

**KADAR PROTEIN TERLARUT PADA AMPAS KEDELAI
DARI HASIL PROSES PEMBUATAN TEMPE DENGAN PENAMBAHAN
EKSTRAK KASAR PAPAIN (*CRUDE PAPAIN*)**

*Dissolved Protein Content in Soybean Dregs From The Process Of Making
Tempe With The Addition Of Crude Papain Extract*

Edy Agustian Yazid*, Badilatun Ulin Nuha**

* Program Studi Analis, Akademi Analis Kesehatan Delima Husada Gresik Jl.
A.R. Hakim No. 2B Gresik, email: *estien_y@yahoo.co.id*

** Program Studi Analis, Akademi Analis Kesehatan Delima Husada Gresik

ABSTRAK

Ampas kedelai dari proses pembuatan tempe umumnya masih mengandung nilai nutrisi cukup tinggi diantaranya protein. Selama ini ampas kedelai belum dimanfaatkan secara maksimal, kebanyakan hanya digunakan sebagai pakan ternak atau pupuk. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan protein terlarut pada ampas kedelai dari hasil proses pembuatan tempe dengan penambahan ekstrak kasar papain (*crude papain*).

Analisis kadar protein dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 650 nm. Variasi konsentrasi papain yang ditambahkan adalah 0% (kontrol), 5%, 10%, 15%, 20% dan 25%. Hasil uji aktivitas papain kasar didapatkan 238,082 U/ml, sedangkan pada penambahan konsentrasi papain 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% berturut-turut diperoleh kenaikan kadar protein terlarut sebesar 0,42%; 2,53%; 4,77%; 4,63% dan 3,93%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan penambahan ekstrak kasar papain pada ampas kedelai dari hasil proses pembuatan tempe dapat menaikkan kadar protein terlarut. Kenaikan tertinggi diperoleh pada penambahan konsentrasi papain 15% dengan kenaikan sebesar 4,77%.

Kata Kunci : Ampas kedelai, protein terlarut, *crude papain*, aktivitas enzim.

ABSTRACT

The soybean dregs from process of making tempe generally still contains high nutritional value of protein. So far, soybean dregs has not been fully utilized, mostly only used as animal feed or fertilizer. The purpose of this study was to determine the dissolved protein content in soybean dregs from the process of making tempe with the addition of crude papain extract (crude papain).

The protein content was analyzed using spectrofotometry UV-Vis method with 650 nm wavelength. Variations of papain concentration added were 0%

(control), 5%, 10%, 15%, 20% and 25%. The results of crude papain extract activity test were obtained 238,082 U/ml, while with the addition of papain concentration 5%, 10%, 15%, 20%, and 25% dissolved protein content increased respectively 0.12%; 2.53%; 4.77%; 4.63% and 3.93%.

From these results it can be concluded that with the addition of crude papain extract on soybean dregs from the process of making tempe can raise the levels of dissolved protein. The highest increase was obtained by adding 15% papain concentration with an increase of 4.77%.

Keywords : Soybean dregs, soluble protein, crude papain, enzyme activity.

PENDAHULUAN

Biji kedelai memiliki kandungan protein yang tinggi selain lemak, serta kandungan gizi lainnya seperti vitamin dan lesitin (Feryanto, 2007). Salah satu pemfaatan biji kedelai adalah sebagai bahan makanan alternatif untuk bahan baku pembuatan tempe. Pada proses pengolahan pembuatan tempe dapat menghasilkan limbah cair dan padat berupa ampas kedelai.

Selama ini ampas kedelai masih belum dimanfaatkan secara maksimal, kebanyakan hanya dimanfaatkan sebagai pakan ternak atau pupuk. Sedangkan hasil limbah olahan kedelai masih mengandung nilai nutrisi yang cukup tinggi, misalnya bungkil kedelai mengandung 30-40% protein, 4-6% serat kasar, dan 1% lemak (Adisarwanto, 2005).

