

**PENGARUH KONSENTRASI ENZIM PROTEASE DARI ISOLAT
Lactobacillus plantarum B1765 TERHADAP KEEMPUKAN DAGING**

***THE INFLUENCE OF PROTEASE ENZYME CONCENTRATION FROM
Lactobacillus plantarum B1765 ISOLATE TO MEAT TENDERNESS.***

I Gusti Ngurah Agung Oka Dhana dan Prima Retno Wikandari*
Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Universitas Negeri Surabaya
Jl. Ketintang Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

*Corresponding author, email : primaretno@unesa.ac.id

Abstrak. Daging merupakan bagian yang tersusun oleh serat-serat sejajar otot dan melekat pada tulang manusia dan hewan yang memiliki tekstur padat kuat. Selama ini masyarakat dalam mengempukan daging menggunakan enzim papain dan bromelain dari getah pepaya dan nanas yang merupakan enzim protease. Pada penelitian ini dipelajari potensi enzim protease yang diisolasi dari bakteri asam laktat *L.plantarum* B1765 sebagai alternatif dalam pengempukan daging. Keempukan daging diuji menggunakan penetrometer dan dianalisis statistik anova satu arah untuk mengetahui pengaruh Konsentrasi enzim protease 0.25%, 0.50%, 0.75%, dan 1% selama waktu perendaman 30 menit. Ada pengaruh konsentrasi enzim protease terhadap keempukan daging yang ditunjukkan dengan $p > 0.05$. Semakin tinggi konsentrasi enzim protease dan lama waktu perendaman yang digunakan, maka semakin tinggi nilai keempukan daging. Hasil uji keempukan daging menunjukkan nilai keempukan daging tertinggi dengan lama waktu perendaman 30 menit yaitu konsentrasi enzim protease 1% sebesar 8.0 mm/g/10 s, konsentrasi enzim protease 0.75%, 0.50%, 0.25% menghasilkan nilai keempukan daging berturut-turut sebesar 6.9 mm/g/10 s, 5.8 mm/g/10s, 5.3 mm/g/10 s.

Kata kunci: *L.plantarum* B1765, Pengempukan Daging, Protease.

Abstract. Meat is composed of parallel fibers of the muscle and attached to the bones of humans and animals that has a strong solid texture. In general, people use the protease papain and bromelain enzyme of papaya and pineapple latex. This reaseatch studied the potential of protease enzymes from lactic acid bacteria *L.plantarum* B1765 isolated as an alternative for meat tenderness. Meat tenderness was tested using a penetrometer and one-way ANOVA statistical analysis to determine the effect of protease enzyme concentrations of 0.25%, 0.50%, 0.75%, and 1% during soaking time 30 minutes. There is an effect of protease enzyme concentration on meat tenderness as indicated as big as $p > 0.05$. The highest the concentration of protease enzymes and the soaking time, then the higher the value of meat tenderness. Meat tenderness test results showed the highest meat tenderness value with 30 minutes soaking time that is 1% protease enzyme concentration as big as 8.0 mm / g / 10 s, protease enzyme concentration of 0.75%, 0.50%, 0.25% resulting in meat tenderness values of 6.9 mm / g / 10 s, 5.8 mm / g / 10s, 5.3 mm / g / 10 s respectively.

Keywords: *L.plantarum* B1765, Meat Tenderness, Protease.

PENDAHULUAN

Di Indonesia, banyak keanekaragaman makanan khususnya daging. Daging merupakan bagian yang tersusun oleh serat-serat sejajar otot dengan jumlah yang sangat besar dan melekat pada tulang hewan. Daging dapat digolongkan menjadi dua golongan yaitu golongan daging merah dan golongan daging putih. Golongan daging putih

merupakan daging yang memiliki serat-serat sejajar otot yang lebih empuk yaitu ayam, angsa, ikan (tidak semua ikan memiliki daging golongan putih masih ada ikan memiliki daging golongan merah yaitu ikan salmon). Golongan daging merah merupakan daging yang memiliki serat-serat sejajar otot yang lebih alot dibandingkan dengan daging golongan putih, daging golongan merah

yaitu babi, domba, kambing, kerbau, kuda, sapi dan lain-lain. Kualitas daging yang unggul ditentukan oleh nilai keempukan [1].

