

KARAKTERISASI HIDROLISAT PROTEIN KEDELAI HASIL HIDROLISIS MENGGUNAKAN PROTEASE DARI TANAMAN BIDURI (*Calotropis gigantea*)

Yuli Witono*, Aulanni'am**, Achmad Subagio*, dan Simon Bambang Widjanarko***

* Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember

** Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang

*** Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang

Alamat Koresponden: FTP-UNEJ: Jl. Kalimantan I-Kampus Tegal Boto, Jember 68121,

HP: 081336700946; email: ylwitono@yahoo.com

ABSTRACT

Properties of soy protein hydrolysate produced by protease from biduri plant were studied. The soy protein hydrolysate had different properties due to various concentrations and hydrolysis times of protease from biduri. Enzymatic hydrolysis of the soy protein decreased significantly in the TBA value. This process increased the soluble protein content and promoted the Maillard reaction, resulting in a more brown color. Moreover, the soy protein hydrolysate had a higher value of 'umami' taste by organoleptic evaluation.

Key words: biduri protease, hydrolysate, Maillard, organoleptic, soy protein

PENGANTAR

Kedelai merupakan komoditi yang sangat penting karena mengandung protein dan lemak yang tinggi (Liang, 1999), sebagai sumber nutrisi bagi manusia, kedelai mengandung sejumlah asam amino esensial (Marsman *et al.*, 1997). Kedelai mempunyai banyak manfaat, di antaranya dapat diolah menjadi bahan makanan alternatif dan minuman (Kinney, 2003) serta hidrolisat protein (Hrckova *et al.*, 2002).

Hidrolisat protein kedelai berpotensi sebagai bumbu penyedap masakan pengganti MSG (*Monosodium Glutamate*). Meskipun diperkenankan sebagai penyedap masakan, penggunaan MSG yang berlebihan bisa mengakibatkan rasa pusing dan sedikit mual. Gejala itu disebut *Chinese Restaurant Syndrome* (Indriasari, 2006; Syarifah, 2006). Penggunaan MSG pada makanan yang dikonsumsi sering mengganggu kesehatan karena MSG ketika dimakan akan terurai menjadi sodium dan glutamat sehingga MSG merupakan sumber natrium yang tinggi. Garam yang disuplai melalui MSG mampu memenuhi kebutuhan akan garam sebanyak 20–30%, sehingga konsumsi MSG yang berlebihan menyebabkan kenaikan kadar garam dalam darah. Hasil studi Prescott and Young (2002) menunjukkan bahwa 65% dari sampel responden mengklaim terjadi reaksi alergi pada beberapa orang akibat mengonsumsi makanan (sop) yang telah ditambahkan MSG. Kenyataan menunjukkan bahwa masyarakat dalam mengonsumsi MSG sebagai penyedap berbagai masakan sering melebihi dosis konsumsi yang aman bagi kesehatan.

Berdasarkan hal tersebut, maka pengembangan sumber cita rasa alami sangat perlu dilakukan. Diharapkan cita rasa alternatif tersebut tidak hanya berfungsi dalam menciptakan rasa gurih (*umami*) pada makanan, tetapi juga memberikan peran nutrisi dan aman bagi kesehatan.

Melalui teknik hidrolisis, protein dari suatu bahan dapat diubah menjadi senyawa asam amino L, nukleotida, dan berbagai ragam peptida. Bahan-bahan tersebut dipakai untuk menimbulkan *umami* pada makanan yang sering disebut *flavor enhancer*. Proses hidrolisis dapat dilakukan secara kimiawi maupun enzimatis. Proses hidrolisis kimiawi, yaitu dengan penambahan asam klorida dapat memperpendek waktu, mempermudah dan mengurangi biaya pembuatan. Namun demikian dengan teknik ini, *flavor* yang dihasilkan kurang baik dan keamanan bagi kesehatan kurang terjamin (Anonim, 2000). Teknik hidrolisis secara kimiawi akhir-akhir ini mulai dihindari oleh kebanyakan industri *food ingredient* di Indonesia. Hidrolisis secara enzimatis merupakan pilihan metode paling aman dalam produksi *flavor*.

