

**KARAKTERISTIK NANO DISPERSI HIDROLISAT PROTEIN  
IKAN GABUS (*Channa striata*) YANG DIPRODUKSI  
MELALUI METODE ENZIMATIK**

**Disusun dan diajukan oleh :**

**HARIYATI**

**G032172003**



**PROGRAM PASCASARJANA**

**UNIVERSITAS HASANUDDIN**

**MAKASSAR**

**2021**

**KARAKTERISTIK NANO DISPERSI HIDROLISAT PROTEIN IKAN  
GABUS (*Channa striata*) YANG DIPRODUKSI MELALUI METODE  
ENZIMATIK**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

**Program Studi  
Ilmu dan Teknologi Pangan**

Disusun dan Diajukan Oleh

**HARIYATI**

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR**

**2021**

## LEMBAR PENGESAHAN TESIS

"Karakteristik Nano Dispersi Hidrolisat Protein Ikan Gabus (*Channa Striata*) Yang Diproduksi Melalui Metode Enzimatik"

Disusun dan diajukan oleh

**HARIYATI**  
**G032172003**

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka penyelesaian studi Program Magister Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin  
Pada tanggal Februari 2021

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,



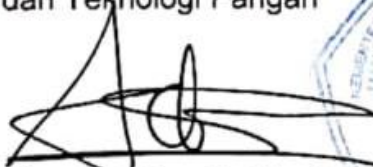
Prof. Dr. Ir. Meta Mahendradatta  
NIP. 19660917 199112 2001



Dr. Ir. Jumriah Langkong, MS  
NIP. 19571215 198703 2 001

Ketua Program Studi,  
Ilmu dan Teknologi Pangan

Dekan Fakultas Pertanian  
Universitas Hasanuddin,



Dr. Adiansyah Syarifuddin, S.TP. M.Si  
NIP. 19770527 200312 1 001



Prof. Dr. Sc. Agr. Ir. Baharuddin  
NIP. 19601224 198601 1 001

## PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Hariyati  
Nomor Mahasiswa : G032172003  
Program Studi : Ilmu dan Teknologi Pangan  
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulis saya berjudul :

“Karakteristik Nano Dispersi Hidrolisat Protein Ikan Gabus (*Channa Striata*) Yang Diproduksi Melalui Metode Enzimatik”

Adalah karya tulis saya sendiri dan bukan merupakan pengambil alihan tulisan orang lain, bahwa tesis yang saya tulis benar merupakan hasil karya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan seagai atau keseluruhan Tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 19 Februari 2021

Yang menyatakan



Hariyati

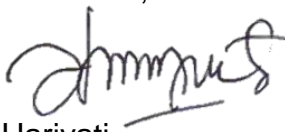
## PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim, Alhamdulillah Robbil 'Alamin segala puji dan syukur yang mendalam dan tiada henti penulis kepada Allah SWT dengan segala rahmat dan hidayahNya telah memberikan kekuatan, rezeki, kesehatan dan keteguhan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis ini. Tesis ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar magister pada Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Program Pascasarjana, Universitas Hasanuddin Makassar.

Penulis menghaturkan terima kasih banyak sebesar-besarnya kepada **Prof. Dr. Ir. Meta Mahendradatta** dan **Dr. Ir. Jumriah Langkong, MS** selaku pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, kritikan, saran dan motivasi kepada penulis dalam penyusunan skripsi. Terima kasih kepada **Prof. Dr. Ir. Amran Laga, MS, Andi Dirpan, STP., M.Si., PhD** dan **Prof. Dr. Ir. Abu Bakar Tawali** selaku dosen penguji yang memberikan saran dan membagi ilmunya terkait penelitian yang telah dilakukan.

Penulis menyadari bahwa tidak ada manusia yang sempurna, sama halnya dengan tesis ini masih memiliki banyak kekurangan dan jauh dari kesempurnaan. Semoga tugas akhir ini dapat memberikan manfaat bagi para pembaca, khususnya penulis, aamiin.

Makassar, 19 Februari 2021

  
Hariyati

## ABSTRAK

HARIYATI. Karakteristik Nano Dispersi Hidrolisat Protein Ikan Gabus (*Channa striata*) yang Diproduksi Melalui Metode Enzimatik.

Hidrolisat protein ikan merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein menjadi peptida dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh asam, basa, enzim, atau fermentasi. Hidrolisat protein dalam penelitian ini dijadikan sebagai produk tambahan bahan pangan yang dihidrolisis menggunakan enzim proteolitik dari enzim papain dan enzim bromelin. Penggunaan bahan baku dari ikan gabus dalam penelitian ini diharapkan menjadi nilai tambah fungsional. Tujuan penelitian ini untuk melihat pengaruh penambahan enzim papain dan enzim bromelin terhadap lama hidrolisis protein ikan gabus, mengetahui perlakuan terbaik berdasarkan kadar protein tertinggi dalam pembuatan hidrolisat protein ikan gabus, dan mengetahui profil nano dispersi hidrolisat protein ikan gabus yang diproduksi melalui metode enzimatik. Adapun tahapan penelitian yang dilakukan yaitu dengan mempersiapkan daging ikan gabus yang akan digunakan sebagai substrat, kemudian dilakukan pembuatan hidrolisat protein ikan gabus. Dan tahap terakhir yaitu pembuatan dispersi ikan gabus. Penelitian ini disusun berdasarkan penelitian deskriptif. Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental secara kualitatif untuk melihat perbedaan setiap hasil pengujian. Perlakuan terbaik dari penelitian ini yaitu C1T2 dengan enzim bromelin 50 Unit/gram substrat dengan lama waktu hidrolisis 3 jam. Dari hasil parameter diperoleh kadar protein 88,05%, derajat hidrolisis 36,98%, total rendemen 2,47%, viskositas 5199 cPs, total padatan terlarut 28°Brix, redispersibilitas dan rasio pemisahan fase pada hari ke-1, ke-3, ke-5 tidak terjadi perubahan fisik, dan karakterisasi melalui XRD diperoleh puncak tertinggi pada sudut  $2\theta = 19,3^\circ$  dengan estimasi ukuran partikel sebesar 13,65 nm.

