

**HIDROLISIS PROTEIN TINTA CUMI-CUMI (*Loligo* sp) DENGAN ENZIM PAPAIN****Kurniawan, Susi Lestari, Siti Hanggita R.J**

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Universitas Sriwijaya

ABSTRAC

The objective of this research were to know yield, protein content, free α-amino nitrogen, degree of hydrolysis, and amino acid of the result hydrolysis of ink protein squid (*Loligo* sp) with papain enzyme. The research used the method completely randomized design with two replications of the treatment factors, the difference in the concentration of the papain enzyme (0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, and 6%). The parameters of research were yield, protein content, free α-amino nitrogen, degree of hydrolysis, and amino acids. The results of research showed that differences in the concentration papain enzyme significant effect on the value of yield, protein content, free α-amino nitrogen, and degree of hydrolysis. Yield ranges from 78.05% to 88.61%, protein content from 28.90 mg/ml to 36.31 mg/ml, free α-amino nitrogen from 0.49 mg/ml to 10.99 mg/ml, the degree of hydrolysis from 0.016 to 0.345, and contains 14 kinds of amino acids of the 15 amino acids analyzed, histidine, arginine, threonine, valine, isoleucine, leucine, phenylalanine, lysine, glutamic acid, aspartic acid, serine, glycine, alanine, and tyrosine. The content of amino acid and degree of hydrolysis highest contained in the P2 treatment (papain enzyme concentration of 2%).

Keyword : hydrolysis, squid ink, enzyme papain**1. Pendahuluan**

Perairan Indonesia mempunyai potensi sumber daya perairan laut yang cukup besar, diantaranya ikan pelagis besar, ikan pelagis kecil, karang, udang, lobster, dan cumi-cumi. Ekspor cumi-cumi pada tahun 2010 mencapai 34.925.401 kg, ekspor cumi-cumi menunjukkan peningkatan yang cukup tajam pada tahun 2011 sebesar 48.803.318 kg (KKP, 2012).

Cumi-cumi umumnya dimanfaatkan sebagai bahan makanan dalam bentuk cumi bakar, cumi asin, bakso cumi-cumi, dan berbagai macam hidangan seafood lainnya, cumi-cumi pada industri dimanfaatkan dalam bentuk beku, kering atau cumi kertas untuk keperluan ekspor, namun pada pengolahan cumi-cumi tinta cumi-cumi tidak ikut diolah sehingga terbuang dan menjadi limbah.

Tinta cumi-cumi mempunyai nilai gizi yang cukup baik terutama kandungan protein dan asam amino. Mukholik (1995) menyatakan bahwa tinta cumi-cumi mengandung protein sebesar 10,88% yang terdiri atas asam amino esensial dan non esensial. Menurut Okozumi dan Fujii (2000), melanoprotein tinta cumi-cumi mengandung asam amino esensial yang dominan berupa lisin, leusin, arginin dan fenilalanin. Sementara kadar asam amino non esensial yang dominan adalah asam glutamat dan asam aspartat. Untuk memperoleh asam amino tinta cumi-cumi dapat dilakukan dengan cara dihidrolisis.

Menurut Haslaniza *et al.* (2010), hidrolisis protein merupakan protein yang mengalami degradasi hidrolitik dengan asam, basa, atau enzim proteolitik yang menghasilkan produk berupa asam amino dan peptida. Penggunaan enzim dalam menghidrolisis protein dianggap paling aman dan menguntungkan. Hal ini disebabkan kemampuan enzim dalam menghidrolisis protein dapat

menghasilkan produk hidrolisat yang terhindar dari perubahan dan kerusakan produk (Johnson dan Peterson, 1974 dalam Purbasari, 2008).

Papain merupakan enzim proteolitik hasil isolasi dari getah penyadapan buah pepaya (*Carica papaya* L.). Enzim tersebut dapat diproduksi dalam bentuk bubuk maupun larutan. Penggunaan enzim papain sangat beragam, diantaranya digunakan untuk pengempuk daging, konsentrasi protein, dan hidrolisat protein (Dwinastiti, 1992).

Menurut Mitchel *et al.* (1929) dalam Hidayat (2005), hidrolisis protein dipengaruhi oleh konsentrasi bahan penghidrolisis, suhu, pH dan waktu hidrolisis. Peningkatan konsentrasi enzim akan meningkatkan volume hidrolisat protein ikan yang bersifat tak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut. Hidayat (2005) menyimpulkan bahwa konsentrasi enzim papain optimum pada pembuatan hidrolisat protein ikan selar kuning sebesar 5%, namun penggunaannya pada hidrolisis protein tinta cumi-cumi belum banyak dilakukan sehingga perlu dilakukan penelitian tentang hidrolisis protein tinta cumi-cumi (*Loligo* sp) dengan enzim papain komersial.

2. Metode Penelitian

2.1. Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah tinta cumi-cumi (*Loligo* sp) dan enzim papain merk "PAYA". Bahan kimia yang digunakan yaitu AgNO_3 , asam asetat glasial, akuades, BaCl_2 , CH_3COOH , HCl , heksana, H_2SO_4 , K_2SO_4 , H_3PO_4 , larutan kuprifosfat, larutan buffer, larutan trikloroasetat (TCA), MgO , MgCO_3 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, NaOH . Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah baskom plastik, erlenmeyer, gelas ukur, HPLC (*High Performance Liquid Chromatografi*), inkubator, oven, pisau stainless, pipet tetes, pH meter, sarung tangan (plastik), sentrifuse dan timbangan analitik.

