



Hidrolisis Protein Beras oleh Ekstrak Kasar Enzim Bromelin

Zalniati Fonna Rozali*, Zaidiyah, Yanti Meldasari Lubis

Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

Jl. Tgk. Hasan Krueng Kalee No.3, Kopelma Darussalam, Kec. Syiah Kuala, Kota Banda Aceh, Indonesia

INFO ARTIKEL

* Penulis koresponden

email: zalniatifonnarozali@usk.ac.id

Kata kunci:

Protease

Uji Aktivitas

Aktinomiset

Isolat lokal

Keywords:

Protease

Activity

Analysis

Actinomycetes

ABSTRAK

Bromelin merupakan enzim proteolitik kuat asal tumbuhan *Bromeliaceae* yang sering diaplikasikan pada berbagai industri pangan salah satunya dalam menghasilkan hidrolisat protein. Beras merupakan salah satu sumber karbohidrat yang banyak dimanfaatkan patinya. Proses ekstraksi pati beras akan menghasilkan limbah dengan kadar protein tinggi. Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak kasar bromelin dalam menghidrolisis protein dari tepung beras dan ekstrak protein beras, dan menentukan derajat hidrolisis dari proses tersebut. Penilaian derajat hidrolisis dilakukan terhadap dua substrat yaitu tepung beras dan ekstrak protein beras dengan periode hidrolisis selama 1, 2, 3 dan 4 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa derajat hidrolisis terbesar diperoleh pada substrat ekstrak protein beras, dan derajat hidrolisis meningkat seiring dengan bertambahnya waktu hidrolisis pada 3 jam pertama.

ABSTRACT

Bromelain is a strong proteolytic enzyme from *Bromeliaceae* plants that is often applied to various food industries, one of which is in producing protein hydrolysates. Rice is one source of carbohydrates that is widely utilized for its starch. The extraction process of rice starch will produce waste with high protein content. The main objective of this research is to determine the ability of bromelain crude extract in hydrolyzing protein from rice flour and rice protein extract and determine the degree of hydrolysis from the process. The degree of hydrolysis was assessed on two substrates: rice flour, and rice protein extract, with hydrolysis periods of 1, 2, 3, and 4 hours. The results showed that the greatest degree of hydrolysis was obtained in the rice protein extract substrate, and the degree of hydrolysis increased as the hydrolysis time increased in the first 3 hours.

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan sebuah negara agraris yang memproduksi padi mencapai 54,75 juta ton pada tahun 2022 (BPS, 2023). Proses penggilingan padi menjadi beras akan menghasilkan produk samping berupa beras patah. Beras patah yang dihasilkan dalam sekali penggilingan dapat mencapai 10% dari berat gabah kering atau diperkirakan sekitar 5 juta ton pada tahun 2022. Saat ini, beras patah selain telah diolah menjadi tepung beras juga diolah menjadi pati beras.

Namun, proses ekstraksi pati beras tidak dapat dilakukan dengan air biasa seperti proses ekstraksi pati pada umumnya. Ukuran granula pati beras yang kecil yakni sekitar 3-8 µm dalam bentuk tunggal atau sekitar 150 µm dalam bentuk campuran (Tester dan Karkalas, 2002), berasosiasi dengan protein, menyebabkan pati beras cenderung mengapung bersama komponen lain dan menyulitkan proses ekstraksi. Menurut Wang et al., (2017), metode ekstraksi pati beras dipengaruhi beberapa factor

seperti tingkat kelarutan protein dan tingkat interaksi protein dengan pati. Protein mempunyai kemampuan untuk menjaga keseimbangan antara protein yang bersifat hidrofilik dan protein yang bersifat hidrofobik. Terjadinya interaksi elektrostatik protein dengan pati karena adanya reaksi saling tarik-menarik antara molekul protein yang bermuatan negatif dengan granula pati yang bermuatan positif.