**Kata kunci: Ikan Gabus; Hidrolisat; Enzimatik.**

## ABSTRACT

HARIYATI. Characteristics of Snakehead Fish (*Channa striata*) Protein Hydrolyzate Nano Dispersion By Enzymatic Methods.

Protein hydrolysate is a product resulting from the breakdown of protein into peptides and amino acids through the process of hydrolysis by acids, bases, enzymes, or fermentation. Protein hydrolysate in this study was used as a food additive, which was hydrolyzed using proteolytic enzymes from papain and bromelain enzymes. The use of raw materials from snakehead fish in this study was expected to provide a functional added value. The purposes of this study were to determine the effect of the addition of papain and bromelain enzymes on the duration of snakehead fish protein hydrolysis, to determine the best treatment based on the highest protein content in the manufacture of snakehead fish protein hydrolysate, and to identify the nano profile of snakehead fish protein hydrolysate dispersion produced by enzymatic method. The stages of this research consisted of preparing snakehead fish meat to be used as a substrate, and the preparation of the snakehead fish protein hydrolysate, and dispersion. This research is structured based on descriptive research. This study used a qualitative experimental design to discover the differences in each experimental treatment. The results of this study indicated that the best treatment was hydrolysis with bromelain enzyme at concentration of 50 unit/gram of substrate for 3 hours. At this condition, the suspension obtained has the following characteristics: 88.05% protein content, 36.98% degree of hydrolysis, 2.47% total yield, 5199 cPs viscosity, and 28°Brix of total dissolved solids. In addition, it was found that the hydrolysate has good re-dispersibility and there was no change in phase separation ratio on the 1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, and 5<sup>th</sup> day. Characterization through XRD showed the highest peak at the angle  $2\theta = 19.3^\circ$  with an estimated particle size of 13.65 nm.

Key words: Snakehead Fish; Hydrolyzate; Enzymatic.

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN TESIS .....	ii
LEMBAR PENGESAHAN TESIS .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS .....	iv
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT .....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiii
I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Rumusan Masalah .....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Kegunaan Penelitian .....	5
II. TINJAUAN PUSTAKA .....	6
A. Ikan Gabus ( <i>Channa striata</i> ) .....	6
B. Hidrolisat.....	8
C. Enzim.....	9
D. Stabilitas Enzim .....	11



E. Enzim Protease.....	12
F. Enzim Papain.....	13
G. Enzim Bromelin.....	16
H. Protein.....	19
I. Derajat Hidrolisis.....	20
III. METODOLOGI PENELITIAN.....	22
A. Waktu dan Tempat.....	22
B. Bahan dan Alat.....	22
C. Prosedur Penelitian.....	23
D. Desain Penelitian.....	26
E. Rancangan Penelitian.....	27
F. Parameter Pengamatan.....	27
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
Tahap 1. Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Gabus.....	32
A. Kadar Protein.....	32
B. Total Rendemen.....	37
C. XRD ( <i>X-Ray Diffraction</i> ).....	40
Tahap 2. Pembuatan Nano Dispersi Hidrolisat Ikan Gabus.....	44
A. Viskositas.....	44
B. Redispersibilitas.....	46
C. Rasio Pemisahan Fase.....	49
D. Total Padatan Terlarut.....	51
E. Derajat Hidrolisis.....	53

V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	57
A. Kesimpulan .....	57
B. Saran .....	57
DAFTAR PUSTAKA.....	58
LAMPIRAN-LAMPIRAN .....	68

## DAFTAR TABEL

Tabel1.	Kandungan Gizi Ikan Gabus dalam 100 gram	8
Tabel 2.	Kandungan Asam Amino Ikan Gabus dalam 100 gram	8