2.2. Prosedur

Proses hidrolisis protein tinta cumi-cumi berdasarkan (Hidayat, 2005) yang telah dimodifikasi adalah sebagai berikut :

1. Kantung tinta cumi-cumi yang didapatkan terlebih dahulu dibersihkan dengan air mengalir.
2. Tinta cumi-cumi dikeluarkan dari kantungnya, dengan cara kantung tinta cumi-cumi ditekan ke dalam wadah yang telah disiapkan.
3. Selanjutnya tinta cumi-cumi dimasukan ke dalam gelas ukur sebanyak 30 ml.
4. Tinta cumi-cumi dicampurkan dengan aquadest hingga homogen, perbandingan tinta cumi-cumi dan aquadest (1:2)
5. Enzim papain ditambahkan dengan konsentrasi 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% dan 6%.
6. Campuran tersebut diaduk dan nilai pH diatur hingga mencapai pH 7, dengan HCL sebagai pengatur suasana asam dan NaOH sebagai pengatur suasana basa.
7. Kemudian dihidrolisis dengan cara di inkubasi ke dalam inkubator pada suhu 55 °C selama 6 jam, pada proses hidrolisis sampel diaduk setiap 60 menit.
8. Sampel kemudian dipanaskan di oven pada suhu 90 °C selama 20 menit untuk menonaktifkan enzim.
9. Kemudian disentrifuse selama 15 menit.
10. Hidrolisat protein tinta cumi-cumi (*Loligo* sp) yang dihasilkan kemudian dianalisis.

Parameter yang dianalisis pada penelitian ini yaitu, nilai rendemen, kadar protein, kadar α-amino nitrogen bebas, derajat hidrolisis dan asam amino.

2.3. Statistik

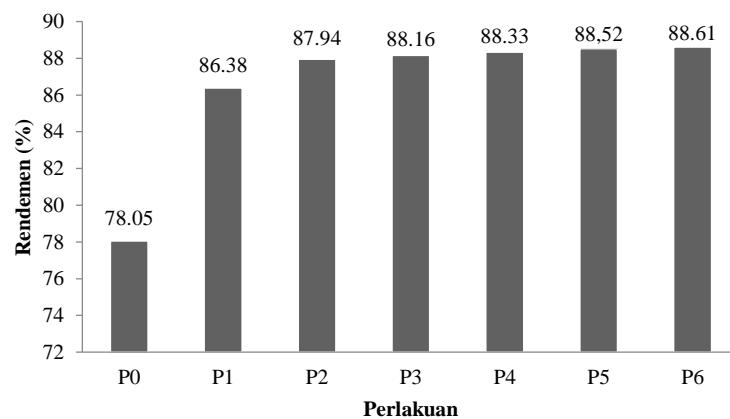
Penelitian ini menggunakan metode rancangan acak lengkap (RAL) nonfaktorial, dengan satu faktor perlakuan dua ulangan yaitu perbedaan konsentrasi enzim papain (P), yang terdiri dari 7 taraf perlakuan yaitu:

P0 = 0% (kontrol)	P4 = 4%
P1 = 1%	P5 = 5%
P2 = 2%	P6 = 6%
P3 = 3%	

3. Hasil dan Pembahasan

3.1. Rendemen

Rendemen hidrolisis protein tinta cumi-cumi dihitung berdasarkan volume cairan yang dihasilkan dengan volume cairan sebelum dihidrolisis. Pada proses hidrolisis menggunakan enzim, substrat yang digunakan akan diubah menjadi produk hidrolisat. Persentase banyaknya produk hidrolisat yang dihasilkan terhadap volume baku sebelum dihidrolisis disebut rendemen produk hidrolisat (Ariyani *et al.* 2003). Grafik rata-rata rendemen hasil hidrolisis protein tinta cumi-cumi dapat dilihat pada Gambar 1.



Keterangan :

- P0 = Konsentrasi enzim 0%
- P1 = Konsentrasi enzim 1%
- P2 = Konsentrasi enzim 2%
- P3 = Konsentrasi enzim 3%
- P4 = Konsentrasi enzim 4%
- P5 = Konsentrasi enzim 5%
- P6 = Konsentrasi enzim 6%

Gambar 1. Grafik rerata rendemen hidrolisis protein tinta cumi-cumi

Gambar 1 memperlihatkan rerata nilai rendemen berkisar antara 78,05 – 88,61%. Nilai rendemen terendah terdapat pada perlakuan P0 (konsentrasi enzim papain 0%) yaitu sebesar 78,05% dan tertinggi pada perlakuan P6 (konsentrasi enzim papain 6%) sebesar 88,61%, Hidrolisis tanpa penambahan enzim papain (P0) terlihat bahwa rendemen yang dihasilkan kecil

dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Hal ini disebabkan karena tidak ada penambahan enzim.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi enzim papain berpengaruh nyata pada taraf 5% terhadap rendemen hidrolisis protein tinta cumi-cumi. Hasil uji lanjut BNJ nilai rendemen hidrolisis protein tinta cumi-cumi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji lanjut BNJ nilai rendemen hidrolisis protein tinta cumi-cumi

