di kawasan persisiran pantai dan kawasan muara sungai serta boleh hidup dalam kawasan air masin. Di perairan

Manila, Filipina, spesies ini bermigrasi ke laut dalam untuk membiak. Ia memerlukan kawasan perairan yang mempunyai tahap garam yang tinggi untuk membiak dan kembali ke persisiran pantai selepas pembiakan. Spesies *Stolephorus indicus* mempunyai badan yang lut cahaya yang berwarna kelabu dengan jalur berwarna perak dibahagian tengah rusuk sisinya. Tiada jalur pigmen yang berwarna hitam pada bahagian belakangnya antara kepala dan sirip dorsalnya. Spesies ikan ini biasanya dijual segar, dikeringkan, digaramkan, dijadikan makanan ikan serta dijadikan produk ikan terfermen seperti budu, nam-pla, nuoc-mam dan sebagainya (Fish Base, 2005).

Spesies ikan yang lebih besar seperti ikan sardin, ikan pelata serta ikan tamban (*Clupeidae* spp.) juga digunakan bagi penghasilan budu tetapi harganya lebih mahal kerana nilainya sebagai sumber makanan mentah (Loha, 2005). Spesies ikan tamban atau ikan hering (*Clupeidae* spp) juga dikenali sebagai ikan kasai atau bakok (**Gambarfoto 2.2**). Ia merupakan ikan pelagik kecil dengan saiz antara 5-13 cm hidup dalam air tawar, sungai serta boleh membiak dalam air masin. Kebanyakannya terdapat di kawasan sungai Thailand dan sungai Bangkok. Spesies ini membiak pada bulan Jun/Ogos di perairan dalam.



Gambarfoto 2.2: Ikan Hering (*Clupeidae*) (Garman & Macko, 1998).

Ikan tamban atau hering (*Clupeidae*) mempunyai kepala tanpa sisik dan hanya mempunyai satu sirip dorsal dan bahagian abdomen yang agak tirus berbentuk seperti perahu. Bahagian badan dan sisiknya berwarna perak dengan bahagian atas badan yang agak gelap (ICES, 2004).