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.	Ikan Gabus ( <i>Channa striata</i> )	7
Gambar 2.	Preparasi Substrat Ikan Gabus	23
Gambar 3.	Pembuatan Hidrolisat Ikan Gabus	25
Gambar 4.	Pembuatan Nano Dispersi Ikan Gabus	25
Gambar 5.	Hubungan Antara Perlakuan Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis 1 Jam Terhadap Kadar Protein Hidrolisat Ikan Gabus	33
Gambar 6.	Hubungan Antara Perlakuan Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis 3 Jam Terhadap Kadar Protein Hidrolisat Ikan Gabus	35
Gambar 7.	Hubungan Antara Perlakuan Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis 1 Jam Terhadap Total Rendemen Hidrolisat Ikan Gabus	38
Gambar 8.	Hubungan Antara Perlakuan Konsentrasi Enzim dan Waktu Hidrolisis 3 Jam Terhadap Total Rendemen Hidrolisat Ikan Gabus	39
Gambar 9.	Difaktogram XRD Hidrolisat Ikan Gabus	41
Gambar 10.	Perbandingan Ukuran Partikel Konsentrat Ikan Gabus	42
Gambar 11.	Perbandingan Nilai Derajat Hidrolisis HPI	54

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Perhitungan Hasil Total Protein	68
Lampiran 2.	Perhitungan Hasil Total Rendemen	69
Lampiran 3.	Perhitungan Hasil Ukuran Partikel Metode XRD	70
Lampiran 4.	Perhitungan Viskositas	72
Lampiran 5.	Pengamatan Redispersibilitas	72
Lampiran 6.	Pengamatan Rasio Pemisahan Fase	72
Lampiran 7.	Perhitungan Hasil Total Padatan terlarut	73
Lampiran 8.	Perhitungan Hasil Derajat Hidrolisis	73
Lampiran 9.	Perhitungan Konsentrasi Enzim	74
Lampiran 10.	Kegiatan Penelitian	75
Lampiran 11.	Pengamatan Redispersibilitas dan Rasio Pemisahan Fase	79
Lampiran 12.	Hasil Pengujian Laboratorium	80

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang Masalah

Sumber daya perikanan sebagai salah satu potensi hasil laut di Indonesia yang sejak dahulu telah dimanfaatkan oleh masyarakat. Kebutuhan masyarakat akan hasil perikanan terus meningkat setiap tahunnya. Tercatat dalam data produksi hasil perikanan tangkap daerah Sulawesi Selatan mencapai 29.268.360 kg pada tahun 2017 (Sidatik, 2017). Hasil produksi perikanan yang melimpah menjadi peluang untuk dimanfaatkan menjadi produk olahan dalam memenuhi kebutuhan masyarakat.

Salah satu jenis hasil perikanan di Sulawesi Selatan yang digemari oleh masyarakat adalah ikan gabus. Ikan gabus (*Channa striata*) adalah jenis ikan air tawar yang hidup liar di sungai dan danau. Kandungan gizi dan khasiat untuk kesehatan telah dikenal secara luas. Diketahui ikan gabus memiliki kandungan protein tinggi khususnya albumin. Jumlah protein albumin ikan gabus mencapai 25.2 g protein dan albumin 6,224 g/100 g daging (Suprayitno, 2013). Dan khasiat untuk kesehatan dari ikan gabus di antaranya mempercepat penyembuhan luka (Baie dan Sheikh, 2000), memiliki aktivitas antinociceptive (Zakaria *et al.*, 2007), anti inflammasi (Abedi *et al.*, 2012), dan hidrolisat protein myofibril ikan gabus (*Channa striata*) diketahui memiliki kemampuan anti hipertensi (Ghassem, 2011).

Sejalan dengan perkembangan teknologi dan tingginya permintaan masyarakat akan nutrisi serta manfaat dari ikan gabus ini, telah dilakukan beberapa penelitian sebelumnya di antaranya yaitu dispersi KPIG (Arifin, 2014). Selanjutnya pada tahun 2018 dikembangkan KPIG dalam bentuk nano (Asfar, 2018) dan kemudian diaplikasikan pada inovasi produk koloid ikan gabus (Rahmayanti, 2018). Kemudian penelitian tentang hidrolisat protein dengan metode enzimatik sudah dilakukan diantaranya yaitu Salamah *et al.* (2012), Annisa *et al.* (2017), dan Haslaniza *et al.* (2010).

Pada pengaplikasian inovasi produk koloid ikan gabus yang dilakukan oleh Rahmayanti (2018), ditemukan kekurangan dalam produk tersebut. Pada produk yang telah diproduksi ditemukan sedimen sebanyak 7 cm dengan jumlah endapan sebanyak 25 ml dalam 100 ml. Produk ini telah melewati masa simpan sekitar 90 hari. Pada produk koloid yang baru diproduksi, penyimpanan 1 jam telah terlihat adanya endapan. Endapan ini merupakan hasil dari gumpalan dari partikel-partikel koloid. Dan gumpalan yang terbentuk disebut dengan flok (*floculant*).

Inovasi produk koloid berbasis ikan gabus perlu dilakukan penyempurnaan dan dikembangkan lebih lanjut. Ikan gabus yang memiliki kandungan protein tinggi berpeluang untuk dijadikan hidrolisat protein ikan dan dapat dijadikan sebagai bahan tambahan pada produk dispersi. Hidrolisat protein ikan merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein menjadi peptida dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh asam, basa, enzim, atau fermentasi (Pasupuleti dan Demain, 2010).

Produk hidrolisat mempunyai kelarutan pada air yang tinggi, kapasitas emulsinya baik, kemampuan mengembang besar serta mudah diserap tubuh (Fox *et al.*, 1991).

