Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem
Vol. 5 No. 1, Februari 2017, 56-65

PENGARUH PENAMBAHAN ENZIM PAPAIN KOMERSIAL DALAM PEMBUATAN HIDROLISAT PROTEIN DARI LIMBAH CAIR SURIMI

Sumardi Hadi Sumarlan*, Yusuf Wibisono, La Choviya Hawa, Linda Luvi Nurwindi

Jurusan Keteknikan Pertanian - Fakultas Teknologi Pertanian - Universitas Brawijaya
Jl. Veteran, Malang 65145
*Penulis Korespondensi, Email: smardihs@yahoo.com

ABSTRAK

Limbah cair surimi mengandung 2220mg/L protein terlarut dalam air. Tingginya kandungan protein tersebut menjadikan limbah cair surimi berpotensi untuk dijadikan hidrolisat protein. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan enzim *papain* pada proses hidrolisis protein dari limbah cair surimi terhadap kandungan protein dan amonia. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor yakni konsentrasi penambahan enzim dan waktu pengamatan dengan tiga kali pengulangan. Konsentrasi enzim yang digunakan yakni 1, 2, 3, 4, dan 5% (b/v) dengan lama hidrolisis 48 jam dan diamati pada 0, 12, 24, 36, dan 48 jam. Parameter yang diamati adalah kandungan protein, amonia dan kadar air dari hidrolisat protein. Pada penelitian ini, didapat pemurnian enzim *papain* sebesar 5.85 kali dengan aktivitas spesifik sebesar 0.000212899 U/mg. Kandungan protein hidrolisat protein dari limbah cair surimi menurun dari jam ke-0 hingga jam ke-48. Penurunan kandungan protein terbanyak terjadi pada konsentrasi penambahan enzim sebesar 1% (b/v) dengan penurunan kandungan protein dari 2220mg/L menjadi 498mg/L. Kandungan ammonia hidrolisat meningkat dari jam ke-0 hingga jam ke-48 dengan perlakuan terbaik terjadi pada konsentrasi penambahan enzim 1%(b/v) dengan kenaikan kandungan amonia tertinggi yakni dari 5.62mg/L menjadi 170.64mg/L. Kadar air hidrolisat mengalami kenaikan seiiring dengan bertambahnya konsentrasi enzim yang ditambahkan dalam limbah cair surimi dengan kisaran nilai 78.993% - 95.016%.

Kata kunci: Enzim *papain*, Hidrolisat protein, Limbah cair surimi

The Effect of Commercial Papain Enzyme Addition in Hydrolysate Protein Manufacture from Surimi Wastewater

ABSTRACT

Surimi wastewater contains about 2220 mg/L protein dissolved in water. The high protein content, it makes surimi's wastewater potentially a protein hydrolyzate. This study aimed to determine the effect of papain enzyme hydrolysis process of wastewater surimi protein to protein content and amonia. The experimental design used was a randomized block design (RAK) with two factors namely the addition of enzyme concentration and time of observation with three repetitions. The enzyme concentration is used that is 1, 2, 3, 4, and 5% (w/v) with the old hydrolysis of 48 hours and observed at 0, 12, 24, 36, and 48 hours. The parameters measured were the content of protein, amonia and water content of protein hydrolysates. In this study, the purification of the papain enzyme is obtained by 5.85 times with a specific activity of 0.213 U/mg.min. The protein content of the protein hydrolyzate effluent surimi decreased from hour 0^{th} until the 48^{th} hour. The decline in protein content occurred on the addition of enzyme concentration of 1% with the lowest decrease in protein content of 2220 mg/L to 498 mg/L. The content of amonia hydrolyzate increased from hour 0^{th} until the 48^{th} hour with the best treatment also occur in addition of enzyme concentration of

1% with the highest increase in amonia content of 5.62 mg/L to 170.64 mg/L. The water content of the hydrolyzate increased concurrently with the increasing concentration of the enzyme added in the surimi's wastewater with the value range 78 993% - 95 016%.