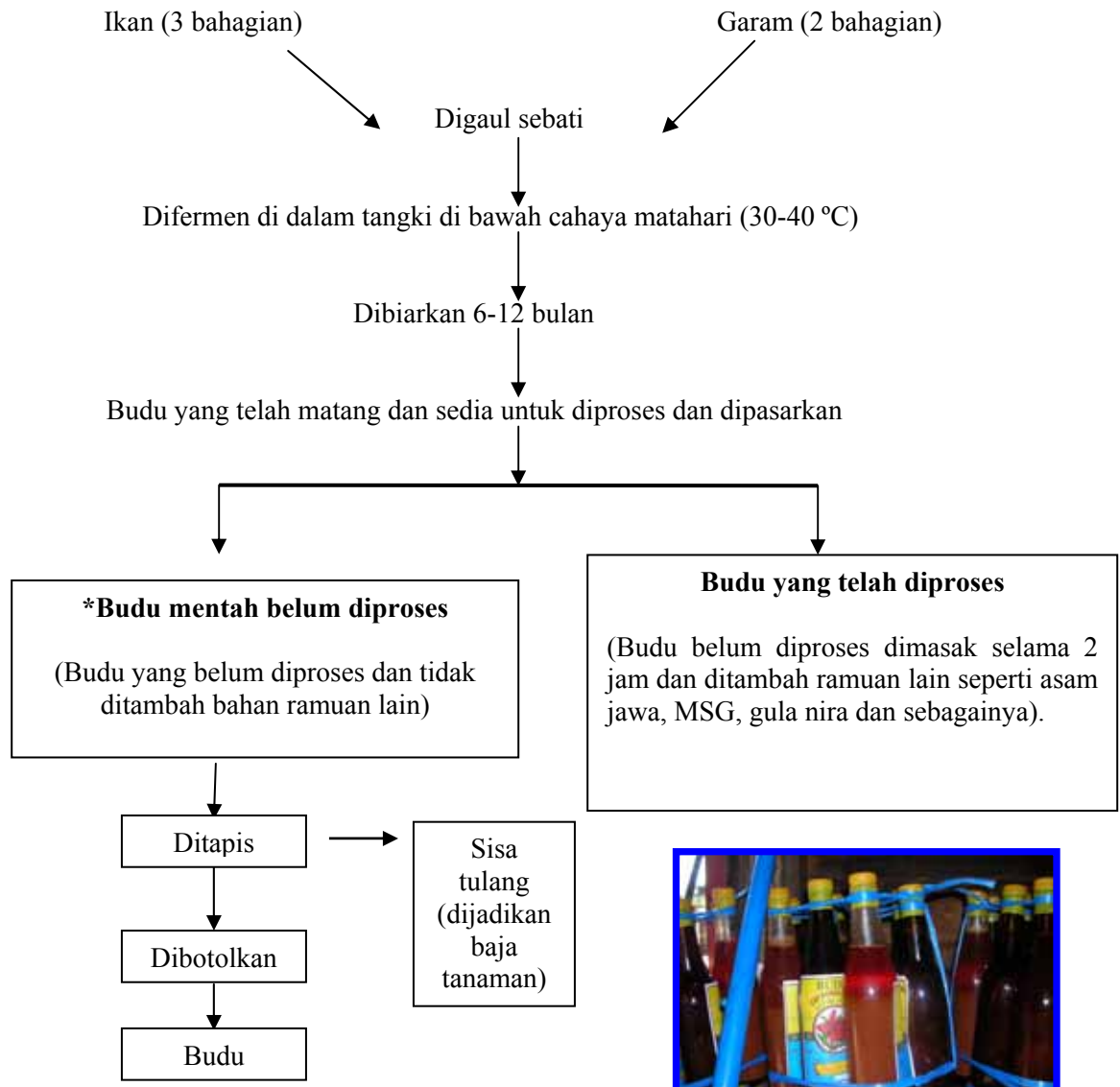
Didapati kedua-dua spesies ikan bilis tersebut mempunyai ciri-ciri yang berbeza termasuklah dari segi komposisi kimianya (**Jadual 2.2**). Ikan bilis spesies *Clupeidea* mempunyai kandungan protein dan lemak yang lebih tinggi tetapi rendah kandungan lembapan berbanding spesies *Stolephorus*. Memandangkan terdapat variasi dari segi komposisi kimia maka perbezaan sifat fiziko-kimia bagi budu daripada ikan bilis Kelantan dan Pulau Pangkor memang dijangkakan. Ini disebabkan antara objektif dalam kajian ini ialah untuk menentukan kesesuaian ikan bilis dari sumber lain dalam penghasilan budu.

Jadual 2.2: Komposisi kimia ikan bilis segar (Lopetcharat *et al.*, 2001).

Komposisi kimia % (g/100 g)	Ikan bilis (<i>Stolephorus spp.</i>)	Ikan bilis (<i>Clupeidea spp.</i>)
Protein	18.0	20.2
Lemak	0.3	4.3
Lembapan	80.5	74.4

Kaedah penghasilan budu secara tradisional ditunjukkan dalam **Rajah 2.1**. Penghasilannya melibatkan campuran 3:2, bahagian ikan: garam atau 2:1, bahagian ikan: garam. Kemudian difermentasi selama 6-12 bulan pada suhu 30 °C-40 °C (Lopetcharat *et al.*, 2001). Ia melibatkan proses pembasuhan dan pemeraman ikan dengan kepekatan garam yang tinggi dalam bekas pasu atau kayu yang bertutup longgar.