Perlakuan	Rendemen	BNJ _{0,05}
P0	78,05	a
P1	86,38	b
P2	87,94	c
P3	88,16	c
P4	88,33	c
P5	88,52	c
P6	88,61	c

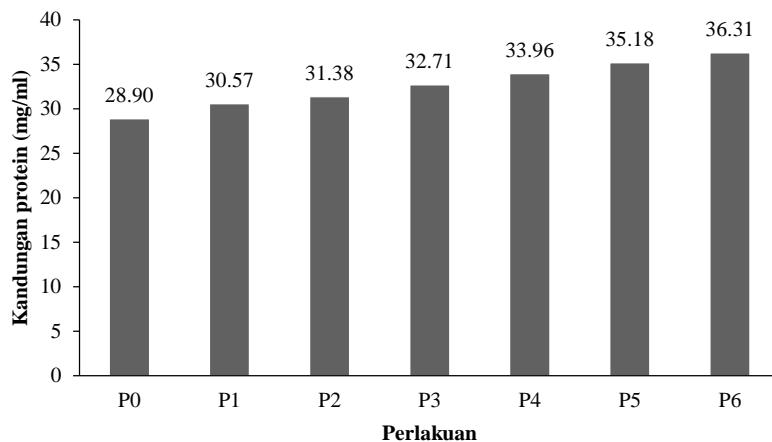
Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama artinya tidak berbeda nyata.

Berdasarkan hasil uji lanjut BNJ perlakuan P0 (konsentrasi enzim 0%), P1 (konsentrasi enzim 1%), dan P2 (konsentrasi enzim 2%) menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Pada penelitian Purbasari (2008) tentang produksi dan karakterisasi hidrolisat protein dari kerang mas ngur (*Atactodea striata*) menyatakan bahwa, perlakuan konsentrasi enzim dari 0%, 2%, 4% dan 6% memberikan pengaruh yang berbeda nyata antar perlakuan, sedangkan antara perlakuan 6%, 8 %, dan 10% tidak berbeda nyata.

Fenomena ini dijelaskan oleh Sahidi *et al.* (1995) dalam Ariyani *et al.* (2003) yaitu pada proses hidrolisis ikan terdapat pola yang khas, meskipun sejumlah enzim ditambahkan secara berlebih terdapat sekitar 20% dari total nitrogen yang tidak larut. Mereka menduga bahwa hidrolisis mungkin dihambat oleh produk hidrolisis atau oleh pemutusan rantai pada semua ikatan peptida yang dapat dihidrolisis oleh enzim.

3.2. Kandungan Protein

Protein merupakan komponen penting dalam produk hidrolisat. Salah satu tujuan memproduksi hidrolisat adalah untuk memenuhi kebutuhan protein hewani, khususnya dari hasil perikanan. Tingkat mutu dari produk hidrolisat sangat ditentukan oleh kadar zat terlarut, terutama kadar protein yang dihitung dengan kadar total nitrogen (Sutedja *et al.* 1981 dalam Syahrizal 1991). Rata – rata kandungan protein hidrolisis protein tinta cumi-cumi dapat dilihat pada Gambar 2.



Keterangan :

P0 = Konsentrasi enzim 0%

P1 = Konsentrasi enzim 1%

P2 = Konsentrasi enzim 2%

P3 = Konsentrasi enzim 3%

P4 = Konsentrasi enzim 4%

P5 = Konsentrasi enzim 5%

P6 = Konsentrasi enzim 6%

Gambar 2. Grafik rerata kandungan protein hidrolisat protein tinta cumi-cumi

Grafik diatas menunjukkan adanya peningkatan kadar protein pada setiap perlakuan, rata-rata kandungan protein berkisar antara 28,90 mg/ml hingga 36,31 mg/ml. Kandungan protein terendah terdapat pada perlakuan P0 (konsentrasi enzim 0%) sebesar 28,90 mg/ml dan tertinggi terdapat pada perlakuan P6 (konsentrasi enzim 6%) sebesar 36,31 mg/ml.

Menurut Kirk dan Othmer (1985) dalam Hidayat (2005), selama hidrolisis terjadi konversi protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut, selanjutnya terurai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana, seperti peptida-peptida, asam amino dan amonia. Haslaniza *et al.* (2010) menyatakan bahwa konsentrasi enzim proteolitik yang semakin meningkat dalam proses hidrolisis akan menyebabkan peningkatan kandungan nitrogen terlarut dalam hidrolisat protein ikan.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa kandungan protein hidrolisis protein tinta cumi-cumi berpengaruh nyata pada taraf 5%. Hasil uji lanjut BNJ kandungan protein hidrolisis protein tinta cumi-cumi dengan enzim papain dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji lanjut BNJ kandungan protein hidrolisis protein tinta cumi-cumi

Perlakuan	Rerata protein	BNJ _{0,05}
P0	28,90	a
P1	30,57	a
P2	31,38	a b
P3	32,71	b
P4	33,96	b
P5	35,18	b c
P6	36,31	c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama artinya tidak berbeda nyata.