Hidrolisis secara enzimatis lebih menguntungkan dibanding secara kimiawi, karena dapat menghasilkan asam-asam amino bebas dan peptida dengan rantai pendek yang bervariasi. Hal ini akan lebih menguntungkan karena memungkinkan untuk memproduksi hidrolisat dengan *flavor* yang berbeda. Produk tersebut diharapkan dapat digunakan pada industri makanan seperti penggunaan emulsi pada produk-produk daging, mi instan, sop, saus, atau makanan ringan. Menurut Kunts (2000), hidrolisat

protein mempunyai *range* aplikasi yang sangat luas terkait dengan sifat fungsional atau sifat nutrisinya.

Mengingat enzim protease untuk industri pangan selama ini kebanyakan masih impor dan harganya relatif mahal. Untuk itu perlu dikembangkan pemanfaatan enzim protease yang bersumber dari bahan alam lokal di Indonesia, salah satunya adalah protease dari tanaman biduri (*Calotropis gigantea*). Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak dari tanaman biduri baik getah, batang, maupun daun sangat potensial sebagai sumber enzim protease (Witono, 2002a; 2002b). Hasil karakterisasi enzim protease dari tumbuhan biduri, berdasarkan spesifitasnya mengindikasikan termasuk dalam golongan eksopeptidase (Witono dkk., 2004) yang sangat sesuai untuk aplikasi pada pembuatan hidrolisat protein (*flavor enhancer*). Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari aplikasi protease biduri dalam pembuatan hidrolisat protein kedelai, serta untuk mengetahui karakteristik hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah kedelai putih yang dibeli dari Pasar Tanjung Jember. Enzim protease biduri diperoleh dari hasil penelitian sebelumnya (Witono dkk., 2006) yakni *crude* protease dalam bentuk serbuk kering yang diekstrak dari tumbuhan biduri dengan aktivitas spesifik 0,14 Unit/mg. Bahan kimia yang digunakan berspesifikasi *Pro Analysis* sebagian besar bermerk *Merck* (Jerman). Peralatan yang digunakan meliputi: blender (*stainless steel*), sentrifus (*Yenaco model YC-1180*), spektrometri 21 D (*Melton Roy*), pH meter (*Jen Way type 3320*, Jerman), pengaduk magnetik (*Stuart Scientific*), vortex (*Thermolyne type 16700*), lemari pendingin, penangas air (GFL 1083), neraca analitik (*Ohaus*), pemanas listrik (*Gerhardt*), spatula, oven vakum, vortex (*Maxi Max Type 16700*), ayakan 80 mesh dan alat-alat gelas.

Cara Kerja

Penelitian dirancang secara acak kelompok faktorial dengan dua faktor, yaitu faktor A dan faktor B. Faktor A (konsentrasi protease biduri) terdiri atas 3 level meliputi: konsentrasi protease biduri 0,05% (w/w) (A1); 0,10% (w/w) (A2) dan 0,15% (w/w) (A3). Faktor B (lama hidrolisis) terdiri atas 3 level meliputi: lama hidrolisis 0 jam (B1); 1,5 jam (B2); dan 3 jam (B3). Masing-masing kombinasi perlakuan diulang 3 kali. Data dianalisis secara sidik ragam

($\alpha = 0,05$) (Gaspersz, 1991), selanjutnya ditampilkan dalam bentuk histogram dan tabel.

Pelaksanaan Penelitian

Kedelai direndam selama 24 jam, direbus selama 10 menit dengan tujuan untuk mendenaturasi protein kedelai sehingga mudah dihidrolisis, menginaktifkan enzim lipoksigenase, dan merusak tripsin inhibitor. Kemudian campuran ini diblender dengan rasio bahan dan air = 1 : 2 (berat/berat). Suspensi kedelai yang dihasilkan ditambahkan enzim protease biduri dengan konsentrasi 0,05%; 0,1%; dan 0,15% (% berat dari kedelai rebus kupas). Kemudian pH diatur menjadi 7 dan dihidrolisis dalam penangas air suhu 55 °C dengan waktu sesuai perlakuan (0 jam; 1,5 jam; dan 3 jam), dididihkan selama 10 menit untuk menginaktifkan enzim. Ditambahkan 0,4% CMC; 2% gula; dan 2% garam (% berat dari kedelai rebus kupas) sambil terus diaduk sampai mengental. Setelah mengental dihamparkan dalam loyang dan dikeringkan dalam oven vakum suhu 40 °C, tekanan 20 mmHg selama 18 jam. Setelah kering diblender dan diayak 80 mesh.

