

KARAKTERISTIK PENYEDAP RASA DAUN MURBEI DAN KEPALA UDANG DENGAN HIDROLISIS ENZIMATIS MENGGUNAKAN PAPAIN DAN CALOTROPIN

CHARACTERISTICS OF FLAVORING MULBERRY LEAVES AND SHRIMP HEADS WITH ENZYMATIC HYDROLYSIS USING PAPAIN AND CALOTROPIN

Amalia Rosida Fajriyah¹⁾, Sri Winarti¹⁾

¹⁾Fakultas Teknik, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur
e-mail: amaliarosf8@gmail.com

ARTICLE HISTORY : Received [04 April 2022] Revised [26 April 2022] Accepted [15 June 2022]

ABSTRAK

Daun murbei saat ini dimanfaatkan sebatas pakan ulat sutera dan ternak. Ditinjau dari kandungan protein yang tinggi, bisa dimanfaatkan untuk penyedap rasa alami. Dalam pengaplikasiannya daun murbei dikombinasikan dengan kepala udang yang tinggi asam glutamatnya. Proses pembuatan penyedap rasa melalui hidrolisis protein menggunakan enzim papain dan calotropin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh konsentrasi kombinasi enzim papain dan calotropin, serta waktu hidrolisis terhadap karakteristik penyedap rasa. Rancangan penelitian ini dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dua faktor, yaitu konsentrasi kombinasi enzim (1; 2; 3)% dan waktu hidrolisis (1; 2; 3) jam. Dengan perlakuan terbaik ialah penyedap rasa perlakuan konsentrasi enzim 3% dan waktu hidrolisis 1 jam, dengan karakteristik derajat hidrolisis 76,58%, protein terlarut 43,40%, kelarutan air 0,087 gr/ml, daya serap minyak 1,20 ml/gr, kadar air 7,08%, rendemen penyedap rasa 13,70% dan hasil uji organoleptik rasa 3,35 (agak suka), aroma 3,55 (agak suka), warna 3,40 (agak suka), *overall* 3,60 (agak suka), serta kadar asam glutamat 783,07 mg/100g.

Kata kunci: Calotropin; daun murbei; kepala udang; papain; penyedap rasa

ABSTRACT

Mulberry leaves are currently used as food for silkworms and livestock. Judging from the high protein content, it can be used as alternative flavoring. Mulberry leaves are combined with shrimp heads which high glutamic acid. Making flavoring is through a protein hydrolysis process using papain and calotropin enzymes. The purpose to determine the effect of concentration combination of papain and calotropin enzymes, as well as the hydrolysis time on flavoring characteristics. This study used a completely randomized design (CRD) two factors, enzyme combination concentration (1; 2; 3)% and hydrolysis time (1; 2; 3) hours. The best treatment was the flavoring with treatment enzyme combination concentration 3% and hydrolysis time 1 hour, with a characteristic hydrolysis degree 76.58%, dissolved protein 43.40%, water solubility index 0.087 gr/ml, oil absorption 1.20 ml/gr, water content 7.08% and flavoring yield 13.70% and organoleptic test results for taste 3.35 (slightly like), aroma 3.55 (slightly like), color 3.40 (slightly like) and overall 3.60 (somewhat like), and glutamic acid 783.07 mg/100g.

Keywords: Calotropin; flavoring; mulberry leaves; papain; shrimp heads

PENDAHULUAN

Penyedap rasa merupakan bahan tambahan pangan yang digunakan untuk menambah cita rasa pada suatu masakan. Penyedap rasa yang sering digunakan serta banyak beredar di pasaran ialah MSG (Monosodium Glutamat) (Aziem *et al.*, 2018). Menurut Nuryani & Jinap (2010), MSG adalah garam natrium yang berikatan dengan asam glutamat. MSG berbentuk kristal putih yang stabil, tetapi dapat mengalami degradasi oleh oksidator kuat.

Akan tetapi penggunaan MSG memiliki batasan, menurut WHO ialah 3 g/hari (Yonata & Iswara, 2016). Apabila penggunaan MSG melebihi batas tersebut, maka dapat memicu timbulnya masalah kesehatan seperti *Chinese Restaurant Syndrom* dengan gejala kesemutan, pusing, sesak dada bagian bawah (Cahyadi, 2009). Selain itu, pada hasil penelitian Bhattacharya *et al.* (2011) yaitu pemberian MSG dosis 2 mg/bb/hr pada mencit selama 75 hari menemukan adanya perubahan histologi pada hepar, meliputi kerusakan inti hepatosit, inflamasi, dan peningkatan diameter hepatosit. Oleh karena itu, saat ini diperlukan alternatif berupa penyedap rasa pengganti MSG yang berasal dari bahan alami. Salah satu sumber pangan yang berpotensi adalah daun murbei.

Murbei (*Morus alba*) merupakan tanaman yang dikenal kaya akan manfaat, salah satunya daun murbei yang memiliki

manfaat sebagai pakan ulat sutera karena kandungan protein yang mencapai 21,39% (Syahrir *et al.*, 2009), serat kasar 12,5-16,2%, lemak kasar 3,62-4,1%, BETN 43-55% dan abu 10,6-14,8% (Datta, 2002). Daun murbei juga terindikasi mengandung asam askorbat, vitamin B1, pro vitamin D, asam folat dan karotein (Singh & Makkar, 2002). Berdasarkan studi oleh Bambang (2009), komponen protein daun murbei terdiri atas 15 macam asam amino, glutamat memiliki kandungan tertinggi sebesar 0,64% dari daun muda kering dan kandungan tersebut meningkat pada daun murbei tua 0,75%. Melihat potensi tersebut dilakukan pengolahan menjadi hidrolisat protein untuk produk flavor alami. Selain daun murbei, bahan pangan lain yang berpotensi dan selama ini hanya sebagai limbah ialah kepala udang.