Hasil uji lanjut BNJ menunjukkan perlakuan P0 (konsentrasi enzim 0%) tidak berbeda nyata dengan perlakuan P1 (konsentrasi enzim 1%). Perlakuan P2 (konsentrasi enzim 2%) berbeda tidak nyata dengan perlakuan P3 (konsentrasi enzim 3%), P4 (konsentrasi enzim 4%) dan P5 (konsentrasi enzim 5%). Namun berbeda nyata dengan perlakuan P6 (konsentrasi enzim 6%). Perbedaan antar perlakuan ini diduga karena pengaruh konsentrasi enzim yang digunakan.

Peningkatan kandungan protein tersebut diduga disebabkan oleh terdeteksinya enzim pada perlakuan. Menurut Lehninger (1982), enzim merupakan protein dan aktifitas katalitiknya bergantung pada integritas strukturnya sebagai protein. Harrison *et al.* (1997) dalam Dewi (2002), menyatakan bahwa enzim papain merupakan protein yang tersusun atas 212 residu asam amino.

3.3. Kandungan α-amino Nitrogen Bebas

Protein yang terhidrolisis akan membebaskan asam-asam amino. Jumlah asam amino yang terdapat dalam hidrolisis protein disebut kadar α-amino nitrogen bebas. Rerata kandungan α-amino nitrogen bebas yang terdapat pada hidrolisis protein tinta cumi-cumi dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 5 menunjukkan adanya peningkatan kandungan α-amino nitrogen bebas pada setiap perlakuan. konsentrasi α-amino nitrogen bebas terendah terdapat pada perlakuan P0 (konsentrasi enzim 0%) sebesar 0,49 mg/ml, rendahnya kandungan α-amino bebas pada perlakuan P0 (konsentrasi enzim 0%) disebabkan karena tidak adanya enzim yang menghidrolisis protein pada sampel. Sedangkan kandungan α-amino nitrogen bebas tertinggi terdapat pada perlakuan P6 (konsentrasi enzim 6%) sebesar 10,99 mg/ml.

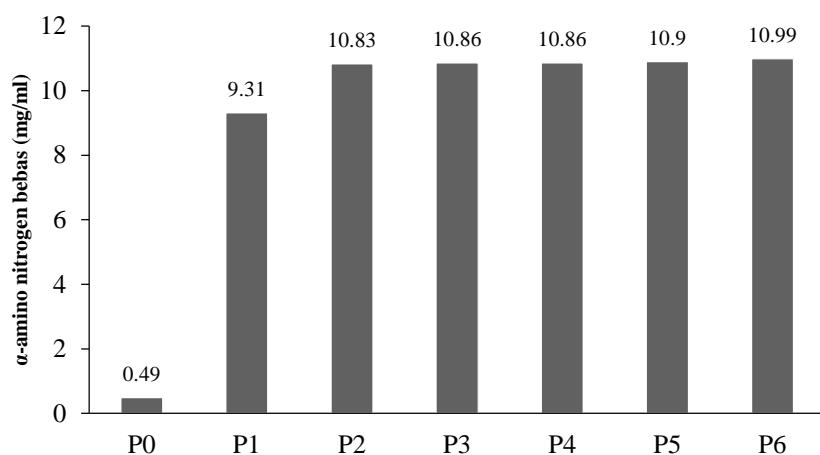
Menurut Harrow Mazur (1971) dalam Hidayat (2005), hidrolisis protein akan menambah kepolaran protein sehingga molekul protein yang tidak larut dalam air akan larut dengan adanya proses hidrolisis. Hal ini akan menyebabkan kenaikan kadar α-amino nitrogen bebas. Semakin tinggi nilai α-amino nitrogen bebas pada hidrolisis berarti proses hidrolisis berjalan dengan baik.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan konsentrasi enzim berpengaruh nyata terhadap kandungan α-amino nitrogen bebas hidrolisis protein tinta cumi-cumi, hasil uji lanjut BNJ dapat dilihat pada Tabel 3 dibawah.

Berdasarkan hasil uji lanjut BNJ diatas bahwa perlakuan P0 (konsentrasi enzim 0%), P1 (konsentrasi enzim 1%), dan P2 (Konsentrasi enzim 2%) menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Penelitian Purbasari (2008) tentang produksi dan karakterisasi hidrolisat protein dari kerang mas ngur (*Atactodea striata*) menyatakan bahwa, peningkatan

kandungan asam amino bebas pada perlakuan konsentrasi enzim papain 0%, 2%, dan 4% berbeda tidak nyata antar perlakuan.

Kandungan α -amino nitrogen bebas pada perlakuan kontrol (P0), diduga disebabkan oleh proses autolisis dan bakteriolisis setelah cumi-cumi mati. Menurut (Afrianto dan Liviawati, 2005), didalam daging ikan terdapat enzim *cathepsin*, dan didalam saluran pencernaan terdapat enzim proteolitik seperti *trypsin*, *chemotrypsin*, dan *pepsin*. serta enzim dari mikroorganisme yang ada pada tubuh ikan. Enzim-enzim ini merupakan enzim pengurai protein (proteolitik) sehingga dapat menguraikan protein menjadi senyawa yang lebih sederhana.



