

PEMANFAATAN KERANG HIJAU (*Mytilus viridis*) DALAM PEMBUATAN HIDROLISAT PROTEIN MENGUNAKAN ENZIM PAPAIN

Utilization of Green Cockle (Mytilus viridis) in Making of Protein Hydrolyzed Using Papain Enzyme

TATI NURHAYATI, ELLA SALAMAH, ELIN AMALIA

Abstract

Protein hydrolyzed has high protein so that can be used for food industry and also pharmacy. Existence of making product of protein hydrolyzed expected can improve fishery product become new product as food which have high protein. One of marine product which not explore yet is green cockle. It has high protein and can be made as fish protein hydrolyzed product through modification process. The aim of research are: to determine of enzyme concentration, time and hydrolysis pH for making of hydrolyzed product. Results of research indicate that best concentration of enzyme for making of hydrolyzed product is 5% (w/v), 24 hours and pH 7. Characteristic of green cockle protein hydrolyzed are: water rate is 84,44 %, dusty rate is 1,25%, protein is 11,75% and fat is 2,56%. Protein hydrolyzed product of green cockle contain of free nitrogen α -amino as much as 0,88 g/100 g and also hydrolyzed degree equal to 0,47. This protein hydrolyzed product consisted of 17 kinds of amino acid.

Keyword: enzyme, Protein hydrolyzed of green cockle

PENDAHULUAN

Kerang merupakan salah satu komoditi hasil perikanan yang memiliki nilai gizi tinggi. Selain mengandung protein hewani yang relatif tinggi, kerang juga mengandung asam-asam lemak tak jenuh essensial dan mineral yang diperlukan oleh tubuh manusia, kerang hijau memiliki kandungan protein sebesar 20,10%; lemak sebesar 1,18%; karbohidrat sebesar 2,84%; air sebesar 75,70%; dan abu sebesar 0,18%. Daging kerang mempunyai prospek yang baik bagi penambahan konsumsi protein di Indonesia, khususnya kerang hijau (*Mytilus viridis*) (Porsepwandi 1998). Kadar protein yang tinggi pada daging kerang menyebabkan daging tersebut dapat dijadikan sebagai bahan baku dalam pembuatan produk hidrolisat protein.

Hidrolisat protein memiliki kandungan protein yang tinggi dan dapat digunakan baik pada industri pangan maupun farmasi. Pada industri pangan hidrolisat protein dapat ditambahkan dalam formula non-alergenik untuk bayi dan suplemen makanan diet. Hidrolisat protein juga dapat digunakan pada pembuatan produk-produk dermatologis, seperti krim pembersih muka dan krim pelembab kulit (Pigot dan Tucker 1990).

Suplemen hidrolisat protein ikan dari genus *Salmo* atau *Onchorynchus* dengan karakteristik peptida tertentu, yaitu memiliki paling sedikit satu peptida Leu-Ala-phe, Leu-Thr-Phe, Ile-Ile-Phe, Leu-Ala-tyr, Ile-Ala-tyr, Val-Phe-Tyr, Tyr-Ala-tyr, Val-Leu-Trp, Ile-Ala-Trp, Tyr-Ala-Leu, dan Tyr-Asn-Arg, mempunyai sifat fungsional *Angiotensin Converting Enzyme (ACE) inhibitor*, sehingga dapat mencegah terjadinya tekanan darah tinggi (Nurhayati 2007).

Pembuatan hidrolisat protein menggunakan enzim papain sudah pernah dilakukan oleh Hidayat (2005) menggunakan bahan baku ikan. Pada penelitian pembuatan hidrolisat protein ini, bahan baku yang digunakan adalah kerang hijau. Merujuk pada beberapa hal di atas, proses pembuatan hidrolisat protein ikan dianggap perlu untuk dilakukan. Tersedianya bahan penghidrolisa berbentuk enzim papain yang aman untuk

digunakan, bahan baku berupa kerang hijau yang cukup banyak tersedia juga dapat dimanfaatkan secara optimal.