Udang *vannamei* merupakan salah satu hasil laut terbesar di Indonesia. Menurut KKP (2021), komoditas ekspor udang tahun 2020 sebesar 239,28 juta kg, nilai ini meningkat 28,96% dari tahun sebelumnya. Sehingga terjadi peningkatan produksi udang, pada tahun 2020 mencapai 911.216 ton, angka ini mengalami pertumbuhan sebesar 8,49% dari tahun sebelumnya, hal ini meningkatkan limbah berupa kepala udang. Berdasarkan hal tersebut, limbah ini dapat berpotensi untuk dikembangkan menjadi flavor karena mengandung air

5,52%, serat kasar 93,48%, abu 27,84%, protein 43,12% (Rathore & Yusufzai, 2018) dan mengandung beberapa jenis asam amino, diantaranya asam amino non esensial presentase tertinggi ialah asam glutamat 0,913% (Suparmi *et al.*, 2020).

Hidrolisat protein merupakan produk yang dihasilkan dari proses penguraian protein menjadi komponen sederhana berupa asam amino yang dapat dilakukan melalui hidrolisis enzimatis, karena metode yang efisien dan dapat meminimalisir terjadi kerusakan asam amino (Kristinsson, 2007). Proses ini dapat dilakukan menggunakan enzim protease, dan berdasarkan letak pemutusan ikatan peptida dibedakan menjadi endopeptidase dan eksopeptidase (Cahyaningati, 2019). Endopeptidase merupakan enzim yang pemutusan ikatan peptida terjadi di dalam rantai protein, sedangkan eksopeptidase terjadi penguraian protein pada ujung rantai. Enzim protease yang termasuk golongan endopeptidase ialah enzim papain, sedangkan eksopeptidase ialah enzim calotropin. Penggunaan kombinasi enzim dalam hidrolisis protein dapat meningkatkan efektifitas proses jika dibandingkan dengan enzim tunggal.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan menghasilkan penyedap rasa karakteristik terbaik berdasarkan sifat organoleptik disamping fisikokimianya dari bahan yang masih memiliki nilai guna

rendah yaitu daun murbei dan kepala udang, melalui proses hidrolisis protein menggunakan enzim papain dan calotropin. Selain itu, diharapkan dapat menjadi alternatif pengganti MSG yang dapat beresiko terhadap masalah kesehatan, serta dapat meningkatkan nilai guna dan ekonomi dari kedua bahan.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan ialah daun murbei yang diperoleh di pekarangan rumah, Kabupaten Jombang dan kepala udang diperoleh dari penjual udang *crispy* di Sentra Kuliner Gunung Anyar, Surabaya. Sedangkan, Pembuatan enzim meliputi getah buah pepaya muda diperoleh di area kampus UPN “Veteran” Jawa Timur, getah tanaman biduri diperoleh di daerah Perumahan Ikip Gunung Anyar, Surabaya.

Alat yang digunakan ialah *Ultra Pressure Liquid Chromatography* (UPLC PDA Waters Acquity H-Class), Spektrofotometri UV-Vis D21, *cabinet dyer*, desikator, sentrifugasi, inkubator, timbangan digital, oven, botol timbang, blender, gelas ukur, gelas beaker, labu erlenmeyer, tabung reaksi, pengaduk, loyang, kompor, panci perebusan, baskom, pisau, neraca analitik.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Analisa Pangan dan Teknologi Pengolahan Pangan Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur selama 3 bulan.

Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 2 faktor ialah konsentrasi enzim dan lama hidrolisis. Faktor konsentrasi enzim terdiri dari 3 taraf yaitu E1 (1%), E2 (2%), E3 (3%), dan faktor lama hidrolisis 3 taraf yaitu W1 (1 jam), W2 (2 jam), W3 (3 jam). Penelitian dilakukan dengan 2 kali ulangan, sehingga dihasilkan 18 unit percobaan.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi Enzim Papain dari Getah Buah Pepaya Muda

Penyadapan getah pepaya dilakukan dengan menoreh kulit buah, getah ditampung dalam wadah berisi larutan N-metabisulfit 0,7%, dengan getah:larutan (1:4) disentrifugasi diperoleh supernatan sebagai ekstrak kasar enzim.

Ekstraksi Enzim Calotropin dari Getah Tanaman Biduri

Penyadapan getah biduri, dilakukan dengan ujung batang dipatahkan, getah ditampung dalam wadah berisi larutan N-metabisulfit 0,7%, dengan getah:larutan (1:4) disentrifugasi diperoleh supernatan sebagai ekstrak kasar enzim.

Pembuatan Produk *Flavoring* dari Hidrolisat Protein Daun Murbei dan Kepala Udang

Bahan dilakukan penimbangan dengan proporsi daun murbei:kepala udang (25g:75g), kepala udang dicuci hingga bersih sedangkan daun murbei dilakukan *blanching* selama 10 menit bertujuan untuk mengurangi rasa pahit pada daun. Kedua bahan dilakukan penghalusan menggunakan blender dengan penambahan air perbandingan (2:1) (v/b). Setelah diperoleh *slurry*, dilakukan proses hidrolisis dengan penambahan enzim papain dan biduri (50%:50%) dengan konsentrasi sesuai perlakuan, pada suhu 55°C selama waktu sesuai perlakuan. Proses dilanjutkan dengan inaktivasi enzim melalui pemanasan suhu 100 °C selama 10 menit, selanjutnya dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan antara filtrat dan endapan, menggunakan kecepatan 3000 rpm selama 20 menit dengan suhu 35°C. Supernatan yang didapatkan merupakan hidrolisat protein yang kemudian dilakukan penambahan maltodekstrin sebagai bahan pengisi sebesar 12,5% (b/v), selanjutnya dilakukan pengeringan menggunakan *cabinet dryer* dengan suhu 55°C dalam waktu 8 jam, kemudian diblender dengan blender kering dan dihasilkan bubuk penyedap rasa.