Keterangan :

Perlakuan

- P0 = Konsentrasi enzim 0%
- P1 = Konsentrasi enzim 1%
- P2 = Konsentrasi enzim 2%
- P3 = Konsentrasi enzim 3%
- P4 = Konsentrasi enzim 4%
- P5 = Konsentrasi enzim 5%
- P6 = Konsentrasi enzim 6%

Gambar 3. Grafik rerata kandungan α -amino nitrogen bebas hidrolisat protein tinta cumi-cumi

Shahidi *et al.* (1995) dalam Widadi (2011) menyatakan bahwa pada tahap awal proses hidrolisis, enzim akan diserap ke dalam suspensi partikel daging ikan, kemudian didalamnya terjadi pemutusan ikatan peptida yang terjadi secara simultan. Pada konsentrasi tertentu, kecepatan hidrolisis akan mengalami penurunan dan memasuki tahap stasioner.

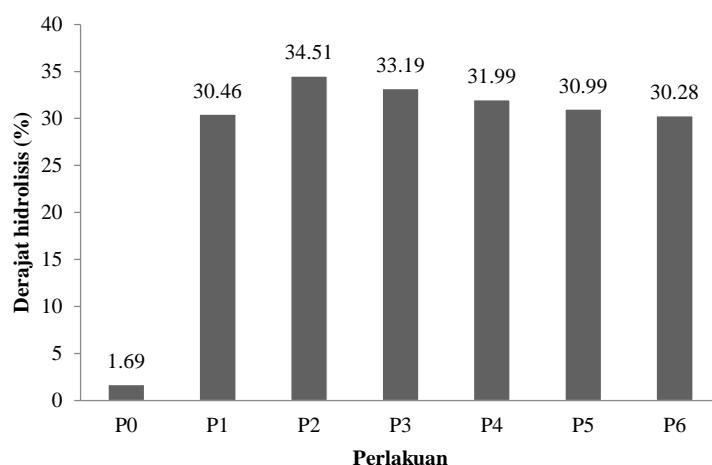
Tabel 3. Uji lanjut BNJ kandungan α -amino nitrogen bebas hidrolisis protein tinta cumi-cumi

Perlakuan	Rerata α -amino	BNJ _{0,05}
P0	0,49	a
P1	9,31	b
P2	10,83	c
P3	10,86	c
P4	10,86	c
P5	10,90	c
P6	10,99	c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama artinya tidak berbeda nyata.

3.4. Derajat Hidrolisis

Derajat hidrolisis merupakan suatu parameter yang menunjukkan kemampuan protease untuk menguraikan protein dengan cara membandingkan amino nitrogen dengan total nitrogen (AN/TN), derajat hidrolisis digunakan untuk menentukan derajat kesempurnaan proses hidrolisis (Hasnaliza *et al.* 2010). Derajat hidrolisis dalam proses hidrolisis protein tinta cumi-cumi ditentukan dengan cara perbandingan kandungan α -amino nitrogen bebas dengan kandungan protein dan total nitrogen (AN/TN), rerata derajat hidrolisis protein tinta cumi-cumi dapat dilihat pada Gambar 4.



Keterangan :

- P0 = Konsentrasi enzim 0%
- P1 = Konsentrasi enzim 1%
- P2 = Konsentrasi enzim 2%
- P3 = Konsentrasi enzim 3%
- P4 = Konsentrasi enzim 4%
- P5 = Konsentrasi enzim 5%
- P6 = Konsentrasi enzim 6%

Gambar 4. Grafik rerata nilai derajat hidrolisis protein tinta cumi-cumi

Proses hidrolisis protein tinta cumi-cumi menggunakan enzim papain menghasilkan derajat hidrolisis antara 1,69% – 34,51%, dengan nilai derajat hidrolisis terkecil terdapat pada perlakuan P0 (konsentrasi enzim 0%) sebesar 1,69% dan nilai derajat hidrolisis tertinggi terdapat pada perlakuan P2 (konsentrasi enzim 2%) yaitu sebesar 34,51%.

Nilai derajat hidrolisis dipengaruhi oleh jumlah senyawa peptida dan asam amino sebagai hasil pemecahan protein oleh enzim. Karena derajat hidrolisis diukur dari perbandingan α -amino nitrogen dengan total nitrogen (AN/TN) maka dengan semakin tinggi tingkat pemecahan protein menjadi senyawa berantai pendek termasuk senyawa α -amino nitrogen, derajat hidrolisisnya menjadi semakin tinggi. Hasnaliza *et al.* (2010) menyatakan bahwa peningkatan derajat hidrolisis disebabkan oleh peningkatan peptida dan asam amino yang terlarut dalam TCA akibat dari pemutusan ikatan peptida selama hidrolisis protein.

Pada penelitian ini terjadi penurunan derajat hidrolisis dari perlakuan P3 (konsentrasi enzim 3%) hingga P6 (konsentrasi enzim 6%). Hal ini sejalan dengan penelitian Guerard *et al.* (2001). Pada hidrolisis protein limbah ikan tuna dengan enzim alkalase, terjadi penurunan derajat hidrolisis. Diduga kecenderungan penurunan derajat hidrolisis dapat dikaitkan ke fenomena seperti, penurunan konsentrasi peptida yang tersedia untuk dihidrolisis, penurunan aktivitas enzim dan penghambatan produk.