Key words: Papain enzyme, Protein hydrolyzate, Surimi wastewater

PENDAHULUAN

Surimi merupakan produk dari ikan yang telah mengalami proses pencucian, pemisahan daging dari kulit dan tulang, penghalusan dan pencampuran dengan bahan makanan yang bersifat *cryoprotective* (FAO dan WHO, 2012). Dalam proses pengolahan surimi, dihasilkan limbah padat dan cair. Limbah padat berasal dari organ-organ bahan baku (ikan, udang, rajungan) yang tidak digunakan dalam proses pengolahan ataupun ikan utuh yang tidak lolos seleksi laboratorium. Limbah cair yang dihasilkan berasal dari pencucian bahan baku, proses pasteurisasi dan sisa-sisa proses pengolahan. Limbah padat biasanya dikonversi menjadi pakan ternak atau ikan, namun limbah cair hanya dibuang begitu saja. Hal tersebut dapat menimbulkan pencemaran lingkungan karena kandungan organik yang sangat tinggi (Nurhayati *dkk*, 2015). Salah satu pencemaran yang terjadi adalah timbulnya bau busuk yang disebabkan oleh dekomposisi lanjut protein yang kaya akan asam amino bersulfur sehingga menghasilkan asam sulfida, gugus thiol, dan amonia (Devi *dkk*, 2012).

Limbah cair hasil pengolahan surimi mengandung sekitar 2-5 g/L protein terlarut dalam air. Limbah cair dari pencucian pertama surimi menggunakan air bersih mengandung konsentrasi protein, nitrogen non-protein, lemak, dan abu paling tinggi (Afonso *et al*., 2002). Kandungan protein dalam limbah tersebut berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai hidrolisat protein melalui reaksi hidrolisis. Reaksi hidrolisis dapat dilakukan dengan memanfaatkan bahan kimia maupun makhluk hidup seperti mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim atau dapat pula menggunakan ekstrak enzim secara langsung yang dapat digunakan dalam proses hidrolisis, salah satunya adalah enzim *papain*. Makromolekul berupa protein akan di hidrolisis menjadi asam amino kemudian diubah menjadi mineral yang mengandung unsur nitrogen, fosfat, dan amonia.

Enzim *papain* merupakan enzim proteolitik yang digunakan dalam proses hidrolisis untuk memecah rantai ikatan protein menjadi ikatan yang lebih sederhana. Keuntungan dari penggunaan enzim *papain* komersial adalah harga yang cukup ekonomis, mudah didapat dan efektif digunakan untuk hidrolisis. Menurut Yuniawati (2008), enzim *papain* memiliki daya tahan panas paling tinggi dibandingkan enzim proteolitik lain. Selain itu, menurut EDC (1999) *dalam* Purbasari (2005), aktivitas enzim *papain* cukup spesifik karena hanya dapat mengkatalisis proses hidrolisis dengan baik pada kondisi pH dan suhu dengan kisaran waktu tertentu. Beberapa penelitian telah dilakukan untuk meneliti pembuatan hidrolisat protein menggunakan enzim *papain* komersial. Salah satunya adalah Hidayat (2005), melakukan penelitian tentang pembuatan hidrolisat protein dari ikan selar kuning dengan agen penghidrolisis adalah enzim *papain* komersial. Namun, dalam penelitian ini tidak diuji seberapa besar aktivitas enzim yang digunakan. Oleh karena itu, dalam penelitian ini, penulis akan menganalisis tingkat kemurnian dan aktivitas enzim papain yang digunakan, serta proses pembuatan hidrolisat protein dari limbah cair surimi dengan agen hidrolisis menggunakan enzim *papain* komersial.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan – bahan yang digunakan dalam pemurnian enzim *papain* komersial yaitu enzim *papain* komersial merek PAYA, kantong selofan yang diperoleh dari Laboratorium Biosains Universitas Brawijaya, dan bahan kimia seperti *buffer fosfat*, HCl, NaOH, BaCl2, TCA, akuades pH 7, reagan

Lowry A dan B, folin, dan amonium sulfat diperoleh dari toko Makmur Sejati, Malang, serta kasein yang diperoleh dari toko Panadia, Malang.

Sedangkan bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat protein yaitu kakap merah (*Lutjanus sp.*), enzim *papain* komersial merek PAYA, kertas saring, akuades, dan bahan kimia seperti reagan *Lowry* A dan B, folin, EDTA, reagan *Nessler* diperoleh dari toko Makmur Sejati, Malang.