Pengujian Aktivitas Protease Lowry (Walker, 1994)

Proses pengujian diawali dengan pencampuran 0,01 gram *soluble casein* dengan 3 ml buffer fosfat pH 7, lalu dilakukan pra inkubasi 4 menit suhu 37°C. Menambahkan 0,250 ml filtrat getah, diinkubasi 20 menit suhu 55°C. Pada akhir inkubasi ditambahkan TCA 15% sebanyak 1 ml (untuk kontrol, perlakuan tanpa inkubasi dan hidrolisis, serta penambahan protease setelah penambahan TCA 15%). Disentrifus 1000 rpm, 10 menit. Hasil berupa supernatan diambil 1 ml, ditambah 2,5 ml mix-lowry, dibiarkan 10 menit. Kemudian menambahkan follin 0,250 ml, dibiarkan 30 menit, ditera aquades hingga 5 ml dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 750 nm. Nilai absorbansi diplotkan pada kurva standar tirosin. Aktivitas enzim dihitung dengan rumus:

$$1 \text{ unit aktivitas} = \frac{[C] \times 1000}{t \times 181,19}$$

Keterangan:

[C] (μmol tirosin/ml) = konsentrasi protein terlarut

t (menit) = lama hidrolisis

181,19 = nilai berat molekul tirosin

1 unit = 1 μmol tirosin yang dibebaskan substrat oleh enzim tiap ml per menit dalam kondisi optimum

Derajat Hidrolisis (Silvestre *et al.*, 2013)

Sampel sebanyak 1 ml ditambah dengan TCA 10% sebanyak 1 ml, lalu

inkubasi 30 menit dan dilakukan sentrifugasi kecepatan 3000 rpm, 15 menit. Hasil berupa supernatan dilakukan analisis kadar protein terlarut dengan menggunakan metode Lowry. Presentase derajat hidrolisis (DH) diperoleh melalui perhitungan berikut:

$$\text{DH (\%)} = \frac{\text{Protein terlarut dalam 10\% TCA (mg)}}{\text{Total Protein (mg)}} \times 100\%$$

Keterangan: DH (Derajat Hidrolisis)

Kadar Protein Terlarut Metode Lowry (Sudarmadji, 1997)

Sampel 0,05 gram dilarutkan hingga 50 ml. Kemudian 1 ml sampel diambil dan ditambah aquades hingga 4 ml. Sampel ditambah dengan pereaksi (3) sebanyak 5,5 ml, dicampur merata menggunakan vortex dan dilakukan inkubasi 15 menit. Ditambah pereaksi (4) sebanyak 0,5 ml, dicampur merata menggunakan vortex dan diinkubasi 30 menit. Absorbansi diukur dengan menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 650 nm. Perhitungan kadar protein terlarut dapat dihitung dengan rumus dari kurva standart $y = ax + b$.

Indeks Kelarutan Air (Anderson, 1984)

Sampel sebanyak 1 gram ditambah dengan 10 ml aquades dan dicampur merata dengan menggunakan vortex. Kemudian tabung berisi sampel disentrifus dengan kecepatan 2000 rpm, 15 menit pada kondisi suhu ruang. Hasil berupa supernatan diambil 2 ml sebagai contoh,

dimasukkan dalam botol timbang dengan berat yang telah diketahui. Botol berisi sampel dikeringkan dalam oven suhu 110°C hingga semua air menguap. Botol diletakkan desikator untuk didinginkan, lalu ditimbang untuk mengetahui berat supernatan. Rumus perhitungan indeks kelarutan air sebagai berikut:

$$IKA\left(\frac{\text{gr}}{\text{ml}}\right) = \frac{\text{Berat cawan setelah dioven} - \text{Berat cawan}}{2 \text{ ml}}$$

Keterangan: IKA (Indeks Kelarutan Air)

Daya Serap Minyak (Beuchat,1977)

Sampel sebanyak 1 gram disuspensikan 10 ml minyak nabati, dibiarkan 60 menit, kemudian diaduk selama 5 menit. Dilakukan pemisahan dengan kecepatan 4000 rpm, 20 menit. Hasil pemisahan berupa minyak yang tidak terserap oleh sampel, dan volumenya diukur menggunakan gelas ukur. Dihitung dengan rumus berikut:

$$DSM \text{ (ml/gr)} = \frac{\text{Volume awal} - \text{Volume akhir}}{\text{berat sampel}}$$

Keterangan: DSM (Daya Serap Minyak)

Analisa Kadar Air (AOAC, 2005)

Botol timbang kosong dikeringkan dalam oven 15 menit, lalu didinginkan dalam desikator 15 menit dan ditimbang. Sebanyak 1-2 gram sampel ditimbang. Selanjutnya dikeringkan suhu 100-105 °C selama 5 jam (tutup botol timbang dibuka), didinginkan selama 15 menit kemudian ditimbang. Selanjutnya, dikeringkan kembali suhu 100-105°C selama 30 menit,

didinginkan 15 menit kemudian ditimbang. Perlakuan diulangi hingga berat konstan (selisih < 0,2 mg). Perhitungan kadar air dapat dilakukan dengan rumus berikut:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{A-B}{A-\text{berat cawan}} \times 100\%$$

Keterangan: A (sampel awal + berat cawan); B(sampel akhir + berat cawan)

Kadar Asam Glutamat (SIG Laboratory, 2021)