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan konsentrasi enzim berpengaruh nyata terhadap nilai derajat hidrolisis. Hasil uji lanjut BNJ dapat dilihat pada Tabel 4 dibawah ini.

Tabel 4. Uji lanjut BNJ derajat hidrolisis protein tinta cumi-cumi

Perlakuan	Hidrolisis	Derajt	$BNJ_{0,05}$
P0	1,69	a	
P6	30,28	b	
P1	30,46	b	
P5	30,99	b	
P4	31,99	b	
P3	33,19	c	
P2	34,51	d	

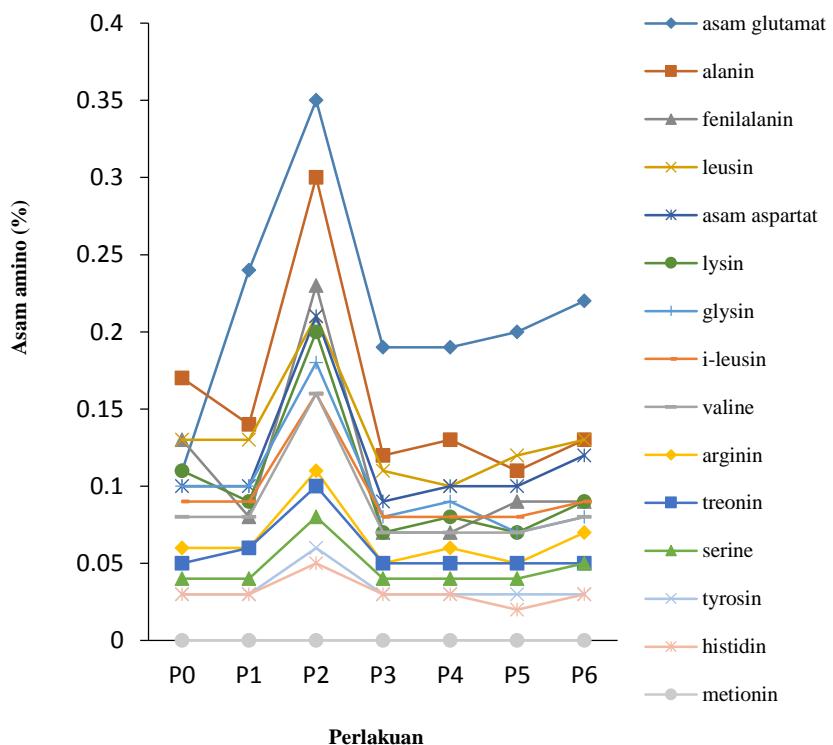
Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama artinya tidak berbeda nyata.

Tabel uji lanjut tersebut menjelaskan perlakuan P0 (konsentrasi enzim 0%) berbeda nyata dengan perlakuan lainnya, perlakuan P1 (konsentrasi enzim 1%), P6 (konsentrasi enzim 6%), P5 (konsentrasi enzim 5%) dan P4 (konsentrasi enzim 4%), berbeda nyata terhadap perlakuan P3 (konsentrasi enzim 3%) dan P2 (konsentrasi enzim 2%). Dengan demikian dapat diketahui konsentrasi enzim papain yang paling efisien untuk menghasilkan nilai derajat hidrolisis protein tinta cumi-cumi adalah perlakuan P2 (konsentrasi enzim papain 2%) dengan nilai 34,51%.

Derajt hidrolisis dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu konsentrasi enzim, waktu hidrolisis, dan jenis enzim yang digunakan. Penelitian Hasnaliza *et al.* (2010), menunjukkan bahwa perbedaan konsentrasi antara enzim bromelin dengan substrat menyebabkan perbedaan derajat hidrolisis yang dihasilkan.

3.5. Asam Amino

Asam amino merupakan komponen penyusun protein yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Analisis asam amino bertujuan untuk mengetahui jenis dan jumlah asam amino yang terkandung dalam protein bahan pangan Muchtadi (1989) dalam Purbasari (2008). Hasil analisis asam amino hidrolisat protein tinta cumi-cumi (*Loligo sp*) disajikan pada Gambar 5.



Keterangan :

- P0 = Konsentrasi enzim 0%
- P1 = Konsentrasi enzim 1%
- P2 = Konsentrasi enzim 2%
- P3 = Konsentrasi enzim 3%
- P4 = Konsentrasi enzim 4%
- P5 = Konsentrasi enzim 5%
- P6 = Konsentrasi enzim 6%

Gambar 5. Grafik kandungan asam amino tiap perlakuan

Gambar 5 menunjukkan kandungan asam amino pada tiap perlakuan. Kandungan asam amino tertinggi terdapat pada perlakuan P2 (konsentrasi enzim 2%). Hal ini sejalan dengan hasil pengamatan nilai rendemen, kandungan α -amino nitrogen bebas dan derajat hidrolisis yang menunjukkan konsentrasi enzim papain yang paling efisien dalam menghidrolisis protein tinta cumi-cumi adalah perlakuan P2 (konsentrasi enzim 2%).