Kealotan merupakan proses terbentuknya miofibril dan jaringan ikat otot-otot daging yang sejajar tegak lurus yang disebabkan dengan banyak aktivitas gerak yang dilakukan ternak itu sendiri dan metode pengelolaan daging. Metode pengelolaan daging sangat mempengaruhi keempukan daging. Keempukan daging terjadi karena adanya proses degradasi protein atau pemutusan sarkomer dalam daging. Pemutusan sarkomer dalam daging merupakan pemutusan sel-sel miofibril dan jaringan ikat pada jaringan otot dalam daging sehingga tekstur daging menjadi empuk [1].

Selain pemutusan sel-sel miofibril yang lebih utama menjadikan daging empuk yaitu pemecahan kalogen dalam jaringan ikat. Pemecahan kalogen terjadi pada saat suhu 39°C dan struktur tiga rangkap spiral kalogen pembentuknya mulai putus pada suhu 65°C dalam jaringan ikat merupakan hasil hidrolisa oleh panas, sehingga daging terlihat lebih empuk. Konversi menjadi gelatin terjadi setelah temperatur mencapai 100°C untuk jangka waktu lama. Jika suhu lebih tinggi seperti dalam tekanan pemasakan 115-125°C, konversi menjadi gelatin terjadi dengan cepat terhadap kekuatan kalogen yang didenaturasi tergantung pada pengurang jumlah dari silangnya [2].

Secara umum masyarakat dalam mengempukan daging menggunakan enzim protease dari tanaman yaitu papaya, nanas dan tanaman biduri. Namun alternatif lain dalam pengempukan daging menggunakan sumber protease dari bakteri. Adapun alternatif lain dalam mengempukan daging menggunakan enzim protease hasil isolat ekstrak kasar dari golongan mikroba asam laktat. Golongan mikroba asam laktat yang memiliki enzim protease yaitu *Lactobacillus*. *Lactobacillus* merupakan golongan mikroba asam laktat yang memiliki enzim protease. Enzim protease dari *Lactobacillus plantarum* LAB 12 memiliki enzim protease yang dapat mengempukan daging. *Lactobacillus plantarum* LAB 12 dengan konsentrasi enzim

protease sebesar 0.25%, 0.50%, 0.75%, dan 1%. Dari penelitian tersebut pada konsentrasi 0.75% dengan waktu 30 menit menghasilkan tingkat keempukan terbaik [3].

Selain menggunakan enzim protease dari *Lactobacillus plantarum* LAB 12, telah ditemukan bakteri *Lactobacillus plantarum* yang memiliki aktivitas enzim protease yaitu *Lactobacillus plantarum* B1765. *Lactobacillus plantarum* B1765 (*L.plantarum* B1765) merupakan bakteri yang memiliki aktivitas proteolitik [4]. Aktivitas proteolitik dari bakteri *L.plantarum* B1765 yang ditunjukkan dengan bertambahnya jumlah peptida selama proses fermentasi bandeng dengan penambahan kultur starter *L.plantarum* B1765 [5]. Berdasarkan penelitian lebih lanjut telah dilakukan tentang proses isolasi enzim protease dengan pengendapan menggunakan ammonium sulfat 45% menghasilkan aktivitas tertinggi enzim protease sebesar 0,697 U/Mg dengan kadar protein sebesar 0.880 mg/mL sehingga diperoleh aktivitas spesifik sebesar 0.794 U/mg [6].

