



# Optimasi Produksi Pepton dari Bungkil Kedelai Untuk Media Produksi Yeast

Dadik Pantaya<sup>#1</sup>, Dicky Pamungkas<sup>\*2</sup>, Merry Muspita DU<sup>#3</sup>, Suci Wulandari<sup>#4</sup>, Anang Febri<sup>#5</sup>

*#Jurusan Peternakan, Politeknik Negeri Jember*

<sup>1</sup>email: dadieek@yahoo.com

<sup>3</sup>email:merry.mdu@gmail.com

<sup>4</sup>email:suci\_ndariwulan@yahoo.com

<sup>5</sup>email:anang\_fp@yahoo.com

*\*Loka Penelitian Sapi Potong, Departemen Pertanian, Grati, Jawa Timur*

<sup>2</sup>dpamungkas2000@yahoo.com

## Abstrak

Bahan pepton merupakan komponen penting dalam media pertumbuhan mikroba yang berperan sebagai sumber nitrogen. Rata-rata kebutuhan produk pepton yang dicukupi dari produk impor mencapai US \$17.84 juta per tahun dalam lima tahun terakhir merupakan peluang tersendiri untuk pengembangan pepton dengan menggunakan produk sumber protein yang tersedia di Indonesia, seperti bungkil kedelai. Tujuan penelitian ini adalah untuk menghasilkan pepton bungkil kedelai dengan hidrolisis enzimatis menggunakan enzim papain kasar, menentukan kondisi hidrolisis terbaik (waktu hidrolisis, konsentrasi enzim, dan lama inkubasi), dan ujicoba bahan pepton bungkil kedelai sebagai media pertumbuhan yeast. Kadar protein bungkil kedelai yang digunakan adalah 39% dan aktivitas enzim papain kasar yang digunakan sebesar 125 U/mg. Proses hidrolisis berlangsung dengan menggunakan substrat bungkil kedelai dan lautan buffer fosfat dengan perbandingan 1:5. Kondisi hidrolisis terbaik untuk menghasilkan pepton bungkil kedelai dicapai dengan menggunakan enzim papain sebesar 2000 unit/gram dengan hidrolisis selama 1 jam pada suhu 60-70 °C. Pepton yang dihasilkan merupakan produk cair berwarna kuning kecoklatan, supernatan dari proses sentrifugasi. Rendemen proses hidrolisis ini adalah 10.23 mg/g bungkil kedelai. Hasil pengujian pertumbuhan pada yeast *Saccharomyces cerevisiae* menunjukkan bahwa pepton bungkil kedelai dapat digunakan sebagai komponen dalam media untuk pertumbuhan yeast.

*Kata kunci* : hidrolisis enzimatis, papain, pepton bungkil kedelai, yeast

## BAB 1. PENDAHULUAN

Pertumbuhan protein sel tunggal seperti yeast membutuhkan protein sederhana dalam bentuk pepton yang merupakan sumber protein terlarut. Selama ini kebutuhan pepton di Indonesia masih dipenuhi melalui impor dengan jumlah dan harga yang tinggi. Impor produk ini dilakukan karena industri pepton Indonesia belum dikembangkan. Pada tahun 2014, impor pepton di Indonesia mencapai nilai sebesar US \$21 juta dengan jumlah sebesar 5.500 ton. Nilai tersebut meningkat dibanding tahun 2012 yaitu US \$13.2 juta dengan kuantitas sebesar 3 300 ton [1]. Sementara itu pada waktu yang sama kebutuhan protein untuk produk dari mikrobia terutama yeast di sektor nutrisi pakan ternak semakin meningkat sehingga kebutuhan pepton juga meningkat. Penggunaan probiotik yeast semakin meningkat digunakan untuk meningkatkan performans produksi ternak ruminansia [2] [3]. Tingginya nilai impor tersebut

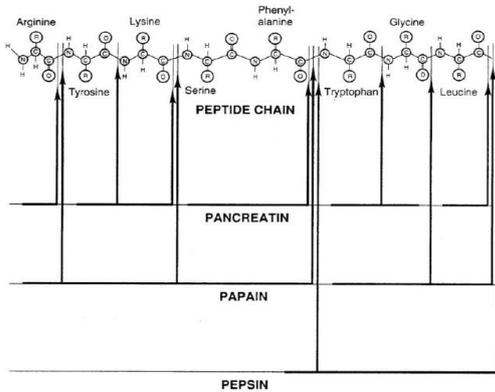
dapat menjadi peluang untuk melakukan pengembangan pepton

dengan memanfaatkan bahan sumber protein yang tersedia di Indonesia, seperti protein bungkil kedelai.

