

**EVALUASI KETERSEDIAAN PROTEIN PUPA ULAT SUTERA
YANG DIHIDROLISIS MENGGUNAKAN ENZIM PAPAIN
SEBAGAI BAHAN PAKAN AYAM BROILER**

TESIS

Oleh

ANDANG ANDIANI LISTYOWATI



**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU TERNAK
PASCASARJANA - FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
2004**

**EVALUASI KETERSEDIAAN PROTEIN PUPA ULAT SUTERA
YANG DIHIDROLISIS MENGGUNAKAN ENZIM PAPAIN
SEBAGAI BAHAN PAKAN AYAM BROILER**

Oleh

ANDANG ANDIANI LISTYOWATI

NIM : H4A 001 002

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Magister Sains
pada Program Studi Magister Ilmu Ternak, Program Pascasarjana
Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro**

**PROGRAM STUDI MAGISTER ILMU TERNAK
PROGRAM PASCASARJANA - FAKULTAS PETERNAKAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
2004**

Judul Tesis : Evaluasi Ketersediaan Protein Pupa Ulat Sutera yang Dihidrolisis Menggunakan Enzim Papain sebagai Bahan Pakan Ayam Broiler

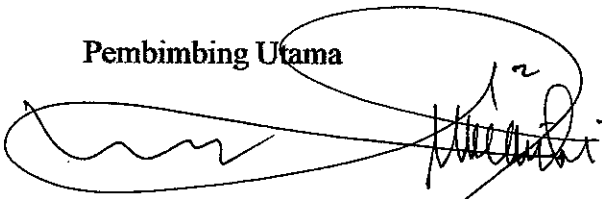
Nama Mahasiswa : ANDANG ANDIANI LISTYOWATI

Nomor Induk Mahasiswa : H4A 001 002

Program Studi : MAGISTER ILMU TERNAK

Telah disidangkan di hadapan Tim Penguji dan dinyatakan lulus pada tanggal 27 Agustus 2004

Pembimbing Utama



Dr. Ir. V. Dwi Yuniyanto, B. I., MS., MSc.

Pembimbing Anggota



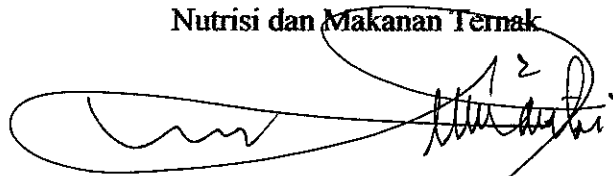
Dr. Ir. Nyoman Suthama, MSc.

Ketua Program Studi
Magister Ilmu Ternak



Prof. Dr. Ir. Umiyati Atmomarsono

Ketua Jurusan
Nutrisi dan Makanan Ternak



Dr. Ir. V. Dwi Yuniyanto, B. I., MS., MSc.



Ketua Jurusan
Nutrisi dan Makanan Ternak

Dr. Bambang Srigandono, MSc.

UPT-PUSTAK-UNDIP

No. Daft: 4961/T/MIT/e1

Tgl. : 9/3/07

ABSTRAK

ANDANG ANDIANI LISTYOWATI H4A 001 002. Evaluasi Ketersediaan Protein Pupa Ulat Sutera yang Dihidrolisis Menggunakan Enzim Papain sebagai Bahan Pakan Ayam Broiler. (Pembimbing : **VITUS DWI YUNianto** dan **NYOMAN SUTHAMA**).

Penelitian dilakukan dengan tujuan untuk mengkaji tingkat ketersediaan protein tepung pupa ulat sutera menggunakan enzim papain sebagai pradigesti enzimatis dan diinkubasikan dalam lama waktu berbeda. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Makanan Ternak dan Laboratorium Biokimia Nutrisi, Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro dari bulan Juni sampai dengan Agustus 2003. Penelitian untuk uji *in vivo* secara "force feeding" dilakukan di kandang unggas Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian Magelang pada bulan Februari 2004.

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung pupa ulat sutera, enzim papain, aquades dan bahan kimia serta ayam broiler jantan umur 5 minggu sebanyak 24 ekor untuk uji *in vivo*. Peralatan yang digunakan meliputi alat untuk hidrolisis tepung pupa ("shaker-waterbath, "beaker-glass", pH meter dan termometer), peralatan untuk analisis kimia serta kandang baterai. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial 4x3 dengan 3 ulangan. Faktor pertama (4 macam) yaitu konsentrasi papain 0; 0,2; 0,4; dan 0,6%. Faktor kedua (3 macam) adalah lama inkubasi 0, 2 dan 4 jam. Peubah yang diamati meliputi : protein kasar, protein terlarut, pencernaan protein *in vitro* serta pencernaan protein *in vivo*. Data diolah secara statistik dengan analisis ragam dan bila terdapat perbedaan dilanjutkan dengan uji wilayah ganda Duncan.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian enzim papain dan lama inkubasi tidak berpengaruh terhadap kadar protein kasar tepung pupa ($P>0,05$), tetapi terjadi interaksi secara nyata antara kedua faktor terhadap protein terlarut dan pencernaan protein *in vitro* ($P<0,05$). Kombinasi pemberian papain 0,4% dan lama inkubasi 2 jam menghasilkan nilai protein terlarut dan pencernaan protein *in vitro* tertinggi, masing-masing sebesar 38,41 dan 68,90%. Nilai kedua peubah tersebut diatas berbeda dengan kombinasi perlakuan lainnya ($P<0,05$). Pencernaan protein *in vivo* karena pemberian papain 0,4% dan lama inkubasi 2 jam lebih tinggi dibandingkan nilai pencernaan protein tepung pupa tanpa proses denaturasi ($P<0,05$), tetapi tidak berbeda dengan perlakuan tanpa pemberian papain dan tanpa diinkubasi.

Kesimpulan penelitian bahwa proses hidrolisis tepung pupa menggunakan enzim papain dengan konsentrasi 0,4% dan inkubasi selama 2 jam menghasilkan protein terlarut dan pencernaan protein yang terbaik.

Kata kunci : pupa ulat sutera, enzim papain, ketersediaan protein, ayam broiler.

ABSTRACT

ANDANG ANDIANI LISTYOWATI. H 4 A 001 002. Evaluation of Silkworm Pupae Protein Availability Hydrolyzed with Papain Enzyme as Broiler Feedstuff. (Supervisors : VITUS DWI YUNianto and NYOMAN SUTHAMA).

The present study was aimed to investigate the availability of protein silkworm pupae using papain as enzyme predigestion with different duration of incubation. The study was done in the Laboratories of Animal Feed Science and Nutritional Biochemistry of Diponegoro University in June until August, 2003. *In vivo* trial, by the method of force feeding, was done in the poultry house of Institute of Agricultural Extension Magelang in February, 2004.

The materials of the study were silkworm pupae meal, papain enzyme, aquadest, chemicals and 5 weeks-old male broiler (24 birds) for *in vivo* trial. The instruments were a set of tool for hydrolyzing silkworm pupae (shaker-waterbath, beaker-glass and thermometer) and the instruments for chemical analysis and battery cage for *in vivo* trial. The study was arranged as 4 x 3 factorial pattern in a completely randomized design (CRD) with 3 replications. First factor was the concentration of papain (0, 0.2, 0.4 and 0.6%) and the second factor was the duration of incubation (0, 2 and 4 hours). Crude protein content, protein solubility, *in vitro* digestibility of protein and *in vivo* digestibility of protein were the parameters observed in the present study. Data was subjected to analysis of variance and continued to Duncan multiple range test (DMRT) when the different effect of treatment was found.

The results showed that the utilization of papain enzyme and duration of incubation did not affect to the crude protein content of pupae meal ($P > 0.05$), but it was observed that the significant interaction between two factors on protein solubility and *in vitro* digestibility of protein ($P < 0.05$). The combined treatment of 0.4% papain and 2 hours of incubation resulted the highest protein solubility and *in vitro* digestibility of protein (38.41 and 68.90% respectively). The values of two parameters described above was significantly different as compared to those of other treatment ($P < 0.05$). The *in vivo* digestibility of protein due to utilization of 0.4% papain and 2 hours of incubation was higher ($P < 0.05$) than that of pupa meal without denaturation, but it was not significantly different ($P > 0.05$) compared to that of treatment without papain and incubation.

In conclusion, silkworm pupae meal hydrolyzed with 0.4% papain enzyme and 2 hours of incubation indicated the best of protein solubility and digestibility.

Keyword : silkworm pupae, papain enzyme, protein availability, broiler chicken.

KATA PENGANTAR

Upaya penanganan pupa ulat sutera “pre-feeding” merupakan cara untuk mengatasi rendahnya pencernaan protein pada bahan termaksud, disebabkan oleh kandungan fibroin dan serisin serta kitin pada bagian eksoskeletonnya. Penggunaan enzim papain yang merupakan enzim proteolitik, diharapkan mampu meningkatkan ketersediaan protein tepung pupa ulat sutera, dan hidrolisat yang dihasilkan dapat dipakai sebagai campuran pakan ayam broiler.

Penulis menyampaikan terima kasih kepada Pembimbing Utama, Bapak Dr. Ir. Vitus Dwi Yuniarto, B. I., MS., MSc. dan Pembimbing Anggota, Bapak Dr. Ir. Nyoman Suthama, MSc. yang telah memberikan bimbingan dan pengarahan sejak usulan penelitian hingga selesainya tesis ini. Ucapan terima kasih penulis sampaikan juga kepada Bapak Dekan Fakultas Peternakan, Universitas Diponegoro, Ketua dan Sekretaris Program Pascasarjana, Program Studi Magister Ilmu Ternak (MIT) serta seluruh staf MIT atas bantuan dan kemudahan selama mengikuti pendidikan S2. Demikian juga kepada Kepala Badan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian, Departemen Pertanian, Jakarta yang telah memberikan kesempatan dan tunjangan tugas belajar selama mengikuti pendidikan S2 serta Ketua Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian (STPP) Magelang atas bantuan kesempatan dan fasilitas penelitian.

