

HIDROLISIS ENZIMATIS DARI PROTEASE BIDURI PADA SUBSTRAT AYAM KAMPUNG SEBAGAI FLAVOR ENHANCER ALAMI

Yuli Witono dan Windrati, W.S.

Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
Jl. Kalimantan I Jember (68121); Email: ylwitono@yahoo.com

ABSTRACT

Enzymatic hydrolysis of “biduri” protease for local chicken substrate as reference to produce flavor enhancer was studied. The research was carried out on the variation of biduri protease concentration (0.05; 0.10 and 0.15%) and hydrolysis length (60, 90 and 120 minutes) with analysis on the main properties of local chicken hydrolysate. The research result showed that the concentration and hydrolysis length influenced the color, soluble protein and ‘Maillard’ product of local chicken hydrolysate. The presence of HVP (Hydrolysate Vegetable Protein) increased the soluble protein and Maillard product of local chicken hydrolysate. The addition of glukosa influenced the Maillard product, but did not impact the soluble protein. The existence of caramel sugar promoted the Maillard product of local chicken hydrolysate.

Key words: hydrolysate, local chicken, biduri protease.

PENDAHULUAN

Ayam kampung (*local chicken*) merupakan salah satu jenis ayam yang spesifik dan penting bagi masyarakat Indonesia. Ayam kampung mempunyai nilai gizi yang baik. Selain itu juga mempunyai rasa yang lebih khas dan nikmat dibanding dengan jenis ayam pedaging maupun petelur. Serat yang liat dan kenyal menjadi ciri utamanya. Bahkan setiap event hari raya ayam kampung identik dengan makanan yang harus diadakan. Ayam kampung mempunyai keistimewaan dibanding yang lain, diantaranya: lebih tahan terhadap penyakit. Tahan dan mudah menyesuaikan dengan cuaca di Indonesia. Pemeliharaannya relatif mudah, bahkan bisa diberi makanan ala kadarnya dengan makanan sisa-sisa dan dapat dilepas secara bebas. Karena rasa yang khas dan enak tersebut, ayam kampung merupakan bahan yang dapat dijadikan sebagai sumber flavor alami.

Sebagaimana produk daging-dagingan lainnya, dengan kadar protein dan air yang tinggi, ayam kampung segar sangat mudah rusak atau daya simpannya sangat rendah. Oleh karena itu perlu dikembangkan teknologi untuk konversi bahan baku ayam kampung menjadi produk yang berdaya simpan tinggi dan bersifat multiguna. Salah satunya ialah teknologi proses ayam kampung menjadi hidrolisat.

Selama proses hidrolisis, protein akan mengalami perubahan sehingga hidrolisat protein dapat diaplikasikan untuk tujuan tertentu (Cordle, 1994). Menurut Peterson (1981) dan Clegg dan McMilan (1979) dalam Koesoemawardani dan Hadiwiyoto (2001) hidrolisat protein dapat dimanfaatkan untuk memodifikasi karakteristik fungsi protein sekaligus memperbaiki sifat fungsionalnya. Pemanfaatan hidrolisat protein relatif lebih murah daripada campuran asam amino sintetis.

Percobaan terbaru pada *Zucker Rats* (sejenis tikus) menunjukkan bahwa protein hidrolisat dari ikan dapat menurunkan kolesterol total plasma darah, meningkatkan proporsi HDL dan menurunkan aktivitas akiltransferase kolesterol (Wergedahl *et al.*, 2007). Hidrolisat protein juga dapat dimanfaatkan sebagai suplemen dan formulasi dasar dari makanan bagi pasien sesuai kebutuhannya (Clemente, 2000). Selain itu, hidrolisat protein juga berpotensi sebagai bumbu penyedap masakan, alternatif selain MSG (*Monosodium Glutamate*). Menurut Synowiecky *et al.* (1996) dalam Koesoewardani dan Hadiwiyoto (2001) beberapa produk olahan yang memanfaatkan hidrolisat protein karena sifat fungsionalnya sesuai adalah sup (untuk dehidrasi), bumbu kecap (penambah flavor), kaldu, fortifikasi dalam cereal, minuman beralkohol dan makanan ternak.