Pepton merupakan hidrolisat protein yang banyak digunakan sebagai salah satu komponen nutrisi dalam media pertumbuhan mikroorganisme. Pepton dalam media pertumbuhan mikroba berfungsi sebagai sumber nitrogen bagi mikroorganisme. Penggunaan pepton sangat luas mencakup penggunaan pada laboratorium mikrobiologi hingga pada industri berbasis bioteknologi [4] [5].

Produksi pepton dapat dilakukan dengan cara hidrolisis enzimatis menggunakan enzim proteolitik [6]. Kelebihan proses enzimatis adalah tidak memerlukan suhu tinggi, proses hidrolisis berlangsung secara spesifik, dan dapat mengkonservasi semua asam amino yang ada. Proses hidrolisis dengan cara asam dapat merusak sebagian atau semua asam-asam amino tertentu karena

kondisi proses yang berlangsung pada suhu tinggi. Selain itu, produk pepton yang diperoleh dari proses hidrolisis asam memiliki kandungan garam yang tinggi karena adanya pembentukan garam pada proses netralisasi [7]. Faktor yang mempengaruhi kecepatan hidrolisis enzimatis adalah waktu inkubasi, pH, suhu, konsentrasi enzim dengan protein [8].



Gambar 1. Hidrolisis enzimatis protein [9]

Setiap bahan organik memiliki jenis protein yang berbeda-beda. Perbedaan jenis protein tersebut dapat mempengaruhi kelarutannya, sehingga perlu dilakukan optimasi pH untuk isolasi protein. Oleh karena itu dalam memproduksi pepton bungkil kedelai secara enzimatis diperlukan penggunaan kondisi hidrolisis terbaik sehingga produk dapat dihasilkan secara optimal. Pada penelitian ini dilakukan penentuan kondisi hidrolisis terbaik dalam memproduksi pepton bungkil kedelai. Kondisi yang dikaji meliputi waktu hidrolisis, konsentrasi enzim, dan suhu hidrolisis selama masa inkubasi.

## BAB 2. MATERI DAN METODE

### A. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Pakan Ternak, Laboratorium Bioscience Politeknik Negeri Jember dan Laboratorium Fateta IPB Bogor.

### B. Alat dan Bahan

Alat Beaker glass, tabung reaksi, ball pipet, blender, buret, corong, erlenmeyer, gelas ukur, hot plate, kantong plastik, labu Kjeldahl, mortir dan stamper, pH meter, pipet tetes, sentrifuse (Hermle, Gemany), dan spektrofotometer UV-Vis.

Bahan Utama yang digunakan adalah bungkil kedelai yang diperoleh dari produk komersial. Enzim papain kasar komersial dengan karakteristik bahan seperti yang tercantum di Tabel 1. (PT Cortiko Mulya Sejahtera). Bahan kimia yang digunakan aquades, aquades beku, aqua bides, BSA (*Bovine Serum Albumin*), buffer fosphat reagen Bradford.

