

KOMUNIKASI RINGKAS

**AKTIVITAS PROTEOLITIK EKSTRAK
PILORIK KAEKA IKAN TONGKOL (*Aurios thazard*)**

Murniyati¹⁾ dan Endang Sri Heruwati²⁾

ABSTRAK

Organ isi perut ikan khususnya pilorik kaeka, telah diketahui berpotensi sebagai sumber enzim proteolitik, yang diketahui banyak manfaatnya baik dalam industri pangan maupun non pangan. Dalam rangka mendukung pemanfaatan isi perut sebagai sumber enzim proteolitik, telah dipelajari aktivitas proteolitik ekstrak pilorik kaeka ikan tongkol (*Aurios thazard*). Ekstrak pilorik kaeka ternyata mempunyai aktivitas proteolitik optimum pada pH 8 dengan aktivitas spesifik sebesar 84-92 U/mg pada pH optimumnya. Penurunan aktivitas enzim sebesar 44% terjadi pada pemanasan selama 10 menit pada suhu 70°C.

ABSTRACT: *Proteolytic Activity of Pyloric Caeca Extract of Frigate Mackerel (Aurios thazard). By: Murniyati and Endang Sri Heruwati*

Fish viscera organs especially pyloric caeca, have been known as a potential source of proteolytic enzymes. The enzymes are commonly used in food as well as non-food industries. To support the utilization of fish viscera as a source of proteolytic enzymes, a preliminary study on proteolytic activity of pyloric caeca extract of frigate mackerel had been done. The optimum proteolytic activity of the pyloric caeca extract was at pH 8 with specific activity of 84-92 U/mg at its optimum pH. Reduction of activity for 44% occurred when the extract was heated at 70°C for 10 minutes.

KEYWORDS: *fish pyloric caeca, proteolytic activity*

PENDAHULUAN

Tingginya prospek pemanfaatan isi perut ikan sebagai sumber enzim proteolitik khususnya tripsin, kemotripsin, dan pepsin (Sukarsa, 1977; Wheaton and Lawson, 1985; Reece, 1988; Chen *et al.*, 1989; Simpson *et al.*, 1989) dan besarnya peluang penyediaan limbah ikan berupa isi perut, menuntut dilakukannya langkah lebih lanjut dalam memanfaatkan limbah ikan sebagai upaya memperoleh nilai tambah.

Enzim proteolitik, atau sering disebut protease, banyak diaplikasikan dalam industri pangan maupun non pangan. Dalam industri pangan, enzim tersebut digunakan untuk menjernihkan bir, mengempukkan daging, memperbaiki tekstur adonan roti, membuat keju, dan membuat hidrolisat protein, dll.; pada industri non pangan digunakan untuk meningkatkan fungsi deterjen dalam membersihkan noda, membantu penyamakan kulit; sedangkan di bidang farmasi banyak digunakan sebagai bahan pembantu pencernaan atau bahan pencuci luka, dsb.

Beberapa organ isi perut seperti pilorik kaeka, lambung dan usus ikan tongkol ternyata mengandung enzim proteolitik dengan aktivitas yang cukup tinggi, yaitu masing-masing 3,53; 1,61; dan 1,22 unit/g organ/menit (Heruwati, 1997). Walaupun proporsi ketiga organ tersebut hanya sekitar 3-3,5 % dari total bobot badan ikan, namun mengingat produksi ikan tongkol yang mencapai 236.111 ton pada tahun 1999 (Ditjenkan, 2001) maka tersedia potensi yang cukup besar untuk produksi enzim protease.

Selain oleh jenis ikan, aktivitas enzim dan ketahanan enzim terhadap panas juga dipengaruhi oleh pH dan suhu (Wheaton & Lawson, 1985). Berlainan dengan enzim isi perut mamalia yang kebanyakan aktif pada pH yang relatif rendah, aktivitas enzim yang berasal dari saluran pencernaan ikan cenderung lebih tinggi pada kondisi mendekati netral (Mackie, 1982). Walaupun demikian, karena enzim yang terdapat dalam isi perut ikan merupakan suatu kelompok yang terdiri atas banyak enzim yang masing-masing memerlukan kondisi berbeda untuk aktivitas

¹⁾ Peneliti pada Pusat Riset Perikanan Budidaya

²⁾ Peneliti pada Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan

optimalnya, maka akan sangat sulit untuk memperkirakan efek keseluruhan dalam suatu situasi yang spesifik. Dengan asumsi bahwa di dalam organ pilorik kaeka terkandung enzim proteolitik, penelitian ini dilakukan dengan maksud untuk mengetahui aktivitas proteolitik ekstrak kasar enzim pilorik kaeka ikan tongkol. Dengan diketahuinya karakteristik ekstrak kasar ini, diharapkan dapat membuka peluang untuk melakukan isolasi dan karakterisasi berbagai jenis enzim yang terkandung dalam ekstrak pilorik kaeka, selain dapat melakukan aplikasi dari teknologi ekstraksi dan pemanfaatan enzim isi perut ikan.