Penulis berharap semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Semarang, Juli 2004

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	v
DARTAR ISI	vi
DARTAR TABEL	vii
DAFTAR ILUSTRASI	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1. Ayam Broiler	4
2.2. Pupa Ulat Sutera	7
2.3. Pengolahan Pupa Ulat Sutera	10
2.4. Enzim Papain dan Penggunaannya	11
2.5. Ketersediaan Protein pada Bahan Pakan	15
BAB III. MATERI DAN METODA PENELITIAN	
3.1. Materi Penelitian	19
3.2. Metoda Penelitian	20
3.3. Analisis Data	27
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. Protein Kasar.....	28
4.2. Protein Terlarut	30
4.3. Kecernaan Protein <i>In Vitro</i>	35
4.4. Kecernaan Protein <i>In Vivo</i>	38
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. Kesimpulan	41
5.2. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN	46
RIWAYAT HIDUP	67

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Bobot Badan, Pertambahan Bobot Badan Harian dan Konsumsi Pakan Ayam Broiler Jantan (J) dan Betina (B) pada Umur yang Berbeda.....	5
2. Kebutuhan Energi, Protein dan Asam Amino Esensial untuk Ayam Broiler	6
3. Komposisi Nutrisi Tepung Pupa Ulat Sutera	9
4. Kandungan Nutrisi Tepung Pupa Ulat Sutera Berdasarkan Bahan Kering	21
5. Protein Terlarut Tepung Pupa pada Berbagai Perlakuan	21
6. Kombinasi Perlakuan Hidrolisis Tepung Pupa	23
7. Kandungan Protein Kasar Tepung Pupa Ulat Sutera yang diberi Papain dengan Lama Inkubasi yang Berbeda	28
8. Kandungan Protein Terlarut Tepung Pupa Ulat Sutera yang diberi Papain dengan Lama Inkubasi yang Berbeda	30
9. Kecernaan Protein <i>In Vitro</i> Tepung Pupa Ulat Sutera yang Diberi Papain dengan Lama Inkubasi yang Berbeda	35
10. Kecernaan Protein <i>In Vivo</i> dengan Perlakuan yang Berbeda	39

DAFTAR ILUSTRASI

Nomor	Halaman
1. Struktur Kimia Papain	12
2. Reaksi Hidrolisis Papain.....	12
3. Protein Terlarut Tepung Pupa karena Pengaruh Proses Hidrolisis Enzim Papain dengan Lama Inkubasi yang Berbeda	31
4. Kecernaan Protein <i>In Vitro</i> Tepung Pupa karena Pengaruh Proses Hidrolisis Enzim Papain dengan Lama Inkubasi yang Berbeda	36

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Denah Percobaan Hidrolisis Tepung Pupa Ulat Sutera	46
2. Analisis Kadar Protein Kasar	47
3. Analisis Protein Terlarut	48
4. Denah Kandang Ayam Percobaan	50
5. Data Protein Kasar	51
6. Analisis Ragam Protein Kasar	52
7. Data Protein Terlarut	54
8. Analisis Ragam Protein Terlarut	55
9. Uji Polinomial Ortogonal Protein Terlarut	58
10. Data Kecernaan Protein <i>In Vitro</i>	59
11. Analisis Ragam Kecernaan Protein <i>In Vitro</i>	60
12. Uji Polinomial Ortogonal Kecernaan Protein <i>In Vitro</i>	63
13. Data Kecernaan Protein <i>In Vivo</i>	64
14. Analisis Ragam Kecernaan Protein <i>In Vivo</i>	65

BAB I

PENDAHULUAN

Perkembangan usaha peternakan ayam broiler tidak akan terlepas dari pakan yang diberikan. Umumnya pakan ayam di Indonesia disusun atas bahan pakan sumber energi sebesar 70% dan bahan pakan sumber protein sebesar 25% serta bahan aditif sebanyak 5%. Sumber protein hewani untuk pakan ayam selama ini banyak menggunakan tepung ikan, namun kenyataannya bahan tersebut sebagian besar masih harus diimpor. Oleh karena itu, perlu dicari bahan pakan alternatif sebagai pengganti sebagian maupun seluruh bahan pakan sumber protein hewani yang penggunaannya tidak berkompetisi dengan manusia serta mempunyai nilai nutrisi yang baik. Salah satu bahan pakan yang dapat digunakan adalah tepung pupa ulat sutera.

Pupa ulat sutera merupakan limbah pabrik pemintalan benang sutera alam yang belum banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku pakan. Limbah tersebut akan cepat membusuk dan menimbulkan bau yang tidak sedap jika tidak segera dimanfaatkan. Menurut Rao (1994), bobot pupa ulat sutera mencapai 60% dari bobot kokon kering. Produksi kokon di Indonesia sebanyak 556.421 kg, sehingga setiap tahun tersedia pupa ulat sutera sebanyak 333.853 kg (Woerjadi, 1999). Pupa ulat sutera mengandung protein kasar yang cukup tinggi, yaitu sebesar 48% serta energi metabolis 2900 kkal/kg (Ravindran dan Blair, 1993). Menurut Budisantoso (1994), di dalam tubuh ulat sutera terdapat kelenjar yang menghasilkan protein fibroin ($C_{15}H_{23}N_5O_6$) dan serisin ($C_{15}H_{23}N_5O_8$), sehingga kemungkinan protein yang terdapat dalam tubuh pupa ulat sutera juga mengandung kedua jenis protein tersebut, serta

mengandung kitin pada bagian eksoskeletonnya (Ravindran and Blair, 1993). Hal tersebut mengakibatkan pupa ulat sutera sulit untuk dicerna dan penggunaan tepung pupa ulat sutera sebagai bahan pakan ayam terbatas jumlahnya.

Hasil penelitian Frandiyanto (2002) menunjukkan bahwa penggunaan tepung pupa ulat sutera tanpa didampingi sumber protein hewani lain menurunkan konsumsi pakan, penambahan bobot badan dan retensi nitrogen ayam broiler. Kelarutan protein merupakan salah satu indikator manfaat protein bagi tubuh. Hal ini didasarkan pada anggapan bahwa semakin tinggi kelarutan protein semakin mudah diserap oleh saluran pencernaan, sehingga semakin tinggi manfaatnya (Smith dan Circle, 1972). Berdasarkan hal ini, maka perlu dilakukan suatu usaha atau perlakuan terhadap tepung pupa ulat sutera sebelum digunakan sebagai campuran pakan untuk meningkatkan ketersediaan ("availability") proteinnya.

Hidrolisis protein dalam bahan pakan dapat dilakukan dengan menggunakan larutan asam, larutan basa atau dengan enzim. Namun demikian, penggunaan larutan asam dan larutan basa mempunyai kelemahan yaitu terjadi kerusakan beberapa asam amino dalam pakan. Sebaliknya, hidrolisis protein dengan enzim proteolitik (pemecah protein) menyebabkan terjadinya pemecahan rantai polipeptida sehingga dihasilkan peptida yang sederhana dan asam amino yang lebih mudah dicerna, akibatnya, meningkatkan ketersediaan protein dan asam amino. Satu jenis enzim proteolitik yang diperkirakan dapat digunakan untuk menghidrolisis tepung pupa ulat sutera adalah papain. Papain merupakan enzim yang mudah didapat, mempunyai aktivitas hidrolisis yang tinggi dan juga mempunyai stabilitas yang relatif tinggi terhadap faktor suhu, pH dan pelarut alkohol.

Berdasarkan pemikiran diatas, maka penggunaan papain untuk menghidrolisis tepung pupa ulat sutera, diharapkan mampu meningkatkan ketersediaan protein. Hidrolisat tepung pupa ulat sutera yang dihasilkan tersebut diharapkan dapat dipakai sebagai campuran pakan ayam broiler sebagai sumber protein hewani. Penelitian bertujuan untuk mengkaji tingkat ketersediaan protein tepung pupa ulat sutera pada berbagai konsentrasi dan lama inkubasi dengan menggunakan enzim papain sebagai pradigesti enzimatik terhadap kadar protein kasar, protein terlarut, pencernaan protein *in vitro* dan pencernaan protein *in vivo*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang ketersediaan protein pada hidrolisat tepung pupa ulat sutera sebagai bahan baku pakan alternatif sumber protein hewani untuk ayam broiler. Hipotesis penelitian adalah terjadinya interaksi positif antara konsentrasi papain dan waktu hidrolisis (lama inkubasi), sehingga konsentrasi papain semakin tinggi dengan semakin lama waktu inkubasi dapat meningkatkan ketersediaan protein tepung pupa ulat sutera sebagai bahan pakan ayam broiler.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ayam Broiler

Ayam broiler merupakan jenis ayam yang memiliki potensi untuk tumbuh secara cepat, mempunyai konformasi tubuh yang baik, efisien dalam mengkonversikan pakan menjadi daging dan mempunyai kulit dan warna bulu yang baik (Nesheim *et al.*, 1979). Menurut North (1984), ayam broiler adalah ayam yang dipasarkan pada umur 8 atau 9 minggu dengan bobot badan kira-kira 1,8 kg. Pada umumnya para peternak di Indonesia telah memasarkan ayam broiler pada umur 5 atau 6 minggu dengan bobot hidup antara 1,3 sampai 1,6 kg.