Hidrolisat protein merupakan suatu produk hasil hidrolisis yang dapat dilakukan secara enzimatis menggunakan protease. Dibandingkan dengan hidrolisis secara kimia, hidrolisis secara enzimatis lebih menguntungkan karena tidak mengakibatkan kerusakan asam amino. Lebih lanjut disebutkan oleh Clemente (2000) bahwa hidrolisis secara enzimatis menghasilkan komposisi asam amino tertentu terutama peptida rantai pendek (dipeptida dan tripeptida) yang lebih mudah diabsorpsi oleh tubuh.

Mengingat enzim protease untuk industri pangan selama ini kebanyakan masih impor dan harganya relatif mahal, maka perlu dikembangkan pemanfaatan enzim protease yang bersumber dari bahan alam lokal di Indonesia, salah satunya adalah protease dari tanaman biduri (*Calotropis gigantea*). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak dari tanaman biduri baik getah, batang maupun daun sangat potensial sebagai sumber enzim protease (Witono, 2002a; dan Witono, 2002b). Hasil karakterisasi enzim protease dari tanaman biduri, berdasarkan spesifitasnya mengindikasikan termasuk dalam golongan eksopeptidase (Witono dkk., 2004) yang sangat cocok untuk aplikasi pada pembuatan hidrolisat protein (*flavor enhancer*).

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk menelaah hidrolisis dari protease biduri dalam pembuatan hidrolisat ayam kampung sebagai dasar dalam pengembangan teknologi produksi flavor enhancer alami.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian adalah ayam kampung segar yang dibeli dari Kios Ayam Segar di Pasar Tanjung Jember dan enzim protease biduri yang diproduksi melalui metode penelitian yang dilakukan sebelumnya (Witono, dkk., 2007a). Ingridien lain yang digunakan adalah HVP dan glukosa yang dibeli dari CV. Ardian Chemindo Surabaya serta gula karamel yang dibeli dari Toko HMS Jember. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis berspesifikasi *pro analysis* dari Merck (Jerman).

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: blender (stainless steel), sentrifus (Yenaco model YC-1180), Spectrometer (Geaesy 10 UV Scanning, US), pH meter (Jen Way tipe 3320, Jerman), magnetik stirer (Stuart Scientific), vortex (Thermolyne type 16700), lemari pendingin, waterbath (GFL 1083), neraca analitik (Ohaus), pemanas listrik (Gerhardt), spatula, oven vacuum, vortex (Maxi Max Type 16700) dan alat-alat gelas terkait.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan menelaah beberapa faktor yang berperan selama proses pembuatan hidrolisat ayam kampung. Beberapa faktor yang dimaksud meliputi: (1) konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisisnya, serta pengaruh penambahan *food additives*, seperti (2) HVP (*hydrolysate vegetables protein*), (3) glukosa dan (4) gula karamel. Sesuai dengan faktor-faktor yang dikaji tersebut, maka penelitian ini dilakukan secara bertahap yang saling terkait, dimana hasil penelitian tahap sebelumnya mendasari penelitian tahap berikutnya. Urutan faktor-faktor yang ditelaah tersebut menggambarkan urutan tahapan penelitiannya. Parameter utama yang diamati adalah warna (tingkat kecerahan), kadar protein terlarut (Waterborg and Matthews, 1996) dan produk Maillard (Hofmann *et al.*, 1999). Hasil dari penelitian ini akan digunakan sebagai dasar untuk pengembangan teknologi produksi flavor enhancer

dari ayam kampung berbasis hidrolisis enzimatis dengan memanfaatkan aktifitas proteolitik dari enzim biduri.

