PENGARUH PENGGUNAAN PAPAIN DALAM MENINGKATKAN KECERNAAN PROTEIN KEDELAI SECARA *IN VITRO*

Khoerunnisa, H.M., Suryahadi & E. Trisyulianti
Jurusan Ilmu Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan IPB
(Diterima 05-08-2002; disetujui 28-11-2002)

ABSTRACT

Soybean is source of feed that has well quality, because it has a high proteins (40-44%), but it has trypsin inhibitor and also has alow digestion of proteins compared with casein digestion. Based on this fact, soybean needs to be increased for digestion with proteolitic enzym addition. It is the papain. The experiment consists of two steps, there were a preface experiment and a primary experiment. The preliminary experiments confirmed a source and optimum level of papain. Where as, the primary experiment confirmed the effect of soybean papain digestion. The primary experiment used a Complete Random Design that is design 5 x 4, as 5 levels of papain with 4 replicates. The levels were 0%; 1.5%; 3%; 4,5% and 6%. The parameters of this experiment were digestibility of dry matter and digestion of soybean proteins. From the preface experiment, has been found that the best of papain source was from papaya's leaf extract with the optimum level of 3%. Based of the Duncan test, proved the utilization of papain had a highly significance influence (P<0,01) againts the height of score digestion of dry matter and digestion of soybean protein. The result showed that the optimum level of papain was 4,5% whit 31,38% digestion of dry matter value's and the optimum level of papain 3% for digestion of soybean proteins whit 37,41% value's.

***Key words*: papain, digestion protein.**

PENDAHULUAN

Peternakan sapi perah dewasa ini telah menggunakan manajemen pemberian pakan pada anak sapi berupa pemberian *Milk Replacer* atau disebut juga Pengganti air susu (PAS) yaitu suatu susunan ransum yang dipakai sebagai pengganti air susu induk yang masih menyusui anaknya. Patokan standar zat nutrisi dalam PAS adalah protein 20%, lemak 12% dan serat kasar kurang dari 0.25%. Bahan makanan sumber protein dalam PAS biasanya menggunakan susu skim atau *whey* (kasein/protein hewani) karena proteinnya mudah dicerna oleh saluran pencernaan anak sapi. Namun seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi, pemanfaatan susu skim sebagai bahan pangan semakin meningkat, sedangkan ketersediaannya rendah sehingga terjadi persaingan yang cukup ketat yang mengakibatkan harga susu skim meningkat. Berdasarkan hal ini, maka dicari alternatif bahan makanan sumber protein lain yang harganya lebih murah dan berkualitas tinggi (kecernaan proteinnya tinggi), salah satu bahan pakan yang dimaksud adalah kedelai.

Kedelai merupakan bahan makanan sumber protein yang cukup baik dengan kandungan protein rata-rata 35%, bahkan dalam varietas unggul dapat mencapai 40-44%. Koswara (1993) menambahkan bahwa kedelai dapat digunakan sebagai sumber lemak, karbohidrat, vitamin, mineral dan serat. Kedelai mengandung asam amino lisin dan treonin yang cukup tinggi selain itu kedelai memiliki susunan asam amino yang hampir mirip dengan susunan asam-amino kasein sehingga diperkirakan mampu mensubstitusi kasein. Tetapi kedelai memiliki kelemahan berupa rendahnya kandungan asam-amino metionin dan sistein serta adanya anti tripsin yang kerjanya menghambat kerja enzim tripsin sehingga mempersulit pelepasan asam-asam amino dari ikatan proteinnya sehingga tidak dapat diserap usus (Smith & Circle *dalam* Koswara, 1992). Selain itu kecernaan proteinnya rendah bila dibandingkan dengan kecernaan protein susu (kasein), sehingga kedelai masih diragukan dapat menggantikan posisi susu skim sebagai sumber protein dalam PAS. Berdasarkan hal ini, maka perlu dilakukan suatu usaha modifikasi atau *treatment* terhadap kedelai untuk meningkatkan kecernaan proteinnya. Salah satu cara yang dapat dilakukan adalah perlakuan enzimatis.