Jull (1982) menyatakan bahwa peningkatan bobot badan ayam broiler dari minggu ke minggu pada periode pertumbuhan tidak sama, bobot badan dapat terus meningkat sampai akhir umur enam minggu, tetapi setelah itu persentase pertambahan bobot badan akan menurun. Menurut Nesheim *et al.* (1979), ayam broiler jantan tumbuh lebih cepat dan mencapai bobot jual lebih awal daripada ayam broiler betina. Ayam jantan dapat mengkonsumsi pakan lebih banyak daripada ayam betina. Hubungan antara umur, bobot badan, pertambahan bobot badan harian dan konsumsi pakan ayam broiler jantan dan betina dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Bobot Badan, Pertambahan Bobot Badan Harian dan Konsumsi Pakan Ayam Broiler Jantan (J) dan Betina (B) pada Umur yang Berbeda *

Umur (Minggu)	Bobot Badan		Pertambahan Bobot Badan Harian		Konsumsi Pakan Perekor perhari	
	J	B	J	B	J	B
	----- (g) -----					
1	118	115	11,2	10,7	12,8	12,6
2	278	250	22,9	19,3	29,0	25,0
3	525	460	35,3	30,0	54,0	47,0
4	825	660	42,8	29,0	77,0	55,0
5	1145	890	45,7	33,0	93,0	69,0
6	1500	1120	50,0	33,0	104,0	76,0
7	1850	1450	50,0	47,0	113,0	102,0
8	2200	1750	50,0	43,0	130,0	114,0

* Scott *et al.* (1982)

Masa pemeliharaan ayam broiler dibagi menjadi dua periode yaitu periode awal dengan umur satu hari sampai 3 minggu dan periode akhir dengan umur lebih dari tiga minggu (NRC, 1994). Kebutuhan energi, protein dan asam amino esensial untuk ayam broiler seperti yang direkomendasikan oleh National Research Council (NRC), tercantum pada Tabel 2.

Selain faktor di atas, faktor lingkungan seperti temperatur (suhu) juga dapat mempengaruhi penampilan ayam broiler. Suhu lingkungan yang tinggi dapat menekan pertumbuhan ayam sebagai akibat dari konsumsi pakan yang menurun.

Tabel 2. Kebutuhan Energi, Protein dan Asam Amino Esensial untuk Ayam Broiler *

Jenis nutrisi	Umur ayam (minggu)		
	0 - 3	3 - 6	6 - 9
Energi metabolis (Kkal/kg)	3200	3200	3200
Protein (%)	23,00	20,00	18,00
Asam amino (%) :			
- Lisin	1,10	1,00	0,85
- Metionin	0,50	0,38	0,32
- Triptofan	0,20	0,18	0,16
- Arginin	1,25	1,10	1,00
- Histidin	0,35	0,32	0,27
- Leusin	1,20	1,09	0,93
- Isoleusin	0,80	0,73	0,62
- Fenilalanin	0,72	0,65	0,56
- Treonin	0,80	0,74	0,68
- Valin	0,90	0,82	0,70
- Prolin	0,60	0,55	0,46
- Glisin + Serin	1,25	1,14	0,97
- Metionin + Sistin	0,90	0,72	0,60
- Fenilalanin + Tirosin	1,34	1,22	1,04

* NRC (1994)

Ayam broiler mempunyai kisaran suhu optimal untuk pertumbuhan yang maksimal yaitu pada suhu 18 – 24°C (Lawrence, 1980). Pertumbuhan berkaitan erat dengan konsumsi pakan. Menurut Anggorodi (1980), pertumbuhan merupakan penambahan

jumlah dan ukuran sel, atau penambahan dalam jumlah protein dan zat-zat mineral yang tertimbun dalam tubuh. Oleh karena itu untuk menunjang kebutuhan untuk pertumbuhan diperlukan substansi penyusun, dan ini dapat dipenuhi dari nutrisi yang diperoleh ayam melalui konsumsi pakan setiap hari.

2.2. Pupa Ulat Sutera

Ulat sutera merupakan salah satu dari sekian banyak invertebrata domestik yang kehidupannya sangat tergantung pada manusia, dan banyak dimanfaatkan sebagai penghasil sutera komersial (Samsijah dan Kusumaputra, 1976). Jenis ulat sutera yang paling banyak dipelihara untuk memproduksi bahan sutera alam adalah *Bombyx mori*. Ulat sutera (*Bombyx mori*) termasuk serangga yang selama hidupnya mengalami metamorfosis sempurna yang dimulai dari telur, ulat, pupa dan kupu-kupu. Menurut Boror *et al.* (1992), sistematika ulat sutera adalah sebagai berikut :

Filum : Arthropoda

Class : Insecta

Ordo : Lepidoptera

Famili : Bombycidae

Genus : Bombyx

Spesies : *Bombyx mori*

Menurut Budisantoso (1994), di dalam tubuh ulat sutera mempunyai sepasang kelenjar yang bentuknya seperti pipa dan melingkar-lingkar. Bagian belakang kelenjar ini menghasilkan protein yang disebut fibroin ($C_{15}H_{23}N_5O_6$), sedangkan bagian tengah menghasilkan protein pasta yang disebut serisin ($C_{15}H_{23}N_5O_8$).

Sarastri (1998) menyatakan bahwa kelenjar sutera merupakan organ kedua yang terbesar dalam tubuh ulat sutera. Berat kelenjar sutera pada larva dewasa sekitar 40-50% bobot tubuh.

Pupa ulat sutera diperoleh dari proses pengeringan dan penyimpanan kokon. Kokon merupakan kepompong dari ulat sutera yang masih berisi pupa. Pengeringan kokon dengan memanaskan kokon sampai beratnya kira-kira hanya tinggal 40% dari berat basah, dan pupa didalamnya mati (Samsijah dan Kusumaputra, 1976). Menurut Ravindran dan Blair (1993) tepung pupa ulat sutera dapat digunakan sebagai bahan baku pakan berprotein tinggi dengan komposisi nutrisi seperti tercantum dalam Tabel 3.

Pupa ulat sutera termasuk kelompok serangga (insekta) dan kitin merupakan salah satu penyusun kerangka *crustacea* dan kerangka serangga. Kitin merupakan karbohidrat yang mengandung nitrogen (N-acetylated glucosamine polysaccharide) sekitar 7% nitrogen yang tidak tersedia ("non-available") bagi sebagian besar ternak. Unggas tidak memiliki kitinase, sehingga mengalami kesulitan dalam mencerna kitin (Ravindran dan Blair, 1993). Istilah kitin erat hubungannya dengan kitosan, suatu istilah yang dipakai untuk menunjuk polimer panjang yang tersusun atas D-glukosamin, disebut kitin apabila mengandung nitrogen kurang dari 7% dan kitosan bila mengandung nitrogen lebih dari 7% (Davies dan Hayes, 1988 dalam Santoso, 1991).

Tabel 3. Komposisi Nutrisi Tepung Pupa Ulat Sutera *

Nutrisi	Kandungan
Energi Metabolis (kkal/kg)	2900,0
Protein Kasar (%)	48,0
Asam amino (% Protein) :	
- Arginin	5,5
- Sistin	1,1
- Histidin	2,4
- Isoleusin	4,0
- Leusin	6,9
- Lysin	6,8
- Methionin	2,9
- Fenilalanin	3,8
- Treonin	4,7
- Triptofan	1,4
- Valin	5,2
- Tirosin	6,0
- Glisin	4,6
Lemak Kasar (%)	27,0
Serat Kasar (%)	3,0
Abu (%) :	5,0
- Kalsium	1,0
- Phospor	1,0

* Ravindran dan Blair (1993)

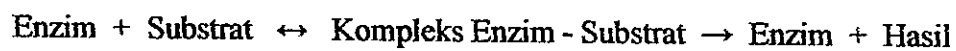
Hasil penelitian Frandiyanto (2002) menunjukkan bahwa penggunaan tepung pupa ulat sutera tanpa disertai atau dikombinasikan dengan sumber protein hewani lain menurunkan konsumsi ransum, penambahan bobot badan dan retensi nitrogen pada ayam broiler.

2.3. Pengolahan Pupa Ulat Sutera

Montgomery *et al.* (1983) menyatakan bahwa protein dalam keadaan asli (native) tidak mudah dicerna, sedangkan protein yang struktur alaminya telah berubah, misalnya dengan cara dimasak (denaturasi panas) akan lebih mudah dicerna. Hal itu terjadi karena ikatan peptidanya menjadi lebih mudah untuk dihidrolisis oleh enzim-enzim dalam saluran pencernaan.

Hidrolisis adalah proses pemecahan molekul kompleks menjadi molekul yang lebih sederhana dengan bantuan air. Hidrolisis protein bertujuan untuk memutus ikatan antara residu asam amino tertentu dalam protein sehingga menghasilkan rantai peptida yang lebih pendek (Darwis *et al.*, 1988). Hidrolisis bahan pakan dapat dilakukan dengan menggunakan larutan asam, larutan basa atau dengan enzim. Namun penggunaan larutan asam atau basa kuat mempunyai kelemahan yaitu terjadi kerusakan beberapa asam amino tertentu dalam bahan pakan (Sudarmadji *et al.*, 1989). Proses hidrolisis protein dengan asam dan basa relatif mudah dikerjakan, tetapi ada beberapa kerugian. Hidrolisis dengan asam kuat dapat merusak beberapa jenis asam amino, misalnya triptofan, asparagin dan glutelin terdekomposisi atau terhidrolisis, demikian pula asam amino yang mengandung sulfur dan bergugus hidroksi terdekomposisi. Hidrolisis protein dengan basa kuat menyebabkan beberapa asam amino, seperti arginin, sistein, treonin dan serin dapat mengalami reaminasi (Scrimshaw, 1978). Enzim proteolitik digunakan untuk hidrolisis protein dengan pertimbangan bahwa asam atau basa kuat yang digunakan untuk menghidrolisis protein dapat merusak asam amino tertentu terutama asam amino yang mudah rusak oleh asam kuat misalnya triptofan dan asparagin (Santoso, 1991).