Fenomena ini dapat dijelaskan dengan teori umum kerja enzim Michaelis Menten (Winarno, 2003)



Enzim akan berikatan dengan substrat membentuk ikatan antara enzim substrat (ES). Enzim - substrat ini akan dipecah menjadi hasil reaksi (P) berupa asam amino dan peptida dan enzim (E) bebas (Winarno, 2003). Menurut Lehninger (1982), dalam reaksi hidrolisis enzim terdapat dalam dua bentuk yaitu bentuk bebas dan bentuk sudah terikat. Kecepatan reaksi katalitik ini jelas menjadi maksimum jika semua enzim terdapat sebagai kompleks enzim-substrat dan konsentrasi enzim bebas menjadi sangat kecil.

Menurut Fachraniah (2002) dalam Praptono (2006), menurunnya kecepatan reaksi hidrolisis protein disebabkan oleh beberapa hal, yaitu penurunan ikatan peptida spesifik bagi enzim, inhibisi produk, inaktivasi enzim dan ketidakstabilan molekul enzim yang mempengaruhi pengikatan enzim dengan substrat, baik secara langsung maupun tidak langsung yang berakibat pada menurunnya konsentrasi produk yang dihasilkan.

Perbedaan kandungan asam amino pada produk hidrolisat dengan enzim papain dapat dilihat pada Tabel 5 dibawah ini.

Tabel 5.Kandungan asam amino produk hidrolisat

No	Asam amino	Jumlah (% b/b)		
		P0 ¹	P1 ²	HPI selar kuning ³
1	Asam glutamat	0,11	0,35	0,385
2	Alanin	0,17	0,30	0,054
3	Fenilalanin*	0,13	0,23	0,085
4	Leusin*	0,13	0,21	0,105
5	Asam aspartat	0,10	0,21	0,185
6	Lysine*	0,11	0,20	0,117
7	Glysin	0,10	0,18	0,098
8	Isoleusin*	0,09	0,16	0,067
9	Valine*	0,08	0,16	0,075
10	Arginin*	0,06	0,11	0,094
11	Treonin*	0,05	0,10	0,077
12	Serine	0,04	0,08	0,159
13	Tyrosin	0,03	0,06	0,095
14	Histidin*	0,03	0,05	0,097
15	Metionin*	-	-	0,120

Keterangan :

* Asam amino esensial

¹ Asam amino hidrolisis protein tinta cumi-cumi tanpa menggunakan enzim papain.

² Asam amino hidrolisis protein tinta cumi-cumi dengan enzim papain 2%.

³ Asam amino hidrolisat protein ikan selar kuning (*Caranx leptolepis*) (Hidayat, 2005).

Data pada tabel 5 menunjukkan bahwa kandungan asam amino pada sampel tanpa penambahan enzim papain lebih rendah dibandingkan dengan kandungan asam amino sampel

yang dihidrolisis dengan penambahan enzim papain 2%. Penelitian Purbasari (2008) tentang produksi dan karakterisasi hidrolisat protein dari kerang mas ngur (*Atactodea striata*) menyatakan bahwa jenis asam amino hidrolisat protein kerang mas ngur sama dengan jenis asam amino pada protein kerang mas ngur, tetapi kadar beberapa jenis asam amino produk hidrolisat lebih tinggi dari kadar asam amino protein kerang mas ngur. Menurut Gesualdo dan Chan (1999), bahwa semua protein yang dihidrolisis akan menghasilkan asam-asam amino, tetapi ada beberapa protein yang disamping menghasilkan asam amino juga menghasilkan molekul-molekul protein yang masih berikatan.

Hidrolisat protein tinta cumi-cumi mengandung 14 jenis asam amino yang terdiri dari 6 asam amino non esensial dan 8 asam amino esensial. Asam amino non esensial yang tertinggi pada hidrolisat protein tinta cumi-cumi yaitu asam glutamat dan alanin dengan nilai 0,35% dan 0,30%, sedangkan Asam amino essensial tertinggi yaitu fenilalanin dan leusin dengan nilai 0,23% dan 0,21%. Hal ini sesuai dengan pernyataan Okuzumi dan Fujii (2000), bahwa melanoprotein tinta cumi-cumi mengandung asam amino esensial yang dominan berupa fenilalanin, leusin, dan arginin. Sementara kadar asam amino non esensial yang dominan adalah asam glutamat dan alanin.

Kandungan asam amino hidrolisat protein tinta cumi-cumi berbeda dengan hidrolisat protein ikan selar kuning (*Caranx leptolepis*) pada penelitian Hidayat (2005), yang melaporkan bahwa hidrolisat protein ikan selar kuning mempunyai nilai derajat hidrolisis AN/TN sebesar 0,07 dan kandungan α -amino nitrogen bebas sebesar 0,06 gr/100gr, Kandungan asam amino non esensial terbesar adalah asam glutamat dan asam aspartat dengan nilai 0,385% dan 0,185%, Asam amino esensial terbesar yaitu serin dan metionin dengan nilai 0,159% dan 0,120%. Menurut Okuzumi dan Fujii (2000), perbedaan kandungan asam amino ini disebabkan karena kandungan asam amino pada masing-masing spesies tidak sama. Masing-masing spesies memiliki proses fisiologis yang berbeda. Perbedaan kandungan asam amino ini juga dapat disebabkan oleh umur, musim penangkapan serta tahapan dalam daur hidup organisme.