Penggunaan enzim dalam memproduksi hidrolisat protein ikan diharapkan dapat menghasilkan hidrolisat yang berkualitas. Enzim yang digunakan adalah enzim papain dan enzim bromelin. Enzim papain merupakan salah satu enzim proteolitik pada pepaya yang harganya relatif murah. Enzim papain telah tersedia secara komersial yang dapat diisolasi dari getah tanaman pepaya (*Carica papaya*). Begitu pula dengan enzim bromelin yang berasal dari nanas serta mudah diperoleh. Kedua enzim ini berpotensi digunakan pada proses pengolahan hidrolisat protein ikan gabus.

Hidrolisat protein ikan gabus dapat dijadikan sebagai bahan tambahan pangan pada pembuatan nano dispersi. Penerapan teknologi nano dalam penelitian ini diharapkan dapat mempermudah penyerapan protein yang akan dimetabolisme dalam tubuh. Dan produk hidrolisat protein ikan gabus diharapkan dapat mengurangi pembentukan flok koagulan. Oleh karena itu diharapkan dari penelitian ini dapat memberikan penjelasan ilmiah terkait karakterisasi hidrolisat protein ikan gabus yang diproduksi melalui metode enzimatik.



## **B. Rumusan Masalah**

Dari uraian masalah diatas dapat diidentifikasi permasalahan yang dipecahkan melalui penelitian ini yaitu :

1. Bagaimana pengaruh penambahan enzim papain dan enzim bromelin terhadap lama hidrolisis protein ikan gabus?
2. Perlakuan manakah yang terbaik dalam menghasilkan kadar protein tertinggi pada pembuatan hidrolisat ikan gabus dengan metode enzimatik?
3. Bagaimana profil nano dispersi hidrolisat protein ikan gabus yang diproduksi melalui metode enzimatik?

## **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan yang ingin dicapai dari penelitian ini yaitu:

1. Untuk melihat pengaruh penambahan enzim papain dan enzim bromelin terhadap lama hidrolisis protein ikan gabus.
2. Untuk mengetahui perlakuan terbaik berdasarkan kadar protein tertinggi dalam pembuatan hidrolisat protein ikan gabus dengan metode enzimatik.
3. Untuk mengetahui profil nano dispersi hidrolisat protein ikan gabus yang diproduksi melalui metode enzimatik.

#### **D. Kegunaan Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah secara efektif dan efisien terhadap pembuatan nano dispersi hidrolisat protein ikan gabus yang diproduksi melalui metode enzimatik.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Ikan Gabus (*Channa striata*)

Ikan gabus merupakan salah satu jenis ikan yang hidup di air tawar maupun air payau. Ikan gabus diketahui memiliki manfaat yang dapat meningkatkan kandungan albumin dan daya tahan tubuh. Ikan gabus memiliki kandungan gizi yang baik bagi kesehatan. Salah satu zat gizi terpenting dalam ikan gabus adalah protein. Protein pada ikan gabus adalah 25,2%. Protein merupakan kumpulan asam-asam amino yang tersusun dengan ikatan peptida.



Gambar 1. Ikan Gabus (*Channa striata*) (Sumber: id.wikipedia.org)

Menurut Mustafa *et al.* (2012) asam amino penyusun protein ikan gabus adalah arginin, fenil alanin, histidin, iso leusin, leusin, lisin, metionin, sistein, treonin, tirosin, triptophan, dan valin. Kandungan ikan gabus (*Channa striata*) secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan Gizi Ikan Gabus dalam 100 gram

<b>Unsur Gizi</b>	<b>Jumlah</b>
Energi	116Kal
Air	69,6 g
Protein	25,2 g
Lemak	1,7 g
Karbohidrat	0 g
Kalsium	62 mg
Fosfor	176 mg
Besi	0,9 mg
Vitamin A	45 mcg
Vitamin B	0,04 mg
Vitamin C	0 mg

Sumber: Suprapti, 2008.

Asam amino banyak terkandung dalam albumin ikan gabus. Asam amino dalam albumin yang paling tinggi komposisinya adalah asam glutamat yang kedua adalah lisin dan asam aspartat sedangkan asam amino yang terendah adalah sistein (Guyton, 2008). Komposisi asam amino pada ikan gabus secara lengkap dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kandungan Asam Amino Ikan Gabus dalam 100 gram

<b>Jenis Asam Amino</b>	<b>Jumlah (%)</b>
Fenialanin	7,5
Isoleusin	8,34
Leusin	14,98
Metionin	0,81
Valin	8,66
Treonin	8,34
Lisin	17,02
Histidin	4,16
Asam Aspartat	17,02
Asam Glutamat	30,93
Alanin	10,07
Prolin	5,19
Serin	11,02
Glisin	6,99
Sistein	0,16
Tirosin	7,49

Sumber : Suprayitno, 2003.

Perkembangan ilmu pengetahuan dan penelitian telah mengungkap fakta bahwa ikan gabus memiliki kandungan nutrisi yang sangat baik untuk kesehatan. Kandungan tersebut terdiri dari kandungan protein yang tinggi terutama albumin dan asam amino esensial, lemak khususnya asam lemak esensial, mineral khususnya zink/seng (Zn) (Mustafa, 2012).