Tabel 1. Spesifikasi enzim papain kasar

Parameter	Spesifikasi
Aktivitas proteolitik	125.2 TU/mg
Arsenic	Nd*)
Coliform	negatif

Nd : *non detected*

### C. Metode percobaan

Bungkil kedelai digiling dengan ukuran mesh 1 mm menggunakan *sample mill* (IKA-Werke M20, Germany) agar diperoleh bungkil kedelai yang berukuran kecil dan seragam, selanjutnya dianalisis komposisi kimia metode AOAC [10]. Uji optimasi hidrolisis enzim dilakukan dengan mereaksikan enzim pada substrat bungkil kedelai untuk penentuan konsentrasi enzim, suhu inkubasi dan lama inkubasi terbaik. Bungkil kedelai ditambahkan dengan larutan enzim dalam larutan buffer fosphat pH 5 dengan perbandingan 1:5 (b/v) dan enzim pada berbagai konsentrasi (0; 250; 1000; 2000; 3000; 4000 Unit). Campuran tersebut dicampurkan dalam tabung *Falcon Polypropilene* (PP) 15 mL kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* sampai tercampur rata. Hidrolisis ini dilakukan pada suhu 60 °C dengan menggunakan inkubator selama 60 menit. Hidrolisis dihentikan dengan inaktivasi enzim pada suhu 90 °C selama 10 menit dalam *water bath* dan selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 rpm, 10 menit, kemudian supernatan diuji dengan larutan standart Bradford. Untuk uji lama inkubasi dan suhu inkubasi terbaik dengan menggunakan dosis optimum pada uji sebelumnya. Selanjutnya dilakukan uji produksi dengan menggunakan bahan baku sumber protein dari bungkil kedelai pada perkembangan yeast *Saccharomyces cerevisiae* dengan perlakuan kontrol menggunakan bungkil kedelai tanpa hidrolisis dibandingkan dengan hidrolisis.

### Pengujian pepton sebagai media cair pertumbuhan yeast

Medium yang digunakan untuk uji ini memiliki komposisi yang sama seperti komposisi medium cair dengan bahan pepton sebanyak 1.5%. Inokulasi dilakukan pada media cair 10 ml diinkubasikan selama 24 jam dengan shaking 100 rpm, selanjutnya ditransfer ke media sebanyak 50 ml di dalam tabung Erlemeyer 500 ml kemudian ditransfer ke dalam media 20 L dan selanjutnya ke 200 L masing masing diinkubasikan selama 48 jam. Pemanenan produk yeast diperoleh dengan sentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm dan dikeringkan dengan alat pengering (*dryer*) dengan oven pada suhu 40 °C. Jumlah bakteri dihitung dengan metode *total plate count* (TPC) pada kondisi suhu 30 °C dengan beberapa kali pengenceran. Jumlah yeast yang tumbuh dihitung dengan *digital colony counter* (Intech, Germany) sebagai nilai pertumbuhan kuantitatif. Komposisi media untuk produksi



terdiri dari molasses, PDB (*potatoes dextrose broth*), bungkil kedelai, ammonium sulfat ( $\text{NH}_3\text{SO}_4$ ) dan mineral.

### BAB 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Karakterisasi produk hidrolisis enzimatis bungkil kedelai

Dari hasil penelitian diperoleh hasil protein terlarut hasil hidrolisis seperti pada Gambar 2. Konsentrasi optimal untuk degradasi protein pada konsentrasi enzim sebesar 2.000 Unit/g (0.01%). Dengan bertambahnya konsentrasi enzim terjadi penurunan protein yang terlarut hal tersebut kemungkinan kemampuan enzim menurun dibandingkan dengan substrat yang tersedia. Pada pengamatan terhadap pengaruh lama inkubasi dengan suhu dilakukan sama dengan pengamatan terhadap konsentrasi enzim.

Pengaruh perubahan suhu terhadap produk protein yang terlarut dengan suhu optimal 60-70 °C, dengan semakin tinggi suhu (80 °C) semakin rendah produk yang dihasilkan. Penurunan produk kemungkinan disebabkan oleh perubahan konformasi protein, semakin tinggi suhu akan menyebabkan denaturasi protein. Menurut Luisi and Laane [11] pengaruh suhu secara umum ditunjukkan melalui mekanisme kompleks dimana melibatkan fenomena stimulasi dan aktivasi. Degradasi ikatan peptida akan semakin meningkat dengan makin tingginya suhu pada titik tertentu akan terjadi inaktivasi enzim yang ditandai dengan penurunan produk hidrolisis.