Enzim yang diperkirakan dapat digunakan untuk menghidrolisis kedelai adalah papain yaitu merupakan salah satu enzim proteolitik (pemecah protein) yang terdapat dalam getah pepaya. Keunggulan papain yaitu mempunyai kestabilan yang relatif tinggi terhadap faktor suhu, pH dan pelarut alkohol. Aktivitas papain berada pada selang pH 3 - 11 dengan suhu sampai 70°C, sedangkan yang optimal adalah pada pH 5 - 7 dan suhu 50 - 60°C. Papain relatif lebih tahan terhadap panas jika dibandingkan dengan enzim proteolitik lainnya seperti fisin dan bromelin (Lineweaver *et al.* (1941) *dalam* Whitaker, 1994).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penggunaan papain terhadap kecernaan protein kedelai secara *in vitro*.

MATERI DAN METODE

Materi

Penelitian ini menggunakan bahan-bahan berupa: susu sapi murni, papain komersial (bermerk Paya) ekstrak daun dan buah pepaya muda, pasta kedelai serta bahan kimia (pepsin, HCl pH = 2; 25 ml H_2SO_4 pekat, katalis/campuran selenium dan NaOH 33%). Sedangkan alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: pisau, parutan, nampan, gelas ukur, timbangan, spoit, tabung reaksi dan *shaker water bath*, mortar, fermentor, inkubator, kertas saring *Whatman* No.41, pompa *Vacum*, timbangan, oven 60°C, eksikator, labu destruksi, pembakar bunsen, labu penyuling, batu didih dan labu erlenmeyer.

Metode

Percobaan 1

Percobaan 1 merupakan penelitian pendahuluan yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh enzim papain komersial "Paya" terhadap penggumpalan susu sapi murni. Percobaan ini menerapkan 10 perlakuan dengan dosis enzim papain komersial yaitu: 0%, 0.6%, 1.2%, 1.8%, 2.4%, 3%, 5%, 10%, 15% dan 20% tiap 10 ml susu (menurut petunjuk dosis normal yaitu 1.2% tiap 1 Kg daging). Setiap perlakuan diukur duplo. Susu yang telah diberi enzim tersebut dikocok dan disimpan dalam *shaker water bath* pada suhu 60°C (Lineweaver *et al.*, 1941 *dalam* Whitaker, 1994). Kecepatan penggunpalan susu dicatat sebagai indikator keberadaan enzim papain dalam produk Paya.

Percobaan 2

Percobaan 2 merupakan penelitian pendahuluan yang dilakukan untuk mengetahui pengaruh enzim papain asli terhadap penggumpalan susu sapi murni. Enzim yang digunakan berasal dari ekstrak daun dan buah pepaya, masing-masing 6 perlakuan dengan level: 0.5%, 1%, 2.5%, 5%, 7.5%, 10% dan 15%. Sebanyak 10 ml susu sapi murni dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan ekstrak pepaya asli sesuai level yang telah ditentukan kemudian dikocok dan dimasukkan ke dalam *shaker water bath* pada suhu 60°C. Dihitung waktu yang dibutuhkan enzim papain untuk menggumpalkan susu pertama kali.

Percobaan 3

Percobaan 3 merupakan penelitian pendahuluan yang dilakukan untuk menentukan level optimal penggunaan sumber enzim papain yang paling efektif digunakan untuk penelitian utama. Berdasarkan hasil percobaan 1 dan 2, maka sumber enzim yang digunakan adalah ekstrak daun pepaya dengan level: 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, 3%, 3.5%, 4%, 4.5%, 5%, 5.5%, 6%, 6.5% dan 7%, dilakukan sebanyak 5 kali ulangan. Susu sapi ditambahkan enzim sesuai dosis di atas, dikocok dan dimasukkan ke dalam *shaker water bath* pada suhu 60°C, kemudian diamati waktu penggumpalan susu yang pertama kali.

Percobaan 4

Percobaan 4 merupakan Penelitian Utama yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak daun pepaya terhadap kecernaan kedelai *in vitro*. Prosedur yang dilakukan adalah sebagai berikut: pasta kedelai ditimbang 1.25 gram (0.5 gram bahan kering) dan ditambah ekstrak daun pepaya dengan 5 level (% dari bahan kering kedelai) sebagai perlakuan dan dilakukan sebanyak 4 kali ulangan. Setelah ± 30 menit bereaksi ditambahkan 2 ml HCl pH 4 dan 1 ml larutan pepsin (2 g/lt) kemudian diinkubasi dalam suasana aerobik selama 6 jam (Boison, 1991). Setelah itu disaring dengan kertas saring yang telah ditimbang sebelumnya dan menggunakan pompa vacum. Residunya digunakan untuk analisis kecernaan Bahan Kering dan protein sedangkan supernatannya dibuang.