### **B. Hidrolisat**

Hidrolisat protein merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein menjadi peptida dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh asam, basa, enzim, atau fermentasi (Pasupuleti dan Demain, 2010). Hidrolisat protein umumnya digunakan sebagai bahan tambahan pangan karena mengandung asam amino, dapat meningkatkan flavor, sebagai bahan pengemulsi, serta peptida dengan bobot molekul rendahnya dapat menghindari reaksi alergi protein (Ovissipour *et al.*, 2011; Pasupuleti dan Demain, 2010; Wijayanti *et al.*, 2016).

Proses hidrolisis oleh asam, basa dan enzim umumnya menggunakan bahan dan pelarut kimia (Kalambura *et al.*, 2016; Wisuthiphaet dan Kongruang, 2015; Nalinanon *et al.*, 2011). Proses hidrolisis menggunakan bahan atau pelarut kimia kuat umumnya menghasilkan produk dengan kualitas gizi rendah, sifat fungsional lebih rendah, dan terbatas sebagai flavor (Kristinsson dan Rasco, 2000).

### C. Enzim

Enzim adalah protein yang berfungsi sebagai katalisator untuk reaksi-reaksi kimia di dalam sistem biologi. Katalisator mempercepat reaksi kimia. Walaupun katalisator ikut serta dalam reaksi, protein kembali ke keadaan semula bila reaksi telah selesai.. Molekul awal yang disebut substrat akan dipercepat perubahannya menjadi molekul lain yang disebut produk. Semua proses biologis sel memerlukan enzim agar dapat berlangsung dengan cukup cepat dalam suatu arah lintasan metabolisme.

Faktor-faktor utama yang mempengaruhi aktivitas enzim adalah konsentrasi enzim, substrat, senyawa inhibitor dan aktivator, pH serta temperatur lingkungan (Muchtadi dkk.,1992). Pada temperatur rendah, reaksi enzimatik berlangsung lambat, kenaikan temperatur akan mempercepat reaksi, hingga suhu optimum tercapai dan reaksi enzimatik mencapai maksimum. Kenaikan temperatur melewati temperatur optimum akan menyebabkan enzim terdenaturasi dan menurunkan kecepatan reaksi enzimatik (Wuryanti, 2004). Proses katalisasi suatu substrat oleh enzim dipengaruhi oleh konsentrasi enzim, suhu, pH dan konsentrasi substrat (Purich, 2010).

Kecepatan reaksi katalisasi pada suatu konsentrasi substrat tertentu akan meningkat seiring bertambahnya konsentrasi enzim. Semakin tinggi suhu maka semakin cepat laju reaksi kimia, namun semakin tinggi suhu juga meningkatkan inaktivasi enzim yang bekerja

karena enzim merupakan protein yang mudah terdenaturasi oleh suhu tinggi (Purich, 2010).

Konsentrasi substrat berpengaruh terhadap kecepatan reaksi kimia enzim (Kharatmol dan Pandit, 2010). Kecepatan reaksi akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi substrat. Pada konsentrasi substrat yang rendah kecepatan reaksi juga akan rendah, namun akan bertambah seiring dengan penambahan konsentrasi substrat. Kecepatan reaksi awal akan meningkat dengan nilai yang semakin kecil seiring dengan penambahan konsentrasi substrat. Pada akhirnya kecepatan reaksi akan meningkat dengan sedemikian kecil hingga mendekati garis maksimum ( $V_{max}$ ) seiring dengan penambahan konsentrasi (Purich, 2010).

Pada batas ini enzim menjadi jenuh oleh substratnya dan tidak dapat berfungsi dengan cepat. Peneliti Michaelis dan Menten menentukan suatu tetapan yang disebut  $K_m$  yang menyatakan hubungan yang tepat di antara konsentrasi substrat dan kecepatan reaksi enzimatik. Secara sederhana, nilai  $K_m$  atau tetapan Michaelis-Menten adalah konsentrasi substrat tertentu pada saat enzim mencapai setengah kecepatan maksimumnya (Purich, 2010). Persamaan Michaelis-Menten merupakan dasar bagi aspek kinetika enzim, jika nilai  $K_m$  dan  $V_{max}$  dapat diketahui, kecepatan reaksi suatu enzim pada setiap konsentrasi dapat dihitung.

## D. Stabilitas Enzim

Stabilitas enzim dapat diartikan sebagai kestabilan aktivitas enzim selama penyimpanan dan penggunaan enzim tersebut, serta kestabilan terhadap senyawa yang bersifat merusak seperti pelarut tertentu (asam atau basa), oleh pengaruh suhu dan kondisi-kondisi non fisiologis lainnya. Ada beberapa cara yang digunakan untuk memperoleh stabilitas enzim yang tinggi, yaitu menggunakan enzim yang memiliki stabilitas enzim alami dan mengusahakan peningkatan stabilitas enzim yang secara alami tidak atau kurang stabil (Kazan *et al.*, 1996).

### 1. Stabilitas Termal Enzim

Suhu yang tinggi akan menyebabkan laju reaksi meningkat. Demikian halnya dengan reaksi enzimatik, kenaikan suhu akan mempercepat laju reaksi, namun hanya batas tertentu. Suhu yang terlalu tinggi menyebabkan enzim terdenaturasi. Hal ini menyebabkan laju enzimatik menurun.