Alder-Nissen (1986) menyatakan bahwa terdapat tiga tahap reaksi hidrolisis enzimatis, yaitu pembentukan kompleks Michaelis antara rantai peptida asli (substrat) dengan enzim, diikuti pemutusan rantai peptida dan kemudian proses pembebasan peptida dan enzim. Menurut Soendoro (1997), proses hidrolisis dengan enzim didahului dengan bergabungnya enzim dengan substrat membentuk formasi enzim substrat yang kompleks, kemudian akan menghasilkan produk hidrolisis dan enzim bebas. Reaksi hidrolisis adalah sebagai berikut :

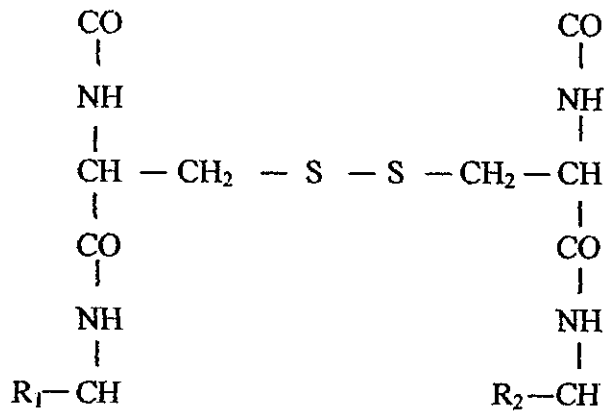


2.4. Enzim Papain dan Penggunaannya

Enzim proteolitik dapat digolongkan menjadi dua kelompok besar yaitu golongan eksopeptidase yang memotong peptida dari arah gugus karboksil dan gugus amino terminal, sedangkan golongan endopeptidase memecah protein ikatan peptida dari dalam (Winarno, 1995). Selanjutnya dinyatakan bahwa papain termasuk golongan endopeptidase. Papain berasal dari pohon pepaya (*Carica papaya*), merupakan enzim yang cukup efektif untuk menghidrolisis protein, dan mempunyai aktifitas yang paling besar dalam menghidrolisis suatu protein dibanding endopeptidase lain yaitu proteinase bakteri, pepsin, kimotripsin dan tripsin.

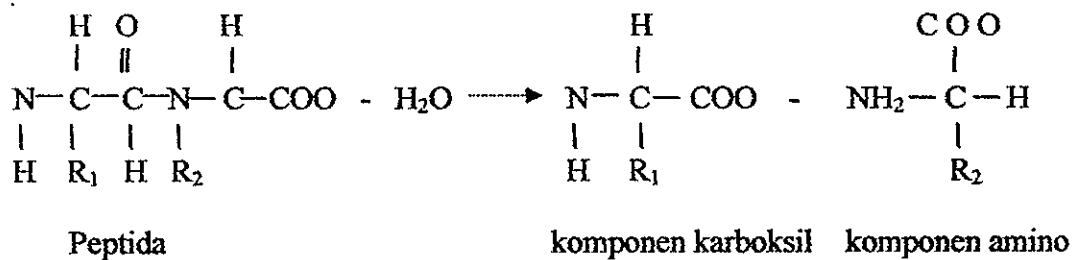
Papain merupakan protein sederhana yaitu berupa sebuah rantai tunggal yang terdiri dari 212 asam amino dengan berat molekul 21.000 dalton. Papain tidak mengandung karbohidrat dan tersusun dari hampir semua asam amino kecuali metionin. Papain mempunyai gugus sulfhidril sebagai gugus esensial untuk aktifitasnya. Hal ini disebabkan bagian aktif dari papain adalah gugus -SH, sehingga

aktifitasnya tergantung dari adanya satu atau lebih residu sulfhidril pada sisi aktif tersebut (Yamamoto , 1975). Struktur kimia papain dapat dilihat pada Ilustrasi 1.



Ilustrasi 1. Struktur Kimia Papain

Papain mampu menghidrolisis protein dan peptida menjadi asam amino, khususnya yang melibatkan asam amino arginin, lysine, glutamin, histidine, glycine dan tyrosin. Papain digunakan untuk memecah atau mengurai protein secara sempurna karena mampu mengkatalisis reaksi hidrolisis suatu substrat (Muchtadi *et al.*, 1992). Enzim papain dapat menghidrolisis protein dengan jalan memutus ikatan peptida sehingga dihasilkan peptida sederhana dan asam amino bebas. Reaksi hidrolisis oleh papain sebagai berikut :



Ilustrasi 2. Reaksi Hidrolisis Papain

Papain sudah dikenal sejak lama sebagai bahan pengempuk daging. Papain sebagai enzim proteolitik sudah banyak digunakan dalam bidang industri seperti penyamakan kulit, pembuatan keju dan masih banyak lagi (Muchtadi *et al.*, 1992). Hasil penelitian Khoirunnisa (2002) menunjukkan bahwa penggunaan papain dapat meningkatkan pencernaan protein kedelai. Demikian pula enzim papain dapat dipakai untuk menghidrolisis bungkil kedelai secara *in vitro* dan dapat meningkatkan kandungan produk hidrolisat tirosin dan protein terlarut (Surisdiarto dan Radiati, 1998). Natsir *et al.* (1997) melaporkan bahwa hidrolisis tepung bulu menggunakan papain mampu meningkatkan pencernaan protein *in vitro*, protein, Ca dan P terlarut. Pemberian papain (0,03%) pada pakan yang mengandung tepung bulu mampu memperbaiki penampilan ayam broiler (Nuraini *et al.*, 2002).

Penggunaan papain dalam bidang perikanan sudah banyak dikembangkan seperti dilaporkan Hasan (2000), penambahan enzim papain dalam pakan buatan untuk ikan gurame ternyata mampu meningkatkan retensi nitrogen, efisiensi pakan dan laju pertumbuhan harian ikan gurame. Demikian pula pada pengolahan kecap ikan kembung dengan enzimatis jauh lebih efektif daripada dengan fermentasi biasa, dilihat dari waktu yang diperlukan untuk fermentasi sampai sempurna serta kandungan protein yang dihasilkan (Manullang *et al.*, 1995).

Hidrolisis enzimatik tidak terlepas dari aktivitas enzimnya. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain suhu, pH, konsentrasi substrat, konsentrasi enzim, aktivator dan inhibitor enzim (Soendoro, 1997) serta lama inkubasi (Whitaker, 1994). Kenaikan suhu selain dapat meningkatkan laju reaksi juga dapat mengakibatkan inaktivasi enzim (Muchtadi *et al.*, 1992). Hampir semua

enzim mempunyai aktivitas optimum pada suhu 30-50°C, enzim papain optimum pada suhu 40°C (Winarno, 1995). Papain menjadi tidak aktif pada suhu 75°C sampai 85°C. Enzim akan mempunyai stabilitas yang tinggi di sekitar pH optimumnya, pH optimum enzim papain adalah pada pH 5 sampai 7 (Muchtadi *et al.*, 1992).

Kecepatan reaksi hidrolisis dalam suatu reaksi enzimatik tergantung pada konsentrasi substrat (Winarno, 1995). Kecepatan reaksi yang dikatalisasikan dengan enzim mula-mula meningkat dengan bertambahnya konsentrasi substrat. Apabila konsentrasi substrat dinaikkan lebih lanjut akan tercapai suatu kecepatan maksimal. Suatu penambahan konsentrasi substrat lebih lanjut tidak mempunyai akibat terhadap kecepatan reaksi. Konsentrasi substrat yang menghasilkan kecepatan reaksi maksimal, berarti katalis dalam keadaan telah jenuh dengan substrat (Soendoro, 1997). Kecepatan reaksi bertambah seiring dengan bertambahnya konsentrasi enzim, pada suatu konsentrasi substrat tertentu (Poedjiadi, 1994). Menurut Sukatiningsih (1990) yang dikutip oleh Natsir *et al.* (1997), konsentrasi enzim yang terlalu rendah menyebabkan substrat tidak terhidrolisis, sedangkan pada konsentrasi enzim terlalu tinggi kenaikan jumlah produk tidak sebanding dengan peningkatan jumlah enzim.

Aktivator dan inhibitor enzim secara langsung berpengaruh terhadap aktifitas enzim walaupun dalam jumlah sedikit saja. Aktivator adalah suatu senyawa atau ion yang dapat meningkatkan kecepatan reaksi enzimatik tetapi ada beberapa enzim yang bekerjanya tanpa adanya aktivator. Senyawa aktivator tersebut adalah koenzim serta senyawa pereduksi (Lehninger, 1994). Enzim papain dihambat oleh senyawa oksidator dan logam berat (Winarno, 1995). Papain dapat terinaktivasi oleh udara pada konsentrasi sistein rendah. Adanya pengoksida seperti H₂O₂, iodoasetat dan

sebagainya dapat menurunkan derajat aktifitas papain. Hal yang sama juga terjadi oleh pereaksi aldehid. Logam berat seperti Cd^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} dan Pb^{2+} bersifat menghambat papain, pengaktifan kembali dapat dilakukan dengan penambahan sistein Ethilene Diamine Tetra Asetate (EDTA). EDTA berfungsi mengkelat (mengikat) logam yang mungkin terikat dengan gugus aktif papain (Yamamoto, 1975).

Lama inkubasi berpengaruh terhadap hasil hidrolisis. Makin lama proses hidrolisis makin banyak enzim yang berdifusi ke dalam substrat sehingga produk yang dihasilkan makin besar pula, tetapi pada batas tertentu peningkatan lama hidrolisis tidak akan menambah jumlah produk disebabkan substratnya sudah habis atau terjadi penghambatan umpan balik dari produknya (Whitaker, 1994).