METODE

Bahan dan Alat. Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah kerang hijau (*Mytilus viridis*) yang diperoleh dari pantai Labuan, Banten dan enzim papain dengan aktivitas 60,5386 unit/mg yang diperoleh dari laboratorium mikrobiologi, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi IPB. Bahan-bahan kimia yang digunakan meliputi bahan kimia untuk analisis kadar lemak, protein, α -amino nitrogen bebas dan asam amino. Alat-alat yang digunakan meliputi *water shakerbath*, *freeze dryer* dan alat-alat untuk analisis (*kjeldahl*, soklet, oven, tanur pengabuan dan HPLC).

Metode Penelitian. Penelitian dilakukan melalui 2 tahap, yaitu tahap penelitian pendahuluan dan tahap penelitian utama. Penelitian pendahuluan terdiri dari penentuan waktu hidrolisis terhadap padatan sisa, penentuan konsentrasi enzim terhadap sisa padatan dan penentuan pH terhadap α -amino nitrogen bebas. Penelitian utama terdiri dari pembuatan hidrolisat protein kerang hijau dengan kondisi hidrolisis terbaik berdasarkan hasil penelitian pendahuluan dan menentukan karakteristik produk serta asam amino yang dikandungnya.

Penelitian Pendahuluan. Penelitian pendahuluan untuk penentuan waktu, pertama daging kerang hijau dihancurkan lalu ditambahkan air dengan perbandingan 1:4 (w/v) dan enzim dengan konsentrasi 3 % (w/v), setelah itu dihidrolisis pada suhu 55 °C pada waktu 7, 16 dan 24 jam. Analisis yang dilakukan pada tahap ini adalah padatan sisanya. Waktu hidrolisis yang menghasilkan padatan sisa yang rendah digunakan untuk penentuan konsentrasi enzim dan pH. Pada tahap penentuan konsentrasi enzim, digunakan enzim pada berbagai konsentrasi (0-6 % (w,v)) yang ditambahkan pada campuran substrat dan air. Analisis yang dilakukan pada tahap ini adalah terhadap sisa padatan. Konsentrasi enzim yang menghasilkan padatan sisa paling sedikit digunakan untuk tahap penentuan pH, sedangkan pH yang dicobakan

adalah 6, 7 dan 8. Pada tahap ini analisis yang dilakukan adalah α -amino nitrogen bebas (LPTP 1974). Konsentrasi enzim, waktu hidrolisis dan pH terbaik digunakan untuk penelitian utama.

Penelitian Utama. Pada tahap ini proses pembuatan hidrolisat protein kerang hijau menggunakan konsentrasi enzim, waktu dan pH hidrolisis terbaik berdasarkan penelitian pendahuluan. Pencampuran substrat dengan air dan enzim dihidrolisis pada suhu 55 °C, kemudian penginaktifan enzim pada suhu 90 °C selama 20 menit selanjutnya penyaringan sehingga didapatkan fraksi terlarut. Fraksi ini kemudian dikurangi airnya menggunakan *freeze dryer*. Analisis terhadap produk ini terdiri dari analisis proksimat (kadar air, abu, lemak, protein dan nitrogen total) (AOAC 1995), α -amino nitrogen bebas (LPTP 1974), dan analisis asam amino (Nur dan Adijuwana 1989).

Analisis Data. Analisis data yang digunakan untuk penentuan konsentrasi enzim dan pH pada penelitian pendahuluan adalah rancangan acak lengkap dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey (Steel dan Torrie 1991).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Kimia Kerang Hijau. Bahan baku untuk membuat hidrolisat protein ini adalah kerang hijau (*Mytilus viridis*) yang memiliki komposisi kimia kadar air 86,58%, kadar abu 1,57%, kadar lemak 1,67% dan kadar protein 7,97%. Kerang hijau memiliki kandungan protein yang cukup tinggi sehingga bisa digunakan sebagai bahan baku pembuatan hidrolisat protein.

Penentuan Waktu Hidrolisis. Penentuan waktu hidrolisis dilakukan untuk mengetahui waktu terbaik pada proses hidrolisis. Kondisi yang perlu diperhatikan selama hidrolisis berlangsung selain suhu dan nilai pH adalah waktu hidrolisis (Gesualdo dan Li-Chan 1999).