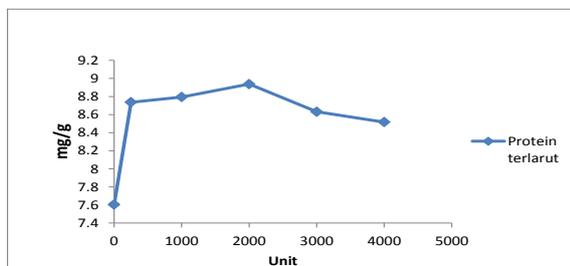
Tabel 2. Komposisi kimia bungkil kedelai

Zat nutrisi	Kandungan (%)
Protein kasar *)	39.13
Lemak kasar	0.41
Serat kasar	0.51
Ca	0.51
P	0.67

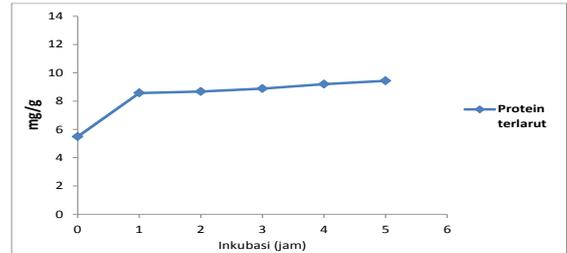
\*) Analisis Lab Pangan, Politeknik Negeri Jember

Ca : Calsium

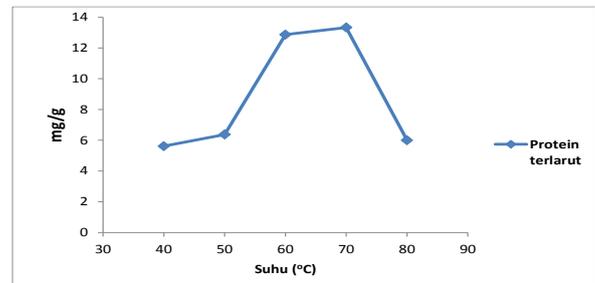
P : Fospor



Gambar 2. Konsentrasi protein terlarut dengan penambahan dosis enzim yang berbeda



Gambar 3. Konsentrasi protein terlarut dengan waktu inkubasi yang berbeda



Gambar 4. Konsentrasi protein terlarut dengan suhu inkubasi yang berbeda

Hasil pengukuran protein terlarut pada berbagai waktu inkubasi pada substrat bungkil kedelai diperoleh waktu optimal 1 jam pada suhu 60-70 °C, disamping itu mungkin terbatasnya bagian dari protein yang dapat dihidrolisis oleh enzim. Tingginya produksi pepton akan meningkatkan pemanfaatan pepton dari protein bungkil kedelai. Ikatan peptida protein dihidrolisis dengan pemecahan ikatan peptida menjadi molekul yang lebih sederhana antara lain pepton dan asam amino seperti pada Gambar 1. Pemecahan oleh enzim proreolitik memecah protein pada gugus amida [12].

#### Uji produksi pada yeast

Pada Tabel 3 menunjukkan karakteristik dari produksi yeast dengan media yang mengandung pepton bungkil kedelai. Jumlah koloni yang dihasilkan pada media dengan perlakuan menggunakan bungkil kedelai yang dihidrolisis secara enzimatis menunjukkan hasil yang lebih baik. Hal ini mengindikasikan kuantitas pepton yang lebih tinggi, seperti pada perlakuan sebelumnya tanpa penambahan enzim dibandingkan dengan penambahan enzim, ketersediaan pepton untuk perkembangan yeast menyebabkan efek yang positif.

Tabel 3. Uji pada produksi yeast

	Media 1	Media 2
Berat kering yeast, g/L	7.76	8.24
Protein yeast (%)	49.3	50.7
Jumlah koloni CFU/g	$2.3 \times 10^7$	$7.1 \times 10^8$

Media 1 : Bungkil kedelai tanpa enzim

Media 2 : Bungkil kedelai dengan enzim

CFU : Colony forming unit



Ketersediaan pepton pada media dapat meningkatkan jumlah massa produksi yeast. Pada uji coba ini mengindikasikan penggunaan bungkil kedelai yang terhidrolisis proses fermentasi berlangsung dengan lebih sempurna, hal ini ditandai dengan meningkatnya berat kering yeast. Hasil ini sesuai dengan pendapat Fachraniah, Fardiaz [13] yang menyatakan pepton merupakan unsur nutrient yang sangat penting untuk perkembangan mikroba.