Metode Penelitian

Pemurnian Enzim *Papain*

Enzim *papain* sebanyak 12 gram dilarutkan dalam *buffer* fosfat 0,05 M sebanyak 108 mL, diambil 10 mL untuk dilakukan analisis kandungan protein dan uji aktivitas enzim. Kemudian ditambahkan amonium sulfat sebanyak 60% (w/v) dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* pada suhu 4^{o}C. Larutan campuran didiamkan semalam dalam lemari pendingin, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 7000 rpm pada suhu 4^{o}C selama 10 menit. Bagian endapan yang merupakan enzim setengah murni diambil dengan cara membuang supernatan. Endapan ditambahkan 16 mL *buffer* fosfat 0,05 M pH 7 dan dimasukkan ke dalam kantong selofan. Campuran dalam kantong selofan kemudian direndam dalam 400 mL larutan *buffer* fosfat 0,005 M pH 7 sambil diaduk menggunakan *magnetic strirrer* pada suhu 4^{o}C. Dialisis dilakukan semalam, saat 6 jam pertama larutan *buffer* perendam diganti dengan larutan *buffer* fosfat 0,005 M pH 7 yang baru sebanyak 400 mL. Selanjutnya setiap satu jam larutan *buffer* diganti. Dialisis dilalukan sampai semua garam terpisah. Untuk mengetahui jika dialisis sudah selesai, larutan *buffer* perendam diambil 5 mL dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 1 mL larutan HCl 0.1 M dan ditambahkan 3 tetes larutan BaCl2 0.1 M. Apabila tidak terbentuk endapan, maka dialisis dapat dihentikan.

Pengukuran Unit Aktivitas Enzim

Enzim protease sebanyak 1mL dicampur 2 mL larutan kasein 0,5% dengan 0,5 mL larutan buffer fosfat pH 7 dan didiamkan selama 10 menit suhu 37^{o}C. Dihentikan reaksinya menggunakan 2,5 mL TCA 5% lalu diinkubasi 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya larutan disentrifugasi 4000 rpm selama 20 menit. Selanjutnya diambil 1mL filtrat dan diencerkan hingga 5mL. Setelah disentrifugasi supernatan dibaca serapannya pada λ maksimum dengan spektrofotometer. Hasil absorbansi dikonversikan menjadi tirosin. Nilai serapan akan digunakan dalam perhitungan unit aktivitas enzim dan tingkat kemurnian enzim.

Pembuatan Limbah Cair Surimi

Daging ikan dipisahkan dari tulang, duri, dan kotoran, kemudian digiling menggunakan grinder sehingga dihasilkan lumatan daging ikan. Selanjutnya daging ikan direndam dua kali, perendaman yang pertama menggunakan air dingin bersuhu 15±1^{o}C dengan perbandingan air:daging adalah 3:1 yang dilakukan selama 10 menit. Setelah itu, daging disaring dan diperas menggunakan kain blacu. Perendaman kedua dilakukan menggunakan larutan garam dengan perbandingan volume larutan garam : daging adalah 3:1 atau 0,3% (b/b) selama 10 menit. Kemudian daging disaring dan diperas kembali dengan kain blacu (Rostini, 2013). Air bekas perendaman tersebut yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan hidrolisat protein.

Pembuatan Hidrolisat Protein

Limbah cair surimi sebanyak 200 mL ditambahkan enzim *papain* sebanyak 1, 2, 3, 4, dan 5% (w/v) (konsentrasi enzim dikali dengan tingkat kemurnian enzim) kemudian diaduk dengan kecepatan 100 rpm dan dipanaskan dengan suhu 40^{o}C selama 48 jam dengan waktu pengamatan 0, 12, 24, 36, 48 jam. Selanjutnya dilakukan analisa protein, amonia, dan fosfat.

Metode analisis

Kandungan amonia diuji menggunakan metode *Nessler* sedangkan protein diukur menggunakan metode *Lowry*. Kedua analisis ini dilakukan pada 0, 12, 24, 36, dan 48 jam hidrolisat. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan *software statistic*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemurnian Enzim Papain Komersial