Parameter Pengamatan

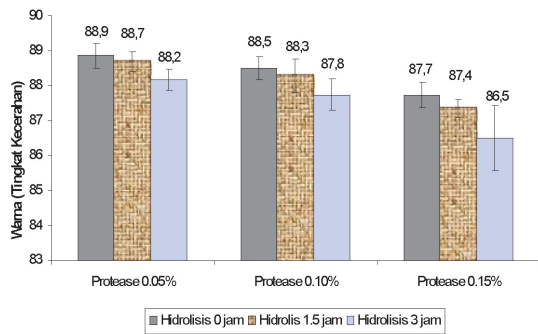
Variabel yang diamati meliputi: warna menggunakan *colour reader* (Subagio dan Morita, 1997), kadar air (AOAC, 1995), kadar protein terlarut menggunakan metode Lowry (1951 dalam Walker 2002), tingkat ketengikan menggunakan metode TBA dengan modifikasi (Subagio dkk, 2002), produk Maillard (Hofmann *et al.*, 1999), penentuan laju reaksi enzim protease biduri pada substrat kedelai dengan menentukan nilai K_m dan V_{max} menggunakan metode Lineweaver-Burk (Pelletier dan Sygusch, 1990 dengan modifikasi) dan sifat organoleptik yang meliputi warna, aroma, dan rasa dengan uji kesukaan (Lawless dan Heymann, 1998).

HASIL

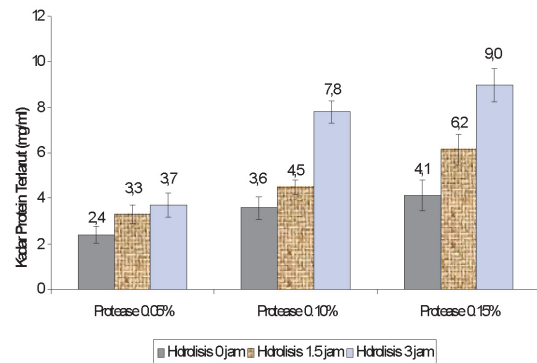
Warna (Tingkat Kecerahan)

Konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis berpengaruh ($\alpha = 0,05\%$) terhadap warna hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan. Adapun histogram nilai warna hidrolisat protein kedelai pada berbagai variasi konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisisnya tertera pada Gambar 1.

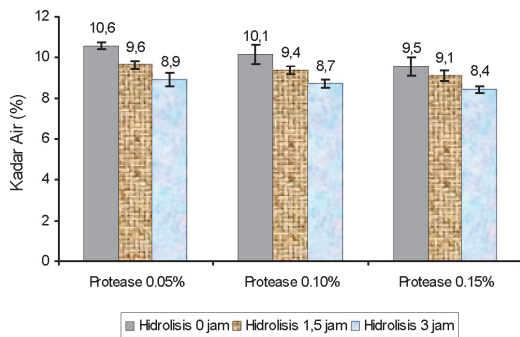
Gambar 1 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi protease biduri, nilai warna hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan semakin menurun dan hal ini



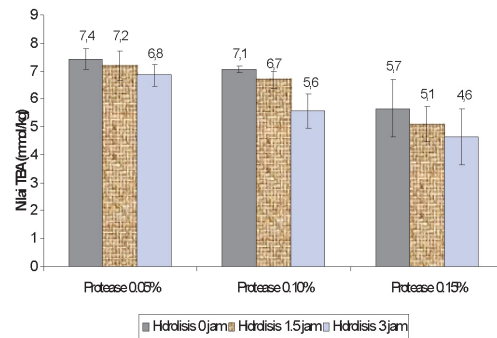
Gambar 1. Histogram nilai warna hidrolisat protein kedelai pada berbagai konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis



Gambar 3. Histogram kadar protein terlarut hidrolisat protein kedelai pada berbagai konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis



Gambar 2. Histogram kadar air hidrolisat protein kedelai pada berbagai konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis



Gambar 4. Histogram tingkat ketengikan hidrolisat protein kedelai pada berbagai konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis

menunjukkan warna yang terbentuk semakin gelap. Demikian juga semakin lama hidrolisis, nilai warna hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan semakin rendah (semakin gelap).