Sebanyak 0,1 - 0,5 gram sampel ditambah dengan HCl 6 N sebanyak 5 mL, dihomogenkan menggunakan vortex dan ditambah gas nitrogen, dihidrolisis suhu 110°C, 22 jam. Hasil berupa hidrolisat didinginkan suhu kamar, dilakukan penambahan aquabidest hingga tanda batas, dan disaring menggunakan filter 0,45µm. 40 µL AABA ± 460 µl aquabidest ditambahkan dalam filtrat 500 µl. Pipet larutan 10 µl ditambahkan 70 µl AccQ-Fluor Borate, vortex. Ditambahkan 20 µl reagen fluor A, vortex, diamkan 1 menit. Inkubasi selama 10 menit pada suhu 55°C, lalu suntikan pada HPLC. Dengan kondisi kromatografi menggunakan kolom C18, temperatur 370C, fase gerak asetonitril 60%, detektor fluorescence, laju alir 1 ml/menit dan volume penyuntikan 5µl. Konsentrasi asam amino dapat dihitung sebagai berikut:

$$\text{Rasio} = \text{Area Analit} / \text{Area AABA}$$

$$\text{FP} = \text{Volume 1} / \text{Volume Pemipetan}$$

$$\text{C. Injeksi (pmol/}\mu\text{L)} = (\text{Rasio Sampel/Rasio Standar}) \times \text{C. Standar Injeksi}$$

KAA (mg/Kg) = ((Rasio Sampel / Rasio Standar) x (C. Standar Injeksi/1000000000) x BM x FP x Volume Akhir x 1000) / Bobot Sampel (g)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Aktivitas Enzim Protease

Pengujian aktivitas protease bertujuan untuk mengetahui kemampuan enzim dalam meghidrolisis protein menjadi peptida rantai pendek dan asam amino (Witono *et al.*, 2017). Nilai aktivitas enzim protease kasar papain dan calotropin dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Analisa Aktivitas Enzim Protease Kasar Papain dan Calotropin

Enzim	Aktivitas Enzim (Unit/ml)	
	Hasil Pengujian	Literatur
Papain	1,65 ± 0,023	1,045*
Calotropin	1,40 ± 0,070	1,186*

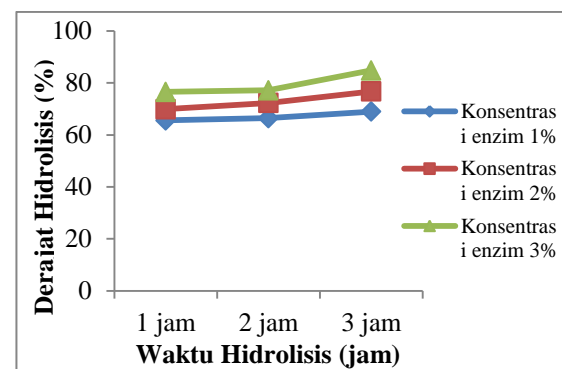
Keterangan: * Putri *et al.* (2020)

Nilai aktivitas spesifik enzim protease papain dan biduri pada penelitian ini lebih besar dibandingkan penelitian Putri *et al.* (2020) enzim papain 1,045 U/ml dan calotropin 1,186 U/ml. Hal ini disebabkan, penelitian Putri *et al.* (2020) ekstrak enzim hasil pemisahan yang digunakan ialah endapan, sedangkan penelitian ini yang digunakan sebagai ekstrak kasar enzim ialah filtrat karena terdiri atas enzim intraseluler, sedangkan endapan berupa residu. Sesuai pernyataan Rahmi *et al.* (2020) sentrifugasi digunakan

untuk memisahkan supernatan berupa enzim intraseluler sebagai ekstrak kasar enzim dengan endapan berupa sisa-sisa sel. Supernatan merupakan rendemen cair enzim protease (Witono, 2014).

Derajat Hidrolisis

Berdasarkan analisa ragam diketahui adanya interaksi yang nyata ($p \leq 0.05$) antara 2 faktor, yaitu konsentrasi enzim dan lama hidrolisis. Grafik hubungan antara 2 faktor konsentrasi enzim dan lama hidrolisis dengan nilai derajat hidrolisis dilihat pada **Gambar 1**.



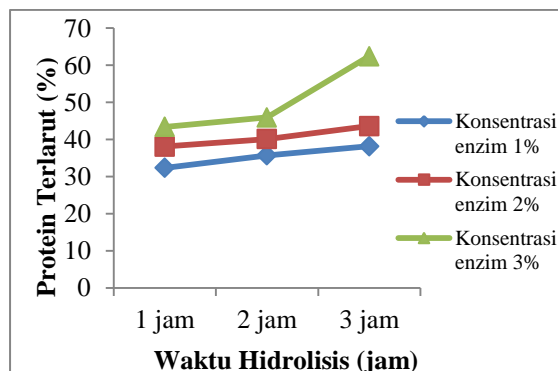
Gambar 1. Grafik nilai derajat hidrolisis

Nilai rata-rata derajat hidrolisis sebesar 65,62%-84,82%. Perlakuan konsentrasi enzim 3% dan lama hidrolisis 3 jam memiliki nilai tertinggi sebesar 84,82%. Semakin tinggi konsentrasi enzim dan semakin lama hidrolisis meningkatkan kecepatan hidrolisis dan memperlama kerja enzim dalam meghidrolisis protein, sehingga peptida rantai pendek meningkat menandakan meningkatnya derajat hidrolisis. Sesuai pernyataan Kurniawan *et al.* (2012) hasil dari pemecahan protein oleh enzim berupa peptida dan asam amino

berpengaruh terhadap nilai derajat hidrolisis, semakin lama inkubasi nilai derajat hidrolisis semakin tinggi, hal ini karena meningkatnya peptida rantai pendek (Wicaksono & Winarti, 2020).

Kadar Protein Terlarut

Berdasarkan analisa ragam diketahui adanya interaksi yang nyata ($p \leq 0.05$) antara 2 faktor, yaitu konsentrasi enzim dan lama hidrolisis. Grafik hubungan antara 2 faktor konsentrasi enzim dan lama hidrolisis dengan kadar protein terlarut tiap perlakuan dilihat pada **Gambar 2**.