Proses pemurnian enzim diawali dengan dilakukan uji kandungan protein dan aktivitas enzim terhadap ekstrak kasar enzim. Data rangkuman pemurnian dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan pengujian kandungan protein menggunakan metode *Lowry* diperoleh 0.162 mg/mL. Aktivitas proteolitik menyatakan kemampuan enzim untuk memecah protein menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan satuan U/mL, dalam penelitian ini protein yang digunakan adalah kasein dan senyawa sederhana yang dimaksud adalah tirosin. Hasil pengujian menunjukkan bahwa aktivitas proteolitik enzim kasar sebesar 0.0072 U/mL. Aktivitas spesifik enzim menyatakan jumlah enzim yang mengubah 1µmol substrat per menit pada kondisi optimum dan digunakan untuk mengukur kinerja enzim. Nilai aktivitas spesifik diperoleh dengan membagi aktivitas proteolitik enzim dengan kadar protein enzim. Enzim *papain* kasar memiliki aktivitas spesifik rata-rata 0.0447 U/mg.menit. Ekstrak kasar selanjutnya ditambahkan amonium sulfat sebanyak 60% (w/v) dan didiamkan semalam pada suhu rendah. Menurut Rohmah (2015), dengan penambahan amonium sulfat sebagai garam dapat menyebabkan *salting out* sehingga ion garam akan menarik keluar air dalam protein yang terlarut dalam *buffer*. Hasil pengendapan amonium sulfat disentrifugasi untuk mendapatkan pelet protein. Dalam pelet masih terkandung residu yang dapat dihilangkan melalui proses dialisis dalam *buffer* dengan konsentrasi lebih rendah.

Tabel 1. Rangkuman Hasil Pemurnian Enzim *Papain* Komersial

Tahap	Vol (mL)	Aktivitas Proteolitik (U/ml)	Protein Enzim (mg/ml)	Aktivitas Spesifik (u/mg.min)	Tingkat Kemurnian
Ekstrak kasar	110	0.0072	0.162	0.0447	1
Murni	9	0.0234	0.110	0.2129	5.85

Proses dialisis dilakukan dengan memasukkan pelet dalam kantong selofan yang memiliki *Molecular Weight Cut Off* (MWCO) 12-14 kDa. Berat molekul enzim *papain* ± 23 kDa (Chaiwut *et.al*, 2007) sehingga partikel pengotor dan garam yang memiliki berat molekul lebih kecil dapat keluar dari kantong. Menurut Fathimah (2014), jika kantong selofan yang berisi enzim dimasukkan ke dalam *buffer* dengan konsentrasi lebih rendah, maka molekul yang memiliki ukuran lebih kecil dari pori-pori kantong dialisis, seperti garam akan keluar melalui pori-pori dan protein yang merupakan makromolekul akan tertahan dalam kantong selofan. Molekul garam akan berdifusi keluar karena molekul kecil cenderung berdifusi ke arah larutan yang memiliki konsentrasi lebih rendah. Proses dialisis dilakukan pada suhu rendah ($4^{o}C\pm2$) agar enzim tidak terdenaturasi selama proses pemurnian.

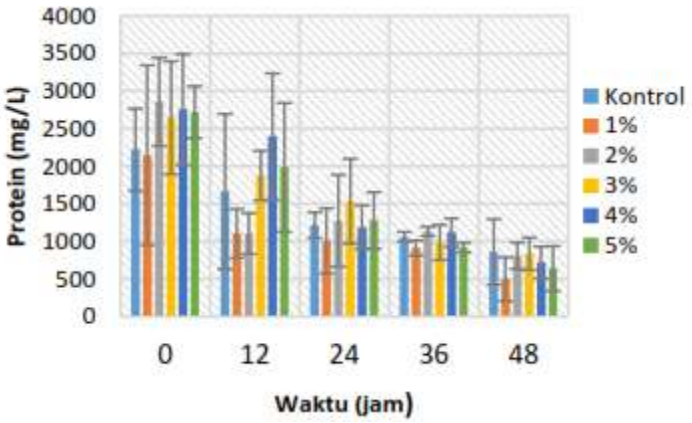
Volume enzim kasar yang digunakan adalah dalam proses dialisis sebanyak 110 mL, setelah dialisis didapatkan enzim sebanyak 9 mL. Berkurangnya volume larutan enzim disebabkan selama proses pemurnian berlangsung, ada kehilangan air, garam, gula dan pengotor yang lain sehingga terjadi pengurangan volume enzim. Setelah didialisis, enzim memiliki kandungan protein sebesar 0.110 mg/mL. Turunnya kandungan protein tersebut diakibatkan oleh berkurangnya protein non-enzim yang terkandung dalam ekstrak kasar enzim. Menurut Fathimah (2014), pada enzim kasar masih