Kadar Air

Konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis berpengaruh ($\alpha = 0,05\%$) terhadap kadar air hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan. Histogram kadar air hidrolisat protein kedelai pada berbagai variasi konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisisnya dapat disimak pada Gambar 2.

Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi protease biduri dan semakin lama hidrolisis, kadar air hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan semakin menurun.

Kadar Protein Terlarut

Konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis berpengaruh ($\alpha = 0,05\%$) terhadap kadar protein terlarut

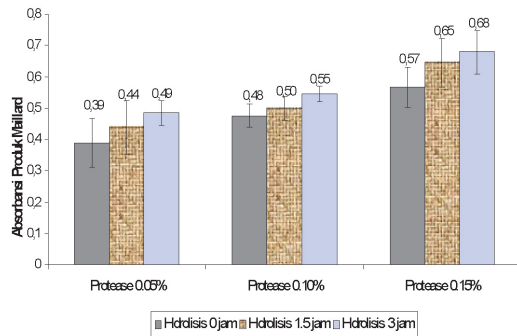
hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan. Adapun histogram kadar protein hidrolisat protein kedelai pada berbagai variasi konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisisnya tertera pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi protease biduri dan semakin lama waktu hidrolisis, maka kadar protein terlarut hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan semakin meningkat.

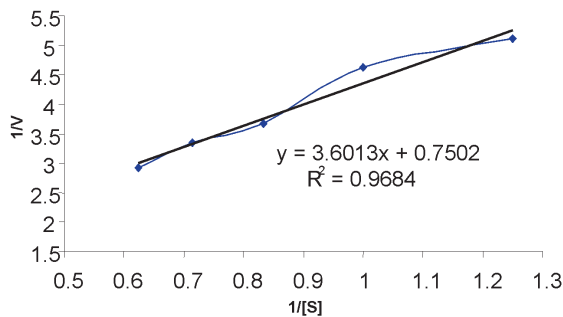
Tingkat Ketengikan

Konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis berpengaruh ($\alpha = 0,05\%$) terhadap tingkat ketengikan hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan. Histogram ketengikan hidrolisat kedelai pada berbagai konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis tertera pada Gambar 4.

Semakin besar konsentrasi enzim protease biduri, maka tingkat ketengikan (nilai TBA) hidrolisat protein



Gambar 5. Histogram nilai produk maillard hidrolisat protein kedelai pada berbagai konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis



Gambar 6. Hubungan konsentrasi substat dan kecepatan awal reaksi dengan menggunakan metode Lineweaver-Burk

kedelai yang dihasilkan semakin menurun. Gambar 4 juga menunjukkan bahwa semakin lama hidrolisis, maka semakin kecil tingkat ketengikan hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan.

Produk Maillard

Konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis berpengaruh ($\alpha = 0,05\%$) terhadap produk Maillard hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan. Adapun histogram produk Maillard hidrolisat protein kedelai pada berbagai variasi konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis tertera pada Gambar 5.

Semakin besar konsentrasi protease biduri, maka nilai produk Maillard hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan semakin tinggi. Gambar 5 juga menunjukkan bahwa semakin lama hidrolisis dengan protease biduri, dihasilkan nilai produk Maillard hidrolisat protein kedelai yang semakin meningkat.

Laju Reaksi Enzim Protease Biduri pada Substrat Kedelai

Hubungan antara konsentrasi substrat dengan kecepatan awal reaksi menggunakan metode Lineweaver-Burk ditunjukkan pada Gambar 6.

Berdasarkan Gambar 6 dapat ditentukan bahwa nilai V_{max} yang diperoleh sebesar 1,3330 mg/ml/mnt sedangkan K_m sebesar 4,8005 g/ml. Sehingga bila diestimasi, untuk memperoleh kecepatan awal sebesar $\frac{1}{2} V_{max}$ atau 0,6665 mg/ml/mnt, maka 1 bagian enzim protease biduri dapat digunakan untuk menghidrolisis 842,1846 bagian substrat kedelai kering.