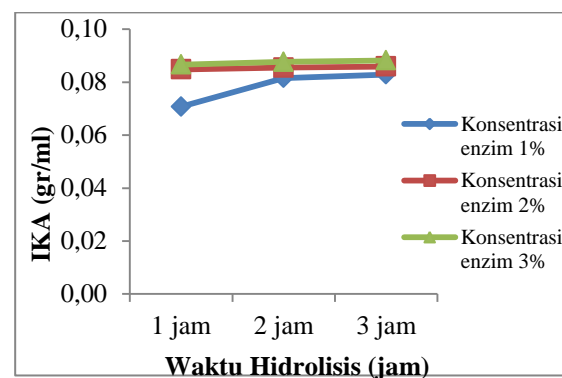
Gambar 2. Grafik kadar protein terlarut

Nilai rerata kadar protein terlarut sebesar 32,36%-62,43%. Perlakuan konsentrasi enzim 3% dan lama hidrolisis 3 jam menghasilkan nilai tertinggi sebesar 62,43%. Konsentrasi enzim dan lama hidrolisis yang semakin tinggi dapat meningkatkan kinerja enzim protease dalam menghidrolisis protein menjadi peptida rantai pendek dan asam amino hidrofilik seperti asam aspartat, asam glutamat, lisin, arginin, histidin, serin, treonin dan tirosin (Haurowitz & Koshland, 2020) yang memiliki berat

molekul kecil dengan kelarutan tinggi, sehingga protein terlarut meningkat. Sesuai pernyataan Nielsen (1997) ikatan peptida yang terputus menjadi peptida rantai pendek semakin banyak, dengan berat molekul kecil dan kelarutan air lebih tinggi, maka kelarutan protein meningkat. Selain itu, menurut Haslaniza *et al.* (2010) semakin lama hidrolisis, aktivitas proteolitik meningkatkan degradasi protein semakin luas dan kadar protein terlarut semakin besar.

Indeks Kelarutan Air

Berdasarkan analisa ragam diketahui adanya interaksi nyata ($p \leq 0.05$) antara 2 faktor, yaitu konsentrasi enzim dan lama hidrolisis. Grafik hubungan antara 2 faktor konsentrasi enzim dan lama hidrolisis dengan indeks kelarutan air tiap perlakuan dapat dilihat pada **Gambar 3**.



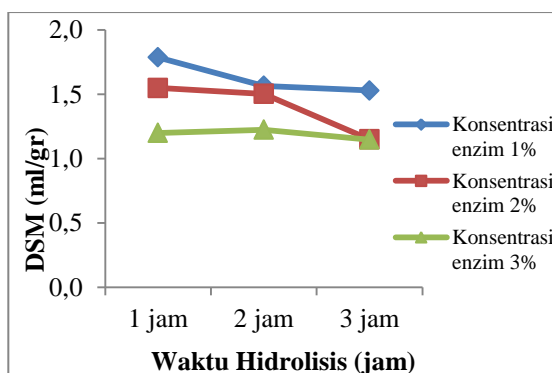
Gambar 3. Grafik indeks kelarutan air

Nilai rata-rata indeks kelarutan air sebesar 0,071-0,088 gr/ml. Perlakuan konsentrasi enzim 3% dan lama hidrolisis 3 jam menghasilkan nilai tertinggi sebesar 0,088 gr/ml. Semakin tinggi konsentrasi enzim dan semakin lama hidrolisis dapat

meningkatkan kecepatan hidrolisis dan memperlama kontak antara enzim dengan substansi, sehingga kelarutan akan meningkat. Hal ini karena meningkatnya jumlah asam-asam amino bebas dan peptida rantai pendek dengan berat molekul kecil. Sesuai pernyataan Hrckova *et al.* (2002) lama inkubasi dapat mempengaruhi peningkatan jumlah asam amino bebas. Serta menurut Witono (2014) yang dapat menyebabkan perubahan pada protein ialah hidrolisis ikatan peptida, yaitu dengan meningkatnya kelarutan protein karena kandungan NH_3^+ dan COO^- yang bertambah serta berat molekul protein atau poli-peptida berkurang.

Daya Serap Minyak

Berdasarkan analisa ragam diketahui adanya interaksi yang nyata ($p \leq 0.05$) antara 2 faktor konsentrasi enzim dan lama hidrolisis. Grafik hubungan konsentrasi enzim dan lama hidrolisis dengan daya serap minyak pada **Gambar 4**.



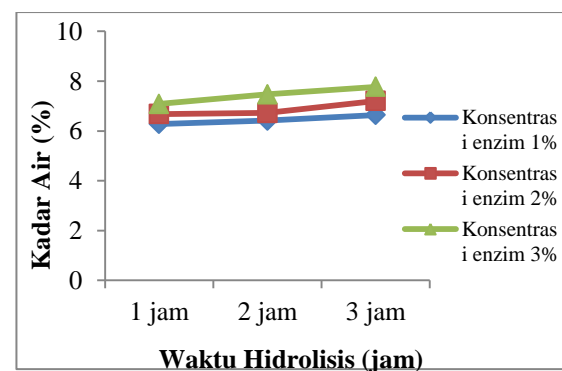
Gambar 4. Grafik nilai daya serap minyak

Nilai rata-rata daya serap minyak sebesar 1,147-1,786ml/gr. Perlakuan konsentrasi enzim 1% dengan lama

hidrolisis 1 jam menghasilkan nilai tertinggi sebesar 1,78ml/gr. Nilai daya serap minyak dipengaruhi oleh kadar protein terlarutnya, hal ini disebabkan konsentrasi enzim dan lama hidrolisis yang semakin tinggi dapat meningkatkan kadar protein terlarut, yang menandakan meningkatnya peptida rantai pendek serta asam amino hidrofilik, sedangkan asam amino gugus hidrofobiknya rendah. Asam amino hidrofobik berhubungan dengan kapasitas penyerapan minyak (Wicaksono & Winarti, 2021), seperti glisin, valin, leusin, isoleusin, metionin, fenilalanin, prolin dan alanin.