banyak terdapat kandungan protein lain (protein non-enzim) yang dapat mengganggu aktivitas enzim. Pada proses purifikasi kadar protein enzim akan turun disetiap tahapan pemurnian akibat terpisahnya protein non-enzim dari protein enzim melalui proses pengendapan dengan amonium sulfat dan dialisis (Rohmah, 2015). Aktivitas spesifik rata-rata sebesar 0.000261659 U/mg. Nilai aktivitas spesifik enzim hasil pemurnian lebih besar dibanding ekstrak kasar, hal tersebut terjadi karena telah berkurangnya jumlah pengotor yang dapat menghambat aktivitas enzim, sehingga setelah dimurnikan jumlah aktivitas enzim meningkat. Enzim papain hasil pemurnian memiliki aktivitas spesifik sebesar 0.212899 U/mg menit. Rendahnya unit aktivitas enzim setelah pemurnian dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, menurut Yuniawati (2008) aktivitas enzim dipengaruhi oleh proses pembuatannya, umur dan jenis varietas papaya yang digunakan. Menurut Whitehurst (2009) aktivitas enzim sangat dipengaruhi oleh beberapa faktor, yakni konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu, pH, dan keberadaan inhibitor atau aktivator.

Tingkat kemurnian enzim diperoleh dengan perbandingan antara aktivitas spesifik setelah pemurnian terhadap aktivitas spesifik enzim kasar.Tingkat kemurnian enzim setelah permurnian sebesar 5,85 kali. Konsentrasi penambahan enzim ke dalam limbah cair surimi akan dikalikan dengan tingkat kemurniannya, sehingga berat enzim yang ditambahkan ke dalam 200 mL limbah untuk konsentrasi 1, 2, 3, 4 dan 5% masing-masing adalah 11.7, 23.4, 35.1, 46.8, dan 58.5 gram.

Pengaruh Penambahan Enzim Papain Komersial tehadap Kandungan Protein

Grafik hasil pengujian kandungan protein dalam hidrolisat protein dapat dilihat pada gambar 1. Pada jam ke-0, setelah penambahan enzim ke dalam limbah cair surimi, kandungan protein meningkat. Peningkatan kandungan protein tersebut menurut Hidayat (2005) dapat disebabkan oleh ikut terdeteksinya enzim yang digunakan dalam analisis protein karena enzim juga merupakan protein. Secara keseluruhan, jumlah kandungan protein dalam limbah cair surimi berkurang seiring bertambahnya waktu hidrolisis. Menurut Wisuthiphaet (2015) berkurangnya kandungan protein terjadi akibat proses hidrolisis yang memecah protein menjadi senyawa yang lebih sederhana yakni peptida. Kecenderungan penurunan kandungan protein hidrolisat pada jam ke-12, 24, 36, dan 48 terjadi pada kontrol dan pelakuan penambahan enzim 1, 3, 4 dan 5%. Sedangkan pada konsentrasi penambahan enzim 2% terdapat nilai yang menyimpang. Pada konsentrasi penambahan enzim 2% (w/v) kandungan protein hidrolisat mengalami penurunan dari jam ke-0 menuju jam ke-12, namun terjadi peningkatan kandungan protein pada jam ke-24, selanjutnya pada jam ke-36 dan 48 mengalami penurunan. Apabila dilihat dari trend yang terjadi, hanya pada jam ke-12 nilai kandungan protein yang menyimpang. Adanya peningkatan tersebut diperkirakan adanya kesalahan pembacaan hasil pengukuran.



Gambar 1. Grafik Kandungan Protein pada Hidrolisat Protein

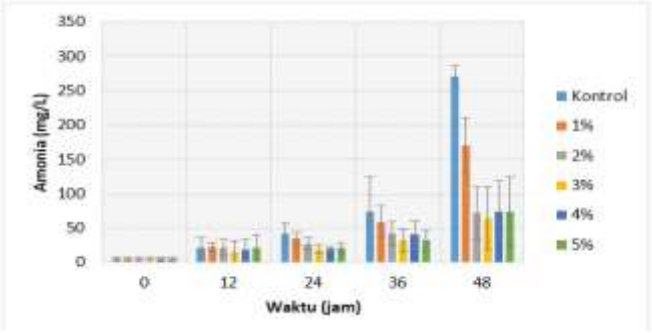
Hasil analisa sidik ragam menunjukkan bahwa waktu memberikan pengaruh nyata ($\alpha<0.05$)

terhadap kandungan protein. Sedangkan pengaruh konsentrasi penambahan enzim terhadap kandungan protein hidrolisat berpengaruh tidak nyata (α>0.05). Adanya pengaruh tidak nyata pada peningkatan konsentrasi juga ditunjukkan dalam penelitian Wisuthiphaet (2015), di mana enzim *papain* dapat menghidrolisis protein ikan dengan bertambahnya derajat hidrolisis seiring bertambahnya waktu reaksi, namun penambahan konsentrasi enzim tidak berpengaruh signifikan terhadap derajat hidrolisis yakni 20-24% dan berat molekul protein dalam hidrolisat adalah 0.18-0.33%.