Protein dari suatu bahan dapat diubah menjadi senyawa sederhana seperti polipeptida, asam amino, dan nukleotida yang larut melalui teknik hidrolisis. Hasil hidrolisis protein diikenal sebagai hidrolisat protein merupakan suatu campuran asam amino yang diperoleh melalui degradasi hidrolitik protein dengan asam, basa, atau enzim proteolitik. Hidrolisat umumnya mengandung peptida dengan bobot molekul rendah terdiri atas 2 hingga 4 residu amino.

Bila hidrolisis dilakukan dengan sempurna, maka akan diperoleh hidrolisat yang terdiri dari campuran 18 sampai 20 macam asam amino (Rosdianti, 2008).

Hidrolisat protein pada ampas kedelai merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein pada ampas kedelai menjadi peptida sederhana dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh enzim, asam atau basa. Hidrolisis protein menggunakan enzim merupakan cara yang efisien karena dapat menghasilkan hidrolisat protein yang terhindar dari kerusakan asam amino tertentu, seperti triptofan dan glutamin (Rahayu, 2011). Hidrolisat protein dapat dimanfaatkan sebagai penyedap rasa, suplemen diet bagi atlet maupun orang-orang yang ingin membentuk otot tubuhnya, sebagai menu bagi penderita gangguan pencernaan, serta dapat dijadikan intermediet isolasi asam amino bebas untuk memenuhi kebutuhan industri, pangan dan kesehatan (Rosdianti, 2008).

Enzim yang dapat digunakan dalam hidrolisis protein pada ampas kedelai telah tersedia secara komersial di pasaran. Salah satunya adalah enzim papain dalam bentuk ekstrak kasar yang diisolasi dari getah tanaman pepaya (*Carica papaya*) dan telah banyak digunakan secara

komersial sebagai pengempuk daging. Keuntungan penggunaan enzim papain antara lain mudah didapat, tidak ada reaksi samping, tidak toksik, relatif tahan terhadap suhu, dan memiliki daya katalitik yang tinggi (Aisyah, 2002).

Enzim papain yang terdapat pada getah pepaya merupakan jenis enzim proteolitik, yaitu enzim yang mengkatalisis reaksi pemecahan rantai polipeptida pada protein dengan cara menghidrolisis ikatan peptidanya menjadi senyawa-senyawa lebih sederhana seperti dipeptida dan asam amino (Darwis, 1990). Kualitas getah sangat menentukan aktivitas proteolitik dan kualitas tersebut tergantung pada bagian tanaman asal getah tersebut. Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan bagian tanaman yang mengandung getah dengan kualitas aktivitas proteolitik yang baik ada pada bagian buah, batang dan daun (Winarno, 1983).

Berdasarkan uraian di atas, peneliti ingin menganalisis kadar protein terlarut pada ampas kedelai yang dihasilkan dari proses pembuatan tempe dengan penambahan ekstrak kasar enzim papain (*crude papain*).

METODE DAN ANALISA

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ampas kedelai dari proses pembuatan tempe, *crude papain* komersial, NaOH, tirosin, kasein, *bovine serum albumin*, TCA, Na-K-tartrat, pereaksi lowry (A, B, C, D), dan buffer fosfat pH 7,0.

Sedangkan alat-alat yang digunakan adalah Spektrofotometer 20 D, neraca analitik, oven, sentrifuge, pH meter tipe HANNA, waterbath, sentrifuge, dan seperangkat peralatan gelas.

Pembuatan tepung ampas kedelai dibuat dari ampas kedelai sisa dari proses pembuatan tempe dikeringkan dalam oven suhu 50°C selama 24 jam kemudian dihaluskan menjadi tepung. Selanjutnya dibuat larutan tepung ampas kedelai 10% dengan mengatur pH-nya hingga 7,0 dengan menambahkan NaOH 0,1 N untuk dianalisis.