2.5. Ketersediaan Protein pada Bahan Pakan

Protein adalah senyawa organik kompleks yang mempunyai berat molekul tinggi, mengandung unsur karbon, hidrogen, oksigen dan nitrogen. Sebagian besar protein mengandung sulfur dan beberapa diantaranya mengandung fosfor (Winarno, 1987). Protein merupakan polimer dari sekitar 21 asam amino yang berlainan dan digabungkan dengan ikatan peptida (deMan, 1999). Protein merupakan komponen utama dalam semua sel hidup. Fungsinya terutama adalah sebagai unsur pembentuk struktur sel dan sebagai protein yang aktif seperti enzim dan hormon (Wirahadikusumah, 1989).

Protein sangat dibutuhkan bagi ternak untuk pertumbuhan, pergantian jaringan, pembentukan telur dan penghasil energi. Sintesis protein jaringan tubuh memerlukan

asam amino terutama asam amino esensial. Kualitas suatu protein bukan hanya ditentukan oleh banyaknya protein yang diserap tetapi juga ditentukan oleh daya cerna protein tersebut, asam amino esensial yang terkandung serta keseimbangannya (Parakkasi, 1983).

Pencernaan adalah penguraian bahan makanan ke dalam zat-zat makanan (nutrisi) dalam saluran pencernaan untuk dapat diserap dan digunakan oleh jaringan tubuh (Tillman *et al.*, 1991). Pencernaan protein pada unggas terjadi di bagian proventrikulus, campuran pepsin hidroklorik memecah sebagian protein ke dalam bagian-bagian yang lebih sederhana seperti proteosa dan pepton. Tripsin getah pankreas memecah sebagian proteosa dan pepton menjadi asam amino. Erepsin yang dikeluarkan ke dalam usus halus melengkapi pencernaan hasil pemecahan protein menjadi asam amino (Anggorodi, 1985). Menurut Martoharsono (1993), pada hewan tingkat tinggi, protein yang terdapat sebagai bagian dari bahan pakannya, dihidrolisis terlebih dahulu sebelum dimanfaatkan lebih lanjut. Peristiwa ini berlangsung dalam saluran pencernaan seperti lambung dan dalam usus halus. Penguraian protein yang disebut proteolisis, dikatalisis oleh enzim-enzim tertentu.

Kecernaan adalah bagian nutrisi ransum yang tidak diekskresikan dalam feses, dengan asumsi bahwa nutrisi yang tidak terdapat dalam feses berarti habis dicerna dan diabsorpsi (Tillman *et al.*, 1991). Selisih antara nutrisi yang terkandung dalam bahan pakan yang dimakan dan nutrisi dalam feses adalah jumlah yang tinggal dalam tubuh ternak atau jumlah dari nutrisi yang dicerna atau disebut sebagai koefisien cerna. Koefisien cerna dikalikan 100 memberikan persen daya cerna (Anggorodi, 1980).

Pengukuran pencernaan pada dasarnya adalah cara untuk menentukan jumlah nutrisi dari suatu bahan pakan yang dapat diserap oleh usus halus, semakin tinggi tingkat pencernaan suatu pakan memungkinkan banyaknya nutrisi yang dapat diserap (Anggorodi, 1980). Metode penentuan pencernaan pakan dapat dilaksanakan dengan metode *in vivo* dan *in vitro*. Metode *in vivo* merupakan suatu metode pendugaan pencernaan secara langsung dengan menggunakan ternak percobaan (Tillman *et al.*, 1991). Suatu percobaan dengan metode *in vivo* dilakukan dengan mencatat pakan yang dikonsumsi dan ekskreta yang dikeluarkan dalam satuan hari. Ternak berlabung tunggal, suatu indikator atau "marker" dapat ditambahkan ke dalam pakan dan semua ekskreta yang mengandung "marker" tersebut dikumpulkan selama periode koleksi. Sibbald (1976) menerapkan metode pengukuran pencernaan nutrisi dengan cara "force feeding" menggunakan ayam broiler jantan dewasa. Ayam percobaan dipuaskan selama 24 jam dan hanya diberi minum *ad libitum*, kemudian pakan diberikan secara paksa ("force feeding") dan ekskreta ditampung. Pengembangan metode penentuan pencernaan yang dilakukan di laboratorium dengan meniru percobaan pencernaan disebut uji pencernaan *in vitro*. Penentuan pencernaan protein *in vitro* menggunakan larutan pepsin dan HCl (Tillman *et al.*, 1991). Menurut Muchtadi (1989), pencernaan protein adalah banyaknya protein yang dihidrolisis menjadi asam amino oleh enzim pencernaan (protease). Protein yang mudah dicerna menunjukkan bahwa jumlah asam amino yang dapat diserap dan digunakan oleh tubuh lebih tinggi.

Kelarutan protein merupakan salah satu indikasi dari kualitas protein yang dihubungkan dengan manfaat protein terhadap tubuh. Semakin tinggi protein terlarut

berarti semakin banyak protein yang terurai menjadi peptida dengan berat molekul rendah dan asam amino bebas (Tillman *et al.*, 1991). Penelitian biologis yang dilakukan oleh Frandiyanto (2002) pada ayam broiler dengan memberikan pakan mengandung tepung pupa ulat sutera sebanyak 4 - 12%, menunjukkan pencernaan protein berkisar antara 67,74 - 70,97%.

BAB III

MATERI DAN METODA PENELITIAN

Penelitian uji *in vitro* dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Makanan Ternak dan Laboratorium Biokimia Nutrisi, Jurusan Nutrisi dan Makanan Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro pada bulan Juni sampai dengan Agustus 2003. Penelitian uji *in vivo* ("force feeding") dilaksanakan di kandang unggas Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian Magelang pada bulan Februari 2004.

3.1. Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tepung pupa ulat sutera. Pupa ulat sutera diperoleh dari Koperasi Sutera Alam Sawangan Magelang. Papain yang digunakan berasal dari *Carica papaya* produksi Merck, Jerman yang mempunyai aktivitas 30.000 USP U/mg, aquades dan bahan kimia untuk analisis sampel. Uji pencernaan protein *in vivo* menggunakan ayam broiler jantan umur 5 minggu, dengan bobot badan rata-rata $1189 \pm 45,34$ g dan diberi pakan secara "force feeding".

Peralatan yang digunakan untuk hidrolisis tepung pupa adalah "shaker waterbath", "beaker-glass", termometer, pHmeter, peralatan untuk analisis kimia sampel tepung pupa serta kandang baterai.

3.2. Metoda Penelitian

3.2.1. Rancangan Percobaan

Penelitian *in vitro* menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola faktorial 4x3 dengan 3 ulangan. Faktor pertama adalah konsentrasi enzim papain (C), yang terdiri atas 4 tingkat, yaitu 0% (C₀), 0,2% (C₁), 0,4% (C₂) dan 0,6% (C₃). Faktor kedua adalah lama inkubasi (T), yang terdiri atas 3 tingkat yaitu 0 jam (T₀), 2 jam (T₁) dan 4 jam (T₂). Kombinasi perlakuan seperti terlihat pada Tabel 6. Denah percobaan hidrolisis tepung pupa ulat sutera menggunakan papain dengan konsentrasi dan lama inkubasi yang berbeda dapat dilihat pada Lampiran 1.

Tabel 6. Kombinasi Perlakuan Hidrolisis Tepung Pupa

Konsentrasi papain (%)	Lama inkubasi (jam)		
	T ₀	T ₁	T ₂
C ₀	C ₀ T ₀	C ₀ T ₁	C ₀ T ₂
C ₁	C ₁ T ₀	C ₁ T ₁	C ₁ T ₂
C ₂	C ₂ T ₀	C ₂ T ₁	C ₂ T ₂
C ₃	C ₃ T ₀	C ₃ T ₁	C ₃ T ₂

3.2.2. Prosedur Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam dua tahap yaitu tahap pertama merupakan penelitian pendahuluan dan tahap kedua merupakan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui komposisi kimia, protein terlarut dan

kecernaan protein *in vitro* tepung pupa serta untuk menentukan suhu dan waktu pemasakan yang tepat untuk tujuan denaturasi protein tepung pupa yang akan digunakan pada penelitian utama. Penelitian utama bertujuan untuk mengevaluasi pengaruh proses hidrolisis tepung pupa dengan papain serta menentukan tingkat konsentrasi papain dan lama inkubasi yang paling optimal dalam menghasilkan tingkat ketersediaan protein tepung pupa yang tertinggi.

Penelitian tahap I

Penelitian tahap pertama dilakukan analisis proksimat terhadap tepung pupa untuk mengetahui kandungan nutrisi serta analisis kandungan protein terlarut dan kecernaan protein *in vitro*. Hasil analisis kandungan nutrisi tepung pupa dapat dilihat pada Tabel 4. Hasil analisis kecernaan protein *in vitro* tepung pupa adalah sebesar 55,84% dan kandungan protein terlarut sebesar 13,30%.

Tabel 4. Kandungan Nutrisi Tepung Pupa Ulat Sutera Berdasarkan Bahan Kering *

Nutrisi	Kandungan (%)
Protein kasar	53,67
Lemak kasar	29,94
Serat kasar	7,93
Abu	5,56
BETN	2,90

* Hasil analisis proksimat di Laboratorium Biokimia, Fakultas Teknologi Pertanian UGM (2003).

Penelitian tahap I dilakukan pula proses pemasakan pupa ulat sutera (denaturasi protein) yang bertujuan untuk merenggangkan ikatan-ikatan dalam protein pupa sebelum melakukan proses hidrolisis dengan menggunakan enzim papain.