Perlakuan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. 1.25 gram pasta kedelai + 0% ekstrak daun pepaya,
2. 1.25 gram pasta kedelai + 1.5% ekstrak daun pepaya,
3. 1.25 gram pasta kedelai + 3% ekstrak daun pepaya,
4. 1.25 gram pasta kedelai + 4.5% ekstrak daun pepaya,
5. 1.25 gram pasta kedelai + 6% ekstrak daun pepaya.

Peubah yang diukur adalah kecernaan bahan kering dan kecernaan protein kasar kedelai.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Enzim Papain Komersial (Paya) terhadap Penggumpalan Susu Sapi Murni

Dari hasil percobaan 1, diambil kesimpulan bahwa level papain komersial memiliki hubungan yang linier negatif (berbanding terbalik) dengan lamanya waktu yang dibutuhkan untuk menggumpalkan susu pertama kali. Artinya, semakin besar level papain yang ditambahkan pada susu maka makin kecil (sebentar) waktu yang dibutuhkan untuk menggumpalkan susu pertama kali.

Level 20% "Paya" membutuhkan waktu untuk mulai menggumpalkan susu adalah sekitar 3 jam dan level yang lebih rendah dari itu membutuhkan waktu jauh lebih lama yaitu lebih dari 18 jam. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan enzim papain komersial dalam menggumpalkan susu rendah sekali. Diduga karena konsentrasi enzim dalam papain komersial sangat rendah sehingga aktivitas enzimpun sangat rendah dalam menggumpalkan susu. Berdasarkan hasil penelitian Darwis *et al.* (1995), aktivitas enzim papain dalam "Paya" adalah 1.0593 unit/gram menit jauh lebih kecil bila dibandingkan papain murni 488 unit/gram menit. Level 20% papain komersial termasuk dosis yang tidak efisien bila digunakan dalam industri.

Pengaruh Ekstrak Daun dan Buah Pepaya terhadap Penggumpalan Susu

Berdasarkan hasil percobaan 2 didapatkan bahwa ekstrak daun dan buah pepaya berpengaruh sangat nyata terhadap penggumpalan susu.

Tabel 1. Waktu yang dibutuhkan ekstrak daun dan buah pepaya dalam menggumpalkan susu pertama kali

Level ekstrak pepaya (%)	Waktu penggumpalan susu (menit)	
	Ekstrak daun pepaya	Ekstrak buah pepaya
0.5	12.0	120
1.0	3.4	112
2.5	2.5	93
5.0	2.0	35
7.5	1.7	11
10.0	1.0	8
15.0	Langsung bereaksi	5

Pengaruh ekstrak daun pepaya lebih baik dibandingkan ekstrak buah pepaya. Hal ini dapat dilihat pada **Tabel 1** di atas. Misalnya pada level 5%, menunjukkan bahwa ekstrak daun pepaya mampu menggumpalkan susu pertama kali pada menit ke-2 setelah pemberian ekstrak. Sedangkan ekstrak buah jauh lebih lama membutuhkan waktu untuk menggumpalkan susu yaitu pada menit ke-35.

Dengan demikian, sumber enzim papain yang terbaik (paling efektif) untuk digunakan dalam penelitian utama adalah ekstrak daun pepaya.