Pelaksanaan Penelitian

Ayam kampung dipisahkan dari bulu, tulang, organ dalam dan kepala, lalu dicuci, diambil sampel dan diblender bersama aquades dengan perbandingan (bahan:air = 1:2). Suspensi ayam kampung ditambahkan dengan enzim biduri dengan konsentrasi 0,05; 0,10 dan 0,15% (% berat dari daging ayam kampung). Kemudian dihidrolisis dalam waterbath pada suhu 55°C dengan lama inkubasi (60, 90 dan 120 menit) (*faktor perlakuan Tahap 1*), dipanaskan pada suhu 100°C selama 15 menit untuk inaktivasi enzim protease. Lalu disaring dan ditambahkan HVP (0,5; 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5%) (*faktor perlakuan Tahap 2*); glukosa (5, 10, 15 dan 20%) (*faktor perlakuan Tahap 3*) dan gula karamel (5, 10, 15, 20 dan 25%) (*faktor perlakuan Tahap 4*). Selanjutnya dipanaskan pada suhu 100°C selama 10 menit. Setelah disaring lalu dipanaskan kembali pada suhu 100°C selama 15 menit. Lalu diamati kadar protein terlarut dan produk Maillard dari hidrolisat protein ayam kampung.

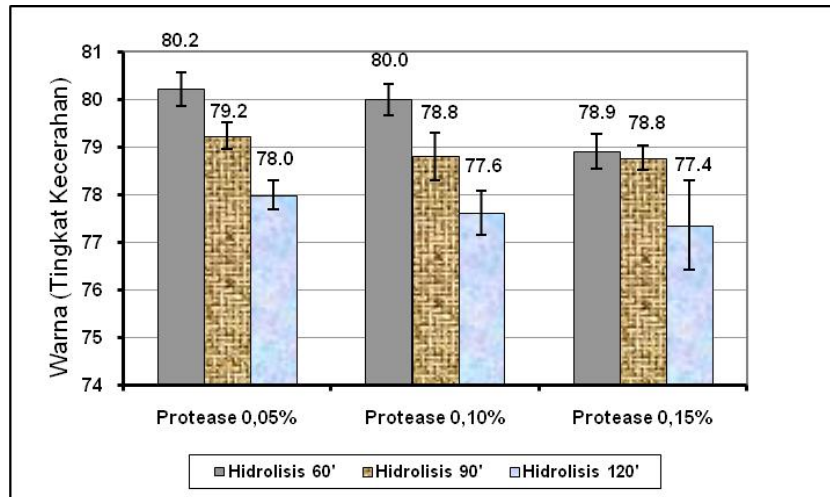
Analisa dan Intrepretasi Data

Untuk memudahkan intrepretasi, maka data hasil pengamatan ditabulasi, selanjutnya nilai-rata ulangan hasil penelitian diploting dalam bentuk histogram atau grafik, selanjutnya dianalisa secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Konsentrasi dan Lama Hidrolisis

Histogram tingkat kecerahan hidrolisat protein ayam kampung pada berbagai variasi konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisisnya sebagaimana tertera pada Gambar 1.

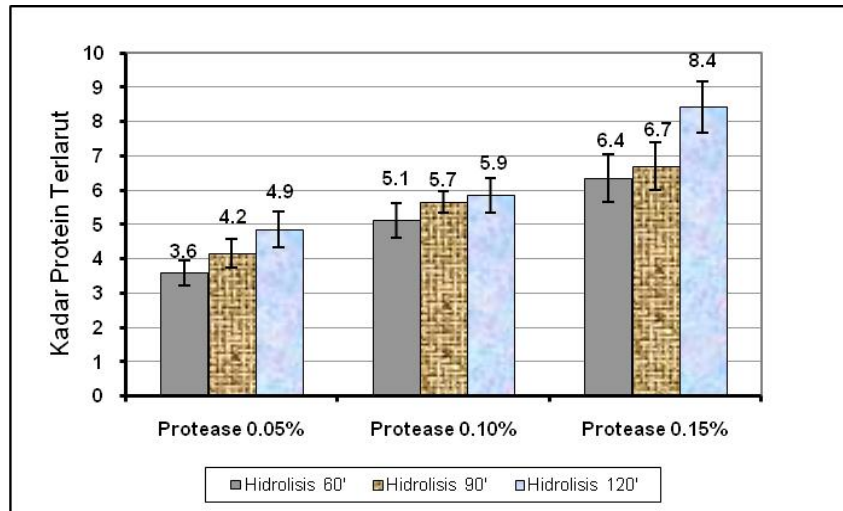


Gambar 1. Tingkat Kecerahan Hidrolisat Ayam Kampung pada Berbagai Konsentrasi dan Lama Hidrolisis