Penentuan perlakuan terbaik didasarkan pada jumlah kandungan protein terendah. Apabila dibandingkan kandungan protein masing-masing konsentrasi, tampak bahwa kandungan protein konsentrasi 1% memiliki nilai yang lebih sedikit dibanding konsentrai lain, hal tersebut menjadikan konsentrasi 1% sebagai perlakuan terbaik. Berdasarkan hasil penelitian oleh Purbasari (2008), perlakuan terbaik terjadi pada konsentrasi penambahan enzim 6% tanpa dikalikan dengan tingkat kemurnian enzim *papain*. Dalam penelitian ini, jumlah enzim yang ditambahkan dalam limbah merupakan hasil perkalian konsentrasi enzim dengan tingkat kemurnian enzim. Apabila dalam penelitian ini mengabaikan tingkat kemurnian dan menghitung berat enzim yang telah ditambahkan sebesar 11.7 gram dalam 200 mL limbah maka didapatkan konsentrasi sebesar 5.85%. Nilai tersebut tidak berbeda jauh dari literatur yang menyebutkan bahwa konsentrasi 6% merupakan perlakuan terbaik.

Pengaruh Penambahan Enzim Papain Komersial terhadap Kandungan Amonia

Grafik hasil pengujian kandungan protein dalam hidrolisat protein dapat dilihat pada Gambar 2. Secara keseluruhan, jumlah kandungan amonia dalam hidrolisat bertambah seiring bertambahnya waktu hidrolisis. Kecenderungan peningkatan kandungan amonia hidrolisat pada jam ke-12, 24, 36, dan 48 terjadi pada kontrol dan perlakuan penambahan enzim 1, 2, 3 dan 4%, sedangkan pada konsentrasi penambahan enzim 5% terdapat nilai yang menyimpang. Pada konsentrasi penambahan 5%, dari jam ke-0 menuju jam ke-12 terjadi peningkatan kandungan amonia, namun pada jam ke-24 terjadi penurunan kandungan amonia selanjutnya pada jam ke-36 dan 48 kembali mengalami kenaikan. Adanya penurunan kandungan amonia diperkirakan akibat penguapan amonia, karena sifat amonia yang mudah menguap.



Gambar 2. Grafik Kandungan Amonia pada Hidrolisat Protein

Pada grafik, tampak bahwa nilai kandungan amonia kontrol jauh lebih tinggi dibanding perlakuan, hal tersebut dapat terjadi karena degradasi protein dan lemak oleh mikroorganisme pengurai menjadi senyawa sulfida yang menyebabkan timbulnya bau busuk (Devi *dkk*, 2012). Sehingga diperkirakan adanya mikroorganisme pengurai yang berasal dari lingkungan dalam limbah cair surimi menjadi penyebab utama tingginya kandungan amonia pada kontrol. Pada saat persiapan limbah cair surimi sebagai bahan baku, tidak dilakukan sterilisasi bahan karena tingginya suhu dalam proses sterilisasi akan menyebabkan terjadi denaturasi protein dalam limbah cair surimi. Tidak dilakukannya sterilisasi memungkinkan terjadinya kontaminasi mikroorganisme dalam bahan baku. Selain itu, enzim *papain* yang digunakan sebagai agen hidrolisis merupakan ekstrak kasar yang di dalamnya terkandung campuran berupa garam dan gula seperti yang tertera dalam label komposisi. Ketika enzim ditambahkan dalam limbah cair, kandungan garam dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Sehingga, kontrol (tanpa penambahan enzim) mengandung lebih banyak mikroorganisme dibandingkan dengan limbah yang ditambahkan enzim kasar. Banyak mikroorganisme yang terdapat di lingkungan sekitar yang mampu mendegradasi protein menjadi senyawa amonia, misalnya *Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis, Brevibacillus agri, Bacillus coagulans, Bacillus circulans, Bacillus anthracis and Bacillus fusiformis* (Kim *et. al,* 2007). Namun sebagian besar mikroorganisme tersebut tidak dapat tumbuh optimal pada pH rendah. Misalnya *Bacillus subtilis* mampu tumbuh pada pH 7-7.5, sehingga apabila berada dalam kondisi media yang memiliki pH lebih atau kurang dari nilai tersebut maka pertumbuhannya akan terhambat. Hasil pengukuran pH dalam penelitian ini menunjukkan bahwa ketika limbah ditambahkan enzim kasar maka akan terjadi penurunan pH, seperti yang tertera dalam Tabel 2. Nilai pH akan berkurang seiring dengan bertambahnya enzim yang ditambahkan dalam limbah. Nilai pH kontrol, penambahan enzim 1, 2, 3, 4, dan 5% masing- masing sebesar 7.08, 6.99, 6.82, 6.53, 6.42, dan 6.39. Rendahnya pH hidrolisat juga dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dalam limbah cair surimi di mana nilai pH kontrol, penambahan enzim 1, 2, 3, 4, dan 5% setelah 48 jam masing-masing sebesar 7.92, 3.68, 4.27, 4.48, 5.07, dan 5.51.