Level Optimum Ekstrak Daun Pepaya dalam Menggumpalkan Susu

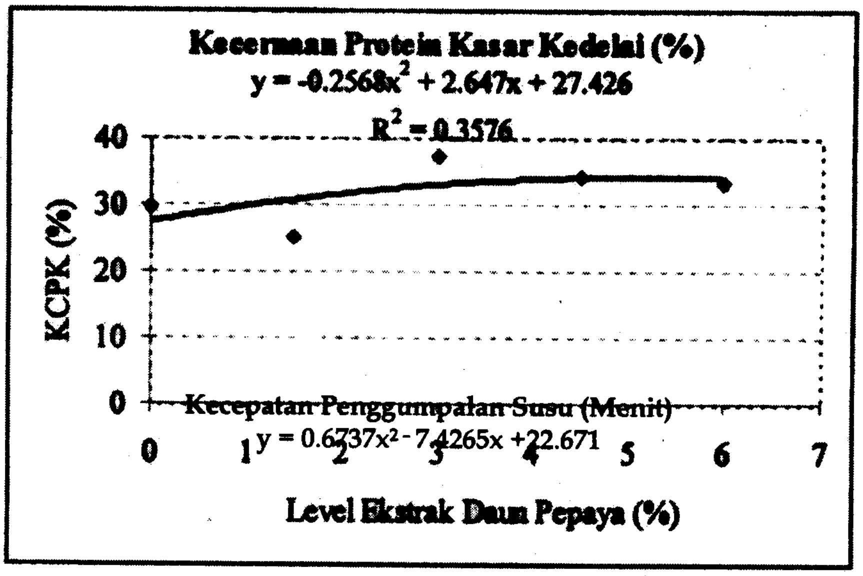
Level optimal ekstrak daun pepaya yang akan digunakan dalam penelitian utama dihasilkan dari percobaan 3.

Dari **Grafik 1** terlihat bahwa penurunan waktu yang dibutuhkan untuk menggumpalkan susu pertama kali, mulai dari level ekstrak daun pepaya 1% sampai 3% terjadi sangat tajam, tetapi setelah 3% penurunannya tidak terlalu signifikan.

Berdasarkan uji Duncan, penurunan waktu penggumpalan pada level 1 sampai 3 persen sangat berbeda nyata ($P<0.01$) dan lebih dari 3% penurunan waktu penggumpulan susu tersebut tidak berbeda nyata. Dengan demikian level 3% digunakan sebagai dosis papain untuk ditambahkan pada kedelai dalam penelitian utama.

Pengaruh Ekstrak Daun Pepaya terhadap Kecernaan Kedelai *in Vitro*

Pengaruh ekstrak daun pepaya terhadap kecernaan kedelai *in vitro* dihasilkan dari percobaan 4. Pengaruh itu dapat dilihat pada kecernaan bahan kering dan protein kedelai sebagai berikut :



Gambar 1. Hubungan level ekstrak daun pepaya dengan lamanya waktu penggumpalan susu pertama kali.

Kecernaan Bahan Kering (KCBK) Kedelai

Perlakuan enzimatis pada kedelai dengan menggunakan papain berbeda nyata ($P<0.05$) meningkatkan Kecernaan Bahan Kering (KCBK) kedelai. Berdasarkan perhitungan statistika KCBK kedelai dapat dilihat pada **Tabel 2**. Kedelai yang mendapatkan perlakuan enzimatis papain memiliki Kecernaan Bahan Kering lebih tinggi dibandingkan kedelai yang tanpa perlakuan enzimatis.

Tabel 2. Kecernaan bahan kering kedelai

Level ekstrak daun pepaya	KCBK (%)
0.0	26.00[a]
1.5	24.96[a]
3.0	27.72[ab]
4.5	31.38[b]
6.0	27.96[ab]

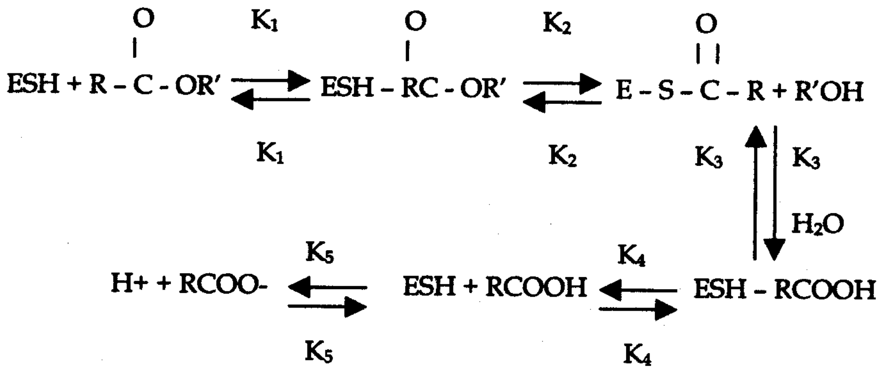
Keterangan : Huruf dengan superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan sangat nyata

Menigkatnya kecernaan protein kedelai yang termodifikasi enzim papain disebabkan adanya aktivitas papain yang mengkatalisis proses hidrolisis protein kedelai menjadi peptida-peptida rantai pendek atau asam-asam amino yang mudah dicerna dan diserap oleh dinding usus. Hal ini disebabkan karena papain memiliki sisi aktif gugus-SH yang membentuk ikatan disulfida dengan sisi sistein yang memecah atau menghidrolisis amida pada residu asam-amino seperti arginin, lisin, glutamin, histidin, glisin dan tirosin (Gambar 2) (Muchtadi *et al.*, 1992).