Proses pemasakan menggunakan pupa segar dan pupa kering dengan suhu dan lama pemasakan yang berbeda. Pupa yang telah dimasak, selanjutnya dikeringkan di bawah panas matahari, kemudian digiling dan dianalisis kandungan protein terlarutnya. Hasil analisis kandungan protein terlarut tepung pupa pada berbagai perlakuan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Protein Terlarut Tepung Pupa pada Berbagai Perlakuan

Macam pupa	Suhu dan waktu	Protein terlarut (%)
Pupa kering	120°C, 10 menit	12,52
	120°C, 20 menit	13,59
	120°C, 30 menit	13,40
	60°C, 30 menit	15,39
	60°C, 60 menit	14,49
	60°C, 90 menit	14,04
Pupa segar	60°C, 30 menit	14,97
	60°C, 60 menit	14,51
	60°C, 90 menit	13,07

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada penelitian tahap I, maka proses denaturasi dengan cara pemasakan menggunakan tepung pupa kering udara pada suhu 60°C selama 30 menit, yaitu perlakuan yang menghasilkan nilai kelarutan protein tertinggi (15,39%).

Penelitian tahap II

Penelitian tahap II merupakan lanjutan penelitian tahap I. Sebelum dilakukan percobaan, maka masing-masing satuan percobaan mendapatkan perlakuan pemanasan (denaturasi) dengan menggunakan suhu 60°C selama 30 menit. Selanjutnya, dilakukan proses hidrolisis tepung pupa menggunakan papain dengan konsentrasi dan lama inkubasi yang berbeda. Proses hidrolisis tepung pupa dengan papain dilakukan dengan memodifikasi metode Papadopoulos *et al.* (1985), yaitu 110 g tepung pupa kering dimasukkan dalam “beaker-glass”, dicampur 200 ml air dan pH dipertahankan pada pH 6,0. Selanjutnya dimasukkan dalam penangas air (“waterbath”) dengan suhu 60°C selama 30 menit. Kemudian, didiamkan sebentar hingga suhu turun menjadi sekitar 40°C, lalu ditambahkan enzim dengan perbandingan berat per berat (b/b) sesuai perlakuan (0%, 0,2%, 0,4% dan 0,6%). Campuran diaduk dan diinkubasi dalam “shaker waterbath” pada suhu 40°C sesuai perlakuan (0, 2, dan 4 jam), kemudian dipanaskan pada suhu 80°C selama 5 menit untuk me-nonaktifkan enzim. Selanjutnya, didinginkan dan dikeringkan sehingga diperoleh tepung pupa hidrolisat.

3.2.3. Peubah yang diamati

Peubah yang diamati pada penelitian ini meliputi protein kasar, protein terlarut, pencernaan protein *in vitro* dan pencernaan protein *in vivo*.

a. Protein Kasar

Protein kasar ditentukan dengan menggunakan metode mikro Kjeldahl (Sudarmadji *et al.*, 1984). Secara prinsip, H_2SO_4 pekat dengan adanya katalisator $CuSO_4$ dan Na_2SO_4 dapat memecah senyawa nitrogen, selanjutnya berubah menjadi $(NH_4)_2SO_4$. $(NH_4)_2SO_4$ dalam suasana alkalis melepaskan NH_3 yang selanjutnya ditampung H_3BO_3 . Kemudian penampung dan blanko dititrasasi dengan HCl 0,1 N. Dengan demikian dapat diketahui jumlah nitrogen sehingga kadar protein kasar dapat dihitung (prosedur analisis selengkapnya tercantum pada Lampiran 2).

b. Protein Terlarut

Analisis protein terlarut menggunakan metode Folin-Lowrey (Sudarmadji *et al.*, 1984). Penentuan kandungan protein terlarut terdiri atas 2 tahap, yaitu tahap pertama pembuatan kurva standar termasuk persamaan regresi dari hubungan konsentrasi bovine serum albumin (BSA) dan densitas optik (OD) larutan sampel. Tahap kedua adalah pembacaan OD larutan sampel. Prosedur analisis protein terlarut tercantum pada Lampiran 3.

c. Kecernaan Protein *In Vitro*

Analisis kecernaan protein *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode Han dan Parson (1991) yaitu sampel bahan ditimbang 200 mg dan dilarutkan ke dalam 9 ml 0,1 N buffer walphole pH 2,0 dan ditambahkan 1 ml enzim pepsin konsentrasi 2%. Campuran diinkubasi selama 5 jam pada suhu $37^\circ C$ dalam penangas air ("waterbath"), kemudian disentrifus pada 3000 rpm selama 20 menit. Supernatan

diambil 5 ml dan dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambahkan 5 ml TCA konsentrasi 20%. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu kamar selama 15 jam, kemudian disaring dengan kertas Whatman no. 41. Nitrogen protein dalam filtrat dianalisis dengan mikro Kjeldahl. Persentase protein tercerna dihitung berdasarkan rumus sebagai berikut :

$$\% \text{ protein tercerna} = \frac{\text{mg N dalam filtrat} \times 6,25}{\text{mg sampel} \times \% \text{ protein bahan}} \times 100\%$$

d. Kecernaan Protein *In Vivo*

Pengukuran kecernaan protein *in vivo* menggunakan teknik “force feeding”, modifikasi metode Sibbald (1976), dengan memakai ayam broiler jantan umur 5 minggu sebanyak 18 ekor yang dipuasakan selama 24 jam. Air minum diberikan *ad libitum*. Ayam percobaan ditempatkan dalam kandang baterai dan penempatannya dilakukan secara acak (Lampiran 4). Ayam-ayam tersebut diberi perlakuan yang berbeda, yaitu perlakuan 1 menggunakan tepung pupa hasil hidrolisis menggunakan papain yang menghasilkan nilai ketersediaan protein tertinggi (perlakuan C₂T₁). Perlakuan 2 menggunakan tepung pupa yang telah mengalami proses pemasakan (denaturasi) menggunakan suhu 60°C selama 30 menit (C₀T₀). Perlakuan 3 menggunakan tepung pupa tanpa mengalami proses pemasakan (T₀). Masing-masing perlakuan menggunakan ayam sebanyak 6 ekor. Pemberian tepung pupa (pakan) dilakukan secara paksa (“force feeding”), dengan cara “diloloh”. Tepung pupa sebelum diberikan, ditambah air terlebih dahulu dengan perbandingan 50 : 50 (berat kering/volume). Pakan yang diberikan sebanyak 40% dari total konsumsi pakan per

hari, yaitu sebanyak 40 gram per ekor. Ekskreta ditampung selama 36 jam dan disemprot dengan larutan HCl 2 N. Ekskreta yang telah tertampung dikeringkan dan ditimbang. Sampel dari bahan pakan yang diuji dan ekskreta digiling, kemudian dianalisis kadar protein.

Perhitungan pencernaan protein (Muller, 1982) :

$$\text{Kecernaan protein} = \frac{\text{Protein intake} - \text{Protein dalam feses}}{\text{Protein intake}} \times 100\%$$

$$\text{Protein dalam feses} = \text{Protein ekskreta} - 30\% \text{ Protein ekskreta}$$

3.3. Analisis Data

Model linier aditif rancangan acak lengkap faktorial adalah :

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Keterangan :

Y_{ijk} = nilai pengamatan akibat pengaruh konsentrasi papain ke-i dan lama inkubasi ke-j serta ulangan ke-k.

μ = nilai tengah pengamatan

α_i = pengaruh konsentrasi papain ke-i (i = 1, 2, 3,4)

β_j = pengaruh lama inkubasi ke-j (j = 1, 2, 3)

$(\alpha\beta)_{ij}$ = pengaruh interaksi antara konsentrasi papain ke-idan lama inkubasi ke-j

ε_{ijk} = galat yang disebabkan oleh pengaruh konsentrasi papain ke-i, lama inkubasi ke-j dan ulangan ke-k

Penelitian *in vivo* menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 6 ulangan.

Data yang diperoleh dari semua peubah sebelum dianalisis ragam diuji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu dengan menggunakan Minitab 13.20 (2002). Analisis ragam menggunakan program SAS 6.12 (1998), apabila hasilnya signifikan atau terdapat interaksi positif antara konsentrasi papain dan lama inkubasi terhadap peubah (protein kasar, protein terlarut dan pencernaan protein *in vitro*) dilakukan uji lanjut dengan Duncan's Multiple Range Test (DMRT). Uji lanjut khusus untuk peubah pencernaan protein *in vivo* memakai uji beda nyata terkecil (BNT). Uji polinomial ortogonal (P.O) dilakukan untuk memperoleh tingkat konsentrasi papain dan lama inkubasi yang optimal, menggunakan program Maple 6 (1999).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Protein Kasar

Kandungan protein kasar hasil hidrolisis tepung pupa dengan papain, pada perlakuan konsentrasi papain dan lama inkubasi dapat dilihat pada Tabel 7, sedangkan data lengkap tertera pada Lampiran 5.