Tabel 2. Nilai pH Hidrolisat Protein dari Limbah Cair Surimi

Jam Ke-	Nilai pH					
	Kontrol	1%	2%	3%	4%	5%
0	7.08	6.99	6.82	6.53	6.42	6.39

Jam Ke-	Nilai pH					
	Kontrol	1%	2%	3%	4%	5%
12	7.26	4.67	5.92	6.14	6.25	6.36
24	7.65	4.46	4.57	5.12	5.47	5.90
36	7.83	3.84	4.43	4.57	5.07	5.51
48	7.92	3.68	4.27	4.48	4.85	5.20

Penentuan perlakuan terbaik didasarkan pada jumlah kandungan amonia tertinggi. Apabila dibandingkan kandungan amonia masing-masing konsentrasi, tampak bahwa konsentrasi penambahan enzim 1% memiliki nilai yang lebih banyak dibanding konsentrasi lain, hal tersebut menjadikan konsentrasi 1% sebagai perlakuan terbaik.

Pengaruh Penambahan Enzim Papain Komersial tehadap Kadar Air

Data rangkuman hasil pengukuran kadar air dalam hidrolisat protein rangkuman dapat dilihat dalam Tabel 2. Berdasarkan Tabel 1, kadar air (bb) awal limbah cair sebesar 99.832% sebelum penambahan enzim. Setelah ditambahkan enzim ke dalam limbah cair surimi dengan konsentrasi 1, 2, 3, 4, dan 5% kadar air awal turun, masing-masing sebesar 94.70, 90.03, 85.71, 83.93, dan 81.48%. Penurunan terjadi karena enzim kasar yang ditambahkan dalam limbah cair menyebabkan bertambah pula padatan dalam larutan limbah. Setelah proses hidrolisis berlangsung, hidrolisat pada perlakuan kontrol, 1, 2, 3, 4, dan 5% masing-masing memiliki kadar air sebesar 99.59, 95.02, 90.79, 84.26, 81.24, dan 78.99%.

Tabel 3. Rangkuman Hasil Pengujian Kadar Air Hidrolisat Protein

Sampel	Kadar Air Jam ke-0 (%)	Kadar Air Jam ke-48 (%)
Kontrol	99.83	99.59
1%	94.70	95.02
2%	90.03	90.79
3%	85.71	84.26
4%	83.93	81.24
5%	81.48	78.99

Jika dilihat dari persentase kadar air, kandungan air hidrolisat sangat tinggi. Banyaknya kandungan air akan mempermudah berjalannya reaksi hidrolisis protein. Menurut Wilson (2000) *dalam* Hidayat (2005), saat hidrolisis berlangsung terjadi pemutusan ikatan peptida dan di lokasi pemutusan ikatan tersebut akan berikatan dengan enzim melalui pengikatan ion positif atau negatif dari molekul air. Hal ini menyebabkan pengikatan substrat pada sisi aktif enzim menjadi lebih mudah. Selain itu, menurut Tucker (1995) *dalam* Purbasari (2008) penambahan air akan mempermudah proses pengadukan dan mempengaruhi kelancaran homogenisasi antara substrat dan enzim. Berpengaruh pula dalam mempercepat laju reaksi enzimatik karena kadar air bebas yang rendah dapat mengakibatkan penghambatan difusi enzim dan substrat sehingga hidrolisis hanya akan berlangsung di bagian substrat yang bersentuhan langsung dengan enzim.