Tangki dibiarkan di kawasan lapang yang terdedah kepada cahaya matahari selama 6-12 bulan. Ikan dibiarkan terhidrolisis melalui tindakan enzim pada visera dan salur penghadamannya serta enzim protease yang dihasilkan oleh bakteria hidrofilik (Gildberg & Thongthai, 2001). Fermentasi budu bermula dengan campuran ikan bilis dan garam dalam bekas konkrit (0.9 m diameter X 1 m tinggi). Pemberat (batu kerikil) diletakkan di bahagian atas bagi membantu jisim ikan terendam sepenuhnya dalam larutan garam serta menghalang ikan terapung apabila air diekstrak keluar dari tisu ikan oleh molekul garam semasa fermentasi (Van Veen, 1965; Loha, 2005).



Budu mentah belum diproses



Budu telah diproses

Rajah 2.1: Carta alir penghasilan budu Malaysia kaedah tradisional (Nota: *Sampel budu mentah komersil yang digunakan dalam kajian ini).

Semasa tempoh fermentasi proses proteolisis tisu ikan berlaku dan aroma tipikal budu terhasil disebabkan kehadiran komponen asid lemak meruap, asid amino, ammonia, amina dan komponen lain (Beddows *et al.*, 1979; Dougan & Howard, 1975 & Saisithi *et al.*, 1966). Selepas fermentasi selama 6-12 bulan protein ikan ditukar kepada komponen nitrogen larut dan selepas setahun budu yang terhasil dimasak selama 2 jam dan ditambah dengan asam jawa, gula nira, Monosodium glutamat (MSG) dan sebagainya serta ditapis dan dibotolkan. Gula nira membantu mengurangkan aroma ikan dan memperbaiki rasa serta warna produk (Ismail, 1977). Penambahan asam jawa pula membantu meningkatkan perisa produk serta merendahkan nilai pH yang boleh merencat pertumbuhan bakteria perosak (Henry *et al.*, 1993).

2.1.4 Masalah dalam pengeluaran budu

Teknologi pemprosesan budu yang diusahakan secara kecil-kecilan telah berkembang dari tahun ke tahun melalui pengalaman berbanding melalui kajian saintifik. Maka, para pengusaha budu teragak-agak untuk menerima perubahan dan pengubahsuaian dalam proses fermentasi. Peningkatan kualiti dan keselamatan makanan terfermen serta pengekalan keunikan produk adalah suatu pendekatan yang penting. Pendekatan ini membolehkan pengusaha berkongsi pengetahuan dan permasalahan serta membekalkan para penyelidik dengan arah panduan dalam kajian (Valyasevi & Rolle, 2002).

2.1.4.1 Keadaan fermentasi yang tidak terkawal

Ketiadaan kawalan yang teratur semasa fermentasi budu menyebabkan proses fermentasi melebihi tempoh matang dan menghasilkan produk dengan kualiti yang pelbagai dan berbeza dari satu kelompok ke kelompok yang lain (Anihouvi *et al.*, 2006). Persekitaran tempat fermentasi yang kurang higienik boleh menyumbang kontaminasi mikrob perosak yang mempengaruhi kualiti produk dan membahayakan kesihatan individu (Caplice *et al.*, 1999).

Keadaan fermentasi yang terkawal perlu dititikberatkan bagi memastikan nilai nutrisi produk yang konsisten dan mencapai piawaian (Mackie *et al.*, 1971). **Gambarfoto 2.3** menunjukkan fermentasi budu secara tradisional.



Gambarfoto 2.3: Fermentasi budu yang dilakukan secara tradisional dikawasan lapang yang terdedah kepada sinaran matahari.

Bekalan air yang digunakan dari sumber terbuka seperti sungai yang tidak terjamin kebersihan boleh mempengaruhi tahap keselamatan produk. Selain itu, cuaca persekitaran (suhu dan lembapan) tidak boleh dianggap optimum untuk semua tujuan fermentasi kerana faktor tersebut mempengaruhi kualiti produk akhir (Iwuoha *et al.*, 1996).

