



KOVALEN: Jurnal Riset Kimia

<https://bestjournal.untad.ac.id/index.php/kovalen>



Hidrolisis Protein Teripang Hitam (*Holothuria edulis*) Menggunakan Bromelin Kasar dari Batang Nanas (*Ananas comocus* L)

[Protein Hydrolysis of Black Sea Cucumber (*Holothuria edulis*) Using Crude Bromelain from Pineapple Stem (*Ananas comocus* L)]

Fakhrija Sahraini*, Abd. Rahman Razak, Syaiful Bahri, Hardi Ys

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tadulako, Palu, Indonesia

Abstract. Black sea cucumber is one type of sea cucumber whose protein content is quite high at 74-82%, not yet widely used by the community as a source of protein. One way to use it is to process the protein into a protein hydrolyzate using the bromelain enzyme which was isolated from pineapple stems. This study aims to determine the concentration of the bromelain enzyme extract and the optimum hydrolysis time to the value of the hydrolysis degree of hydrolyzate of black sea cucumber protein. Protein hydrolysates are produced by variations of the crude bromelain concentration of 9%, 10%, 11%, and 12% (v/v) and hydrolysis time of 120, 180, 240, and 300 minutes. The results showed that the optimum degree of hydrolysis was obtained with the use of bromelain extract with a concentration of 12% with a value of 11.43% and a hydrolysis time of 240 minutes with a value of 19.17%.

Keywords: Bromelain, degree of hydrolysis, black sea cucumber, pineapple stalks

Abstrak. Teripang hitam merupakan salah satu jenis teripang kandungan proteinnya yaitu 74-82%. Jenis teripang ini belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai sumber protein. Salah satu cara untuk pemanfaatannya adalah dengan mengolah proteinnya menjadi hidrolisat protein menggunakan enzim bromelin yang diisolasi dari batang nanas. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan konsentrasi ekstrak enzim bromelin dan waktu hidrolisis optimum terhadap nilai derajat hidrolisis hidrolisat protein teripang hitam. Hidrolisat protein dihasilkan dengan metode variasi konsentrasi enzim bromelin 9%, 10%, 11% dan 12% (v/v) dan variasi waktu hidrolisis (120, 180, 240 dan 300) menit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa derajat hidrolisis optimum diperoleh pada penggunaan ekstrak bromelin konsentrasi 12% dengan nilai 11,43% dan waktu hidrolisis 240 menit dengan nilai 19,17%.

Kata kunci: Bromelin, derajat hidrolisis, teripang hitam, batang nanas

Diterima: 13 November 2021, Disetujui: 13 Desember 2021

Sitasi: Sahraini, F., Razak, A R., Bahri, S., dan Ys, H. (2021). Hidrolisis Protein Teripang Hitam (*Holothuria edulis*) Menggunakan Bromelin Kasar dari Batang Nanas (*Ananas comocus* L). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 7(3): 214-219.

LATAR BELAKANG

Teripang adalah merupakan sumber hayati banyak terdapat di Sulawesi Tengah, yaitu di Kabupaten Banggai Kepulauan, yang merupakan sumber hayati laut yang tinggi akan

kandungan protein, salah satunya yaitu teripang hitam. Teripang hitam adalah salah satu jenis family holothuriade yang terdapat di perairan Indonesia, dan memiliki kandungan protein yang sangat tinggi. Kandungan protein pada teripang segar berkisar 61,3 - 76,64% (Karnila *et al.*, 2011a, 2011b). Protein

* Corresponding author
E-mail: fsahraini@gmail.com

<https://doi.org/10.22487/kovalen.2021.v7.i3.15689>



didalamnya memiliki asam amino yang lengkap yaitu asam amino esensial dan asam amino non esensial.