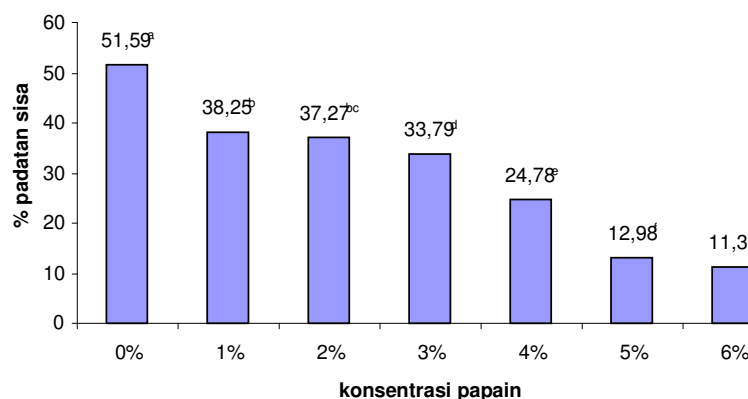
Waktu hidrolisis yang digunakan pada penelitian ini adalah 7, 16 dan 24 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa waktu hidrolisis terbaik adalah 24 jam yang memiliki nilai padatan sisa sebesar 34,35% (w/v). Hal ini menunjukkan bahwa makin lama waktu yang digunakan maka akan menghasilkan padatan sisa yang rendah. Persentase padatan sisa pada waktu 7 dan 16 menunjukkan hasil yang tidak terlalu berbeda, yaitu 55,35% dan 54,7% (w/v). Hasil penentuan waktu hidrolisis dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Waktu Hidrolisis

Waktu (jam)	Padatan sisa
7	55,35 %
16	54,7 %
24	34,35 %

Penentuan Konsentrasi Enzim. Pada proses hidrolisis menggunakan enzim, substrat yang digunakan diubah menjadi produk hidrolisat, akan tetapi di dalam masih ada padatan sisa substrat yang masih tersisa. Untuk itu maka perlu dicari konsentrasi enzim yang tepat untuk mendapatkan sisa padatan serendah mungkin dan konsentrasi enzim yang seminimal mungkin.

Pada penelitian ini digunakan enzim dengan berbagai konsentrasi, yaitu 1-6% (w/v) dengan aktivitas enzim 60,5386 unit/mg. Hasil penelitian menunjukkan bahwa total padatan sisa berkisar 51,59 %-11,35 % (Gambar 2).



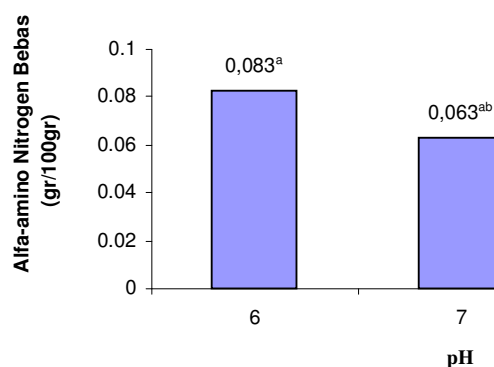
Perbedaan huruf superskrip menunjukkan beda nyata pada selang kepercayaan 95%

Gambar 2. Hasil pengukuran padatan sisa hidrolisat protein kerang

Pada perlakuan kontrol, yaitu perlakuan tanpa penambahan enzim papain, terlihat padatan sisa yang dihasilkan sangat besar dibandingkan dengan perlakuan yang lain, yaitu sebesar 51,59%. Ini menunjukkan bahwa substrat yang terhidrolisis menjadi produk sangat sedikit.