#### BAB 4. KESIMPULAN

Penambahan enzim papain dengan dosis 2000 unit/gram dengan suhu inkubasi 60-70 °C selama 1 jam inkubasi menghasilkan produk hidrolisis yang optimal untuk menghasilkan protein terlarut bahan bungkil kedelai sebagai sumber pepton.

#### STUDI LEBIH LANJUT

Studi selanjutnya akan dilakukan uji coba produksi yeast dengan beberapa konsentrasi media dengan menggunakan pepton hasil hidrolisis dan hasil diperoleh dilakukan karakterisasi komposisi asam amino dari produk pepton.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan banyak terima kasih pada Program Riset INSINAS Kemristek Dikti yang telah memberikan dana penelitian ini dan *Eco Animale Corp*, yang telah membantu fasilitas untuk pelaksanaan penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. BPS, *Nilai Ekspor Impor Produk Bahan Pengisi*. Available from : [http://www.bps.go.id/tmn\\_pgn.php?kat=3](http://www.bps.go.id/tmn_pgn.php?kat=3), 2012.
2. Pantaya, D., et al., *Low Ruminant pH Increases Bioavailability of Aflatoxin B1 and Ochratoxin A but not Fumonisin B1 and Deoxynivalenol in Non-Lactating Dairy Cows*. Journal of Dairy Science, 2016. (In Press, corrected proof).
3. Vyas, D., et al., *Importance of yeast viability for reducing the effects of ruminal acidosis in beef heifers during and following an imposed acidosis challenge*. Animal Feed Science and Technology, 2014. **197**: p. 103-113.
4. Uzeh, R.E., S.O. Akinola, and S.O.A. Olatope, *Production of peptone from soya beans (*Glycine max L merr*) and African locust beans (*Parkia biglobosa*)*. African Journal of Biotechnology Vol. 5 (18), pp. 1684-1686, 2006.
5. Fachraniah, D. Fardiaz, and T. Idiyanti, *Pembuatan Pepton dari Bungkil Kedelai dan Khamir Dengan Enzim Papain untuk Media Pertumbuhan Bakteri*. Jurnal.Tekno. dan Industr Pangan, Vol. Xm, No. 3, 2002.
6. AL-Bahri, M.B.A.G., S.A. AL-Naimi, and S.H. Ahammed, *The Optimum Conditions for Production of Soya Peptone by Acidic Hydrolysis of Soya Proteins*. Al-Khwarizmi Engineering Journal, , 2009. **Vol. 5, No. 1, PP 1-19**
7. Mymrin, V., et al., *Red ceramics from composites of hazardous sludge with foundry sand, glass waste and acid neutralization salts*. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2016. **4**(1): p. 753-761.
8. Mielech, A.M., et al., *Nidovirus papain-like proteases: Multifunctional enzymes with protease, deubiquitinating and deISGylating activities*. Virus Research, 2014. **194**: p. 184-190.
9. Bridson, E., *The Oxoid Manual*. United Kingdom, 1995. **7 ed edition**.
10. AOAC., *Official Method of Analysis (18th Ed)*. Association of Official Analytical Chemists International, Maryland, USA. **7**. H, 2005.
11. Luisi, P.L. and C. Laane, *Solubilization of enzymes in apolar solvents via reverse micelles*. Trends in Biotechnology, 1986. **4**(6): p. 153-161.
12. Mobashar, M., et al., *Ochratoxin A in ruminants-A review on its degradation by gut microbes and effects on animals*, in *Toxins*. 2010. p. 809-39.
13. Fachraniah, D. Fardiaz, and T. Idiyanti, *Pembuatan pepton dari bungkil kedelai dan khamir dengan enzim papain untuk media pertumbuhan bakteri*. Tekno. Industry Pangan, 2002. **VIII No 3**: p. 260-266.