Kandungan protein pada teripang sangat tinggi sehingga dapat diolah menjadi hidrolisat protein. Hidrolisat protein merupakan campuran asam amino yang diperoleh melalui degradasi hidrolitik protein dengan asam, basa atau enzim proteolitik (Prastika et al., 2019). Kadar protein dari pembuatan hidrolisat protein secara enzimatik menggunakan bromelin dengan substrat bungkil biji Nyamplung memiliki nilai sebesar 21,56% dengan derajat hidrolisis (DH) terbaik pada penambahan enzim bromelin dengan konsentrasi 10% dan waktu hidrolisis 240 menit dengan nilai DH sebesar 6,43%. Hidrolisat protein dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang yaitu pada industri pangan atau dalam bidang farmasi.

Enzim yang umum digunakan dalam hidrolisat protein adalah bromelin. Bromelin merupakan enzim yang bersifat proteolitik. Protein yang menghidrolisis enzim bromelin mengandung ikatan peptida yang menjadi asam amino yang lebih sederhana. Dalam enzim bromelin golongan glikoprotein adalah golongan protein yang mengandung satu bagian oligosakarida pada tiap molekul yang terikat secara kovalen dengan rantai polipeptida enzim tersebut (Gautam et al., 2010).

Tanaman nanas banyak mengandung enzim bromelin baik dari tangkai, daun maupun batang dalam jumlah yang berbeda. Batang nanas merupakan bagian nanas yang pemanfaatannya masih kurang (Herdiyastuti, 2006; Kumaunang & Tabaga, 2011). Menurut (Gautam et al., 2010), menyatakan bahwa batang nanas memiliki aktivitas enzim bromelin lebih tinggi yaitu sebesar 3,500 GDU (*Gelatin*

Digestion Unit)/gram sedangkan pada buah nanas enzim bromelin yaitu sebesar 1.500 GDU/gram

Gugus amino bebas memiliki presentase yang disebut derajat hidrolisis yang dapat dilepaskan selama proses hidrolisis. Derajat hidrolisis protein dipengaruhi oleh faktor konsentrasi enzim protease dan waktu hidrolisis (Kurniawan et al., 2012; Restiani, 2016). Sehubungan dengan hal tersebut dipandang perlu melakukan penelitian terhadap pengaruh konsentrasi dan waktu hidrolisis protein teripang dengan menggunakan enzim kasar bromelin dari batang nanas.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Peralatan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu, teripang hitam dari perairan Banggai Kepulauan dan batang nanas. Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu, neraca analitik (*Ohaus Corp. Pine Brook*), ayakan 60 mesh, termosshaker (*Gerhardt*), pH meter, vortex, oven (*Memmert*), sentrifugasi (*Eppendorf Centrifuge 5810*), dan perangkat destilasi kjeldahl (*Gerhardt*).

Prosedur Penelitian

Isolasi enzim dari batang nanas

Batang nanas dicuci dengan menggunakan akuades, kemudian dipotong-potong dan dihancurkan, kemudian di homogenisasi dengan buffer fosfat dilakukan sedikit-sedikit sebanyak 1:1. Larutan yang diperoleh kemudian disentrifugasi pada kecepatan 314,16 rad/s selama 15 menit pada suhu 15°C. selanjutnya dipisahkan supernatan dengan endapannya. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim bromelin (Herdiyastuti, 2006; Khairunnisa et al., 2019)

Pembuatan tepung daging teripang hitam

Teripang hitam yang diperoleh dibersihkan dan dipisahkan antara isi perut dan daging. Daging teripang dibersihkan menggunakan air mengalir dan dikeringkan 2-3 hari dengan menggunakan suhu 40-50°C. kemudian daging teripang yang sudah kering dipotong-potong dan diayak setelah itu daging teripang yang kering dipotong-potong kecil dan diblender. kemudian diayak menggunakan ayakan 60 mesh, hingga diperoleh tepung daging teripang (Yunita et al., 2017).