Proses inaktivasi enzim pada suhu tinggi dapat berlangsung melalui dua tahap, yaitu adanya pembukaan parsial struktur sekunder, tersier dan kuaterner molekul enzim, perubahan struktur primer enzim karena adanya kerusakan asam-amino tertentu oleh panas (Ahern dan Klibanov, 1987).

### 2. Stabilitas pH Enzim

Enzim yang aktif pada pH netral menandakan enzim mempunyai konstanta disosiasi pada gugus asam maupun gugus basanya, terutama



pada gugus residu terminal karboksil dan gugus terminal anionnya. Enzim memiliki aktivitas maksimum pada kisaran pH optimum, yaitu antara pH 4,5-8,0. Di sekitar pH optimum, enzim mempunyai stabilitas yang tinggi. Perubahan pH lingkungan dapat mempengaruhi keaktifan enzim akibat terjadinya perubahan ionisasi enzim, substrat, atau kompleks enzim substrat (Winarno, 1986).

Pada reaksi enzimatik, sebagian besar enzim akan kehilangan aktivitas katalitiknya secara cepat dan *irreversible* pada pH yang jauh dari rentang pH optimumnya. Inaktivasi ini terjadi karena *unfolding* molekul protein akibat perubahan kesetimbangan elektrostatis dan ikatan hidrogen (Kazan *et al.*, 1997).

### **E. Enzim Protease**

Protease (enzim proteolitik) merupakan enzim yang mampu menguraikan atau memecah molekul protein. Enzim ini banyak diaplikasikan dalam industri pangan dan non pangan (Gupta *et al.*, 2002). Sumber enzim protease yang telah diketahui berasal dari hewan, mikroba, dan tanaman. Tanaman merupakan sumber enzim protease terbesar (43,85%) diikuti oleh bakteri (18,09%), jamur (15,08%), hewan (11,15%), alga (7,42%) dan virus (4,41%) (Mahajan dan Shamkant, 2010).

Enzim protease dari tanaman memiliki spesifisitas substrat yang luas, aktivitas dan stabilitas yang tinggi pada berbagai variasi temperatur, pH, ion logam, inhibitor serta pelarut organik. Hal ini membuat protease

dari tanaman merupakan pilihan yang sangat baik untuk industri makanan, medis, bioteknologi dan farmakologi (Mehnoush *et al.*, 2011).

## F. Enzim Papain

Salah satu jenis tumbuhan yang mengandung enzim protease adalah pepaya (*Carica papaya L.*). Pepaya adalah tumbuhan penghasil enzim papain yang merupakan golongan enzim protease sulfhidril (Dongoran, 2004) dan termasuk golongan tiol protease eukariotik yang mempunyai sisi aktif sistein (Sadikin, 2002). Enzim ini terdiri dari 187 residu asam amino dan memiliki berat molekul 21.000 (Darwis *et al.*, 1990)

Enzim papain adalah enzim protease yang dapat merombak struktur primer protein, yaitu ikatan antara asam amino pada rantai polimer asam amino. Enzim ini tergolong protease sulfhidril dan mengandung unsur yang cukup besar (1,2%). Asam-asam amino penyusun papain adalah lisin, arginin, asam aspartat, asparagin, asam glutamat, glutamin, treonin, serin, prolin, alanin, valin, isoleusin, leusin, tirosin, fenil alanin, triptofan, sistein dan sistin (Wirahadikusumah, 1989).

Enzim papain termasuk ke dalam gugus fungsional protease sulfhidril yang aktivitasnya sangat dipengaruhi oleh adanya satu atau lebih gugus S-H pada sisi aktifnya. Gugus sulfhidril ini berperan dalam reaksi hidrolisis substrat menyangkut pembentukan ikatan kovalen tiol ester antara gugus karboksil dan sulfhidril protein papain. Papain dapat

menghidrolisis amida pada residu asam amino arginin, lisin, glutamin, histidin, glisin dan tirosin (Leung, 1996).

Aktivitas enzim papain ditandai dengan proses pemecahan substrat menjadi produk oleh gugus histidin dan sistein pada sisi aktif enzim. Beveridge (1996) mengatakan bahwa proses katalisis hidrolisis gugus-gugus amida, mula-mula gugus sistein (Cys-25) yang bersifat sangat reaktif berikatan dengan substrat pada sisi aktif papain sehingga dihasilkan ikatan kovalen substrat dengan enzim yang berbentuk tetrahedral. Kemudian gugus histidin (His-159) terprotonasi sehingga berikatan dengan nitrogen yang terdapat di dalam substrat. Akibatnya gugus amin pada substrat terdifusi dan kedudukannya digantikan oleh molekul-molekul air yang pada akhirnya menghidrolisis hasil intermediet sehingga mengembalikan enzim ke dalam bentuk dan fungsinya seperti semula.

Faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim papain yaitu :

1. Konsentrasi enzim

Enzim papain mempunyai kemampuan untuk melunakkan daging dan menghidrolisis ikatan peptida dari protein. Tingginya konsentrasi enzim yang digunakan akan mempengaruhi banyaknya substrat yang dapat ditransformasi. Konsentrasi enzim yang berlebihan akan menyebabkan proses tersebut tidak efisien. Derajat kemurnian enzim papain yang tinggi, mempunyai hubungan linear dengan jumlah enzim dan taraf aktivitasnya (Lehninger, 1993).