Bagi pemasaran budu dan sos ikan ke luar negara seperti Amerika Syarikat dan Eropah, pengusaha perlu memastikan produk dihasilkan dalam keadaan bersih dan mematuhi akta keselamatan makanan. Industri sos ikan Thailand merupakan contoh industri sos ikan termaju yang bermula dari pengeluaran secara tradisional dan dipertingkatkan sehingga mencapai piawaian antarabangsa bagi memenuhi keperluan pasaran (Yeap & Tan, 2002).

2.1.4.2 Kekurangan pengetahuan berkaitan keselamatan makanan

Masalah ke-2 dalam pengeluaran budu ialah kekurangan pengetahuan berkaitan keselamatan makanan. Pengaplikasian Amalan Pengilangan Baik (AMP) dan titik kawalan kritikal bagi analisis bahaya (Hazard Analysis Critical Control Point, HACCP) serta penilaian kawalan kualiti adalah penting diperkukuhkan dan diaplikasikan dalam penghasilan budu dan sos ikan (Yeap & Tan, 2002). Kelemahan dalam penilaian kawalan kualiti budu dan sos ikan boleh menyebabkan keracunan makanan. *Botulism* pernah dilaporkan terkandung dalam pelbagai produk ikan terfermen yang boleh mendatangkan risiko bahaya kepada individu (Yamamoto, 1975).

Ketidakprihatinan pengguna terhadap nilai nutrisi dan keselamatan makanan terfermen sebaliknya lebih menitikberatkan ciri-ciri organoleptik menyebabkan para pengusaha kurang mengambil berat aspek keselamatan makanan. Maka isu berkaitan tahap keselamatan dan nilai nutrisi merupakan faktor penting dalam pengkomersilan dan pemasaran produk budu dan sos ikan.

2.1.4.3 Kualiti bahan mentah

Faktor utama mempengaruhi kualiti budu ialah kualiti bahan mentah iaitu sumber ikan dan garam yang mempengaruhi mutu serta harga budu dan sos ikan. Penggunaan bahan mentah berkualiti rendah mendatangkan pelbagai risiko bahaya terhadap kontaminasi mikrobial dan pembentukan histamina yang merupakan potensi bahaya produk fermentasi. Selain itu, ia akan merendahkan harga produk dan menyukarkan pemasaran produk di peringkat antarabangsa (Yeap & Tan, 2002). Oleh yang demikian, sumber dan kualiti bahan mentah yang segar dan bersih serta campuran segera ikan dan garam selepas tangkapan adalah penting.

2.1.4.4 Ketiadaan piawaian dalam fermentasi budu

Penghasilan budu dilakukan menggunakan kaedah dan pengetahuan yang diwarisi dari satu generasi ke generasi yang lain. Maka kualiti produk yang terhasil berbeza dan pelbagai. Teknik pemprosesan yang tidak piawai dan seragam menyebabkan kualiti produk yang tidak konsisten. Maka, kajian ini telah dilakukan bagi mengkaji sifat fiziko-kimia budu.

Kebanyakan pengusaha menggunakan peralatan penstoran dan pembungkusan yang mudah serta ringkas. Kaedah tersebut mudah diperturunkan dari satu generasi ke generasi lain melalui latihan yang tidak formal. Ini menyebabkan ketiadaan piawaian dalam proses penghasilan dan kualiti produk berbeza antara satu pengusaha dengan pengusaha lain (Essuman, 1992). Ketiadaan protokol saintifik dalam operasi pemprosesan budu dan sos ikan menyebabkan kawalan proses fermentasi budu sukar dikekalkan. Tempoh fermentasi juga dipilih berdasarkan penentuan manusia dan bukan berdasarkan kajian saintifik. Kuantiti dan kualiti substrat dan bahan mentah yang digunakan serta proses pemasakan budu selepas matang juga tidak dipiawaikan. Ini menghasilkan kualiti produk yang tidak konsisten dan menyukarkan pengkomersilan secara besar-besaran kerana ketiadaan piawaian fermentasi budu (Iwuoha *et al.*, 1996).