Pembuatan hidrolisat protein tepung daging teripang

Tepung daging teripang dilarutkan dalam buffer fosfat dengan total perbandingan tepung daging teripang: ammonium fosfat 1:10 (b/v). Suspensi selanjutnya menggunakan NaOH 1N sampai pH nya 7 dan dipre-inkubasi pada alat *shaker* dengan kecepatan 100 rpm, pada suhu 45°C selama 20 menit. Setelah itu diinkubasi selama 180 menit dengan dilanjutkan penambahan enzim bromelin dengan variasi konsentrasi (9, 10, 11, dan 12% (b/v)), kemudian dilanjutkan proses hidrolisis dengan waktu 180 menit dan ditambahkan konsentrasi DH tertinggi yaitu 12%, proses ini digunakan untuk hidrolisis dengan variasi waktu (120, 180, 240, dan 300 menit). Kemudian dididihkan dengan suhu 80°C selama 15 menit bertujuan untuk menghentikan proses hidrolisis secara enzimatik (Restiani, 2016).

Analisis derajat hidrolisis

Dilakukan analisis derajat hidrolisis (DH) dengan menggunakan hidrolisat protein sebanyak 20 ml dan ditambahkan sebanyak 20 ml TCA 10% (b/v). kemudian campuran didiamkan selama 30 menit, setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 523,6 rad/s selama 15 menit. Kemudian supernatan yang

didapatkan dianalisis kadar proteinnya dengan menggunakan metode Kjeldahl (AOAC, 2005). DH ditentukan sesuai persamaan 1 (Baehaki et al., 2015).

$$DH (\%) = \frac{\text{Nitrogen Terlarut TCA 10\%}}{\text{Nitrogen Total Sampel}} \times 100 \quad (1)$$

Analisis kadar protein dengan metode kjeldahl

Sampel ditimbang 0,5 gr lalu dimasukkan kedalam tube kjeldahl, kemudian ditambahkan 15 mL asam sulfat pekat dan ditambahkan 2 gr campuran $\text{Na}_2\text{SO}_4 - \text{HgO}$ (20:1) untuk katalisator. Kemudian dididihkan sampai jernih (kurang lebih 1,5 jam) dan dilanjutkan pendinginan selama 30 menit lagi. Setelah dingin ditambahkan akuades 35 mL dan 8,5 mL campuran $\text{NaOH-Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, kemudian dilakukan destilasi dan ditampung dalam 6,5 mL H_3BO_3 4% yang telah diberi tetesan indikator metil merah dan ditampung sebanyak 25 mL. kemudian destilat yang diperoleh dititrasi dengan HCl 0,02 N (b) sampai terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah (AOAC, 2005). Kadar protein dihitung dengan menggunakan persamaan 2.

$$\text{protein (\%)} = \frac{(V_{\text{sampel}} - V_{\text{blanko}}) \times N_{\text{HCl}} \times f_k \times 14,01}{a} \quad (2)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

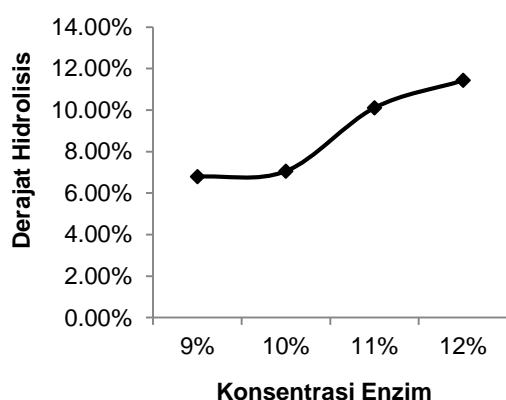
Ekstrak Enzim Bromelin dari Batang Nanas

Ekstrak kasar enzim bromelin diperoleh melalui metode ekstraksi menggunakan larutan Buffer fosfat pH 7 dengan perbandingan 1:1. Pada proses ekstraksi ini menggunakan sebanyak 200 gr batang nanas dan 200 ml buffer fosfat pH 7, Ekstrak kasar enzim bromelin dalam bentuk supernatan diperoleh dengan cara sentrifugasi dengan kecepatan 314,16 rad/s selama 15 menit pada kondisi suhu 15°C. Supernatan yang diperoleh dalam

bentuk larutan berwarna kuning. Adapun jumlah ekstrak enzim pada tahap ini diperoleh sebanyak 280 ml. Penggunaan buffer fosfat pH 7 dikarenakan bromelin termasuk dalam kelompok enzim sulfhidril yang bekerja pada pH netral.