Penentuan aktivitas papain dibuat berdasarkan (Bergmeyer & Grassi 1983). Larutan kasein 1% diambil sebanyak 0,6 mL kemudian dimasukkan ke dalam tiga tabung masing-masing sebagai larutan blanko, standar dan sampel. Selanjutnya pada tabung blanko ditambah 0,2 mL buffer fosfat pH 7,0; tabung standar ditambah 0,2 mL tirosin 5 mM, dan tabung tabung sampel ditambah 0,2 mL enzim papain 10%. Semua tabung diinkubasi pada suhu 50°C selama 5 menit, kemudian pada semua tabung ditambahkan 2,0 mL TCA 0,1 M, dan buffer fosfat pH 7,0 sebanyak 0,2 ml. Ketiga tabung dicentrifuge 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang dihasilkan dari masing-masing tabung dipipet 0,6 ml, kemudian ditambahkan 2,0 mL NaOH 1M, larutan folin sebanyak 0,4 ml. Ketiga tabung divortex lalu didiamkan selama 10 menit, kemudian dibaca absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 578 nm.

Berdasarkan data absorbansi larutan blanko, standar dan sampel, aktivitas enzim proteolitik dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas proteolitik (U/mL)} = \frac{A_{sp} - A_b}{A_s - A_b} \times \frac{1}{t} \times \frac{1}{V_p} \times F_p$$

Keterangan :

A_{sp} = Absorbansi sampel

A_s = Absorbansi standart
 A_b = Absorbansi blanko
 t = Waktu inkubasi
 V_p = Volume papain yang diambil
 F_p = Faktor pengenceran

Pembuatan kurva standart diambil dari larutan standar dari *bovine serum albumin* yang telah dibuat dengan konsentrasi 0; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 dan 0,1 mg/mL masing-masing 2 ml dimasukkan kedalam tabung. Semua ditambahkan akuades 2,0 ml dan pereaksi lowry C sebanyak 5,5 ml, dikocok dan dibiarkan selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan pereaksi lowry D sebanyak 0,5 ml, dikocok dengan cepat dan ditunggu selama 30 menit hingga terbentuk warna biru. Semua larutan dibaca serapannya pada spektrofotometer pada $\lambda = 650$ nm.

Preparasi larutan sampel diproses dengan mengambil larutan tepung ampas kedelai 10% yang telah dibuat sebanyak 1800 μ l kemudian ditambahkan larutan enzim yang sebanyak 200 μ l (untuk kontrol ditambahkan buffer phospat sebanyak 200 μ l). Larutan diinkubasi pada suhu 50°C selama 30 menit, ditambahkan 2,0 mL TCA 0,1 M. Larutan didinginkan dan disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit. Supernatan diambil untuk dianalisis kadar proteinnya dengan metode Lowry.

Penentuan kadar protein terlarut diproses dari pengambilan supernatan sampel sebanyak 2 ml, kemudian ditambahkan akuades 2,0 mL, preaksi Lowry C sebanyak 5,5 ml, dikocok dan dibiarkan selama 15 menit. Selanjutnya ditambahkan pereaksi

lowry D sebanyak 0,5 ml, dikocok dengan cepat dan ditunggu selama 30 menit hingga terbentuk warna biru. Serapan larutan dibaca pada spektrofotometer dengan $\lambda = 650$ nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penentuan Aktivitas Enzim Papain

Pada penelitian ini sebelum dilakukan penambahan enzim pada ampas kedelai terlebih dahulu perlu dilakukan penentuan aktivitas enzim papain pada kondisi optimal enzim suhu 50 °C dan pH 7,0 (Kusumadaja, A.P., 2005). Hal ini dilakukan untuk mengetahui besarnya aktivitas enzim papain sebelum digunakan dalam menghidrolisis protein pada ampas kedelai.