2.1.4.5 Harga pasaran produk

Harga ikan mentah dipasaran tidak stabil dan mengalami penurunan atau kenaikan bergantung kepada jumlah tangkapan, permintaan, bekalan, spesies dan kualiti tangkapan. Sesetengah pengusaha budu melambatkan pembelian ikan sehingga petang kerana harganya lebih murah. Ikan tersebut diproses menjadi produk ikan terfermen dan ini akan merendahkan nilai dan kualiti produk. Pemprosesan dan pemasaran produk ikan terfermen merupakan aktiviti yang diwarisi dari satu generasi ke satu generasi dan tiada kawalan harga dikuatkuasakan. Ini

disebabkan harga pasaran produk ditentukan berdasarkan kos bahan mentah, garam, kos penghantaran dan permintaan produk oleh masyarakat setempat (Essuman, 1992).

2.1.4.6 Kekurangan bekalan bahan mentah

Sesetengah negara berlaku kekurangan sumber ikan disebabkan penggunaannya bagi penghasilan produk yang mempunyai nilai tambah seperti surimi. Ini menyebabkan bekalan bahan mentah untuk produk fermentasi tidak mencukupi. Selain itu, sesetengah spesies ikan mempunyai musim-musim tertentu yang mana tangkapannya lebih banyak. Ini menyebabkan kekurangan sumber ikan terutamanya ikan bilis pada bulan-bulan tertentu.

Melalui kajian ini sumber ikan bilis dari kawasan lain (Pulau Pangkor) selain ikan bilis dari Kelantan telah digunakan untuk melihat kesesuaiannya dalam penghasilan budu. Ini memandangkan sumber ikan bilis yang semakin berkurangan di kawasan Pantai Timur seperti Kelantan. Justeru itu, pihak kerajaan perlu mencari sumber baru atau menubuhkan sistem pengurusan ikan bagi memastikan bekalan bahan mentah yang konsisten untuk mengimbangi antara keperluan makanan dan keperluan ekonomi daripada penggunaan ikan yang pelbagai.

2.1.4.7 Kekurangan insentif

Kebanyakan produk ikan terfermen diusahakan secara tradisional kerana tidak mendapat tempat di pasaran antarabangsa. Ini menyebabkan budu mempunyai nilai lebih rendah. Pemberian insentif penting bagi membantu peningkatan kualiti dan pemprosesan produk ikan terfermen. Pihak kerajaan perlu menitikberatkan kepentingan pemberian insentif kepada pengusaha-pengusaha yang menjalankan perusahaan budu secara kecil-kecilan bagi membolehkan peningkatan pemasaran budu ke pasaran dunia (Yeap & Tan, 2002).

Infrastruktur dan kawasan perusahaan budu perlu diperbaiki dan dipertingkatkan yang mana kebanyakannya diusahakan secara kecil-kecilan kerana ketiadaan modal. Pihak kerajaan

perlu mempertingkatkan aktiviti kajian dan pembangunan serta promosi bagi meningkatkan pemasaran budu dan sos ikan. Pemberian insentif adalah perlu memandangkan industri budu dan sos ikan boleh menjadi sumber ekonomi negara (Yeap & Tan, 2002).

2.1.5 Kajian sifat fiziko-kimia budu mentah belum diproses

Faktor-faktor yang mempengaruhi kualiti budu terdiri daripada spesies ikan, jenis garam, nisbah ikan kepada garam dan keadaan fermentasi. Spesies ikan bukan sahaja mempengaruhi jenis protein yang membekalkan nutrien kepada mikroba tetapi juga bertindak sebagai substrat untuk tindakan enzim (Lee *et al.*, 1993).