Kadar Air

Berdasarkan analisa ragam diketahui adanya interaksi yang nyata ($p \leq 0.05$) antara 2 faktor, yaitu konsentrasi enzim dan lama hidrolisis. Grafik hubungan antara 2 faktor konsentrasi enzim dan lama hidrolisis dengan kadar air tiap perlakuan pada **Gambar 5**.



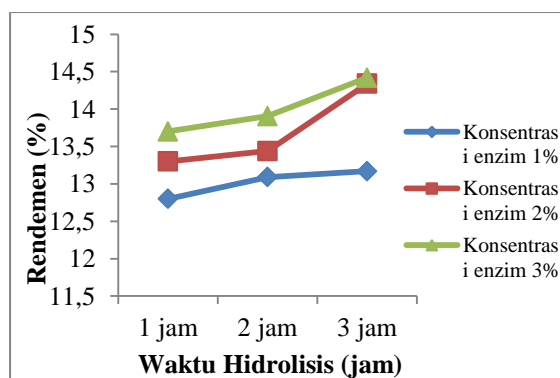
Gambar 5. Grafik nilai kadar air

Rerata nilai kadar air sebesar 6,28%-7,77%. Perlakuan konsentrasi enzim 3% dengan lama hidrolisis 3 jam memiliki

nilai tertinggi 7,77%. Semakin tinggi konsentrasi enzim dan semakin lama hidrolisis meningkatkan peptida rantai pendek bergugus hidrofilik, sehingga kemampuan mengikat air tinggi dan meningkatkan kadar air produk. Sesuai pernyataan Haurowitz & Koshland (2020) hidrasi atau pengikatan air terjadi pada protein dengan gugus hidrofilik terutama gugus bermuatan positif rantai samping lisin dan arginin dan gugus bermuatan negatif gugus asam aspartat dan glutamat. Hidrasi juga terjadi pada gugus hidroksil (—OH) serin dan treonin atau gugus asparagin dan glutamin di amida (—CONH_2).

Rendemen

Berdasarkan analisa ragam diketahui adanya interaksi yang nyata ($p \leq 0.05$) antara 2 faktor konsentrasi enzim dan lama hidrolisis. Grafik hubungan 2 faktor konsentrasi enzim dan lama hidrolisis dengan rendemen pada **Gambar 6**.



Gambar 6. Grafik nilai rendemen

Nilai rata-rata rendemen sebesar 13,8%-14,42%. Perlakuan konsentrasi enzim 3% dan lama hidrolisis 3 jam menghasilkan nilai tertinggi dibandingkan perlakuan lain. Semakin tinggi konsentrasi enzim dan semakin lama hidrolisis dapat meningkatkan kecepatan hidrolisis terhadap substrat dan pemutusan ikatan peptida mengalami peningkatan, sehingga dihasilkan peptida rantai pendek dan asam amino sederhana yang mudah larut semakin tinggi jumlahnya, sehingga dapat meningkatkan nilai rendemen produk. Berdasarkan pernyataan Su *et al.* (2005) aktivitas enzim meningkatkan komponen hasil hidrolisis seperti asam amino dan komponen lain, serta seiring dengan semakin lama hidrolisis protein akan meningkatkan rendemen produk (Mustriani *et al.*, 2016). Nilai rendemen juga dapat dipengaruhi oleh kadar airnya, kadar air yang semakin tinggi dapat meningkatkan rendemen, hal ini dikarenakan semakin tinggi kadar air dapat mengakibatkan massa produk meningkat.

Uji Organoleptik

Uji organoleptik merupakan pengujian produk menggunakan indra perasa manusia dengan parameter rasa, aroma, warna dan *overall*. Hasil uji organoleptik dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Uji Organoleptik

Perlakuan		Skor Rasa	Skor Aroma	Skor Warna	Skor Overall
Konsentrasi Enzim	Lama hidrolisis				
1%	1 jam	2,55 ± 0,686	2,45 ± 0,759	3,20 ± 0,696	2,50 ± 0,761
2%		3,10 ± 0,852	3,35 ± 0,671	3,60 ± 0,995	3,35 ± 0,745
3%		3,35 ± 0,671	3,55 ± 0,826	3,40 ± 0,995	3,60 ± 0,598
1%	2 jam	3,20 ± 0,834	3,15 ± 0,933	3,00 ± 0,858	3,35 ± 0,587
2%		3,30 ± 0,979	3,50 ± 0,688	3,30 ± 0,923	3,45 ± 0,887
3%		2,90 ± 0,912	2,45 ± 0,887	3,40 ± 0,940	2,90 ± 0,852
1%	3 jam	2,85 ± 0,988	3,25 ± 0,967	2,85 ± 0,933	2,95 ± 0,887
2%		3,00 ± 0,973	3,10 ± 0,968	2,55 ± 0,999	2,80 ± 0,894
3%		2,90 ± 0,912	3,55 ± 0,999	2,65 ± 0,933	3,00 ± 0,973

Skor parameter rasa penyedap rasa perlakuan konsentrasi enzim 3% dan lama hidrolisis 1 jam menghasilkan skor tertinggi (3,35) menjadi produk paling disukai. Hal ini karena proses hidrolisis mengakibatkan perubahan flavor yang disebabkan oleh peptida rantai pendek dan asam amino, terutama asam glutamat yang berperan dalam pembentukan rasa gurih. Sesuai pernyataan Temussi (2011) peptida yang mempunyai rasa gurih mengandung asam glutamat dalam sekuennya yaitu H-Lys-Gly-Asp-Glu-Glu-Ser-Leu-Ala-OH.