Protein merupakan suatu makromolekul yang umumnya larut dalam alkali, sehingga proses ekstraksi pati beras sering menggunakan larutan alkali, detergen, enzim protease atau kombinasinya. Hidrolisis protein beras dengan alkali berhasil menghidrolisis protein hingga 70%, hanya saja dapat menyebabkan pH tepung menjadi tinggi atau tepung berasa asin karena penetralan (Lumdubwong dan Seib 2000). Hidrolisis protein dengan detergen anionik juga baik hanya saja secara komersial, namun limbahnya sulit untuk diolah. Hidrolisis protein menggunakan enzim protease pada pH netral membutuhkan waktu lama yaitu hingga 24 jam. Cara lain yang dapat dilakukan yaitu

menggunakan enzim protease alkalin *food grade*, yang mampu menghidrolisis protein hingga 63% (Lumdubwong dan Seib 2000).

Menurut Hermawan dan Meilani (2016), beras mengandung protein sebesar 8,17%, sedangkan tepung beras mengandung protein sebesar 7,59% (Tuankotta *et al.* 2015). Proses ekstraksi pati beras akan menghasilkan limbah berupa cairan yang kaya akan protein. Protein ini dapat dimanfaatkan dan digunakan sebagai hidrolisat protein. Proses ekstraksi pati beras menggunakan enzim bromelin potensial untuk dilakukan. Protein beras tersebut bila dihidrolisis oleh enzim protease seperti bromelin akan menghasilkan hidrolisat protein berupa peptida rantai pendek dan asam amino. Bromelin (EC.3.4.22.4) merupakan enzim sistein protease asal tumbuhan *Bromeliaceae*, khususnya nanas (*Ananas comosus* L.) (IUBMB, 1992). Selain bersifat *food grade*, enzim ini juga dilaporkan memiliki aktivitas fibrinolitik, antitumor, antiedematis, antineoplastik, antitrombosis, dan antiinflamasi (Amini *et al.* 2016). Bromelin memiliki aktivitas protease yang kuat dan sudah banyak diaplikasikan pada industri kesehatan, pangan, dan produksi hidrolisat protein (Arshad *et al.* 2014). Menurut Rozali *et al.*, (2019), aktivitas enzim bromelin tertinggi diperoleh pada pH 8.

Tujuan utama dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan ekstrak kasar bromelin dalam menghidrolisis protein dari tepung beras dan ekstrak protein beras pada pH dan periode atau waktu hidrolisis berbeda, serta menentukan derajat hidrolisis dari proses tersebut.

2. METODOLOGI PENELITIAN

Bahan

Bahan utama yang digunakan sebagai substrat dalam penelitian ini yaitu tepung beras yang berukuran 80 mesh. Tepung beras ini berasal dari beras patah varietas IR42 yaitu produk samping penggilingan padi. Bahan utama lainnya yaitu buah nanas varietas Palembang.

Ekstraksi Protein Beras (de Souza *et al.*, 2016)

Ekstraksi protein dilakukan menggunakan NaOH 0.045 M. Sebanyak 1 bagian tepung beras ditambahkan 15 bagian NaOH 0,045M, lalu diaduk dengan stirer selama 30 menit dengan kecepatan 750g pada suhu kamar. Suspensi yang diperoleh disentrifugasi pada 3000g selama 5 menit. Supernatan dikumpulkan dan endapan dicuci dengan NaOH 0.045 M (1:5 w/v tepung:NaOH). Suspensi yang diperoleh disentrifugasi lagi pada 3000g selama 5 menit. Supernatan dikumpulkan dan nilai pH diturunkan menjadi 4.8 dengan HCl 5 M dan 0.5 M. Endapan protein kemudian dipisahkan dengan sentrifugasi pada 7000 rpm selama 5 menit. Endapan dikumpulkan, ditiriskan dan disimpan pada suhu -20 °C. Endapan yang diperoleh disimpan sebagai ekstrak protein beras.

Ekstrak kasar bromelin (Rozali *et al.*, 2019)

Buah nanas disiapkan sebagai sumber enzim proteolitik, bromelain. Buah nanas tanpa kulit diproses dalam ekstraktor. Jus disaring dua kali menggunakan 3 lapis kain untuk mendapatkan jus nenas yang mengandung ekstrak kasar enzim bromelain.