Kualiti budu dinilai secara subjektif bergantung kepada penilaian pengguna berdasarkan warna dan perisa. Di Malaysia budu yang berwarna gelap lebih digemari pengguna. Antara parameter kuantitatif penentuan kualiti budu adalah kandungan protein dan warna. Namun begitu, kandungan protein dan warna produk boleh diubahsuai melalui penambahan ingredien protein terlarut lain serta melalui penambahan pigmen semulajadi seperti karamel bagi memenuhi piawaian keselamatan makanan.

Melalui kajian ini sifat fiziko-kimia budu telah dikaji berdasarkan analisis kimia, nutrisi dan keselamatan budu mentah belum diproses daripada pelbagai pengusaha di Kelantan. Sebanyak 12 sampel budu mentah belum diproses daripada 12 pengusaha budu yang berdaftar dengan Jabatan Perikanan Malaysia (2006) di Kelantan telah digunakan. Pengusaha budu dipilih secara rawak pada lokasi yang berbeza dengan melihat jumlah pengeluaran dan popularan produk. Jumlah bilangan sampel yang digunakan penting dalam penentuan nilai min serta magnitud kepelbagaian komponen dalam makanan. Analisis bilangan sampel yang kecil menghadkan kejituan dalam penentuan nilai min. Sekurang-kurangnya 12 atau lebih bilangan sampel diperlukan untuk penghasilan data spesifikasi (Holden *et al.*, 2002). Oleh demikian, penggunaan 12 sampel budu mentah belum diproses dalam kajian ini boleh digunakan bagi

penghasilan spesifikasi budu. Namun begitu, lebih banyak bilangan sampel (melebihi 25 sampel) adalah digalakkan bagi memperbaiki dan memperolehi data yang lebih jitu untuk penentuan spesifikasi (Holden *et al.*, 2002). Kaedah kajian bagi sifat fiziko-kimia budu merupakan kajian bagi ‘makanan unik’. Iaitu makanan yang hanya terdapat di sesuatu tempat yang tertentu dan merupakan makanan etnik yang digemari oleh sesuatu populasi yang tertentu. Data yang diperolehi mewakili kawasan makanan tersebut digemari dan terkenal serta ciri-ciri penting makanan tersebut dikaji (Holden *et al.*, 2002). Dalam kajian ini, komposisi kimia budu iaitu nilai protein kasar (% b/i), kandungan pepejal terlarutkan total (PTT), peratusan garam (% b/i), nilai pH, kandungan asid amino perlu serta asid amino yang merupakan komponen berperisa aktif dianalisis bagi penentuan kualiti budu. Aspek keselamatan budu iaitu kandungan histamina, hitungan *E. coli*, *Coliform*, *V. parahaemolyticus* dan *V. cholerae* juga dianalisis. Spesies ikan, kepekatan garam, tempoh fermentasi, kandungan kimia, kaedah penghasilan serta suhu fermentasi memainkan peranan penting dalam penghasilan produk akhir yang bernilai tinggi (Wood, 1985).

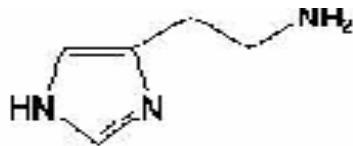
2.1.6 Akta makanan bagi budu dan sos ikan

Mengikut Akta Makanan (1983) dan Peraturan-Peraturan Makanan (1985), sos ikan hendaklah terdiri daripada hasil ikan dalam bentuk cecair yang disediakan daripada ikan segar selain daripada kerang-kerangan dengan proses penapaian menggunakan garam dan termasuklah budu. Mengikut peraturan ini, budu hendaklah merupakan hasil ikan yang diperolehi melalui penapaian dengan garam dan ikan bilis dari spesies *Stolephorus* atau campuran ikan bilis dengan ikan kecil yang lain. Sos ikan serta budu hendaklah mengandungi tidak kurang daripada 15 % garam dan 5 % protein. Dibenarkan mengandungi bahan makanan lain dan hendaklah bersih dan sesuai dimakan serta tidak boleh mengandungi bahan asing yang lain.