Dari latar belakang diatas maka perlu adanya penelitian berkelanjutan tentang “Pengaruh Konsentrasi Enzim Protease dari Isolat *Lactobacillus plantarum* B1765 Terhadap Keempukan daging”.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat gelas (gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, corong kaca, Erlenmeyer), seperangkat alat centrifugace (tabung centrifugace 10 mL dan tabung centrifugace 50 mL), neraca analitik, Penetrometer (*Precision scientific petroleum instruments*), pipet tetes, mikro pipet.

Bahan

Bahan yang digunakan adalah *L.plantarum* B1765, aquademin, MRSB (OXOID), (NH₄)₂SO₄ (merck), NaCl (merck), NaH₂PO₄.H₂O (merck), Na₂HPO₄.H₂O (merck), Na₂CO₃ (merck), NaOH (merck), CuSO₄.5H₂O (merck), *casein* (himedia).

PROSEDUR PENELITIAN

Tahap Pengumpulan dan Preparasi Sampel

Sampel daging yang digunakan yakni daging sapi bagian paha (*Shank*) berasal dari Rumah Potong Hewan (RPH) Kedurus, Kabupaten Surabaya, Provinsi Jawa Timur. Sampel daging dibersihkan dari kotoran yang menempel, selanjutnya sampel daging dipotong dengan ukuran sebesar $\pm 2 \times 2 \times 2$ cm.

Bakteri yang digunakan yaitu *L.plantarum* B1765 berasal dari fermentasi bekasam, selanjutnya *L.plantarum* B1765 ditumbuhkan pada media pertumbuhan MRSB selama diinokulasi selama ± 16 jam pada suhu 37°C .

Tahap Produksi Enzim Protease.

100 mL *L.plantarum* B1765 ditumbuhkan pada 1000 mL media pertumbuhan (MRSB 52.2 g dan kasein 5%) diinokulasi selama ± 16 jam pada suhu 37°C , diisolasi menggunakan centrifuge pada suhu 4°C selama ± 10 menit dengan kecepatan 5000 rpm, supernatant dipisah dari endapan dan selanjutnya diendapkan menggunakan ammonium sulfat 50% dan ditambahkan buffer pospat pH 7 (b/v), dicentrifuge pada suhu 4°C selama ± 15 menit dengan kecepatan 5000 rpm, endapan dipisah dari supernatant, endapan ekstrak kasar enzim protease dibilas dengan aseton (b/v), dikeringkan sampai bau aseton hilang, selanjutnya dilarutkan kedalam buffer pospat pH 7 (100 mL).

Tahap Pengempukan Daging.

Sampel daging yang dipotong $\pm 2 \times 2 \times 2$ cm direndam menggunakan konsentrasi ekstrak kasar enzim protease 0.25%, 0.50%, 0.75%, 1% selama waktu perendaman 30 menit, selanjutnya diuji keempukan menggunakan penetrometer.

Tahap Uji Keempukan Daging menggunakan Penetrometer.

Uji keempukan daging menggunakan penetrometer terlebih dahulu dilakukan menyiapkan seperangkat alat penetrometer, memasang universal cone, menambah pemberat (weight), mencatat berat universal cone + test rod + pemberat (a) gram, menyiapkan sampel daging hasil perendaman menggunakan konsentrasi