Derajat Hidrolisis Protein Teripang Hitam pada Berbagai Konsentrasi Enzim

Proses hidrolisis antara enzim dan substrat dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya konsentrasi enzim. Semakin tinggi jumlah enzim yang terdapat dalam suatu sistem maka proses kerja enzim semakin tinggi sehingga produk hidrolisisnya semakin banyak. Hasil uji kjeldahl pada hidrolisat protein dengan variasi konsentrasi enzim bromelin dari batang nanas didapatkan bahwa DH meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi enzim (Gambar 1)



Gambar 1. Pengaruh konsentrasi ekstrak kasar enzim bromelin terhadap derajat hidrolisat protein teripang hitam.

Wijaya dan Yuniarta (2015) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim bromelin yang digunakan dalam proses hidrolisis protein, maka jumlah hidrolisat ataupun asam amino yang dihasilkan semakin banyak. Pada konsentrasi 9% diperoleh hidrolisat proteinnya sebesar 6,79%, dengan

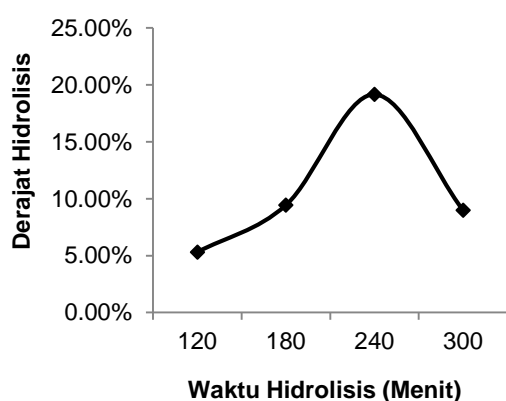
bertambahnya konsentrasi sampai 12% terjadi peningkatan yang cukup signifikan dengan hidrolisat protein yang diperoleh sebesar 11,43%, lebih tinggi dibandingkan DH protein pada penambahan konsentrasi enzim 9,10, dan 11% dengan nilai derajat hidrolisat berturut-turut adalah 6,79%, 7,06% dan 10,11%. Penyebab dari meningkatnya kecepatan hidrolisis terhadap substrat yang berada dalam jumlah tetap disebabkan karena semakin banyak jumlah enzim yang ditambahkan maka semakin banyak pula asam amino yang dihasilkan., ditunjukkan dengan hasil kjeldahl dimana semakin tinggi hidrolisatnya maka jumlah N yang terlarut semakin banyak.

Zarei et al. (2012) melaporkan bahwa juga penggunaan bromelin 2% pada hidrolisis protein bungkil *deffated palm kernel* selama 5 jam dan menghasilkan DH yang lebih tinggi daripada hidrolisat teripang hitam yang dilakukan, yaitu 20%. Tetapi DH yang dihasilkan masih lebih besar jika dibandingkan dengan DH hidrolisat protein biji nyamplung yang dilaporkan oleh Restiani (2016), yaitu 6,43% pada penambahan enzim 10% dan waktu hidrolisis 240 menit. Hasil yang diperoleh juga masih lebih baik dibandingkan DH hidrolisat ampas tahu menggunakan 11% bromelin bonggol nanas (7,23%) (Bahri et al., 2021).

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, diketahui bahwa nilai signifikansi pengaruh konsentrasi enzim terhadap DH protein teripang hitam lebih besar dari 0.05, yang berarti bahwa konsentrasi enzim berpengaruh nyata terhadap DH hidrolisat protein teripang hitam dan memiliki nilai R^2 0,808 atau mendekati 1 yang berarti korelasi kuat.