Gambar 1 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi protease biduri sampai 0,15%, maka nilai warna hidrolisat ayam kampung yang dihasilkan semakin menurun, berarti warna yang terbentuk semakin gelap. Hal ini terjadi karena pada saat proses hidrolisis terjadi pemutusan ikatan peptida oleh enzim protease biduri menghasilkan gugus amina yang merupakan prekursor reaksi Maillard, dimana pada keadaan ini gugus amina protein bereaksi dengan gugus aldehid atau keton dari gula reduksi, sehingga menghasilkan warna coklat. Semakin tinggi konsentrasi protease biduri yang digunakan, asam-asam amino sebagai prekursor Maillard semakin banyak, sehingga dihasilkan warna hidrolisat protein ayam kampung yang semakin gelap.

Demikian juga, semakin lama hidrolisis sampai 120 menit, maka nilai warna hidrolisat ayam kampung semakin rendah (semakin gelap). Hal ini karena semakin lama hidrolisis, produk Maillard semakin tinggi, sehingga warna semakin gelap. Hasil serupa juga dilaporkan Witono dkk. (2007b) yaitu bahwa semakin lama inkubasi dengan enzim protease biduri, maka warna hidrolisat dari protein kedelai yang dihasilkan semakin gelap.

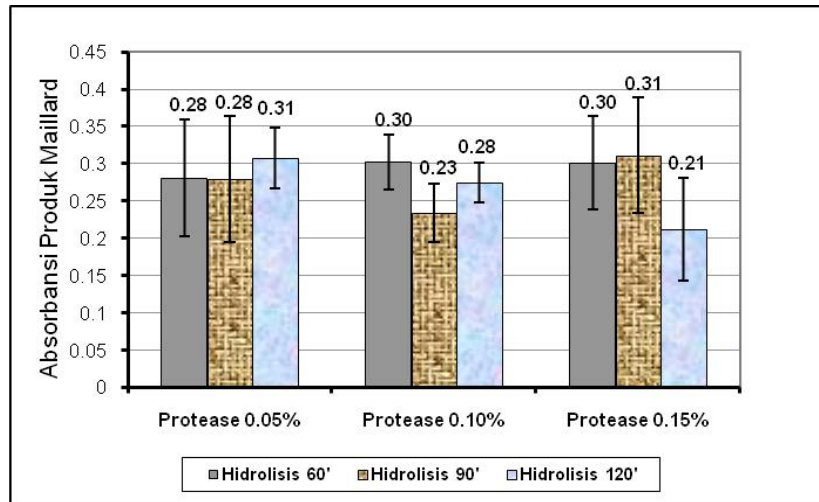
Konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis berpengaruh terhadap kadar protein terlarut hidrolisat ayam kampung yang dihasilkan. Adapun histogram perubahan kadar protein terlarut hidrolisat ayam kampung pada berbagai variasi konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisisnya sebagaimana tertera pada Gambar 2.