Tabel 7. Kandungan Protein Kasar Tepung Pupa Ulat Sutera yang Diberi Papain dengan Lama Inkubasi yang Berbeda

Konsentrasi papain (%)	Lama inkubasi (jam)			Rataan
	0	2	4	
 (%)			
0	51,21	51,55	52,05	51,60
0,2	51,67	51,92	52,36	51,98
0,4	51,69	50,99	52,92	51,86
0,6	51,80	52,15	51,29	51,75
Rataan	51,59	51,65	52,15	

Hasil analisis ragam (Lampiran 6) menunjukkan bahwa konsentrasi papain, lama inkubasi dan interaksi antara keduanya tidak berpengaruh nyata terhadap kadar protein kasar tepung pupa ulat sutera ($P>0,05$). Hal ini memberikan arti bahwa penggunaan enzim papain tidak meningkatkan kandungan protein karena enzim berperan sebagai katalisator dalam proses hidrolisis protein pupa ulat sutera untuk memecah ikatan peptida dalam protein, sedangkan protein kasar yang teranalisis

merupakan kadar kuantitatif atau jumlah Nitrogen (N) total. Maksud dari penentuan kandungan protein kasar adalah untuk mendapat konfirmasi bahwa kandungan protein kasar tidak berubah karena aktivitas enzim, tetapi diharapkan berubah dari segi struktur sehingga mudah dicerna. Hasil penelitian ini sesuai dengan penemuan Winarno dan Fardiaz (1987) bahwa enzim adalah suatu katalisator biologis yang dihasilkan oleh sel hidup dan dapat membantu mempercepat reaksi biokimia. Papain digunakan untuk memecah atau menguraikan protein secara sempurna karena mampu mengkatalisis reaksi hidrolisis suatu substrat. Enzim papain dapat menghidrolisis protein dengan cara memutus ikatan peptida sehingga dihasilkan peptida sederhana dan asam amino bebas (Muchtadi *et al.*, 1992). Oleh karena itu, sangat logis secara kuantitatif kadar protein kasar tepung pupa tidak berubah.

Lama inkubasi erat kaitannya dengan suhu yang digunakan. Penelitian ini menggunakan suhu inkubasi sebesar 40°C, sehingga dengan suhu tersebut belum terjadi proses denaturasi protein dan enzim, akibatnya tidak berpengaruh terhadap kadar protein kasar tepung pupa, tetapi proses yang terjadi adalah proses hidrolisis. Hal ini sesuai dengan Whitaker (1994) bahwa lama inkubasi sangat berpengaruh terhadap hasil hidrolisis, makin lama proses hidrolisis makin banyak enzim yang berdifusi ke dalam substrat sehingga produk yang dihasilkan makin besar pula. Hasil hidrolisis enzimatik protein berupa suatu hidrolisat yang mengandung asam amino bebas dan peptida yang mempunyai berat molekul rendah (Hartadi *et al.*, 1990). Menurut Martoharsono (1993), suhu mempunyai pengaruh yang saling berlawanan terhadap aktivitas enzim, naiknya suhu dapat meningkatkan aktivitas enzim,

sebaliknya juga dapat mendenaturasi enzim. Secara umum, suhu kritis enzim terjadi antara 55 - 60°C.

4.2. Protein Terlarut

Kandungan protein terlarut hasil hidrolisis tepung pupa dengan papain, pada perlakuan konsentrasi papain dan lama inkubasi dapat dilihat pada Tabel 8 dan data lengkap tertera pada Lampiran 7. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara konsentrasi papain dan lama inkubasi, demikian pula kedua faktor (konsentrasi papain dan lama inkubasi) menunjukkan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap protein terlarut (Lampiran 8).

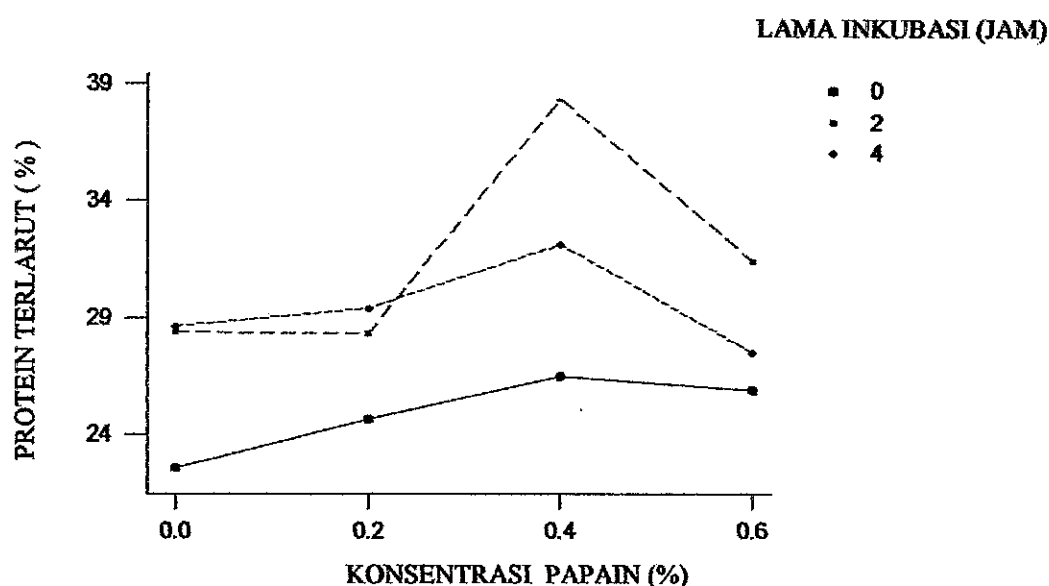
Tabel 8. Kandungan Protein Terlarut Tepung Pupa Ulut Sutera yang Diberi Papain dengan Lama Inkubasi yang Berbeda

Konsentrasi papain (%)	Lama inkubasi (jam)			Rataan
	0	2	4	
(%).....			
0	22,54 ^f	28,35 ^{bcde}	28,62 ^{bcde}	26,50 ^b
0,2	24,64 ^{ef}	28,34 ^{bcde}	29,40 ^{bcd}	27,46 ^b
0,4	26,50 ^{def}	38,41 ^a	32,13 ^b	32,34 ^a
0,6	25,89 ^{def}	31,44 ^{bc}	27,50 ^{cde}	28,28 ^b
Rataan	24,89 ^e	31,63 ^a	29,41 ^b	

Huruf kecil yang berbeda pada kolom dan baris interaksi menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Huruf kecil yang berbeda pada baris atau kolom nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Hasil uji wilayah ganda Duncan menunjukkan bahwa interaksi perlakuan konsentrasi papain 0,4% dan lama inkubasi 2 jam mempunyai kadar protein terlarut tertinggi (38,41%) dan menunjukkan perbedaan yang nyata dengan interaksi lain ($P < 0,05$), seperti terlihat pada Ilustrasi 3.



Ilustrasi 3. Protein terlarut tepung pupa karena pengaruh proses hidrolisis enzim papain dengan lama inkubasi yang berbeda

Berdasarkan ilustrasi 3. terlihat bahwa inkubasi selama 2 jam, dengan penambahan papain sebesar 0,4% menunjukkan peningkatan terhadap kandungan protein terlarut tepung pupa, namun pada konsentrasi 0,6% mengakibatkan terjadinya penurunan kandungan protein terlarut. Proses hidrolisis dan hasilnya berhubungan dengan aktivitas enzim, khususnya perbandingan antara enzim dan substrat. Penggunaan papain sebesar 0,4% dapat diasumsikan bahwa semua enzim telah berdifusi ke dalam substrat atau telah terjadi keseimbangan antara enzim dan substrat

sehingga produk yang dihasilkan makin besar pula. Selanjutnya, pemakaian konsentrasi papain yang lebih tinggi (0,6%), mengakibatkan terjadinya perbandingan enzim dan substrat sudah tidak tepat atau tidak dalam kondisi seimbang sehingga jumlah produk berupa hidrolisat tidak maksimal. Hasil penelitian ini sesuai dengan Soendoro (1997) yang menyatakan bahwa konsentrasi substrat dan enzim merupakan faktor yang dapat mempengaruhi laju reaksi suatu enzim, selain faktor yang lain seperti suhu, pH, kekuatan ionik dan adanya inhibitor. Laju reaksi yang dikatalisis oleh enzim pada awalnya meningkat sejalan dengan konsentrasi substrat, tetapi kalau penggunaan enzim lebih tinggi dibandingkan dengan substrat, laju reaksi menjadi berkurang dan pada akhirnya produk hidrolisat menjadi rendah. Penurunan laju reaksi dapat disebabkan oleh terjadinya protonisasi atau terbentuknya ion H^+ dari setiap produk yang dihasilkan. Pembentukan ion H^+ berlangsung terus selama papain masih bisa menghidrolisis protein tepung pupa. Aktivitas papain menjadi berkurang dan kehilangan kemampuan untuk menghidrolisis protein disebabkan pembentukan ion H^+ yang terus menerus sehingga mengakibatkan kondisi pH tidak sesuai lagi untuk terjadinya proses hidrolisis. Kondisi pH yang menyimpang dari pH optimum, menyebabkan aktivitas katalitik enzim juga akan lenyap (Lehninger, 1994).

Reed (1975) menyatakan bahwa konsentrasi enzim merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi proses hidrolisis protein. Semakin tinggi konsentrasi enzim, semakin besar pula kecepatan reaksinya, tetapi pada batas tertentu hasil hidrolisis yang diperoleh menjadi konstan meskipun konsentrasi enzim meningkat. Hal ini disebabkan oleh penambahan enzim sudah tidak efektif. Konsentrasi enzim yang terlalu rendah menyebabkan substrat tidak terhidrolisis secara sempurna, sebaliknya,

konsentrasi enzim yang terlalu tinggi mengakibatkan jumlah produk yang dihasilkan tidak sebanding dengan peningkatan jumlah enzim (Sukatiningsih, 1990 yang disitasi oleh Natsir *et al.*, 1997).

Nilai rata-rata protein terlarut pada konsentrasi papain yang berbeda dengan inkubasi selama 2 jam lebih tinggi dibandingkan dengan rata-rata protein terlarut pada lama inkubasi 4 jam maupun tanpa diinkubasi, dan mencapai nilai tertinggi pada konsentrasi papain 0,4%. Hasil ini menunjukkan bahwa inkubasi dengan suhu 40°C yang paling tepat adalah selama 2 jam. Semakin rendah suhu yang digunakan untuk proses hidrolisis menyebabkan semakin lama waktu yang dibutuhkan, demikian pula sebaliknya. Lama inkubasi erat hubungannya dengan proses hidrolisis atau penguraian protein dan semakin banyak pula substrat berubah menjadi hidrolisat.