Derajat Hidrolisis Protein Teripang Hitam pada Beberapa Waktu Hidrolisis

Proses hidrolisis protein juga ditentukan lamanya waktu hidrolisis, semakin lama waktu reaksi maka semakin lama interaksi yang terjadi. Pengaruh lamanya waktu hidrolisis terhadap nilai DH selama proses hidrolisis berlangsung dengan variasi waktu yaitu 120, 180, 240 dan 300 menit. Hasil uji Kjeldahl pada hidrolisat protein dengan variasi waktu hidrolisis tersebut terlihat seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Pengaruh waktu hidrolisis terhadap DH protein teripang hitam

Pada Gambar 2 ditunjukkan bahwa DH yang dihasilkan dengan variasi waktu hidrolisis 120, 180, 240, dan 300 menit berturut-turut adalah 5,30%; 9,43%; 19,17%; dan 8,99%. Hal ini menunjukkan bahwa pada waktu 240 menit jumlah hidrolisat yang dihasilkan semakin banyak, tetapi pada waktu 300 menit aktivitasnya menurun karena protein akan mengalami kerusakan jika dihidrolisis melebihi waktu hidrolisis optimumnya. Hasil yang didapatkan berbeda dengan DH ampas tahu dengan bromelin bonggol nenas yang memiliki DH tertinggi pada waktu 120 menit (22,82%) (Bahri *et al.*, 2021). Enzim merupakan polimer protein, sehingga apabila berasal dari sumber

yang berbeda, maka aktivitas dari enzimnya juga akan mengalami perbedaan.

Pada waktu 240 menit peningkatan kecepatan hidrolisis sangat mungkin yang disebabkan oleh terputusnya ikatan peptida telah mencapai kecepatan maksimal, sedangkan aktivitas pemotongan ikatan peptida pada enzim bromelin mengalami penurunan karena semakin berkurangnya substrat yang tersedia, sehingga menyebabkan penghambatan sisi aktif enzim. Dengan demikian, semakin lama waktu hidrolisis, maka protein enzim akan mengalami kerusakan.

Hasil yang diperoleh berbeda dengan hasil penelitian Restiani (2016), yaitu hidrolisis protein biji nyamplung dengan menggunakan enzim bromelin pada variasi waktu 30, 60, 120, 180, dan 240 menit, dimana waktu hidrolisis yang optimumnya, yaitu waktu 180 menit, kemudian mengalami penurunan pada waktu 240 menit. Hal ini disebabkan karena jumlah kandungan protein dalam substrat, jenis protein yang berbeda dalam substrat dan sumber enzim bromelin yang digunakan.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam, diketahui bahwa nilai signifikansi pengaruh waktu hidrolisis terhadap DH protein teripang hitam adalah 0.00 (Sig. < 0.05), yang berarti bahwa waktu hidrolisis berpengaruh nyata terhadap DH. Hasil uji lanjut menunjukkan adanya 2 subset, yakni a dan b dengan waktu hidrolisis optimum adalah 240 menit.

KESIMPULAN

Derajat hidrolisis tertinggi yang dihasilkan dalam proses hidrolisis protein teripang hitam adalah pada konsentrasi ekstrak enzim bromelin 12% dengan kadar hidrolisatnya sebesar 11,43%. Waktu hidrolisis optimum ekstrak kasar enzim bromelin pada teripang