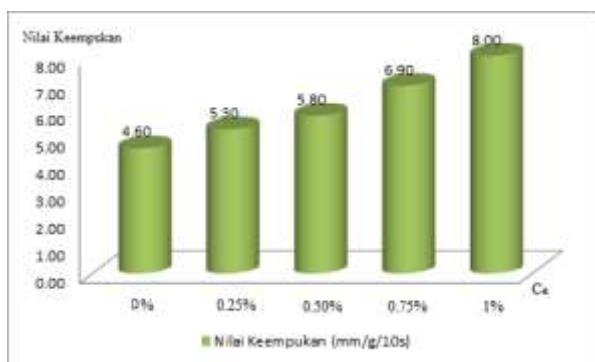
ekstrak kasar enzim protease 0.25%, 0.50%, 0.75%, 1% selama waktu perendaman 30 menit, sampel daging ditaruh di bawah jarum penunjuk skala penetrometer, mengatur jarum penunjuk pada skala menunjukkan angka nol, menekan tuas (lever/clutch) penetrometer selama 10 detik (t), dicatat dan dihitung nilai keempukan daging, selanjutnya hasil nilai keempukan daging dianalisis menggunakan anova satu arah untuk mengetahui pengaruh konsentrasi ekstrak kasar enzim protease selama waktu perendaman 30 menit.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi enzim protease dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri *L.plantarum* B1765 penghasil enzim protease pada media pertumbuhan MRSB dan kasein diinokulasi pada suhu 37°C selama 16 jam. Pertumbuhan *L.plantarum* B1765 menggunakan MRSB dan kasein yang berfungsi sebagai media yang mempercepat pertumbuhan dan produksi enzim protease. Hasil pertumbuhan kemudian diisolasi menggunakan centrifuge. Hasil centrifuge berupa supernatant dan endapan. Hasil endapan merupakan bakteri *L.plantarum* B1765 sedangkan supernatant merupakan ekstrak kasar enzim protease.

Supernatant dipisahkan dari endapan menggunakan kertas saring whatman nomer 1, selanjutnya supernatant diendapkan menggunakan ammonium sulfat 50% (b/v) diisolasi menggunakan centrifuge. Hasil centrifuge yaitu supernatant dan endapan. Endapan yang dihasilkan merupakan ekstrak kasar enzim protease, selanjutnya endapan dipisahkan menggunakan kertas saring whatman nomer 1 dan dibilas menggunakan aseton sampai bau aseton hilang.

Endapan ekstrak kasar enzim protease dilarutkan kedalam buffer fosfat pH 7, selanjutnya konsentrasi enzim protease sebesar 0.25%, 0.50%, 0.75% dan 1% direndam pada daging yang dipotong sebesar $\pm 2 \times 2 \times 2$ cm selama 30 menit. Besarnya nilai keempukan daging ditunjukkan dengan satuan mm/g/10s yang dihasilkan dari pengujian keempukan daging menggunakan penetrometer. Hasil uji keempukan daging ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Hasil Uji Keempukan Daging menggunakan Penetrometer.

Pengujian keempukan daging menggunakan penetrometer bertujuan untuk mengetahui nilai keempukan daging, semakin tinggi konsentrasi enzim protease selama waktu perendaman, maka semakin tinggi nilai keempukan daging. Nilai keempukan daging tertinggi pada konsentrasi enzim protease 1% selama waktu perendaman 30 menit menghasilkan nilai keempukan daging sebesar 8.0 mm/g/10s, konsentrasi enzim protease 0.75% selama waktu perendaman 30 menit menghasilkan nilai keempukan daging sebesar 6.9 mm/g/10 s, konsentrasi enzim protease 0.50% selama waktu perendaman 30 menit menghasilkan nilai keempukan daging sebesar 5.8 mm/g/10s, konsentrasi enzim protease 0.25% selama waktu perendaman 30 menit menghasilkan nilai keempukan daging sebesar 5.3 mm/g/10s, sedangkan konsentrasi 0% menghasilkan nilai keempukan daging sebesar 4.6 mm/g/10s.

Dari hasil uji keempukan daging menggunakan penetrometer sehingga untuk mengetahui pengaruh perendaman daging menggunakan konsentrasi enzim protease 0.25%, 0.50%, 0.75%, 1% selama waktu perendaman 30 menit terhadap nilai keempukan daging dilakukan analisis menggunakan statistik anova satu arah ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Statistik Anova Satu Arah Pengaruh Konsentrasi Enzim Protease selama Waktu Perendaman 30 menit Terhadap Keempukan Daging.