BAHAN DAN METODE

Ikan tongkol (*Aurios thazard*) sebanyak 48 ekor diambil dari tempat pendaratan ikan di Muara Angke, Jakarta. Sesampai di laboratorium, isi perut dikeluarkan dan dipisahkan pilorik kaekanya. Untuk mengetahui proporsi pilorik kaeka yang terdapat dalam ikan, dilakukan pengamatan terhadap 20 ekor ikan dari sejumlah ikan yang digunakan dalam percobaan. Dari pengamatan tersebut diketahui kisaran bobot ikan per ekor adalah antara 840-1450 g, dengan bobot isi perut total antara 41,6-92,5 g dan bobot pilorik kaeka antara 12,9-25,8 g. Pilorik kaeka dari ke 48 ekor ikan tersebut kemudian disatukan, dibekukan dan disimpan beku pada suhu -7° hingga -10°C sampai saat digunakan.

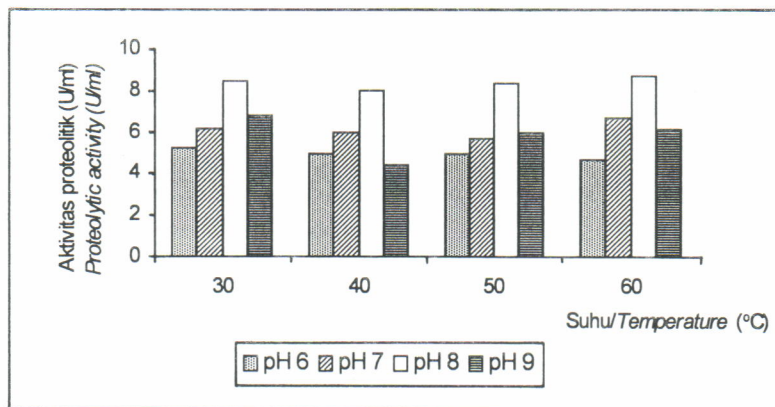
Ekstraksi dilakukan dengan menghancurkan jaringan pilorik kaeka dalam keadaan beku dengan menambahkan empat bagian larutan K₃PO₄ 0,05 N diikuti dengan penyaringan. Penghancuran organ dilakukan

dalam keadaan beku agar enzim tidak rusak oleh peningkatan suhu selama penghancuran jaringan. Karakterisasi ekstrak pilorik kaeka dilakukan dengan mengukur aktivitas proteolitiknya menggunakan substrat kasein (Bergmeyer, 1983) pada suhu 30, 40, 50, dan 60°C serta pH 6, 7, 8, dan 9. Untuk membuat larutan kasein pada berbagai tingkat pH digunakan larutan penyangga universal pada pH tersebut. Aktivitas enzim (U/ml) di definisikan sebagai jumlah enzim (dalam ml setelah memperhitungkan faktor pengenceran) yang mampu mengkatalisir perubahan 1 µmol substrat per menit. Untuk mengetahui aktivitas spesifiknya, bersamaan dengan pengukuran aktivitas proteolitik, juga diukur kadar protein filtrat enzim dengan metode Lowry *et al.* (1951) dengan standar tirosin. Aktivitas spesifik (U/mg) dihitung dengan membagi aktivitas proteolitik (U/ml) dengan kadar protein filtrat enzim (mg/ml filtrat). Selain penentuan pH dan suhu optimum aktivitas proteolitik, karakterisasi juga dilakukan dengan melihat ketahanannya terhadap panas. Untuk itu ekstrak pilorik kaeka dipanaskan dalam penangas air pada suhu 70, 80, 90, dan 100°C selama 10 menit diikuti pengukuran aktivitas proteolitik pada pH 8, dibandingkan dengan aktivitasnya pada suhu 60°C. Semua pengukuran dilakukan secara triplo.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Suhu dan pH Optimum

Pengukuran aktivitas proteolitik pada suhu 30, 40, 50, dan 60°C serta pH 6, 7, 8, dan 9 memberikan hasil seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Aktivitas enzim (unit/ml) pilorik kaeka ikan tongkol pada suhu dan pH berbeda.
 Figure 1. Enzyme activities (unit/ml) of frigate mackerel's pyloric caeca at different pHs and temperatures.