Asam amino esensial yang jumlahnya paling rendah pada hidrolisat protein tinta cumi-cumi adalah metionin dan histidin. Asam amino metionin tidak terdeteksi pada hidrolisat protein tinta cumi-cumi sedangkan asam amino histidin mempunyai nilai 0,05%. Menurut Almatsier (2006), rendahnya salah satu jenis asam amino dapat dilengkapi dengan protein dari sumber lain yang memiliki asam amino berbeda. Beberapa macam protein dapat saling mengisi kekurangan asam amino esensial. Dua jenis protein yang terbatas dalam asam amino yang berbeda, bila dimakan secara bersamaan di dalam tubuh dapat menjadi susunan protein yang lengkap, dalam keadaan tercampur, asam amino yang berasal dari berbagai jenis protein dapat saling mengisi untuk menghasilkan protein yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan pemeliharaan tubuh.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan akan beberapa hal, yaitu sebagai berikut :

1. Penggunaan enzim papain pada hidrolisis protein tinta cumi-cumi dapat meningkatkan nilai rendemen, kandungan protein, α -amino nitrogen bebas, nilai derajat hidrolisis dan kandungan asam amino.

2. Perlakuan P2 (konsentrasi enzim 2%) merupakan perlakuan yang paling efisien pada hidrolisis protein tinta cumi-cumi, yang menghasilkan nilai rendemen 86,97%, kandungan protein dan total nitrogen 31,38 mg/ml, kandungan α-amino nitrogen bebas 10,83 mg/ml, derajat hidrolisis 34,56 dan memiliki kandungan asam amino paling tinggi.
3. Hidrolisat protein tinta cumi-cumi mengandung 14 asam amino dari 15 asam amino yang dianalisis, terdiri dari 8 asam amino esensial dan 6 asam amino nonesensial. Asam amino esensial yang terdapat pada hidrolisat protein tinta cumi-cumi adalah histidin, arginin, treonin, valin, isoleusin, leusin, fenilalanin, lisin. Asam amino non esensial yang terdapat pada hidrolisat protein tinta cumi-cumi adalah asam glutamat, asam aspartat, serin, glisin, alanin, dan tirosin.
4. Derajat hidrolisis protein tinta cumi-cumi berkisar antara 1,69 – 34,56. sedangkan nilai derajat hidrolisis tinggi yaitu 50% atau lebih.

4.2. Saran

Saran yang dapat penulis sampaikan yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang hidrolisis protein tinta cumi-cumi menggunakan enzim yang berbeda, dan pemanfaatan hidrolisat protein tinta cumi-cumi misalnya dengan membuat produk fortifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Alamatsier Y. 2006. Prinsip Dasar Ilmu dan Gizi. Cetakan keenam. Gramedia. Jakarta
- Ariyani, F. Saleh, M. Tazwir dan Hak, N. 2003. Optimasi proses produksi hidrolisat protein ikan (HPI) dari Mujair (*Oreochromis mossambicus*). Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia.
- Kementrian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. 2012. Statistik Ekspor Hasil Perikanan 2011. Direktur Jenderal Pengolahan dan Pemasaran Hasil Perikanan.
- Dewi, GC. 2002. Studi penggunaan enzim papain pada produksi hidrolisat protein ikan. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Dwinastiti, A. 1992. Pengaruh varietas dan penambahan NaCl pada getah pepaya terhadap rendemen dan mutu papain. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Istitut Pertanian Bogor.
- Gesualdo, AML dan Li Chan, ECY. 1999. Functional Properties of Fish Protein Hydrolisate from Herring (*Clupea harengus*). Journal of Food Science by (6): 1000-1004.
- Guerard, F. Dufosse, L. Broise, DL dan Binet, A. 2001. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) wastes using alcalase. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 11: 1051–1059
- Haslaniza, H. 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: 147-152
- Hidayat, T. 2005. Pembuatan hidrolisat protein dari ikan selar kuning (*Caranx leptolepis*) dengan menggunakan enzim papain. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Lehninger, AL. 1982. Principles of Biochemistry. *Diterjemahkan oleh Maggy Thenawidjaja*. Dasar-Dasar Biokimia I. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Mukholik. 1995. Pengaruh larutan tinta cumi-cumi dan suhu perebusan terhadap air rebusan cumi-cumi. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Okuzumi, M dan Fujii, T. 2000. Nutritional and Functional Properties of Squid and Cuttlefish. Japan: National Cooperative Association of Squid Processors.

- Purbasari, D. 2008. Produksi dan karakterisasi hidrolisat protein dari kerang mas ngur (*Atactodea striata*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor.
- Praptono, B. 2006. Produksi peptone ikan gulamah (*Argyrosonzun sp.*) sebagai sumber nitrogen media pertumbuhan mikroba. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Syahrizal, FSNA. 1991. Mikrobiologi kecap ikan yang dibuat secara hidrolisis enzimatis. skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Widadi, IR. 2011. Pembuatan dan karakterisasi hidrolisat protein dari ikan lele dumbo (*clarias gariepinus*) Menggunakan enzim papain. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Winarno, FG. 2003. Enzim pangan. Gramedia. Jakarta.