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	21.684	4	5.421	112.938	.000
Within Groups	.480	10	.048		
Total	22.164	14			

Berdasarkan Tabel 1. dapat dilihat bahwa hubungan pengaruh konsentrasi enzim protease selama waktu perendaman 30 menit mempengaruhi keempukan daging yang ditunjukkan dengan data hasil ukur nilai F sebesar 112.938, lebih besar dibandingkan nilai F tabel 0.05 sebesar 1.18, maka H_0 ditolak dan H_1 diterima artinya ada pengaruh konsentrasi enzim protease 0.25%, 0.50%, 0.75%, 1% selama waktu perendaman 30 menit terhadap nilai keempukan daging. Nilai *significant* $p < .05$, maka H_0 ditolak, artinya terdapat pengaruh yang *significant* antara satu variable independen terhadap variable dependen, nilai *significant* $p > .05$, maka H_0 diterima, artinya tidak ada pengaruh yang *significant* antara satu variable independen terhadap variable dependen [7].

Pengaruh keempukan daging terjadi pada saat semakin tinggi konsentrasi enzim protease dari isolasi *L.plantarum* B1765 yang digunakan, maka semakin banyak enzim protease yang meresap kedalam daging menghasilkan keempukan daging. karena pada waktu enzim protease meresap kedalam daging, pada kondisi tersebut enzim protease bekerja dengan mendegradasi berbagai fraksi protein dalam daging yaitu mendegradasikan kolagen menjadi hidrosiprolin mengakibatkan *shear force* kolagen berkurang, sehingga keempukan daging meningkat, selain mendegradasikan kalogen, enzim protease mendegradasi protein miofibril menghasilkan fragmen protein dengan rantai peptida lebih pendek, maka semakin banyak kalogen dan miofibril mengalami hilangnya ikatan antar serat dan juga pemecahan serat menjadi fragmen yang lebih pendek, menjadikan sifat serat

otot lebih mudah terpisah sehingga daging semakin empuk [8].

KESIMPULAN

Konsentrasi enzim protease dari isolasi *L.plantarum* B1765 yang digunakan mempengaruhi nilai keempukan daging. Semakin tinggi konsentrasi enzim protease, semakin tinggi nilai keempukan daging, nilai keempukan daging tertinggi pada konsentrasi enzim protease 1% sebesar 8.0 mm/g/10 s.

DAFTAR PUSTAKA

1. Lawrie, R.A. 2005. *Ilmu Daging*. Terjemahan Aminuddin Parakkasi. UI-Press, Jakarta.
2. Somanjaya. Rachmat, 2003. Pengaruh Enzim Papain Terhadap Keempukan Daging. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Perternakan*, 1 (2) : 3-5.
3. Melliawati. Ruth, 2015. Seleksi Bakteri Asam Laktat Sebagai Penghasil Enzim Protease. *Lipi Journal Bioteknologi PPB*, 1 (2) : 2-5.
4. Wikandari. Prima Retno, 2011. Karakteristik Bakteri Asam Laktat Proteolitik pada Bekasam. *Jurnal Natur Indonesia*, 14(2) : 120-125.
5. Zummah. Atiqoh dan Wikandari. Prima Retno, 2013. Pengaruh Waktu Fermentasi dan Penambahan Kultur Stater Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus plantarum* B1765 Terhadap Mutu Bekasam Ikan Bandeng (*chanos chanos*). *UNESA Journal of Chemistry*, 2 (3) : 3-7.
6. Panggayuh. Diah Puri, 2014. *Isolasi Enzim Protease dari Lactobacillus plantarum B1765 dengan Penambahan Kultur Ammonium Sulfat*. Tesis tidak diterbitkan. Surabaya : Universitas Negeri Surabaya.
7. Riduwan. 2015. *Dasar-Dasar Statistika*. Bandung : Alfabeta.
8. Monica. Putri Selly, 2008. Pengaruh Aktivitas Enzim Protease Terhadap Kadar Protein Daging. *UNEMA Journal Of Biology*, 1 (2) : 3-5.