Aktivitas proteolitik ekstrak pilorik kaeka ternyata dipengaruhi oleh pH tetapi tidak oleh suhu maupun interaksi antara perlakuan pH dan suhu. pH 6 memberikan aktivitas proteolitik yang paling kecil dibandingkan perlakuan pH yang lain, sementara tidak ada beda nyata antara pH 7 dengan pH 8 dan antara pH 8 dengan pH 9. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa aktivitas optimum adalah pada pH 8. Terdapat pengaruh suhu terhadap aktivitas proteolitik, tetapi hanya antara suhu 30 °C dengan 40 °C dan antara 40°C dengan 60°C, dengan aktivitas terendah pada 40 °C. Rendahnya aktivitas pada suhu tersebut boleh jadi disebabkan oleh terdapatnya berbagai macam enzim alkalin yang masing-masing berbeda sifatnya terhadap suhu yang terdapat di dalam ekstrak kasar pilorik kaeka (Murakami and Noda, 1981). Dengan demikian tidak cukup bukti bahwa suhu berpengaruh terhadap aktivitas proteolitik.

Sehubungan dengan ini, dalam penelitiannya, Heu *et al.* (1991) menyatakan bahwa aktivitas optimum protease yang diekstraksi dari isi perut anchovy (*Engraulis japonica*) adalah pada pH 9,4-9,6 dan suhu 48°C. Chen *et al.*, (1989) juga menemukan bahwa aktivitas optimum protease yang diisolasi dari isi perut ikan bandeng (*Chanos-chanos*) adalah pada pH antara 8-9 dan suhu sekitar 55-60°C.

Kadar protein dan aktivitas spesifik ekstrak pilorik kaeka

Kadar protein ekstrak pilorik kaeka yang diukur menggunakan metode Lowry (1982) adalah sebesar 0,095 ± 0,05 mg/ml.

Berdasarkan kadar protein ekstrak pilorik kaeka, aktivitas spesifik ditampilkan pada Gambar 2.

Seperti halnya dengan aktivitas proteolitik, aktivitas spesifik ekstrak pilorik kaeka dipengaruhi oleh pH, dengan pH optimum 8.

Ketahanan Terhadap Panas

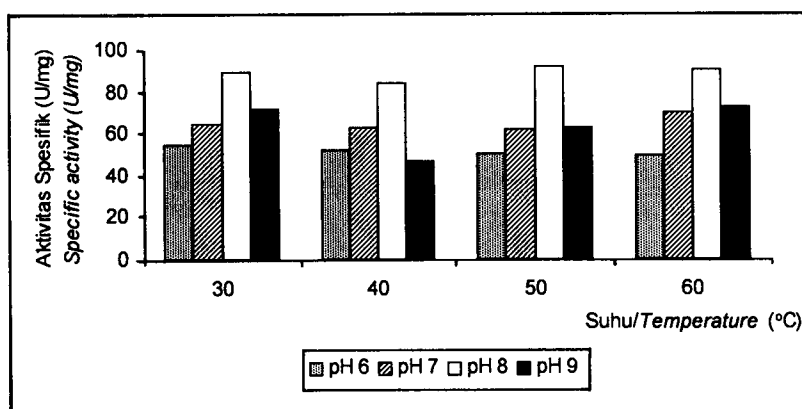
Hasil pengamatan ketahanan ekstrak pilorik kaeka ikan tongkol terhadap panas adalah seperti pada Gambar 3.

Ketahanan ekstrak pilorik kaeka terhadap panas dipengaruhi oleh suhu pemanasan. Pemanasan pada 70°C selama 10 menit ternyata menurunkan aktivitas proteolitik hingga tinggal 44%. Pemanasan pada suhu yang lebih tinggi pada periode waktu yang sama terus menurunkan aktivitas proteolitik walaupun dengan laju yang lebih lambat. Pada 100°C, aktivitas proteolitik telah jauh menurun sehingga tinggal 20%.