KESIMPULAN

1. Kandungan protein dalam hidrolisat protein dari limbah cair surimi mengalami penurunan dari jam ke-0 (2147-2847mg/L) hingga jam ke-48 (498-860mg/L). Waktu berpengaruh nyata dan penambahan konsentrasi enzim *papain* tidak berpengaruh nyata terhadap penurunan kandungan protein. Perlakuan terbaik terjadi pada konsentrasi penambahan enzim *papain* sebesar 1% (b/v) dengan penurunan kandungan protein dari 2220 mg/L menjadi 498mg/L.
2. Kandungan amonia hidrolisat mengalami kenaikan dari jam ke-0 (5.62mg/L) hingga jam ke-48 (64.61-170.32mg/L). Waktu dan penambahan konsentrasi enzim *papain* berpengaruh nyata terhadap kenaikan kandungan amonia. Perlakuan terbaik terjadi pada konsentrasi penambahan enzim *papain* 1% (b/v) dengan kenaikan kandungan amonia tertinggi yakni dari 5.62 mg/L menjadi 270.64 mg/L.
3. Kadar air hidrolisat mengalami penurunan seiring bertambahnya konsentrasi enzim yang ditambahkan dalam limbah cair surimi dengan kisaran nilai 78.99-95.02%.

DAFTAR PUSTAKA

Afonso, Maria Dina and Borquez, Rodrigo.2002. *Review of The Treatment of Seafood Processing Wastewaters and Recovery of Proteins Therein by Membrane Separation Processes-Prospects of The Ultrafiltration of Wastewwaters from The Fish Meal Industry.* Desalination 142 (1): 29-45.

Chaiwut P., Punyawatt P., and Saroat R. 2010. *Extraction and Three-Phase Partitioning Behavior of Proteases from Papaya Peels.* Process Biochemistry 45 (2010): 1172-1175.

Devi A., Djumali M., Singgih W., Titi C.S., dan Mulyorini R. 2012. *Pengolahan Limbah Cair Perikanan Menggunakan Konsorsium Mikroba Indigenous Proteolitik dan Lipolitik*. AGROINTEK 6 (2): 65-71.

Fathimah, Azmy Nahdhiyati. 2014. *Ekstraksi dan Karakterisasi Enzim Proteoase dari Daun Kelor (Moriga oliefera Lamk.).* Tugas Akhir. Universitas Brawijaya. Malang.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) and World Health Organization (WHO). 2012. *Code of Practice for Fish and Fishery Products*: Second Edition.

Kementrian Kelautan dan Perikanan. 2015. *Data Statistika Kelautan dan Perikanan: Volume Produksi Perikanan.* http://statistik.kkp.go.id/. Diakses tanggal 18 Januari 2016.

Kim, J.K., Kim, J.B., Cho, K.S., and Hong, Y.K. 2006. *Isolation and Identification of Microorganisms and Their Aerobic Biodegradation of Fish-Meal Wastewater for Liquid Fertilization*. International Biodeterioration and Biodegradation 59: 156-165.

Nurhayati, Tati, Hani N., dan Agoes M. J. 2015. *Recovery enzim Katepsin dari Limbah Cair Surimi*. Jurnal Inovasi dan Kewirausahaan 4 (1): 31-42.

Purbasari, Dian. 2008. *Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (Atactodea striata).* Tugas Akhir. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Rostini, Iis. 2013. *Pemanfaatan Daging Limbah Fillet Ikan Kakap Merah Sebagai Bahan Baku Surimi untuk Produk Perikanan*. Jurnal Akuatika 4 (2): 141- 148.

Rohmah, Sania Mawaddatur. 2015. *Isolasi Mikroorganisme, Purifikasi Parsial dan Karakterisasi Enzim Mananase yang Bersifat Alkali dan Termostabil dari Tanah Gunung Kapur Tuban Jawa Timur*. Tugas Akhir. Universitas Brawijaya. Malang.

Whitehurst, R. J., Oort M. V. (ed.). 2009. *Enzymes in Food Technology, 2nd ed***.** Wiley-Blackwell. Singapore.

Wisuthiphaet, Nicharee dan Kongruang, Sasithon. 2015 *Productin of Fish Protein Hydrolysates by acid and Enzymatic Hydrolysis.* Journal of Medical and Bioengineering 4(6): 466 - 470.

Yuniwati, M., Yusran, dan Rahmadany. 2008. *Manfaat Enzim Papain Sebagai Penggumpal dalam Pembuatan Keju*. Seminar Nasional Aplikasi Sains dan Teknologi 2008-IST AKPRIND Yogyakarta.