Berdasarkan analisis sidik ragam pada taraf nyata 0,05 menunjukkan konsentrasi enzim memberikan pengaruh berbeda nyata ($F_{hit} > F_{tab}$) terhadap padatan sisa yang dihasilkan. Hasil uji Tukey menunjukkan bahwa konsentrasi enzim terbaik adalah 5 % (w/v) karena memiliki persen padatan sisa yang rendah dan tidak berbeda nyata dengan konsentrasi 6% (w/v). Peningkatan konsentrasi enzim berpengaruh terhadap peningkatan kecepatan pembentukan produk atau hidrolisat substrat. Pada proses hidrolisis substrat kecepatan aktivitas katalitik enzim semakin baik dan akhirnya akan mencapai suatu batas maksimum dan setelah batas ini terlampaui, kecepatan reaksi tetap meningkat tapi dengan nilai yang semakin kecil. Pada kondisi tersebut enzim menjadi jenuh oleh substratnya dan tidak dapat berfungsi lebih cepat (Lehninger 1993). Pada penelitian ini kondisi tersebut terjadi pada konsentrasi enzim 5 % (w/v), sehingga ditetapkan untuk penelitian selanjutnya.

Penentuan pH Hidrolisis terhadap Peningkatan Kadar α -Amino Nitrogen Bebas. Protein yang terhidrolisis akan membebaskan asam-asam amino. Jumlah asam amino yang terdapat dalam hidrolisat protein disebut α -amino nitrogen bebas. Uji α -amino nitrogen bebas dilakukan untuk mengetahui kadar asam amino yang terdapat dalam hidrolisat protein ikan (Hidayat 2005). Kadar α -amino nitrogen bebas yang dihasilkan pada pH hidrolisis yang berbeda disajikan pada Gambar 3.



Perbedaan huruf superskrip menunjukkan beda nyata pada selang kepercayaan 95 %

Gambar 3. Histogram kandungan α -amino nitrogen bebas selama proses hidrolisis

Gambar 3 menunjukkan bahwa nilai rata-rata kadar α -amino nitrogen bebas berkisar antara 0,032–0,083 g/100 g. Protein yang terhidrolisis akan membebaskan asam-asam amino. Oleh karena itu, uji α -amino nitrogen bebas dilakukan untuk mengetahui kadar asam amino yang terdapat dalam hidrolisat protein ikan. Pada pH 6 memiliki nilai α -amino nitrogen bebas tertinggi, yaitu 0,083 g/100 g. Pada penelitian ini pH 6 menunjukkan hasil yang terbaik dan ditetapkan untuk penelitian selanjutnya.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam pada taraf 0,05, menunjukkan pH hidrolisis memberikan pengaruh yang nyata terhadap nilai α -amino nitrogen bebas. Hasil uji Tukey menunjukkan bahwa pH 6 tidak berbeda nyata dengan pH 7, sedangkan pH 8 menunjukkan berbeda nyata dengan perlakuan lain. Nilai pH optimum dalam proses hidrolisis ini dihubungkan dengan sifat enzim yang digunakan, yaitu enzim papain yang mempunyai keaktifan pada pH 5-8 dan stabil pada pH mendekati netral dengan penggunaan suhu 50-60 (EDC 1999).

Hidrolisat Protein Kerang Hijau. Hidrolisat protein kerang hijau yang dihasilkan dalam penelitian ini adalah dalam bentuk cair, kemudian hidrolisat protein ini analisis proksimat (kadar air, kadar abu, kadar protein dan kadar lemak), α -amino nitrogen bebas dan analisis asam amino. Karakteristik hidrolisat protein kerang hijau disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Hidrolisat Protein Kerang Hijau

Parameter	Nilai
Kadar air (%)	84,44
Kadar abu (%)	1,25
Kadar protein (%)	11,75
Kadar lemak (%)	2,56
Total nitrogen (%)	1,87
Kadar α -amino nitrogen bebas (g/100g)	0,88
Nilai perbandingan α -amino nitrogen bebas dan nitrogen total	0,47

Daya cerna *In vitro* (%) 78,93

Kandungan air yang diperoleh dari produk hidrolisat protein ini sebesar 84,44%. Kadar abu dari produk hidrolisat ini cukup rendah, yaitu sebesar 1,25% jika dibandingkan dengan kadar abu kerang hijau yang digunakan, yaitu 11,75%. Dengan kadar mineral yang rendah ini dapat disimpulkan bahwa produk ini tidak dapat digunakan sebagai sumber mineral.