Aktivitas enzim papain diukur dengan menggunakan metode Walter (Bergmeyer & Grassi 1983). Metode ini didasar kan pada kemampuan papain untuk menghidrolisis substrat kasein menjadi peptidapeptida dan asam amino tirosin. Tirosin yang terbentuk inilah yang dijadikan dasar dalam perhitungan aktivitas papain. Tirosin direaksikan dengan reagen Follin-ciocalteu sehingga menghasilkan senyawa kompleks berwarna biru yang memberikan harga absorbansi pada daerah sinar tampak $\lambda = 578$ nm. Dari hasil uji aktivitas pada ekstrak kasar enzim papain (*crude papain*) didapatkan sebesar 238,082 U/mL sebagaimana ditunjukkan Tabel 1. Aktivitas enzim papain ini relatif tinggi sehingga apat dipergunakan untuk menghidroisis

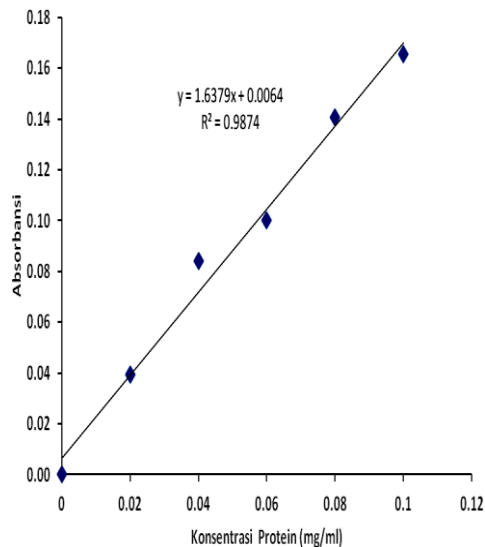
protein yang terdapat pada ampas kedelai.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas enzim papain (*crude papain*)

Absorbansi					Aktivitas	
Blanko	Rerata	Standart	Rerata	Sampel	Rerata	(U/ml)
0,036	0,0345	0,086	0,087	0,049	0,0495	238,082
0,033		0,088		0,050		

Penentuan Kurva Standar

Hasil pembuatan kurva standar ditunjukkan pada Gambar 1. Berdasarkan kurva standar diperoleh persamaan $y = 1,6379x + 0,0064$ dengan koefisien korelasi (r) = 0,9937. Nilai r yang mendekati satu (Harmita, 2004) dan berdasarkan uji t dengan tingkat kepercayaan 95% diperoleh $t_{hit} > t_{tabel}$ sehingga dapat dikatakan linier (De Muth, 1999). Hal tersebut menunjukkan korelasi antara konsentrasi protein dan absorbansi.



Gambar 1. Grafik hubungan antara konsentrasi protein dan absorbansi.

Penentuan Kadar Protein Terlarut

Analisis kadar protein terlarut pada ampas kedelai dilakukan dengan penambahan ekstrak kasar enzim papain (*crude papain*) dengan variasi konsentrasi 0% (sebagai kontrol), 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25%. Enzim yang digunakan dalam penelitian ini adalah *crude papain* yang dijual secara komersial di pasaran. Penggunaan enzim ini masih terbatas untuk pengempuk daging dan belum banyak dimanfaatkan untuk kegunaan lain.

Enzim papain tergolong enzim proteolitik yang memiliki kemampuan menghidrolisis protein yang terikat pada ampas kedelai. Enzim ini terdiri dari 187 residu asam amino dan memiliki berat molekul 21.000 (Darwis, 1999). Enzim papain memiliki gugus fungsional sulfhidril dan mampu menghidrolisis ikatan peptida dalam protein pada asam amino lisin dan glisin. Suhu optimum papain berkisar antara 50 – 65 °C, dan pH optimum antara 5 – 7 (Sumartha, 1990). Aktivitas enzim dalam menguraikan substrat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH, suhu, konsentrasi enzim, konsentrasi substrat dan inhibitor (Sadikin, 2002).