Skor parameter aroma penyedap rasa perlakuan konsentrasi enzim 3% dan lama hidrolisis 1 jam dan perlakuan konsentrasi enzim 3% dan lama hidrolisis 3 jam menghasilkan skor tertinggi (3,55) menjadi produk yang paling disukai. Hal ini karena proses hidrolisis protein mengakibatkan perubahan flavor yang disebabkan oleh peptide rantai pendek dan asam amino

terutama asam glutamat yang berperan pembentukan flavor gurih produk.

Skor parameter warna penyedap rasa perlakuan konsentrasi enzim 2% dan lama hidrolisis 1 jam menghasilkan skor tertinggi (3,60) menjadi produk yang paling disukai. Hal ini karena semakin tinggi konsentarsi enzim dan semakin lama hidrolisis mengakibatkan peptida rantai pendek dan asam amino semakin tinggi, sehingga warna yang terbentuk akan semakin gelap dan dapat menurunkan tingkat kesukaan produk.

Skor parameter *overall* penyedap rasa dari hidrolisat protein daun murbei dan kepala udang. Perlakuan konsentrasi enzim 3% dan lama hidrolisis 1 jam menghasilkan skor tertinggi (3,60) menjadi produk paling disukai. Hal ini karena daya terima ditentukan oleh hasil penilaian akumulatif dari warna, tekstur, rasa dan aroma. Tingkat kesukaan tinggi menunjukkan produk diterima panelis.

Kadar Asam Glutamat

Analisa kadar asam glutamat dilakukan untuk mengetahui adanya asam glutamat pada produk penyedap rasa serta bahan baku. Hasil analisa asam glutamat dilihat pada **Tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Analisa Asam Glutamat Penyedap Rasa dari Hidrolisat Protein Daun Murbei dan Kepala Udang

Enzim	Asam Glutamat (mg/100g)
Daun Murbei	2159,19 ± 0,023
Kepala Udang	6075,47 ± 0,070
Produk Terbaik E3W1	783,07 ± 0,070

Kadar asam glutamat pada perlakuan terbaik konsentrasi enzim 3% dan lama hidrolisis 1 jam sebesar 783,07 mg/100g. Hasil ini lebih besar dibandingkan penelitian Witono (2014) penyedap rasa dari hidrolisat tempe over fermentasi sebesar 55,84 mg/100g, hal ini dikarenakan penelitian tersebut hanya menggunakan enzim calotropin dari getah biduri, sedangkan pada penelitian ini proses hidrolisis dengan menggunakan kombinasi enzim papain dan calotropin. Menurut Vogel & May (2019) untuk menghasilkan sifat yang meningkat diperlukan sinergisme melalui penggunaan kombinasi protease dari berbagai sumber biologis yang digunakan secara berurutan.

Nilai asam glutamat antara bahan baku dengan produk penyedap rasa terjadi penurunan kadar asam glutamat pada penyedap rasa dari hidrolisis protein daun

murbei dan kepala udang. Hal ini dapat disebabkan sebagian protein pada bahan baku telah dihidrolisis menjadi produk hidrolisat dan sebagian lagi terdapat pada residu yang tidak dapat dihidrolisis (Yuniarti *et al.*, 2021). Menurut Sangamithra *et al.* (2015) komponen bahan aktif mudah rusak akibat pengeringan termasuk asam amino, serta proses pemanasan dalam waktu lama berakibat hilangnya banyak senyawa umami selama kontak dengan panas (Alim *et al.*, 2019).

KESIMPULAN

Konsentrasi kombinasi enzim papain dan calotropin dengan lama hidrolisis berpengaruh terhadap hasil analisa tiap parameter. Perlakuan terbaik berdasarkan sifat organoleptik disamping sifat fisikokimianya ialah konsentrasi enzim 3% dan lama hidrolisis 1 jam dengan karakteristik: derajat hidrolisis 76,58%; protein terlarut 43,40%; indeks kelarutan air 0,087 gr/ml; daya serap minyak 1,786 ml/gr; kadar air 7,08%; rendemen produk 13,70%; dan uji organoleptik rasa 3,35 (agak suka), aroma 3,55 (agak suka), warna 3,40 (agak suka) dan *overall* 3,60 (agak suka), serta kadar asam glutamat 783,07 mg/100g.

DAFTAR PUSTAKA

Alim, A., Yang, C., Song, H., Liu, Y., Zou, T., Zhang, Y., & Zhang, S. (2019). The behavior of umami components in