Gambar 2. Kadar Protein Terlarut Hidrolisat Ayam Kampung pada Berbagai Konsentrasi dan Lama Hidrolisis

Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi protease biduri sampai 0,15% dan semakin lama waktu hidrolisis sampai 120 menit, kadar protein terlarut hidrolisat ayam kampung yang dihasilkan semakin meningkat. Hal ini dikarenakan semakin besar konsentrasi protease biduri sampai 0,15% dan semakin lama waktu hidrolisis sampai 120 menit, maka semakin banyak ikatan peptida dari protein yang terputus menjadi peptida dan asam-asam amino. Menurut Nielsen (1997) keberadaan peptida sederhana dan asam-asam amino dapat meningkatkan kelarutan protein. Semakin lama hidrolisis, kontak enzim dengan substrat semakin lama, sehingga dihasilkan asam-asam amino yang semakin banyak, yang pada akhirnya akan meningkatkan kelarutan produk hidrolisat. Sebagaimana juga dilaporkan oleh Hrckova *et al.* (2002) bahwa jumlah asam amino bebas dari hidrolisis protein kedelai bebas lemak menggunakan protease selektif, juga meningkat seiring dengan lamanya waktu inkubasi.

Histogram produk Maillard hidrolisat ayam kampung pada berbagai variasi konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisisnya sebagaimana tertera pada Gambar 3. Konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis berpengaruh terhadap produk Maillard hidrolisat ayam kampung yang dihasilkan, walau pengaruhnya tidak konsisten.



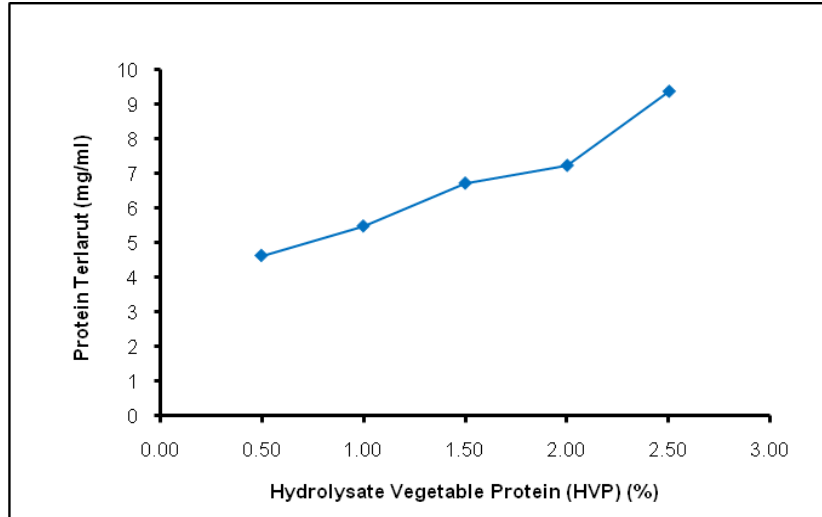
Gambar 3. Produk Maillard dari Hidrolisat Ayam Kampung pada Berbagai Konsentrasi dan Lama Hidrolisis

Semakin besar konsentrasi protease biduri sampai 0,15% (terutama pada lama hidrolisis 60 dan 90 menit), maka nilai produk Maillard hidrolisat ayam kampung yang dihasilkan semakin tinggi. Hal ini terjadi karena dengan semakin banyaknya enzim protease biduri yang digunakan sampai 0,15%, maka semakin memperbanyak jumlah asam amino yang dihasilkan sebagai prekursor terjadinya reaksi dengan gula reduksi, dengan demikian produk Maillard yang dihasilkan juga semakin banyak. Karel *et al.* (1993) in Miao and Roos (2004) dan Miller and Gerrard (2005) menyatakan bahwa reaksi Maillard (*non enzymatic browning*) merupakan reaksi antara gugus karbonil dan gugus amina primer yang melibatkan reaksi kondensasi.

Gambar 3 menunjukkan bahwa lama hidrolisis sampai 120 menit tidak menunjukkan perubahan yang konsisten terhadap nilai produk Maillard hidrolisat ayam kampung, sebagian meningkat tetapi sebagian lainnya justru terjadi penurunan. Hal ini diduga karena tidak semua protein terlarut maupun asam-asam amino hasil hidrolisis berpotensi sebagai prekursor reaksi mailard. Fenomena yang sama dihasilkan dari hidrolisis enzim biduri pada substrat milkfish (Witono, 2007), beberapa komponen prekursor reaksi Maillard diduga rusak atau hilang selama pemanasan. Kumara (2006) dalam review pustakanya menyatakan bahwa, dalam proses panas selain terbentuk komponen-komponen flavor, pada kenyataannya ada beberapa komponen yang hilang atau menurun (*off-flavor*) selama reaksi berjalan. Sehingga dalam suatu reaksi maillard kadang diperlukan kehadiran komponen tambahan dari luar.