Sifat Organoleptik

Konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisis berpengaruh ($\alpha = 0,05\%$) terhadap tingkat kesukaan warna, aroma, dan rasa hidrolisat protein kedelai. Adapun rangking nilai kesukaan warna, aroma, dan rasa hidrolisat protein kedelai pada berbagai variasi konsentrasi protease biduri dan lama hidrolisisnya sebagaimana tertera pada Tabel 1.

Tabel 1. Rangking kesukaan warna, aroma dan rasa hidrolisat protein kedelai hasil hidrolisis menggunakan protease biduri

Kombinasi Perlakuan	Warna	Aroma	Rasa
A1B1	3,36 ± 0,99	3,00 ± 0,71	2,72 ± 0,84
A1B2	4,00 ± 0,71	2,84 ± 0,69	3,24 ± 0,83
A1B3	4,20 ± 0,71	2,60 ± 0,96	3,20 ± 0,65
A2B1	2,88 ± 0,83	2,76 ± 0,66	2,92 ± 0,76
A2B2	3,68 ± 1,03	3,04 ± 0,89	3,04 ± 0,79
A2B3	2,48 ± 1,12	3,00 ± 0,58	3,36 ± 0,91
A3B1	2,52 ± 0,77	2,56 ± 0,58	3,12 ± 0,78
A3B2	3,44 ± 0,77	2,96 ± 0,73	3,44 ± 0,82
A3B3	3,36 ± 0,64	3,12 ± 0,83	3,20 ± 0,87

Tabel 1 menunjukkan bahwa nilai kesukaan warna hidrolisat protein kedelai tertinggi terdapat pada perlakuan A1B3 (konsentrasi protease 0,05% dan lama hidrolisis 3 jam) dengan nilai 4,20 (suka sampai sangat suka) sedangkan nilai kesukaan warna hidrolisat protein kedelai terendah diperoleh pada perlakuan A2B3 (konsentrasi protease 0,1% dan lama hidrolisis 3 jam) sebesar 2,48 (tidak suka sampai agak suka). Jadi warna hidrolisat protein kedelai yang disukai adalah yang tidak terlalu cerah.

Nilai kesukaan aroma hidrolisat protein kedelai tertinggi terdapat pada perlakuan A3B3 (konsentrasi protease 0,15% dan lama hidrolisis 3 jam) dengan nilai 3,12 (agak suka sampai suka). Nilai kesukaan aroma hidrolisat protein kedelai terendah diperoleh pada perlakuan A3B1

(konsentrasi enzim 0,15% dan lama hidrolisis 0 jam) sebesar 2,56 (tidak suka sampai agak suka).

Nilai kesukaan rasa hidrolisat protein kedelai tertinggi terdapat pada perlakuan A3B2 (konsentrasi enzim 0,15% dan lama hidrolisis 1,5 jam) dengan nilai 3,44 (agak suka sampai suka) sedangkan nilai kesukaan rasa hidrolisat protein kedelai terendah diperoleh pada perlakuan A1B1 (konsentrasi enzim 0,05% dan lama hidrolisis 0 jam) sebesar 2,72 (tidak suka sampai agak suka).

PEMBAHASAN

Warna (Tingkat Kecerahan)

Semakin besar konsentrasi protease biduri menghasilkan hidrolisat protein kedelai yang semakin gelap (kecoklatan). Hal ini terjadi karena pada saat proses hidrolisis terjadi pemutusan ikatan peptida oleh enzim protease menghasilkan gugus amina yang merupakan prekursor reaksi Maillard, di mana pada keadaan ini gugus amina protein bereaksi dengan gugus aldehyd atau keton dari gula pereduksi yang menghasilkan warna coklat. Semakin banyak konsentrasi protease biduri yang digunakan, maka produk Maillard yang dihasilkan semakin tinggi, sehingga hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan semakin gelap.

Demikian juga, semakin lama hidrolisis, maka hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan semakin gelap (kecoklatan). Hal ini karena semakin lama hidrolisis nilai produk Maillard yang dihasilkan semakin banyak sehingga warna hidrolisat semakin gelap. Hasil ini sesuai dengan penelitian Subagio dkk. (2002) bahwa semakin lama inkubasi dengan enzim protease *Flavourzyme*TM, maka warna hidrolisat protein tempe kedelai yang dihasilkan semakin gelap.