Besarnya kadar protein terlarut pada ampas kedelai dengan penambahan enzim papain ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kadar protein terlarut pada berbagai konsentrasi enzim

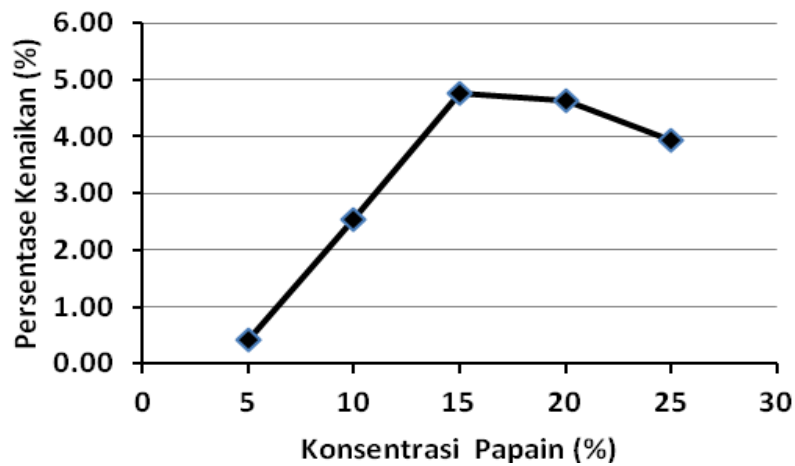
Konsentrasi enzim (%)	Kadar protein terlarut (mg/mL)				Kenaikan (%)
	Kontrol	Rerata	Sampel	Rerata	
5	$\frac{21,6497}{21,9059}$	21,7778	$\frac{21,8328}{21,9059}$	21,8694	0,42
10	$\frac{21,6497}{21,7718}$	21,7108	$\frac{22,1992}{22,3213}$	22,2603	2,53
15	$\frac{21,7718}{21,7718}$	21,7718	$\frac{22,8097}{22,8097}$	22,8097	4,77
20	$\frac{21,7107}{21,7718}$	21,7413	$\frac{22,6876}{22,8097}$	22,7487	4,63
25	$\frac{21,7107}{21,8328}$	21,7718	$\frac{22,5655}{22,6876}$	22,6266	3,93

Terlihat seperti dalam Tabel 2, hasil kadar protein terlarut semakin besar dengan meningkatnya penambahan konsentrasi enzim. Hal ini disebabkan semakin tinggi enzim yang ditambahkan akan meningkatkan kecepatan reaksi enzimatis, sehingga banyak ikatan peptida dalam protein pada ampas kedelai yang dapat terhidrolisis menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana yang bersifat larut. Menurut Rahayu (2011), hidrolisis protein menggunakan enzim menghasilkan hidrolisat protein yang terhindar dari kerusakan asam amino tertentu, seperti triptofan dan glutamin.

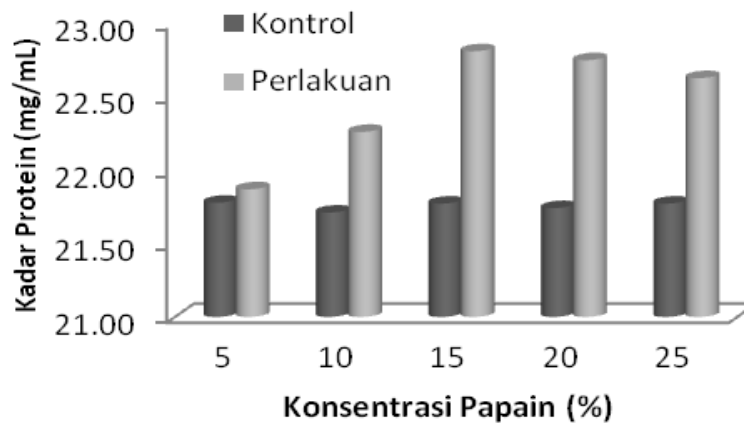
Pada penambahan konsentrasi papain 15% diperoleh hasil tertinggi kadar protein sebesar 22,8097 mg/ml dengan kenaikan 4,77%. Hal ini menunjukkan terjadi penguraian substrat protein yang terikat ampas kedelai berlangsung optimal. Selanjutnya terjadi