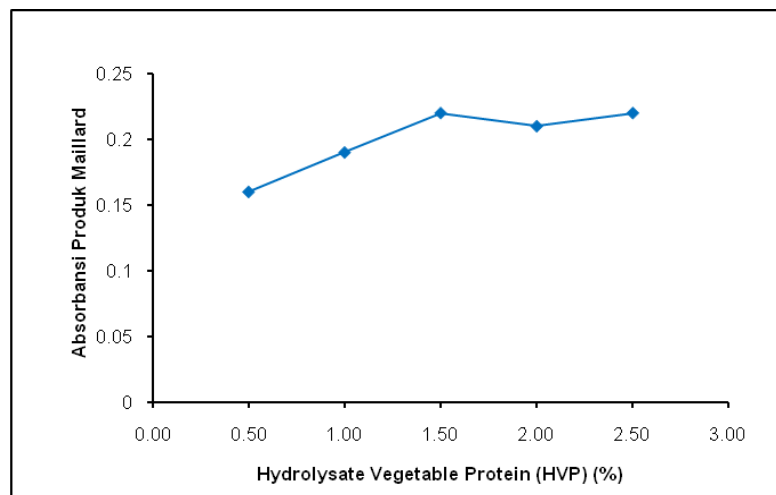
Pengaruh Penambahan Hydrolysate Vegetable Protein (HVP)

Pengaruh penambahan HVP terhadap kadar protein terlarut dari hidrolisat ayam kampung hasil hidrolisis dengan protease biduri tertera pada Gambar 4.



Gambar 4. Pengaruh HVP terhadap Protein Terlarut Hidrolisat Ayam Kampung

Gambar 4 menunjukkan bahwa kehadiran HVP memberikan pengaruh sangat signifikan terhadap kadar protein terlarut hidrolisat ayam kampung hasil hidrolisis dengan enzim protease biduri. Semakin tinggi konsentrasi HVP sampai 2,5%, maka kadar protein terlarut hidrolisat ayam kampung semakin tinggi. Sedangkan, pengaruh penambahan HVP terhadap produk Maillard dari hidrolisat ayam kampung hasil hidrolisis dengan protease biduri tertera pada Gambar 5.



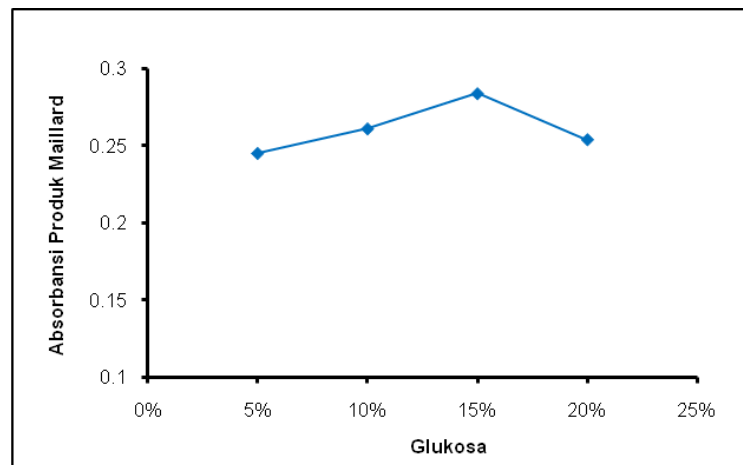
Gambar 5. Pengaruh HVP terhadap Produk Maillard Hidrolisat Ayam Kampung

Penambahan HVP sampai 1,5% ternyata memberikan kontribusi terhadap pembentukan produk Maillard dari hidrolisat ayam kampung hasil hidrolisis dengan

protease biduri. Hal ini karena HVP merupakan sumber protein terlarut dan asam-asam amino yang sangat berpotensi menjadi prekursor reaksi Maillard. Witono (2007) dalam penelitian hidrolisis milkfish menggunakan protease biduri yang selanjutnya ditambah HVP juga menunjukkan tren yang sama.