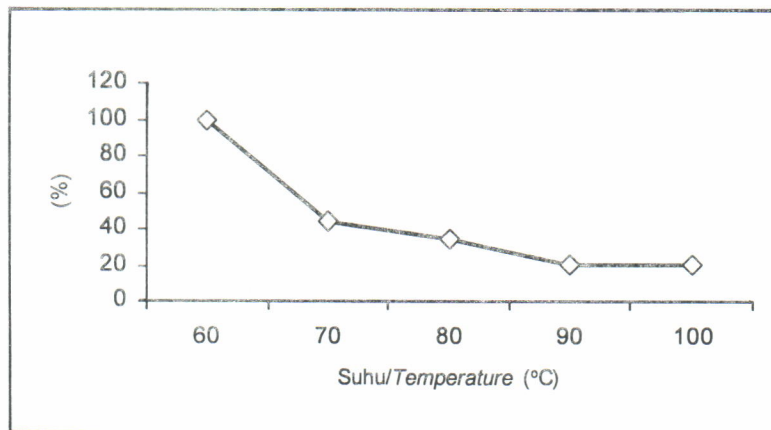
Ekstrak pilorik kaeka ini lebih tahan panas bila dibandingkan dengan protease yang diisolasi dari isi perut bandeng, yang pada suhu 51-56°C selama 5 menit aktivitasnya telah turun hingga 50% (Chen *et al.*, 1989).

KESIMPULAN

- Ekstrak kasar pilorik kaeka mempunyai aktivitas optimum pada pH 8.
- Ekstrak kasar pilorik kaeka mempunyai kadar protein 0,095 mg/ml dengan aktivitas spesifik sebesar 84-92 U/mg pada pH optimumnya.



Gambar 2. Aktivitas spesifik (unit/mg) ekstrak pilorik kaeka ikan tongkol pada suhu dan pH berbeda
 Figure 2. Spesifik activities (unit/mg) of frigate mackerel's pyloric caeca extract at different PHs and temperatures



Gambar 3. Perubahan aktivitas proteolitik (%) selama perlakuan pemanasan ekstrak pilorik kaeka
Figure 3. Changes of proteolytic activities (%) during heat treatment of pyloric caeca extract

- Pemanasan pada suhu 70°C selama 10 menit telah menurunkan aktivitas proteolitik hingga tinggal 44% dan pada suhu 100°C aktivitasnya tinggal 20%.

DAFTAR PUSTAKA

- Bergmeyer, H.U. 1983. *Methods of Enzymic Analysis*. Vol. 5. Verlag Chemie, Weinheim Decfield Beach, Florida Basel, p. 515-516
- Chen, C.S., Tsao, C.Y. and Jiang, S.T. 1989. Purification and characterization of proteases from the viscera of milk fish (*Chanos chanos*). *J. Food Biochem.* 12(4): 269-288.
- Ditjenkan. 2001. *Produksi Perikanan Laut Menurut Jenis Ikan 1990-1999*. Statistik Perikanan Indonesia 1999. Direktorat Jenderal Perikanan. Departemen Kelautan dan Perikanan. 5 p.
- Heruwati, E.S. 1997. Pemanfaatan limbah jeroan ikan sebagai sumber enzim proteolitik. *Warta Penelitian Perikanan Indonesia* 3(1): 12-14.
- Heu, M.S., Pyeun J.H., Kim H.R. and Godber J.S. 1991. Purification and characterization of alkaline proteases from viscera of anchovy, *Engraulis japonica*. *J. Food Biochem.* 15(1):51-66.
- Lowry, O.H., Rosenbrough N.J., Fan, A.L. and Randall, R.J. 1951. Protein Measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 262-275.
- Mackie, I.M. 1982. Fish Protein Hydrolyses. *Proc. Biochem.* 17(1):26.
- Murakami, K. and Noda, M. 1981. Studies on proteinases from the digestive organs of sardines. 1. Purification and characterization of three alkaline proteinases from the pyloric caeca. *Biochem. Biophys. Acta* 658: 17-26.
- Simpson, B.K., Smith, J.P., Yaylayan, V. and Haard, N.F. 1989. Kinetic and thermodynamic characteristics of digestive protease from Atlantic cod, *Gadus morhua*. *J. Food Biochem.* 13(3):201-213.
- Sukarsa, D.R. 1978. Pemanfaatan pyloric caeca ikan sebagai penghasil enzim proteolitik. *J. Penelitian Hasil Perikanan* 1:11-52.
- Reece, P. 1988. Recovery of proteases from fishwaste. *Process Biochem.* 23(3):62-66.
- Wheaton, F.W. and Lawson, T.B. 1985. Other Preservation Method. *Processing Aquatic Food Products*. John Willey & Sons. USA. p. 273-327.