penurunan yang cenderung konstan pada penambahan konsentrasi papain 20% dan 25% berturut-turut sebesar 22,7487 mg/ml dan 22,6266 mg/ml, karena konsentrasi enzim telah jenuh dengan substrat protein. Hal ini sesuai pendapat Yazid (2015), bahwa pada konsentrasi substrat tertentu bertambahnya konsentrasi enzim akan meningkatkan reaksi enzimatis. Dapat pula dikatakan bahwa kecepatan reaksi enzimatis berbanding lurus dengan konsentrasi enzim sampai batas tertentu, sehingga reaksi mengalami kesetimbangan. Pada saat setimbang, peningkatan konsentrasi enzim tidak berpengaruh lagi.

Besarnya kenaikan protein terlarut dengan penambahan konsentrasi enzim ditunjukkan pada Gambar 2. Sedangkan untuk mengetahui besarnya kenaikan kadar protein terlarut pada kontrol sebelum perlakuan dengan setelah penambahan ekstrak papain dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 2. Grafik kenaikan kadar protein terlarut.



Gambar 3. Grafik perbandingan kadar protein terlarut pada kontrol dan setelah penambahan papain.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini disimpulkan, bahwa penambahan ekstrak kasar enzim papain (*crude papain*) dapat menaikkan kadar protein terlarut pada ampas kedelai dari proses pembuatan tempe. Penambahan enzim konsentrasi 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% berturut-turut didapatkan kenaikan kadar protein terlarut sebesar 0,42%;

2,53%; 4,77%; 4,63% dan 3,93%. Kenaikan tertinggi protein terlarut didapatkan pada penambahan konsentrasi papain 15% sebesar 4.77%.

Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disarankan khususnya bagi para peneliti, yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang isolasi protein dari ampas kedelai untuk menghasilkan hidrolisat

protein dengan memperhatikan faktor inkubasi yang lebih lama agar diperoleh kadar protein lebih besar.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto. (2005). *Kedelai Budidaya dengan Pemupukan yang Efektif dan Mengoptimalkan Bintil Akar*, Jakarta: Penebar Swadaya.
- Aisyah. (2002). *Manfaat Getah Pepaya*, (<http://www.bio/papain.html>), Diakses 13 Mei 2012 jam 10.20 WIB.
- Bergmeyer, H.U., and Grassl, M. (1983). *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol 2, Verlag Chemie, Weinheim.
- Darwis, A.A. (1990). *Isolasi, Purifikasi dan Karakterisasi Enzim*, IPB: Pusat Antar Universitas Bioteknologi.
- De Muth, J.E. (1999). *Basic Statistic and Pharmaceutical Statistical Applications*, University of Wisconsin Madison, New York: Marcel Dekker Inc.
- Feryanto, A. (2007). *Aneka Olahan dari Kedelai*, Klaten : Saka Mitra Kompetensi.
- Harmita, (2004). *Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya*, Majalah Ilmu Kefarmasian, 1(3): 117-135.
- Kusumadjaja, A.P., dan Dewi, R.P. (2005). *Penentuan Kondisi Optimum Enzim Papain Dari Pepaya Burung Varietas Jawa (Carica papaya)*, *Indo. J. Chem.*, 2005, 5 (2), 147 – 151
- Rosdianti, I., 2008. *Pemanfaatan Enzim Papain Dalam Produksi Hidrolisat Protein Dari Limbah Industri Minyak Kelapa, Skripsi*, Institut Pertanian Bogor.
- Rahayu, I.W. (2011). *Pembuatan dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Ikan Lele Dumbo Menggunakan Enzim Papain*, Institut Pertanian Bogor.
- Sadikin, M. (2002). *Biokimia Enzim*, Edisi 1, Jakarta : Widya Medika.
- Sumartha, I.G. (1990). *Oryza*, 14(25) : 10
- Winarno, F.G., 1983. *Enzim Pangan*. Jakarta : PT Gramedia.
- Yazid, E. (2015). *Biokimia : Praktikum Analisis kesehatan*, Jakarta : Buku Kedokteran EGC.