Penentuan Aktivitas Enzim dan Aktivitas Spesifik

Sebanyak 50 µl ekstrak kasar bromelin ditambahkan 250 µl buffer fosfat salin 0.05 M pH 7 dan 250 µl kasein 2%. Kemudian campuran enzim dan substrat tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 10 menit dan disentrifuse 1500g selama 10 menit. Diambil sebanyak 375 µl supernatan dan ditambahkan 1250 µl Na₂CO₃ 0.4 M dan 250 µl pereaksi folin ciocateau (pengenceran 1:2) lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 20 menit dan diukur absorbansi pada panjang gelombang 578 nm. Aquades digunakan sebagai kontrol dan tirosin 5 mM digunakan sebagai standar. Satu unit aktivitas enzim menunjukkan jumlah enzim yang dapat menghidrolisis 1 µmol tirosin per menit pada kondisi pengujian.

Analisis Proksimat

Ekstrak protein beras dianalisis kadar air, kadar protein, kadar lemak, kadar abu menurut SNI 01-2891-1992 (BSN, 1992), dan analisis karbohidrat dilakukan dengan metode *by different*. Ekstrak kasar bromelin dianalisis kadar protein menurut SNI 01-2891-1992 (BSN, 1992). Sedangkan analisis proksimat untuk tepung beras patah diacu kepada Rozali *et al.* (2019).

Hidrolisis Enzimatik

Sebanyak 25 ml ekstrak kasar bromelin ditambahkan ke masing-masing perlakuan yaitu 1.6 gr isolat protein atau 5 gr tepung beras (berat berbeda untuk menyamakan kadar protein dari masing-masing substrat). Hidrolisis dilakukan pada pH 3.2 yaitu kondisi pH alami ekstrak kasar bromelin dan pH 8. Pengaturan pH 8 dilakukan dengan menambahkan larutan NaOH 0,5 N. Hidrolisis dilakukan sesuai perlakuan yaitu 0, 1, 2, 3 dan 4 jam. Hidrolisis diakhiri dengan memanaskan campuran selama 15 menit pada suhu 90°C. Hasil hidrolisis selanjutnya disebut sebagai hidrolisat protein beras. Setiap perlakuan diulang sebanyak 3 kali ulangan.

Pengukuran Derajat Hidrolisis.

Sebanyak 10 ml hidrolisat protein beras dari masing-masing perlakuan ditambahkan 10 ml asam trikloroasetat (TCA) 20%. Campuran divorteks. Untuk mengumpulkan bahan terlarut sebagai supernatan, campuran dibiarkan selama 30 menit diikuti dengan sentrifugasi (2500g) selama 30 menit). Supernatan dianalisis kandungan nitrogennya dengan metode mikro Kjeldahl yang terdiri dari tahap destruksi, destilasi, dan titrasi. Derajat hidrolisis ditentukan dengan menggunakan rumus di bawah ini:

$$\text{Derajat Hidrolisis} = \frac{\text{kadar nitrogen terlarut dalam TCA 20\%}}{\text{Total nitrogen dalam sampel sebelum hidrolisis}} \times 100\%$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Komposisi Kimia Substrat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tepung beras, ekstrak protein beras dan ekstrak kasar bromelin. Selanjutnya tepung beras dan ekstrak protein beras digunakan sebagai substrat bagi ekstrak kasar bromelin dalam proses hidrolisis. Kadar protein tepung beras, ekstrak protein beras dan ekstrak kasar bromelin disajikan pada Tabel 1.