Pengaruh Penambahan Glukosa

Pengaruh penambahan glukosa terhadap produk Maillard dari hidrolisat ayam kampung hasil hidrolisis dengan protease biduri tertera pada Gambar 6.

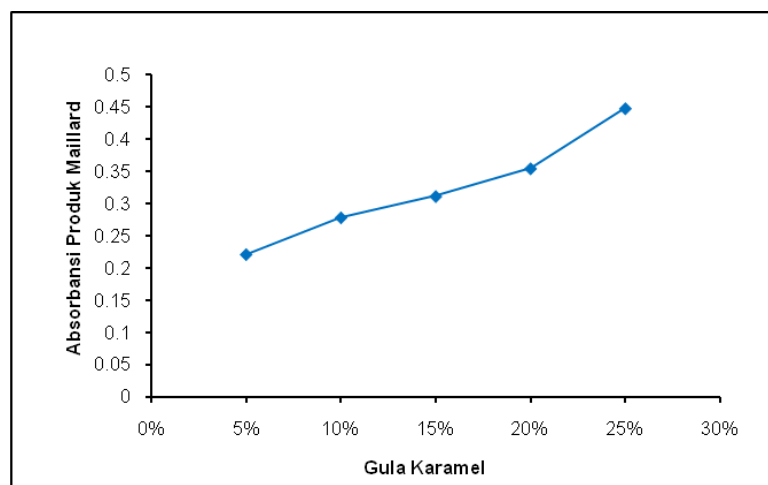


Gambar 6. Pengaruh Glukosa terhadap Produk Maillard Hidrolisat Ayam Kampung

Penambahan glukosa sampai 15% membantu meningkatkan produk Maillard dari hidrolisat ayam kampung, tetapi tidak berpengaruh terhadap kadar protein terlarut (data tidak ditunjukkan). Penambahan glukosa di atas konsentrasi 15% justru menurunkan produk Maillard dari hidrolisat protein ayam kampung. Sehingga penambahan glukosa di atas 15% sudah tidak efektif lagi dalam mendorong peningkatan produk Maillard.

Pengaruh Penambahan Gula Karamel

Pengaruh penambahan gula karamel terhadap produk Maillard dari hidrolisat ayam kampung hasil hidrolisis dengan protease biduri tertera pada Gambar 7.



Gambar 7. Pengaruh Gula Karamel terhadap Produk Maillard Hidrolisat Ayam Kampung

Penambahan gula karamel ternyata juga meningkatkan produk Maillard dari hidrolisat ayam kampung, tetapi tidak berpengaruh terhadap kadar protein terlarut (data tidak ditunjukkan). Semakin tinggi konsentrasi gula karamel sampai 25%, maka menghasilkan hidrolisat ayam kampung dengan intensitas Maillard yang semakin tinggi pula.

KESIMPULAN DAN SARAN

Konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis berpengaruh terhadap warna, kadar protein terlarut dan produk Maillard dari hidrolisat ayam kampung. Kombinasi konsentrasi 1,5% dan lama hidrolisis 90 menit merupakan perlakuan yang paling optimal dan selanjutnya dapat dipilih dalam produksi hidrolisat ayam kampung sebagai flavor enhancer. Juga perlu dipertimbangkan penambahan HVP maksimal sampai 1,5% dan glukosa maksimal 15%. Gula karamel dapat ditambahkan sampai 25% bila menghendaki intensitas produk Maillard yang semakin kuat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (DP2M) DIKTI yang telah mensupport kegiatan penelitian ini melalui Program Hibah Kompetensi Batch II.