Kadar Air

Semakin banyak konsentrasi enzim protease biduri yang ditambahkan dan semakin lama waktu hidrolisis, maka semakin banyak ikatan peptida dari protein yang terputus menjadi molekul yang lebih kecil sehingga kemampuan protein untuk mengikat air semakin menurun. Whittaker (1994) menyatakan bahwa hidrolisis protein selain mengurangi berat molekul polipeptida juga menyebabkan kerusakan dari struktur globular protein sehingga keterikatan air menjadi berkurang. Kumagai *et al.* (2002) melaporkan bahwa selama hidrolisis isolat protein kedelai dengan enzim tripsin juga menunjukkan terjadi penurunan aktivitas air.

Kadar Protein Terlarut

Semakin besar konsentrasi protease biduri dan semakin lama waktu hidrolisis, maka kadar protein terlarut hidrolisat kedelai semakin tinggi. Hal ini karena enzim protease bersifat memecah protein menjadi peptida pendek dan asam-asam amino yang mudah larut. Menurut Nielsen (1997) semakin besar konsentrasi protease akan semakin banyak ikatan peptida dari protein yang terputus menjadi peptida-peptida sederhana sehingga kelarutan protein semakin meningkat. Semakin lama hidrolisis, kontak enzim dengan substrat semakin lama, sehingga tingkat hidrolisis semakin tinggi dan dihasilkan molekul-molekul protein yang pendek sehingga kelarutannya meningkat. Sebagaimana juga dilaporkan oleh Hrcikova *et al.* (2002) bahwa jumlah asam amino bebas dari hidrolisis protein kedelai bebas lemak menggunakan protease selektif juga meningkat seiring dengan lamanya waktu inkubasi.

Tingkat Ketengikan

Semakin besar konsentrasi enzim protease biduri, maka tingkat ketengikan hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan semakin menurun. Hal ini terjadi karena enzim protease biduri yang digunakan dalam bentuk *crude* (kasar). Witono dkk. (2006) melaporkan bahwa enzim protease yang diekstrak secara langsung dari tumbuhan (batang dan daun) biduri masih mengandung klorofil. Menurut Dalimartha (2003) suatu protease kasar juga dapat mengandung saponin, flavonoid, polifenol, tanin, dan kalsium oksalat. Klorofil, flavonoid, dan polifenol merupakan antioksidan, maka semakin banyak konsentrasi enzim yang ditambahkan, semakin banyak kandungan flavonoid dan polifenol pada hidrolisat protein kedelai, sehingga tingkat ketengikannya semakin kecil. Sifat antioksidatif dari *crude protease* biduri ini merupakan fenomena yang menarik untuk ditelaah lebih lanjut.

Semakin lama hidrolisis, maka semakin kecil tingkat ketengikan hidrolisat protein kedelai. Hal ini diduga karena dalam biji kedelai mengandung zat antioksidan. Menurut Erickson *et al.* (1980) biji kedelai kering mengandung senyawa fosfolipid sekitar 2 persen. *Cephalin* berperan dalam meningkatkan aktivitas antioksidan, sehingga semakin lama hidrolisis, maka fosfolipid yang terekstrak dalam kedelai semakin banyak, yang berarti semakin meningkat aktivitas antioksidan dalam hidrolisat protein kedelai, sehingga tingkat ketengikan semakin menurun.

Produk Maillard

Semakin banyaknya enzim protease biduri yang digunakan maka semakin banyak produksi asam amino yang bereaksi dengan gula reduksi, dengan demikian produk Maillard yang dihasilkan juga semakin banyak. Reaksi Maillard (*browning non enzymatic*) merupakan reaksi antara gugus karbonil dan gugus amina primer yang melibatkan reaksi kondensasi (Karel *et al.*, 1993 dalam Miao and Roos, 2004; Miller dan Gerrard, 2005). Dengan demikian semakin banyak konsentrasi enzim, reaksi Maillard yang terjadi semakin intensif.