Kadar lemak pada produk sebesar 2,56% lebih tinggi dibandingkan dengan kadar lemak dari kerang hijau yang digunakan yaitu sebesar 1,67%, dan lebih tinggi dari hidrolisat protein kepala udang yang dihasilkan Ikeda *et al.* (2005) sebesar 0,02% serta hidrolisat protein ikan *herring* yang dihasilkan oleh Sathivel *et al.* (2003) sebesar 1,2%. Produk hidrolisat protein dengan kadar lemak yang tinggi ini dapat dijadikan sebagai *food supplement* penambah energi (Hidayat 2005).

Protein berfungsi sebagai zat pembangun tubuh karena protein merupakan bahan pembentuk jaringan baru yang selalu terjadi dalam tubuh. Protein juga digunakan sebagai sumber energi tubuh bila energi yang berasal dari karbohidrat atau lemak tidak mencukupi (Winarno 1997).

Kadar protein yang terukur pada produk hidrolisat adalah protein terlarut. Berdasarkan hasil analisis, kadar protein produk sebesar 11,75% (bb) atau 75,51% (bk) lebih tinggi jika dibandingkan dengan bahan baku yang mempunyai kadar protein 7,97% (bb) atau 59,57% (bk).

Hasil hidrolisis antara lain adalah α -amino nitrogen bebas yang umumnya digunakan untuk menentukan derajat kesempurnaan proses hidrolisis. Kadar α -amino nitrogen bebas produk hidrolisat ini adalah sebesar 0,88 g/100 g. Nilai produk hidrolisat ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan produk hidrolisat yang diproduksi oleh Hidayat (2005), yaitu sebesar 0,06 g/100 g, hal ini menunjukkan bahwa proses hidrolisis pada produk ini berjalan sempurna. Proses hidrolisis yang berjalan baik dan sempurna akan menghasilkan produk hidrolisat yang memiliki flavor dan mutu yang baik.

Perbandingan antara α -amino nitrogen bebas dengan total nitrogen digunakan untuk menentukan mutu hidrolisat protein yang disebut derajat hidrolisis. Derajat hidrolisis pada produk hidrolisat protein kerang hijau sebesar 0,47. Angka perbandingan yang tinggi menunjukkan mutu hidrolisat protein yang tinggi pula (Yokotsuka 1960). Perbandingan α -amino nitrogen bebas dengan total nitrogen produk hidrolisat sebagai suplemen makanan yang disampaikan oleh *Food Chemical Codex* antara 0,02-0,67 (Lahl dan Braun 1994). Dengan demikian produk ini dapat digunakan sebagai suplemen makanan.

Asam amino yang dihasilkan oleh produk hidrolisat kerang hijau adalah 17 macam asam amino, yaitu asam aspartat, asam glutamat, serin, glisin, histidin, arginin, treonin, alanin, prolin, tirosin, valin, metionin, sistin, isoleusin, leusin, fenilalanin dan lisin. Hidrolisis berjalan sempurna apabila menghasilkan 18-20 macam asam amino (Kirk dan Othmer 1953).

Sebagai bahan pangan, asam amino serin, glisin, alanin, threonin, sistein dan prolin memiliki rasa yang manis. Sedangkan rasa gurih disebabkan oleh asam glutamat (West dan Todd 1964). Hidrolisat protein kerang hijau dapat digunakan sebagai penyedap karena mengandung asam glutamat yang tinggi, yaitu 5,546%. Selain itu,

produk hidrolisat dapat disertakan sebagai menu para penderita gangguan pencernaan dengan memanfaatkan asam amino esensial yang terdapat di dalamnya.

SIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah bahwa kerang hijau dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pembuatan protein hidrolisat. Pada hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa kerang hijau memiliki kandungan protein yang cukup tinggi, yaitu 7,97% (bb). Kondisi optimum untuk menghidrolisis kerang hijau menjadi produk hidrolisat protein adalah menggunakan enzim papain 5% (w/v), waktu hidrolisis 24 jam dan pH 6.