DAFTAR PUSTAKA

- Clemente, A. 2000. Enzymatic Protein Hydrolysis in Human Nutrition. *Food Sci. and Technol.* 11: 254-262.
- Cordle, C.T. 1994. Control of Food Allergies Using Protein Hydrolysates. *Food Technol.* 48 (10): 72-76.
- Hofmann, T., Bors, W., dan Stettmaier, K., 1999. Studies on Radical Intermediates in The Early Stage of The Nonenzymatic Browning Reaction of Carbohydrates and Amino Acids, *J. Agric. Food Chem.* 47: 379-390.
- Hrckova, M., Rusnakova, M. and 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 J. Food Sci.* 20 (1), 7-14.
- Koesoemawardhani, D. Dan Hadiwiyoto, S. 2001. Produksi Hidrolisat Protein Ikan Kembung (*Rastrelliger neglectus*) Menggunakan Enzim Pepsin. *Prosiding Seminar Nasional-Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)*, Semarang.
- Kumara, B. 2006. Meat Flavor Imitation berbasis Reaksi Maillard. *Food Review.* Vol 1 No. 11: 42-49.
- Miao, S. and Roos, Y.H., 2004. Comparison of Nonenzymatic Browning Kinetics in Spray-dried and Freeze-dried Carbohydrate-based Food Model Systems. *J. Food Sci.* 69 (7), 321-331.
- Miller, A.G. and Gerrard, J.A., 2005. The Maillard Reaction and Food Protein Crosslinking. *Progress in Food Biopolymer Research.* 1, 69-86.
- Nielsen, P. M. 1997. Functionality Of Protein Hydrolysates. In Damodaran, S. 1997. *Food Proteins and Their Applications.* Marcel Dekker, Inc. New York
- Synowecki, J., Jagielke, R. Dan Shahidi, F. 1996. Preparation of Hydolysates from Bovine Red Blood Cells and Their Debittering Following Plastein Reaction. *Food Chem.* 57 (3): 435-439.
- Waterborg, J. H. and Matthews, H. R. 1996. *The Lowry Method for Protein Quantitation. Di dalam The Protein Proteocols Handbook.* J. M. Walker. Humana Press Inc. Totowa. pp: 7-9.
- Wergedahl, H., Liaset, B., Gudbrandsen, O.A., Lied, E., Espe, M., Muna, Z., Merk, S. And Berge, R.K. 2007. Fish Protein Hydrolysate Reduces Plasma Total Cholesterol, Increase the Proportion of HDL Cholesterol, and Lowers Acyl-CoA: Cholesterol Acyltransferase Activity in Liver of Zucker Rats. *Journal of Nutrition,* 1320-1327.
- Witono, Y., 2002a. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease dari Getah Tanaman Biduri. *J. Teknologi Hasil Pertanian,* 1(1): 1- 14.
- Witono, Y., 2002b. Pemanfaatan Enzim Protease dari Tanaman Biduri untuk Pengolahan Makanan. *J. Sains dan Teknologi,* 1(1): 32 - 37.

- Witono, Y., Subagio, A., Windrati, W.S., Praptiningsih, Y., dan Hartanti, S., 2004. Enzim Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*), *Prosiding Seminar Nasional - Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)*, Jakarta.
- Witono, Y., 2007. Studi Pendahuluan Proses Pembuatan Hidrolisat Ikan Bandeng (*Milkfish*) secara Enzimatis Menggunakan Protease Biduri, *Agritek*, 15 (5): 988-992.
- Witono, Y., Aulanni'am, Subagio, A. and Widjanarko, S.B., 2007a. Study on Production Technology of Protease from Biduri Plant (*Calotropis gigantea*) Directly, *Journal of Agroteknologi*, 1(1), 8-16.
- Witono, Y., Aulanni'am, Subagio, A. and Widjanarko, S.B., 2007b. Characteristic of Soy Protein Hydrolysate Protein from Enzymatic Hydrolysis Processing by Using Protease from Biduri Plant, *Journal of Biological Research*, 3 (1), 7-13.