Yamamoto (1975) menyatakan bahwa papain mampu menghidrolisis protein kedelai yang ditunjukkan dengan adanya rasa dan bau harum, serta ditunjukkan dengan adanya kemampuan penggunaan bersama metionin ester substrat. Ditambahkan oleh Whitaker (1994) bahwa papain pun mampu melepaskan ikatan inhibitor yang ada di substrat (antitripsin). Hasil penelitian Vaintraub & Yattara (1995) menyatakan bahwa enzim papain mampu memecahkan ikatan peptida yang ada pada antitripsin terutama pada jenis Kunitz Soybean Trypsin Inhibitor

(KSTI). Kerja papain, subtilysin dan pepsin terhadap antitripsin kedelai dimulai dengan pambagian inhibitor (antitripsin) menjadi fragmen-fragmen yang ditahan di dalam molekul oleh nonkovalen dan rantai bisulfide (SS).

Hasil penelitian Priyanto (1989) menyatakan bahwa kemampuan daya hambat dari antitripsin terhadap papain dalam hidrolisis protein kasein lebih kecil daripada daya hambat antitripsin terhadap tripsin. Dia menambahkan bahwa antitripsin termasuk inhibitor yang bersifat non kompetitif yaitu mampu bereaksi dengan enzim.

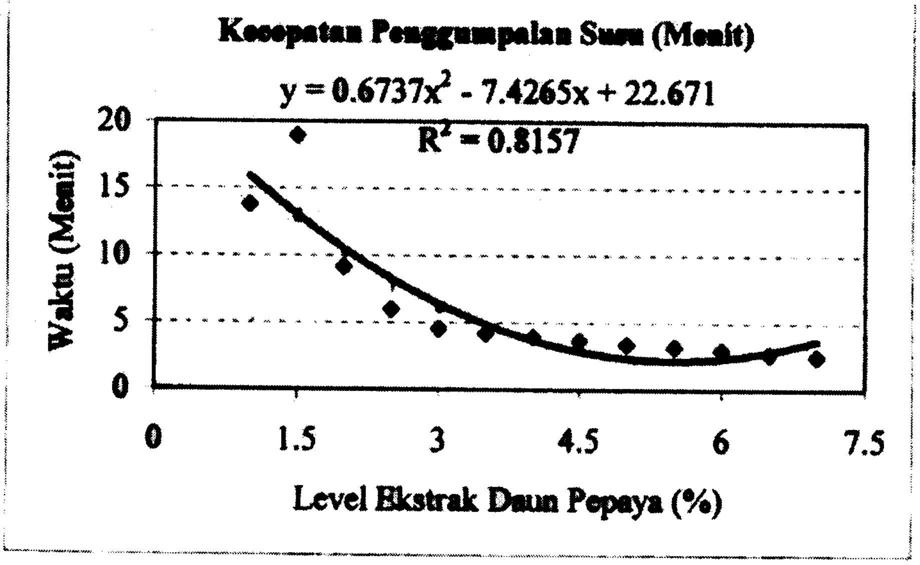


Gambar 2. Reaksi hidrolisis papain menurut Whitaker

Sung *et al.* (1983) menyatakan bahwa papain mampu memperbaiki fungsi protein kedelai melalui penggabungan ATHL (*N-Acetyl-L-Homocysteine Thiolactone*) dengan sisi rantai asam amino kedelai yang dihasilkan dari grup sulfidril baru. Proses hidrolisis ini berjalan dengan dua tahap:

1. Transthioesterification yang cepat untuk membentuk thioenzim acyl.
2. Aminolisis yaitu penggabungan thioenzim acyl dengan grup amino dari protein kedelai yang menghasilkan peptida atau isopeptida.