Hasil analisis produk hidrolisat protein diperoleh kadar air 84,44% (bb), kadar abu 7,83% (bk), kadar protein 75,51% (bk) dan kadar lemak 16,33% (bk). Kandungan α -amino nitrogen bebas produk hidrolisat protein sebesar 0,88 g/100 g. Produk hidrolisat protein ini memiliki perbandingan α -amino nitrogen bebas dan nitrogen total sebesar 0,47. Kandungan asam amino dari produk hidrolisat ini terdiri dari 17 macam asam amino.

SARAN

Disarankan untuk penelitian lebih lanjut dengan menggunakan enzim jenis protease yang lain, seperti kolagenase. Hasil dari produk hidrolisat protein kerang hijau ini berbentuk cair, maka perlu diukur viskositasnya serta pembuatan produk hidrolisat protein dengan menggunakan metode pengeringan yang lebih baik dan murah.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. 1995. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist*. Arlington Virginia USA: Published by the Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- [EDC] Enzyme Development Corporation. 1999. *Meat Tenderizing A Brief Discussion*. New York: Enzyme Development Corporation.
- Gesualdo AML, Li-Chan ECY. 1999. Functional properties of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science* 64 (6):1000-1004.
- Hidayat T. 2005. Pembuatan hidrolisat protein dari ikan selar kuning (*Caranx leptolepis*) dengan menggunakan enzim papain [skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.
- Ikeda M, Yaowalux R, Kenji H, Kazufumi O, Orawan K, Yukinori N. 2005. Effect of shrimp head protein hydrolysates on the myofibrils during dehydration. *Fisheries Science* 71:220-228
- Kirk RE, Othmer DF. 1953. *Encyclopedia of Chemical Technology*. Volume 11. New York: The Interscience Publ. Inc..
- [LPTP] Lembaga Penelitian Teknologi Perikanan. 1974. *Metode dan Prosedur Pemeriksaan Mikrobiologis dan Kimiawi Hasil Perikanan*. Jakarta: Departemen Pertanian, Direktorat Jenderal Perikanan, LPTP.
- Lahl WJ, Braun SD. 1994. Enzymatics production of protein hydrolysis for food use. Di Dalam: *Food Industry X*. Chicago: Institute of Food Technologists USA.
- Lehninger AL. 1993. *Dasar Biokimia I*. Maggy Thenawidjaja, penerjemah. Jakarta: Penerbit Erlangga. Terjemahan dari: *Principles of Biochemistry*.
- Nur MA, Adijuwana H. 1989. *Teknik Pemisahan dalam Analisis Biologi*. Bogor: PAU Ilmu Hayat, Institut Pertanian Bogor.
- Nurhayati T. 2007. Karakteristik hidrolisat protein ikan selar (*Caranx leptolepis*) yang diproses secara enzimatis. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 10(1):23-34.
- Pigot GM, Tucker BW. 1990. Utility fish flesh effectively while maintaining nutritional qualities. *Seafood Effects of Technology on Nutrition*. New York: Marcel Decker, Inc.
- Porsepwandi W. 1998. Pengaruh pH larutan perendam terhadap penurunan kandungan Hg dan kerang hijau (*Mytilus viridis*) [skripsi]. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB.
- Sathivel S, Bechtel PJ, Babbit J, Smiley S, Crapo C, Reppond KD, Prinyawiwatkul W. 2003. Biochemical and functional properties of herring (*Clupea harengus*) by product hydrolysates. *Journal of Food Science* 68(7):2196-2200.
- Steel RGD, Torrie JH. 1991. *Prinsip dan Prosedur: Statistik suatu pendekatan biometrik*. Bambang Sumantri, penerjemah. Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama. Terjemahan dari: *Principles and Procedur of Statistic*.
- West ES, Todd WC. 1964. *Text Book of Biochemistry*. New York: The Mac Millan, Co.
- Winarno FG. 1997. *Kimia Pangan dan Gizi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Yokotsuka T. 1960. Aroma and flavor Japanese soy sauce. Di dalam: *Advance in Food Research*. Mark EM, Chichester CO, Stewart GF, editor. Volume IV. New York: Academic Press.