hitam pada 240 menit dengan nilai DH yang dihasilkannya sebesar 19,17%.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. (2005). *Official Method of Analysis, 18th Edition*. Association of Official Analytical of Chemist, Washington DC.
- Baehaki, A., Lestari, S., & Romadhoni, A. (2015). Hidrolisis Protein Ikan Patin Menggunakan Enzim Papain Dan Aktivitas Antioksidan Hidrolisatnya. *JPHPI, 18*(3), 230–239. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.3.230>
- Bahri, S., Hadati, K. S., & Satrimafitrah, P. (2021). Production of protein hydrolysate from tofu dregs using the crude extract of bromelain from pineapple core (*Ananas comosus* l). *Journal of Physics: Conference Series, 1763*(1), 012008. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1763/1/012008>
- Gautam, S. S., Mishra, S. K., Dash, V., Goyal, A. K., & Rath, G. (2010). Comparative study of extraction, purification and estimation of bromelain from stem and fruit of pineapple plant. *The Thai Journal of Pharmaceutical Sciences, 34*(2), 67–76.
- Herdyastuti, N. (2006). Isolasi Dan Karakterisasi Ekstrak Kasar Enzim Bromelin Dari Batang Nanas (*Ananas comosus* L.merr): *Berkala Penelitian Hayati, 12*(1), 75–77. <https://doi.org/10.23869/402>
- Karnila, R., Astawan, M., Sukarno, S., & Wresdiyati, T. (2011a). Analisis Kandungan Nutrisi Daging Dan Tepung Teripang Pasir (*Holothuria scabra* J.) Segar. *Berkala Perikanan Terubuk, 39*(2), 51–60. <https://doi.org/10.31258/terubuk.39.2.%p>
- Karnila, R., Astawan, M., Sukarno, S., & Wresdiyati, T. (2011b). Karakteristik Konsentrat Protein Teripang Pasir (*Holothuria scabra* J.) Dengan Bahan Pengekstrak Aseton. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan, 16*(02), 90–102. <https://doi.org/10.31258/jpk.16.02.%p>
- Khairunnisa, FA., Vedder, M., Evers, L., and Permana, S. (2019). Bromelain Content of Extract from Stem of Pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr). *AIP Conf. Proc. 2019, 020014-1–020014-5*. The 9th International Conference on Global Resource Conservation (ICGRC). AIP Publishing. <https://doi.org/10.1063/1.5061850>
- Kumaunang, M., & Tabaga, A. (2011). Amobilisasi Enzim Bromelin Yang Diisolasi Dari Batang Nanas Dengan Menggunakan Karagenan. *CHEMISTRY PROGRESS, 4*(2), 85–88. <https://doi.org/10.35799/cp.4.2.2011.4979>
- Kurniawan, Lestari, S., & Hanggita RJ, S. (2012). Hidrolisis Protein Tinta Cumi-Cumi (*Loligo sp*) Dengan Enzim Papain. *Fishtech, 1*(1), 41–54.
- Prastika, H. H., Ratnayani, K., Puspawati, N. M., & Laksmiwati, A. A. I. A. M. (2019). Penggunaan Enzim Pepsin Untuk Produksi Hidrolisat Protein Kacang Gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) Yang Aktif Antioksidan. *CAKRA KIMIA (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry), 7*(2), 180–188.
- Restiani, R. (2016). Hidrolisis Secara Enzimatis Protein Bungkil Biji Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) Menggunakan Bromelain. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati, 1*(3), 103–110. <https://doi.org/10.24002/biota.v1i3.1226>
- Wijaya, J. C., & Yuniarta. (2015). Pengaruh Penambahan Enzim Bromelin Terhadap Sifat Kimia Dan Organoleptik Tempe Gembus (Kajian Konsentrasi Dan Lama Inkubasi Dengan Enzim). *Jurnal Pangan dan Agroindustri, 3*(1), 96–106.
- Yunita, M., Laenggeng, A. H., & Tangge, L. (2017). Kadar Protein Daging Teripang Hitam (*Holothuria edulis*) dan Teripang Pasir (*Holothuria scabra*) Serta Implementasinya sebagai Media Pembelajaran. *e-JIP BIOL, 5*(1), 1–9.
- Zarei, M., Ebrahimpour, A., Abdul-Hamid, A., Anwar, F., & Saari, N. (2012). Production of Defatted Palm Kernel Cake Protein Hydrolysate as a Valuable Source of Natural Antioxidants. *International Journal of Molecular Sciences, 13*(7), 8097–8111. <https://doi.org/10.3390/ijms13078097>