Menurut Fox (1991), aktivitas enzim dalam kedelai akan lebih tinggi bila kedelainya telah dihancurkan dan dirusak, sehingga bentuk pasta diperkirakan akan lebih meningkatkan kecernaan protein kedelai.



Gambar 3. Grafik hubungan level ekstrak daun pepaya dengan kecernaan protein kasar kedelai

Hubungan level papain dengan KCPK kedelai menunjukkan hubungan yang kuadratik (**Gambar 3**). Penggunaan ekstrak daun pepaya pada level 3% menunjukkan pengaruh yang paling tinggi terhadap KCPK (37.41%). Berdasarkan uji kontras ortogonal level 3%, 4.5% dan 6% penggunaan ekstrak daun pepaya pada kedelai menunjukkan nilai KCPK yang tidak berbeda nyata (dianggap konstan) yaitu 37.41%, 34.13% dan 33.34%, tetapi cenderung menurun. Hal ini diduga karena konsentrasi papain pada level lebih dari 3% telah mencapai tingkat yang tidak efektif lagi.

Menurut Reed (1975), konsentrasi enzim merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses hidrolisis protein. Semakin tinggi konsentrasi enzim yang ditambahkan makin besar pula kecepatan reaksinya. Tetapi pada batas-batas tertentu hasil hidrolisis yang diperoleh akan konstan dengan meningkatnya konsentrasi enzim dikarenakan penambahan enzim sudah tidak efektif.

KESIMPULAN

Penggunaan papain pada kedelai secara *in vitro* meningkatkan kecernaan bahan kering dan protein kedelai secara nyata. Sumber ekstrak daun pepaya sebagai sumber papain lebih baik dibandingkan dengan buah pepaya dan papain komersial. Level optimal ekstrak daun pepaya adalah 3% dari bahan kering kedelai.

DAFTAR PUSTAKA

Boison, S. 1991. *A Model Forfeed Evaluation Based on Invitro Digestible Dry Matter and Protein.* Redwood Press Ltd. Melksham.

Bond, J.S. 1989. *Proteolitik Enzyms a Practical Approach.* Department of Biochemistry. Virginia Polytechnic Institute and state University Blacksburg. VA 24061 - 0308 USA.

Darwis, A.A., A. Suryani, R. Peranginangin & S. Kusnaeni. 1995. Pembuatan hidrolisat protein ikan menggunakan enzim papain untuk suplemen protein pada mie. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian.* Vol. V, No. 2, hal. 64-130.

Fox, P.F., P.A. Morissy & D.M. Mulvihill. 1982. Chemical and Enzymatic Modification of Food Protein. In Developments in Food Protein - I.B.J.F. Hudson Ed. *Appl. Sci.* pbl. London, 1-60.

Fox, P.F. 1991. *Food Enzymology.* Elsevier Applied Science, New York.

Koswara, S. 1992. *Teknologi Pengolahan Kedelai Menjadi Makanan Bermutu.* Pustaka Sinar Harapan. Jakarta.

Muchtadi, D., N.S. Palupi & M. Astawan. 1992. *Enzim dalam Industri Pangan.* Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Priyanto, S. 1989. *Pengaruh antitripsin kedelai mentah terhadap daya cerna tripsin, papain dan bromelin pada kasein.* Fakultas Pasca Sarjana, Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.

Reed, G. 1975. *Enzym in Food Processing.* Second Edition. (cd) Food Science and Technology. Academic Press. New York . P : 84 - 123.

Singh, N.P., M. Singh & B.C. Pathayak. 1979. Effect of Energy and Protein Levels on Nutrient Digestibility and Wool Production, *Indian J. Animal Science.* 49 (4) : 277-281.

Sung, H.Y., H.J. Chen, T.Y. Liu & J. Ching Su. 1983. Improvement of the functionality of soy protein by introduction of new thiol groups through a papain-catalyzed acylation. *J. Food Sci.* Vol. 48. P: 708-712.

Whitaker, J.R. 1994. *Principles of Enzymology for The Food Sciences.* Marcel Dekker, Inc. New York.

Yamamoto, A. 1974. *Proteolitic Enzymes in Enzymes in Food Processing.* Reed, Gerald (Ed). 2nd. Edition. Academic Press. New York. San Fransisco. London. Chapter 7.124-174.