## 2. Suhu

Reaksi yang dikatalisis oleh enzim sangat peka terhadap suhu. Enzim sebagai protein akan mengalami denaturasi pada suhu yang tinggi sehingga mengakibatkan daya kerja enzim tersebut menurun (Girinda, 1993). Enzim akan semakin aktif apabila suhu dinaikkan (sampai suhu optimumnya), tetapi bila suhu tersebut terus dinaikkan maka laju kerusakan enzim akan melampaui reaksi katalisis enzim sehingga menyebabkan reaksi tidak efisien. Suhu optimum enzim papain adalah 50-60°C. Papain relatif tahan terhadap suhu, bila dibandingkan dengan enzim proteolitik lainnya seperti bromelin dan fisin (Winarno, 1993).

## 3. pH

Enzim menunjukkan aktivitas maksimum pada suatu kisaran pH yang disebut pH optimum (Winarno, 1993). Setiap enzim memiliki selang pH tertentu untuk dapat melakukan aktivitasnya. Enzim akan mengalami denaturasi dan mengakibatkan kehilangan aktivitasnya apabila enzim bekerja di bawah atau di atas selang pH tersebut. Derajat keasaman sangat berpengaruh terhadap aktivitas enzim, karena sifat ionik gugus karboksil dan gugus amino mudah dipengaruhi oleh pH. pH juga menyebabkan daerah katalitiknya dan konformasi enzim menjadi berubah (Lehniger, 1997). Papain mempunyai pH optimum 7,2 pada substrat BAEE (benzoil arginil etil ester), pH 6,5 pada substrat kasein, pH 7,0 pada albumin dan pH 5,0 pada gelatin (Muchtadi *et al.*, 1992).

#### 4. Pengaruh inhibitor (faktor penghambat)

Inhibitor adalah suatu senyawa atau gugus senyawa yang menghambat aktivitas enzim. Enzim sangat peka terhadap senyawa atau gugus senyawa yang diikatnya. Enzim papain sangat sensitif terhadap logam. Adanya logam akan merusak gugus sulfhidril yang merupakan gugus katalitik enzim papain. Keaktifan enzim papain akan hilang bila direaksikan dengan oksidator (Girinda, 1993).

### **G. Enzim Bromelin**

Enzim bromelin adalah enzim proteolitik yang berasal dari buah nanas. Buah nanas mengandung vitamin (A dan C), kalsium, fosfor, magnesium, besi, natrium, kalium, dekstrosa (gula tebu), dan enzim bromelin. Bromelin berkhasiat anti radang, membantu melunakkan makanan di lambung, menghambat pertumbuhan sel kanker, menghambat agregasi trombosit, dan mempunyai aktivitas fibrinolitik. Enzim bromelin termasuk kelompok enzim protease sulfidril pada lokasi aktifnya. Sebagai enzim proteolitik, bromelin mampu memecah protein menjadi asam-asam amino (Hamidi, 2008). Suhu optimum untuk enzim bromelin adalah 50<sup>0</sup>C, di atas dan di bawah suhu tersebut keaktifan enzim menjadi rendah. Enzim bromelin memiliki berat molekul rata-rata 31.000.

Enzim bromelin dapat diaktifkan oleh sistein dan KCN. Penghambatan oleh HgCl<sub>2</sub> dan diaktifkan kembali dengan penambahan sistein, karena akan kembali menjadi senyawa pereduksi yang memiliki gugus sulfidril pada lokasi aktifnya (Reed, 1986). Hasil penelitian (Hamidi,

2008) menunjukkan bahwa makin matang buah maka enzim bromelin dalam buah tersebut makin kurang aktif.

Bromelin adalah salah satu enzim proteolitik atau protease yaitu enzim yang mengkatalisasi penguraian protein menjadi asam amino dengan membangun blok melalui reaksi hidrolisis. Hidrolisis (hidro = air; lysis = mengendurkan atau gangguan/uraian) adalah penguraian dari molekul besar menjadi unit yang lebih kecil dengan kombinasi air. Dalam pencernaan protein, ikatan peptida terputus dengan penyisipan komponen air, -H dan -OH, pada rantai akhir (William *et al.* 2002).

Enzim bromelin merupakan suatu enzim endopeptidase yang mempunyai gugus sulfhidril (-SH) pada lokasi aktif. Pada dasarnya enzim ini diperoleh dari jaringan-jaringan tanaman nanas (Supartono, 2004). Enzim ini dihambat oleh senyawa oksidator, alkilator dan logam berat. Enzim bromelin banyak digunakan dalam bidang industri pangan maupun nonpangan seperti industri daging kalengan, minuman bir dan lain-lain (Herdyastuti, 2006).

Enzim bromelin dari jaringan-jaringan tanaman nanas memiliki potensi yang sama dengan papain yang ditemukan pada pepaya yang dapat mencerna protein sebesar 1000 kali beratnya. Bromelin dapat diperoleh dari tanaman nanas baik dari tangkai, kulit, daun, buah, maupun batang dalam jumlah yang berbeda. Kandungan enzim lebih banyak di bagian daging buahnya, hal ini ditunjukkan dengan aktivitasnya yang lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas pada bagian

batangnya (Supartono 2004). Sementara menurut Herdiyastuti (2006) kandungan enzim bromelin lebih banyak terdapat pada bagian batang yang selama ini kurang dimanfaatkan.