2.2 Kualiti negatif budu

2.2.1 Penghasilan histamina dalam budu

Pembentukan amina biogenik dalam makanan terfermen merupakan antara faktor bahaya kepada pengguna. Penghasilannya dalam makanan terfermen pernah dilaporkan yang mana mempunyai kaitan dengan kontaminasi flora mikrobial (Shalaby, 1996). Amina biogenik boleh terbentuk melalui enzim pada bahan mentah atau yang dihasilkan melalui dekarboksilasi mikrobial ke atas asid amino (Halasz *et al.*, 1994). Struktur kimia amina biogenik ialah alifatik (putresina, kadavarina, spermina, spermidina), aromatik (tiramina, feniletilamina) dan heterosiklik (histamina, triptamina). **Rajah 2.2** menunjukkan struktur molekul komponen histamina.



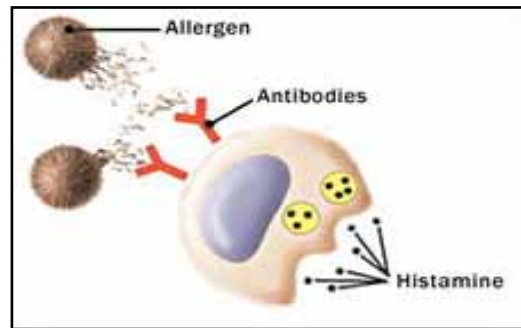
Rajah 2.2: Struktur molekul komponen histamina (Veciana *et al.*, 1997b).

Jadual 2.3 menunjukkan pencetus pembentukan amina biogenik iaitu putresina, histamina dan kadavarina yang merupakan petunjuk kepada kerosakan makanan seperti ikan segar, produk daging dan sayur-sayuran. Terdapat hampir 20 asid amino berfungsi dalam sintesis protein serta komponen biomolekul lain (Rodriquez *et al.*, 2008).

Jadual 2.3: Amina biogenik dan prekursornya dalam tindak balas dekarboksilasi (Paterson *et al.*, 1990).

Asid amino	Amina biogenic
Histidina	Histamina
Ornitina	Putresina → Spermidina
Lisina	Kadavarina
Arginina	Agmatina → Putresina

Histamina ialah komponen protein yang terlibat dalam tindak balas alahan oleh rangsangan imun tubuh seseorang seperti ditunjukkan pada **Rajah 2.3**. Pembentukan histamina dalam makanan bergantung kepada masa, suhu, jenis ikan dan kuantiti mikroorganisma yang hadir dalam makanan tersebut (Santos *et al.*, 1996). Spesies bakteria yang mempunyai kaitan dengan pembentukan histamina adalah seperti *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Vibrio* spp. dan *Clostridium perfringens*. Mikroorganisma yang bertanggungjawab dalam pembentukan histamina yang tinggi dalam makanan adalah *Morganella morganii* (Tsai *et al.*, 2006).



Rajah 2.3: Tindak balas histamina pada tubuh (Paterson *et al.*, 1990).

Kepekatan histamina yang tinggi dalam budu dan sos ikan disebabkan kualiti bahan mentah yang rendah, pengendalian yang tidak teratur, faktor kebersihan semasa fermentasi, jenis ikan, proses fermentasi yang tidak terkawal, kandungan histidina bebas dalam tisu ikan, kehadiran bakteria histidina dekarboksilasi dan keadaan persekitaran (Rodriguez *et al.*, 1993; Lehane & Olley, 2000).

Kepekatan histamina bergantung kepada tempoh masa dan suhu fermentasi yang digunakan. Bakteria pembentuk histamina boleh bertumbuh pada julat suhu yang besar dan pertumbuhannya lebih cepat pada suhu lebih tinggi (Kim *et al.*, 2000). Pada suhu 24 °C aktiviti dekarboksilasi histidina oleh mikroorganisma lebih rendah berbanding pada suhu 37 °C tetapi