Semakin lama hidrolisis maka nilai produk Maillard hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan juga semakin meningkat. Hal ini terjadi karena semakin lama hidrolisis, semakin banyak ikatan peptida yang terhidrolisis, sehingga semakin banyak pula gugus amina primer yang dihasilkan, dengan demikian reaksi Maillard yang terjadi semakin intensif. Sebagaimana hasil penelitian Subagio dkk (2002) menunjukkan bahwa nilai absorban produk Maillard dari hidrolisat tempe kedelai meningkat seiring dengan semakin lamanya waktu hidrolisis. Dengan semakin tinggi absorban berarti produk reaksi Maillard semakin tinggi.

Laju Reaksi Enzim Protease Biduri pada Substrat Kedelai

Hasil penelitian menunjukkan bahwa untuk mendapatkan kecepatan awal sebesar $\frac{1}{2} V_{max}$, maka 1 bagian protease biduri dapat digunakan untuk menghidrolisis 842,1846 bagian substrat kedelai kering. Nilai ini lebih kecil jika dibandingkan dengan hidrolisis pada kasein dengan menggunakan protease biduri (Witono dkk, 2004), yaitu untuk memperoleh kecepatan awal sebesar $V_{max}/2$, maka 1 bagian enzim protease biduri dapat digunakan untuk menghidrolisis sebanyak 1235,795 bagian substrat kasein. Hal ini diduga karena substrat kedelai yang digunakan berupa *complex raw material* yang masih mengandung komponen-komponen nonprotein yang melindungi (membentuk matriks) dengan protein sehingga menjadi penghalang (penghambat) interaksi antara enzim dengan substrat.

Sifat Organoleptik

Hidrolisis protein akan mengakibatkan terjadinya perubahan cita rasa yang disebabkan oleh terbentuknya peptida-peptida rantai pendek dan asam amino yang berperan dalam pembentukan cita rasa gurih pada hidrolisat protein kedelai yang dihasilkan. Di samping itu, aroma juga disebabkan oleh adanya produk Maillard. Aroma dapat terbentuk dari gula yang ditambahkan, asam amino bebas,

peptida-peptida, nukleotida, dan asam-asam organik yang berperan sebagai prekursor utama dalam pembentukan cita rasa gurih pada hidrolisat yang dihasilkan. Selain itu, reaksi Maillard menyebabkan terjadinya perubahan cita rasa yang khas pada makanan.

Rasa gurih yang terbentuk dari peptida-peptida rantai pendek dan asam amino hasil hidrolisis serta rasa dari produk Maillard yang dihasilkan memberikan komposisi rasa disukai. Akan tetapi perlakuan dengan kombinasi konsentrasi protease yang terlalu tinggi dan lama hidrolisis yang terlalu lama, akan menghasilkan cita rasa hidrolisat yang kurang disukai. Hal ini diduga karena proses hidrolisis yang berlebihan akan menghasilkan cita rasa pahit. Sebagaimana dinyatakan oleh Nielsen (1997), apabila derajat hidrolisis mencapai kondisi di mana gugus hidrophobik peptida menjadi terekspos, akan menimbulkan rasa pahit.

Selanjutnya perlu dikaji potensi antioksidatif dari *crude protease* biduri, terutama peranannya dalam membantu mengurangi *flavor* langu pada kedelai yang merupakan permasalahan utama dalam produksi susu kedelai. Disarankan agar proses produksi hidrolisat protein kedelai menggunakan substrat dalam bentuk isolat protein. Juga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang perbaikan *flavor* pada produk pangan lainnya dengan memanfaatkan aktivitas proteolitik dari protease biduri.