Ekstrak protein beras mengandung protein 3,14 kali lebih besar dari kadar protein tepung beras (Tabel 1). Hal

ini menandakan bahwa protein di dalam ekstrak protein beras lebih terkonsentrasi dibandingkan dalam tepung beras. Ekstrak protein beras adalah produk turunan dari tepung beras yang telah mengalami penghilangan atau pengurangan komponen selain protein seperti komponen karbohidrat, lemak dan mineral, sehingga kadar protein dalam ekstrak protein beras lebih besar dibandingkan tepung beras aslinya. Ekstrak protein beras yang digunakan dalam penelitian ini berupa ekstrak protein basah, yang dapat diketahui dari kadar air yang cukup tinggi yaitu sebesar 74,51 %. Ekstrak kasar bromelin juga mengandung protein sebesar 6,34 %. Berdasarkan karakteristik proksimat ekstrak protein beras tersebut diduga proses ekstraksi protein terjadi optimum.

Tabel 1. Komposisi kimia ekstrak protein beras, ekstrak kasar bromelin dan tepung beras patah varietas IR42

Komponen (%)	Ekstrak Protein Beras	Ekstrak Kasar Bromelin	Tepung Beras IR42 *)
Kadar Air	74,51 ± 0,45		14,26 ± 0,37
Protein	20,24 ± 0,94	6,34 ± 0,58	6,45 ± 0,24
Lemak	0,72 ± 0,32		0,31 ± 0,25
Total Abu	0,16 ± 0,10		0,34 ± 0,03
Karbohidrat	4,37 ± 1,40		78,65 ± 0,37

*) Rozali et al. (2019)

Aktivitas Enzim dan Aktivitas Spesifik

Aktivitas enzim bromelin untuk menghidrolisis protein dapat diketahui dengan mengukurnya pada kondisi pH optimal. Pengukuran aktivitas enzim termasuk seleksi awal yang dilakukan untuk mendapatkan hidrolisat yang maksimum. Data aktivitas bromelain dan aktivitas spesifik bromelin pada penelitian ini disajikan pada Tabel 2. Aktivitas maksimum ekstrak kasar bromelin pada suhu 50 °C diperoleh pada pH 8 yaitu sebesar 2.38 U/ml. Sementara itu, aktivitas spesifik tertinggi juga terjadi pada pH 8 yaitu sebesar 15.07 U/mg. Hal ini sesuai dengan penelitian Rozali et al. (2019) yaitu aktivitas enzim dan aktivitas spesifik bromelin terbesar pada suhu 50 °C terjadi pH 8. Sedangkan menurut Ketnawa et al. (2010), aktivitas optimum bromelin yaitu terjadi pada kisaran pH 3 sampai pH 8.

Tabel 2. Aktivitas enzim dan aktivitas spesifik dari ekstrak kasar bromelin

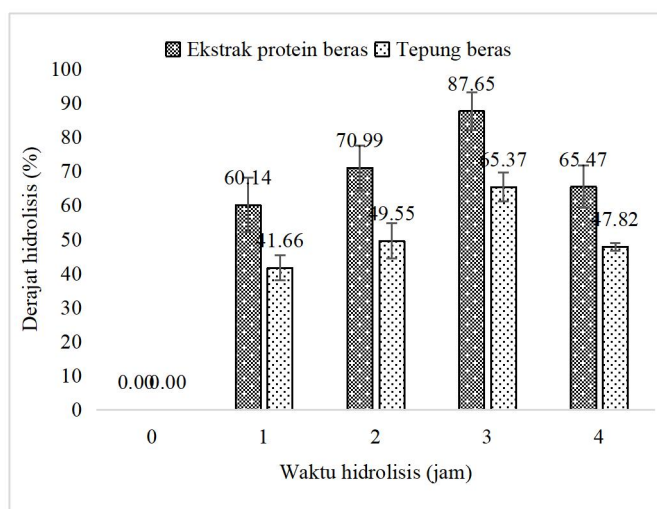
pH	Aktivitas Enzim (U/ml)	Aktivitas Spesifik (U/mg)
3,2	1,75 ± 0,10	11,11 ± 0,63
8	2,38 ± 0,28	15,07 ± 1,77