- thermally treated yeast extract. *Food Research International*, 120, 534-543.
- Anderson, R.A. 1984. Water Absorption and Solubility and Amylograph Characteristics on Roll Cooked Small Grain Product. *Cereal Chemistry*. 59, 265-269.
- AOAC. 2005. Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical of Chemist. Arlington: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Aziem, S. H., Kader, H., Ibrahim, F.M., & Sharaf, H.A. (2018). Evaluation of the alleviative role of *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* extract against ovarian dysfunctions induced by monosodium glutamate in mice. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 653-660.
- Bambang. 2009. Tanaman Penurun Kolesterol. <http://www.agrisilk.com/tanaman-penurun-kolesterol/tanaman-obat.html>. Diakses pada tanggal 2 Januari 2021.
- Beuchat, L.R. 1977. Functional and Electrophoretic Characteristics of Succinylated Peanut Flour Protein. *J. Agric. Food Chem*, 25(2), 258-261.
- Bhattacharya, T., Bhakta, A., & Ghosh, S.K. (2011). Long term effect of monosodium glutamate in liver of albino mice after neo-natal exposure. *Nepal Med Coll J*, 13(1), 11-16.
- Cahyadi, W. (2009). *Bahan Tambahan Pangan (Edisi Kedua)*. Jakarta: Bumi Aksara.
- Cahyaningati, K. (2019). Aktivitas Antioksidan Hasil Hidrolisis Enzimatis Protein Ikan Wader (*Rasbora jacobsoni*) Menggunakan Kombinasi Calotropin dan Papain (Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember).
- Datta, R.K. (2002). Mulberry Cultivation and Utilization in India. *FAO animal production and health paper*, 45-62.
- Haslaniza, H., Maskat, M.Y., Wan Aida, W.M., & Mamot, S. (2010). The effects of enzyme concentration, temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water. *International Food Research Journal*, 17(1), 147-152.
- Haurowitz, F., & Koshland, D.E. (2020). Hydration of Proteins. *Diakses Desember 20, 2021*. <https://www.britannica.com/science/protein/Hydration-of-proteins>.
- Hrcakova, M., Rusnakova, M., & Zemanovic, J., 2002. Enzymatic hydrolysis of defatted soy flour by three different proteases and their effect on the functional properties of resulting protein hydrolysates. *Czech journal of food sciences*, 20(1), 7-14.
- KKP. 2021. Laporan Kinerja Kementerian Kelautan dan Perikanan Tahun 2020. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Kristinsson, H.G. (2007). Aquatic food protein hydrolysates. In *Maximising the value of marine by-products* (pp. 229-248). Woodhead Publishing.
- Kurniawan, K., Lestari, S., & RJ, S.H. (2012). Hidrolisis protein tinta cumi-cumi (*Loligo sp*) dengan enzim papain. *Jurnal Fishtech*, 1(1), 41-54.
- Mustrini, I., Mappiratu, M., & Nurakhirawati, N. (2016). Pemanfaatan Getah Biduri Dalam Produksi Albumin Ikan Gabus (*Ophiocephalus Striatus*). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 2(3).
- Nielsen, P.M. 1997. *Food Proteins and Their Applications*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Putri, K.M., Winarti, S., & Djajati, S., (2020). Physicochemical and Organoleptic Characteristics of Seasoning from Tempe Hydrolysates using Long Treatment of Fermentation

- and Proteolytic Enzyme Proportion. Nusantara Science and Technology Proceedings, 76-85.
- Rahmi, H., Ariyanti, R. P., & Wulandari, D. (2020). Analisis Hasil Fraksinasi Protease dan Lipase yang Berasal dari Saluran Pencernaan Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*). *Jurnal Bioteknologi & Biosains Indonesia (JBBI)*, 7(2), 194-202.
- Rathore, S.S., & Yusufzai, S.I. (2018). Changes in haematological and serum biochemical indices of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry fed dietary shrimp head meal. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(4), 663-667.
- Sangamithra, A., Sivakumar, V., Kannan, K., & John, S.G. (2015). Foam-mat drying of muskmelon. *International journal of food engineering*, 11(1), 127-137.
- Silvestre, M.P.C., Morais, H.A., Silva, V.D.M., & Silva, M.R. (2013). Degree of hydrolysis and peptide profile of whey proteins using pancreatin. *Nutrire Rev. Soc. Bras. Aliment. Nutr.*, 278-290.
- Singh, B., & Makkar, H.P.S. (2002). The potential of mulberry foliage as a feed supplement in India. *FAO animal production & health paper*, 139-156.
- Su, N.W., Wang, M.L., Kwok, K.F., & Lee, M.H. (2005). Effects of temperature and sodium chloride concentration on the activities of proteases and amylases in soy sauce koji. *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(5), 1521-1525.
- Sudarmadji, S., Haryono, B., & Suhardi. 1997. *Prosedur Analisis untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Yogyakarta: Liberty.
- Suparmi, Edison, Sari, N. I., Sumarto, & Susilo, R. (2020). Study on the Quality of Natural Flavor Powder made from Shrimp Waste. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 430, No. 1, p. 012007). IOP Publishing.
- Syahrir, S., Wiryawan, K.G., Parakkasi, A., Winugroho, M., & Sari, O.P. (2009). Efektivitas daun murbei sebagai pengganti konsentrat dalam sistem rumen in vitro. *Media Peternakan*, 32(2).
- Temussi, P.A. (2011). The good taste of peptides. *Journal of Peptide Science*, 18(2), 73-82.
- Vogel, A., & May, O. (Eds). (2019). *Industrial enzyme applications*. John Wiley & Sons.
- Walker, J.M. 1994. *The Protein Protocols Handbook*. Totowa: Humana Press Inc. pp. 7-26.
- Wicaksono, L. A., & Winarti, S. (2021). Karakteristik Penyedap Rasa Alami dari Biji Bunga Matahari dan Kupang Putih dengan Hidrolisis Enzimatis. *AGRITEKNO: Jurnal Teknologi Pertanian*, 10(1), 64-73.
- Witono, Y. (2014). *Teknologi Flavor Alami: Berbasis Proses Hidrolisis Enzimatis*. Surabaya: Pustaka Radja. hlm 8-85.
- Witono, Y., Windrati, W.S., Taruna, I., Masahid, A.D., & Dardiri, A.B. (2017). Profil flavor enhancer hasil hidrolisis enzimatis ikan bernilai ekonomi rendah dalam penggunaannya sebagai ingredien pada makanan. *Jurnal agroteknologi*, 11(01), 69-81.
- Yonata, A., & Iswara, I. (2016). Efek Toksik Konsumsi *Monosodium Glutamate*. *Majority*, 5(3), 100-104.
- Yuniarti, T., Prayudi, A., Supenti, L., Suhwardan, H., & Martosuyono, P. (2021). Produksi dan profil kimia hidrolisat protein dari hasil samping pengolahan udang segar. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 23 (1), 63-69.