KEPUSTAKAAN

- Anonim, 2000. *Hidrolisis Enzimatis Protein pada Pembuatan Flavor Hewani Alami*. Laporan Penelitian. FTP Unej dan PT Sentrafood Indonusa Corporation, Jember.
- AOAC, 1995. *Official Methods of Analysis 16th edition*. Association of Official Analytical International, Maryland. USA.
- Dalimartha S, 2003. *Biduri (Calotropis gigantea [Wild.] Dryand. ex W.T.Ait.)*. Pdpersi Jakarta.
- Erickson DR, Pryde EH, Brekke OL, Mounts TL, dan Falb RA, 1980. *Handbook of Soy Oil Processing and Utilization. American Soybean. Association and the American Oil Chemists Society*, St. Louis, Missouri and Champaign, Illinois.
- Hofmann T, Bors W, dan Stettmaier K, 1999. Studies on Radical Intermediates in the Early Stage of the Nonenzymatic Browning Reaction of Carbohydrates and Amino Acids, *J. Agric. Food Chem.* 47: 379–390.
- Hrcakova M, Rusnakova M, dan Zemanovic J, 2002. *Enzymatic Hydrolysis of Defatted Soy Flour by Three Different Proteases and their Effect on the Functional Properties of Resulting Protein Hydrolysates. Czech J. Food Sci.* 20(1): 7–14.
- Indriasari L, 2006. *Waspada! Bahan Kimia Lain dalam Makanan*. Kompas, Jakarta.

- Kinney AJ, 2003. Engineering Soybeans for Food and Health. *AgBioForum*, 6(1&2): 18–22.
- Kumagai H, Seto H, Norimatsu Y, Ishii K, dan Kumagai H, 2002. Change Activity Coefficient γ_w of Water and The Foaming Capacity of Protein During Hydrolysis. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66(7): 1445–1461.
- Kunts A, 2000. Enzymatic Modification of Soy Proteins to Improve Their Functional Properties, *Magazine of Industrial Protein*, 8(3): 9–11.
- Lawless HT dan Heymann H, 1998. *Sensory Evaluation of Food*. Chapman & Hall, New York, 729–734.
- Liang JH, 1999. Fluorescence due to interactions of oxidizing soybean oil and soy proteins. *J. Food Chem.*, 66: 103–108.
- Marsman GJP, Gruppen H, Mul AJ, dan Voragen AG, 1997. *In vitro* accessibility of untreated, toasted and extruded soybean meals for proteases and carbohydrates. *J. Agric. Food Chem.*, 45: 4088–4095.
- Miao S dan Roos YH, 2004. Comparison of Nonenzymatic Browning Kinetics in Spray-dried and Freeze-dried Carbohydrate-based Food Model Systems. *J. Food Sci.* 69(7): 321–331.
- Nielsen PM, 1997. *Food Proteins and Their Applications*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Pelletier A dan Sygusch J, 1990. Purification and Characterization of Three Chitosanase Activities from *Bacillus megaterium* P1. *Applied and Environmental Microbiology*. 56(4): 844–848.
- Prescott J dan Young A, 2002. Does Information about MSG (Monosodium Glutamate) Content Influence Consumer Ratings of Soups with and without added MSG?. *Appetite*. 39: 25–33.
- Subagio A, Hartanti S, Windrati WS, Unus, Fauzi M, dan Herry B, 2002. Characteristics of protein hydrolysate from tempe, *Jurnal Teknologi & Industri Pangan*, 8: 204–210.
- Subagio A dan Morita N, 1997. Changes in Carotenoids and Their Fatty Acid Esters in Banana Peel during Ripening. *Food Sci. Technol.* 3(3): 264–268.
- Syarifah, 2006. MSG dan "Chinese Restaurant Syndrome", *Pikiran Rakyat* 24 Maret 2006. Bandung.
- Walker JM, 2002. *The Protein Protocols Handbook*. Second Edition. Humana Press, New Jersey, 3–10.
- Whitaker JR., 1994. *Principle of Enzymology for the Food Science*. Marcel Decker, New York, 29–62.
- Witono Y, 2002a. Isolasi dan Karakterisasi Enzim Protease dari Getah Tanaman Biduri. *J. Teknologi Hasil Pertanian*, 1(1): 1–14.
- Witono Y, 2002b. Pemanfaatan Enzim Protease dari Tanaman Biduri untuk Pengolahan Makanan. *J. Sains dan Teknologi*, 1(1): 32–37.
- Witono Y, Subagio A, Windrati WS, Praptiningsih Y, dan Hartanti S, 2004. Enzim Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*), *Prosiding Seminar Nasional - Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI)*, Jakarta.
- Witono Y, Subagio A, Susanto T, dan Widjanarko SB, 2006. Telaah Teknik Produksi Enzim Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantea*), *Prosiding Seminar Nasional Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia*, Yogyakarta.

Reviewer: **Dr. Afaf Baktir, MSi., Apt.**