Derajat Hidrolisis

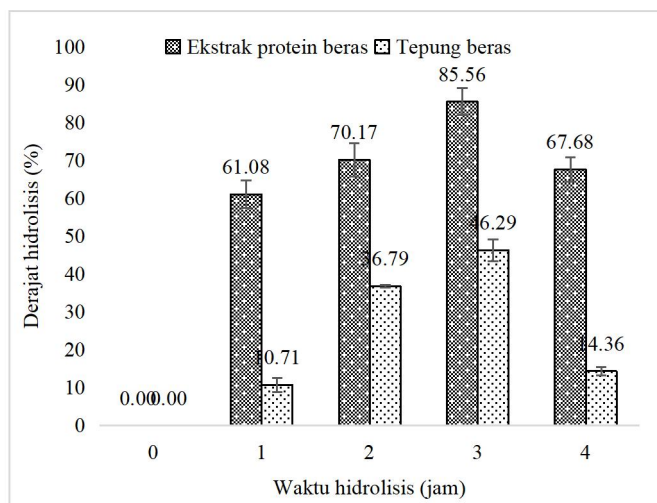
Derajat hidrolisis merupakan parameter kunci reaksi hidrolisis dan digunakan untuk memantau keberlangsungan hidrolisis. Derajat hidrolisis menggambarkan persentase ikatan peptida yang terhidrolisis sehingga dihasilkan berbagai ukuran peptida rantai pendek (Restiani, 2016). Derajat hidrolisis adalah parameter yang menunjukkan kemampuan protease untuk menghidrolisis suatu protein. Derajat hidrolisis dipengaruhi oleh jumlah peptida dan

asam amino yang dihasilkan dari sumber protein melalui aksi enzim protease (Restiani, 2016).

Derajat hidrolisis protein pada ekstrak protein beras dan tepung beras disajikan pada Gambar 1. Derajat hidrolisis tertinggi diamati pada isolat protein beras dan tepung beras yaitu 96.16% dan 64.55% setelah hidrolisis selama 3 jam. Namun, perlakuan periode hidrolisis menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$). Aktivitas tinggi pada protein isolat beras dan tepung beras telah diamati selama 3 jam hidrolisis. Hidrolisis ekstrak kasar bromelin pada tepung beras tampak lebih aktif dari pada isolat protein selama 3 jam pertama. Ada kemungkinan bahwa prosedur isolasi protein menghasilkan struktur protein yang lebih kompak karena interaksi non kovalen antara molekul protein.



(A)



(B)

Gambar 1. Derajat hidrolisis ekstrak protein beras dan tepung beras oleh ekstrak kasar enzim bromelin pada pH 3,2 (A) dan pH 8 (B) selama periode hidrolisis 0, 1, 2, 3 dan 4 jam.

Nilai derajat hidrolisis meningkat dengan semakin meningkatnya periode hidrolisis (Gambar1). Hal ini diduga terjadi karena semakin banyak jumlah ikatan peptida di dalam substrat (ekstrak protein beras dan tepung beras) yang terhidrolisis akibat aktivitas bromelin. Semakin lama

waktu hidrolisis akan meningkatkan jumlah protein dan peptida dengan berat molekul kecil dari sebelum proses hidrolisis dimulai (0 jam) hingga hampir semua protein terhidrolisis (kondisi optimum). Hal ini sesuai dengan yang dinyatakan Tavano (2013) yaitu reaksi proteolisis berperan penting dalam pemutusan ikatan peptida, sehingga memperkecil berat molekul protein, namun meningkatkan jumlah asam amino bebas, gugus karboksil dan peptida rantai pendek. Menurut Tavano (2013), protein dan peptide hasil hidrolisis bersifat mudah larut dalam air dan memperbesar jumlah fraksi larut air di dalam hidrolisat protein.

Tidak terdapat perbedaan signifikan antara perlakuan hidrolisis ekstrak protein beras oleh ekstrak kasar bromelin pada pH alami 3,2 dan pH 8, dimana derajat hidrolisis tertinggi diperoleh setelah selama 3 jam (Gambar 1). Namun terdapat perbedaan nyata pada perlakuan hidrolisis tepung beras oleh ekstrak kasar bromelin pada pH alami 3,2 dan pH 8, dimana derajat hidrolisis tepung beras oleh ekstrak kasar bromelin lebih besar terjadi pada pH alami.