Distribusi bromelin pada batang nanas tidak merata dan tergantung pada umur tanaman. Kandungan bromelin pada jaringan yang umurnya belum tua terutama yang bergetah, sangat sedikit sekali bahkan kadang-kadang tidak ada sama sekali (Herdyastuti, 2006). Enzim bromelin dapat diisolasi dengan cara memisahkan sel secara sentrifugasi dan selanjutnya pemurnian dilakukan dengan cara pengendapan, gel filtrasi, dan kromatografi penukar ion (Naiola dan Widhyastuti, 2007).

Kemudian Hideko *et al.* (1979) menemukan bahwa bromelin adalah suatu thiol protease yang diisolasi dari nanas dan berisi satu oligosakarida asparagin yang berikatan dengan rantai Oligosakarida. Tiap molekul oligosakarida terdiri dari mannos, fukosa, xylosa, dan N-Acetylglucosamine (Glcnac). Menurut Supartono (2004) enzim protease buah nanas merupakan endopeptidase netral termostabil karena aktivitas maksimal protease dengan stabilitas struktur molekul yang tinggi pada kisaran nilai pH 7,5. Suhu optimum untuk aktivitas proteolitiknya adalah 70°C. Ini berarti pada kenaikan suhu reaksi hingga lebih dari 70°C, stabilitas struktur molekulnya tidak dapat dipertahankan dan pudar sehingga aktivitas proteolitiknya hilang.

## H. Protein

Protein adalah zat yang paling penting dalam setiap organisme dan juga merupakan bagian dari semua sel hidup yang merupakan bagian terbesar tubuh setelah air. Protein di dalam tubuh berfungsi sebagai sumber utama energi selain karbohidrat dan lemak, sebagai zat pembangun, sebagai zat-zat pengatur. Protein mengatur proses-proses metabolisme dalam bentuk enzim dan hormon dan sebagai mekanisme pertahanan tubuh melawan berbagai mikroba dan zat toksik lain yang datang dari luar, serta memelihara sel dan jaringan tubuh. Protein terdiri dari asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Protein dihidrolisis oleh protease dan peptidase untuk menghasilkan asam amino, dipeptida, dan tripeptida dalam saluran pencernaan. Kemudian produk ini dimanfaatkan oleh bakteri di usus kecil atau diserap ke dalam enterosit (Wu, 2016).

Protein adalah zat makanan yang penting bagi tubuh karena mempunyai fungsi sebagai zat pembangun dan zat pengatur tubuh. Protein merupakan sumber asam-asam amino yang mengandung unsur-unsur karbon, hidrogen, oksigen, dan nitrogen. Protein dalam bahan makanan yang dikonsumsi manusia akan diserap oleh usus dalam bentuk asam amino. Selain membuat makanan terasa lebih enak, penggunaan panas pada pengolahan bahan pangan seperti merebus/mengukus dan menggoreng juga dapat mempengaruhi nilai gizi bahan pangan tersebut.



## I. Derajat Hidrolisis

Derajat hidrolisis merupakan persentase (%) gugus amino bebas yang dilepaskan selama proses hidrolisis terhadap total nitrogen yang terdapat dalam substrat. Dari setiap ikatan peptida yang dihidrolisis dari protein akan dilepaskan gugus amino bebas, sehingga pengukuran derajat hidrolisis dengan metode *Trinitrobenzene sulfonic acid* (TNBS) dihitung berdasarkan gugus amino bebas yang terbentuk (Adler-Nissen, 1979).

Derajat hidrolisis (DH) protein sangat ditentukan oleh beberapa faktor diantaranya jenis protease yang digunakan, konsentrasi enzim, temperatur, pH dan waktu hidrolisis (Bjoern dkk., 2000; Haslaniza dkk., 2010). Oleh karena itu, sangat penting untuk mengoptimasi beberapa faktor tersebut sehingga didapatkan DH yang optimal.

Hidrolisis protein secara enzimatik memiliki kelebihan dibandingkan hidrolisis protein dengan asam dan alkali karena produk peptida yang dihasilkan memiliki komposisi dan urutan asam amino yang spesifik sesuai dengan jenis protease yang digunakan. Selain itu, hidrolisis protein secara enzimatik berlangsung pada kondisi yang lebih *mild* (tidak pada kondisi ekstrim) dibandingkan menggunakan asam atau basa sehingga tidak merusak asam amino yang dihasilkan. Hidrolisis menggunakan NaOH cenderung merusak asam amino esensial (triptofan, sistein atau serin) dan mengubah konformasi struktur L-asam amino menjadi D-asam amino, bentuk ini tidak dapat dikonsumsi oleh manusia (Whitaker, 2003; Pardo

dkk.,2000). Konsentrasi enzim sangat menentukan besarnya derajat hidrolisis protein. Faktor ini merupakan salah satu faktor penting yang harus dipertimbangkan dalam menghasilkan hidrolisat protein dengan DH yang tinggi.