Menurut Lumdubwong dan Seib (2000), penggunaan metode kombinasi protease alkalin dan NaOH dengan konsentrasi protease yang sama dapat mempersingkat waktu inkubasi hingga 7 jam (Bindar *et al.* 2013), tetapi ekstraksi pati dengan enzim protease, alkali, atau detergen dapat menghidrolisis protein hingga >90 % (Zhong *et al.* 2009). Namun pada penelitian ini, waktu hidrolisis ekstrak protein beras dan tepung beras lebih singkat yaitu 3 jam.

4. KESIMPULAN

Karakteristik proksimat ekstrak protein beras sudah mencirikan proses ekstraksi terjadi optimum. Interaksi perlakuan jenis substrat dan waktu hidrolisis serta pH berpengaruh sangat nyata terhadap derajat hidrolisis. Jenis substrat optimum untuk ekstrak kasar bromelin yaitu ekstrak protein beras. Untuk mencapai derajat hidrolisis optimum dibutuhkan waktu hidrolisis selama 3 jam.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Amini, A., Masoumi-Moghaddam, S., Morris, D. L., Amini, A., Masoumi-Moghaddam, S., & Morris, D. L. (2016). *Bromelain* (pp. 63-80). Springer International publishing.
- Arshad, Z. I. M., Amid, A., Yusof, F., Jaswir, I., Ahmad, K., & Loke, S. P. (2014). Bromelain: an overview of industrial application and purification strategies. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98, 7283-7297.
- Balai Pusat Statistik [BPS]. 2023. Produksi Padi Indonesia per Provinsi. Laporan tahun 2022
- de Souza, D., Sbardelotto, A. F., Ziegler, D. R., Marczak, L. D. F., & Tessaro, I. C. (2016). Characterization of rice starch and protein obtained by a fast alkaline extraction method. *Food Chemistry*, 191, 36-44.
- Hernawan, E., & Meylani, V. (2016). Analisis karakteristik fisikokimia beras putih, beras merah, dan beras hitam (*Oryza sativa* L., *Oryza nivara* dan *Oryza sativa* L. *indica*). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 15(1), 79-91.
- IUBMB (International Union of Biochemistry and Molecular Biology). 1992. *Enzyme Nomenclature* Academic Press, San Diego.
- Lumdubwong N, Seib PA. 2000. Rice starch isolation by alkaline protease digestion of wet-milled rice flour. *Journal of Cereal Science* 31. 63-74
- Restiani, R. (2016). Hidrolisis secara enzimatik protein bungkil biji nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) menggunakan bromelain. *Biota: Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 103-110.
- Rozali, Z. F., Purwani, I. E. Y., Palupi, N. S., & Suhartono, M. T. Production of Protein Hydrolysate from Broken Rice by Crude Bromelain Enzyme in Different Conditions.
- Tavano, O. L. (2013). Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 90, 1-11.
- Tester RF, Karkalas J. 2002. Polysaccharides. II. Polysaccharides from eukaryotes. In: Vandamme EJ, De Bates S, Steinbuchel A (eds) *Starch in Biopolymers*. Vol 6, Weinheim, Wiley-VCH, pp 381-438
- Tuankotta, A., Kurniaty, N., & Arumsari, A. (2015). Perbandingan kadar protein pada tepung beras putih (*oryza sativa* l.), tepung beras ketan hitam (*oryza sativa* l. *glutinosa*), dan tepung sagu (*metroxylyon sagu rottb.*) dengan menggunakan metode kjeldahl. *Prosiding Farmasi*, 109-114.
- Wang, X., Appels, R., Zhang, X., Diepeveen, D., Torok, K., Tomoskozi, S., Bekes, F., Ma, W., Sharp, P. & Islam, S. (2017). Protein Interactions During Flour Mixing Using Wheat Flour With Altered Starch. *Food Chemical*. 231, 247-257.