Rataan protein terlarut dengan lama inkubasi 4 jam lebih rendah dibandingkan rata-rata protein terlarut dengan inkubasi selama 2 jam, disebabkan oleh kondisi lingkungan yang telah berubah menjadi asam. Menurut Natsir *et al.* (1997), semakin banyak produk hidrolisat yang dihasilkan dari proses hidrolisis protein biasanya diikuti dengan semakin banyak ion H^+ yang terbentuk. Ini berarti, semakin lama inkubasi menyebabkan kondisi lingkungan yang semula netral lama kelamaan berubah menjadi asam, pada akhirnya terjadi kondisi yang tidak sesuai lagi untuk terjadinya proses hidrolisis yang optimal.

Protein terlarut yang terbentuk menggambarkan produk hidrolisat yang dapat dimanfaatkan, semakin tinggi protein terlarut, semakin banyak protein berbentuk sederhana yang mempunyai berat molekul rendah dan asam amino bebas. Menurut Fox *et al.* (1982) produk hidrolisat umumnya mempunyai kelarutan tinggi dalam air,

kapasitas emulsinya juga baik, kemampuan mengembang besar serta mudah diserap oleh tubuh. Dengan demikian, semakin tinggi kelarutan protein bahan pakan, semakin mudah diserap oleh sistem pencernaan tubuh, sehingga semakin tinggi manfaatnya.

Kandungan protein terlarut tertinggi dicapai dengan penggunaan papain 0.4% dan lama inkubasi 2 jam (38.41%) dan berbeda nyata dengan yang lain ($P < 0,05$). Hal ini menunjukkan adanya aktivitas papain serta kecepatan reaksi yang paling optimal sehingga diperoleh produk hidrolisat yang paling tinggi. Sebaliknya, pemberian papain 0% dan lama inkubasi 0 jam diperoleh nilai protein terlarut yang paling rendah dan berbeda nyata dengan yang lain ($P < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa enzim papain memiliki kemampuan menghidrolisis protein tepung pupa.

Hasil uji wilayah ganda Duncan diperoleh hasil terbaik pada penggunaan papain 0,4% dan inkubasi selama 2 jam, sedangkan uji lanjut dengan polinomial ortogonal menunjukkan bahwa tingkat optimum konsentrasi papain adalah 0,43% dengan lama inkubasi 2,47 jam (Lampiran 9). Uji P O dengan hasil penelitian yang diperoleh tidak menunjukkan perbedaan yang besar. Apabila dibandingkan dengan hasil penelitian Natsir *et al.* (1997) bahwa penggunaan papain sebesar 3% dan lama inkubasi 4 jam dengan substrat tepung bulu menghasilkan protein terlarut tertinggi. Ini terjadi karena protein bulu tersusun atas keratin dan rendahnya daya cerna protein keratin disebabkan oleh adanya ikatan sistin-disulfida, ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik antar molekul keratin (Williams *et al.*, 1991). Protein pupa tidak mempunyai struktur seperti tepung bulu, tetapi tersusun atas fibroin dan serisin serta kitin pada bagian eksoskeletonnya saja.

4.3. Kecernaan Protein *In Vitro*

Rataan kecernaan protein *in vitro* hasil hidrolisis tepung pupa dengan papain, karena pemberian papain dan lama inkubasi tertera pada Tabel 9 dan data secara lengkap dapat dilihat pada Lampiran 10. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara konsentrasi papain dan lama inkubasi terhadap kecernaan protein *in vitro* ($P < 0.05$), demikian pula masing-masing faktor menunjukkan pengaruh yang nyata ($P < 0.05$), hasil analisis tercantum pada Lampiran 11.

Tabel 9. Kecernaan Protein *In Vitro* Tepung Pupa Ulat Sutera yang Diberi Papain dengan Lama Inkubasi yang Berbeda

Konsentrasi papain (%)	Lama inkubasi (jam)			Rataan
	0	2	4	
 (%)			
0	63,87 ^c	63,87 ^c	64,77 ^{bc}	64,17 ^c
0,2	65,37 ^{bc}	65,33 ^{bc}	65,03 ^{bc}	65,24 ^b
0,4	65,03 ^{bc}	68,90 ^a	66,37 ^b	66,77 ^a
0,6	65,50 ^{bc}	65,27 ^{bc}	63,97 ^c	64,91 ^{bc}
Rataan	64,94 ^b	65,84 ^a	65,03 ^b	

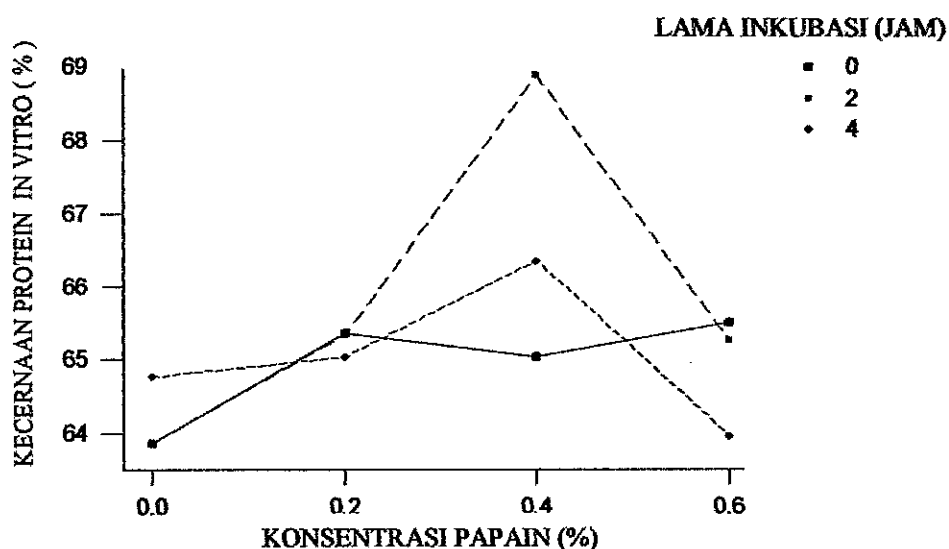
Huruf kecil yang berbeda pada kolom dan baris interaksi menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Huruf kecil yang berbeda pada baris atau kolom nilai rata-rata menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Hasil uji wilayah ganda Duncan terhadap interaksi antara kedua faktor menunjukkan bahwa interaksi antara konsentrasi papain 0,4% dan lama inkubasi 2 jam mempunyai nilai kecernaan protein *in vitro* tertinggi (68,90%) dan menunjukkan

perbedaan yang nyata ($P < 0,05$) dengan yang lainnya. Perbedaan tersebut lebih jelas dapat dilihat pada Ilustrasi 4.

Ilustrasi 4 memperlihatkan bahwa pencernaan protein *in vitro* tepung pupa yang diinkubasi selama 2 jam meningkat dari konsentrasi papain 0% hingga 0,4% (berturut-turut sebesar 63,87; 65,33 dan 68,90%), sedangkan dengan memakai papain 0,6% terjadi penurunan nilai pencernaan protein *in vitro* menjadi 65,27%.



Ilustrasi 4. Kecernaan protein *in vitro* tepung pupa karena pengaruh proses hidrolisis enzim papain dengan lama inkubasi yang berbeda

Peningkatan pencernaan protein *in vitro* terjadi karena adanya proses hidrolisis oleh aktivitas papain yang dapat mengkatalisis proses hidrolisis protein tepung pupa menjadi peptida rantai pendek dan asam amino yang mudah dicerna. Sebagaimana diketahui bahwa papain memiliki bagian aktif gugus-SH yang membentuk ikatan disulfida dengan bagian sistein yang memecah atau menghidrolisis amida pada residu

asam amino seperti arginin, lisin, glutamin, histidin, glisin dan tirosin (Muchtadi *et al.*, 1992). Adanya peptida yang mempunyai berat molekul rendah dan asam amino bebas mempermudah protein larut dalam larutan pepsin yang digunakan dalam pengukuran pencernaan protein *in vitro*. Aktivitas enzim papain dalam mendegradasi protein menjadi peptida dan molekul yang lebih sederhana, pada konsentrasi papain 0,2% masih dalam kondisi yang belum menghasilkan laju reaksi maksimal, atau katalis belum dalam keadaan seimbang dengan substrat. Konsentrasi papain 0,4% menghasilkan nilai pencernaan protein tertinggi, merupakan konsentrasi yang paling tepat untuk proses hidrolisis protein tepung pupa ulat sutera. Sebaliknya, dengan konsentrasi papain 0,6% sudah terjadi kejenuhan antara enzim dan substrat sehingga terjadi penurunan hidrolisat yang dihasilkan.

Inkubasi selama 2 jam menghasilkan nilai pencernaan protein yang paling tinggi dan berbeda nyata ($P < 0,05$) terhadap lama inkubasi 0 dan 4 jam. Hal ini menunjukkan terjadi peningkatan nilai pencernaan protein dengan meningkatnya lama inkubasi dari 0 sampai 2 jam, namun kemudian terjadi penurunan dengan inkubasi selama 4 jam. Lama inkubasi 2 jam dengan konsentrasi papain 0,4% menghasilkan pencernaan tertinggi, namun dengan meningkatnya lama inkubasi menjadi 4 jam mengakibatkan terjadinya penurunan hasil. Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan oleh Whitaker (1994) bahwa lama inkubasi berpengaruh terhadap hasil hidrolisis. Makin lama proses hidrolisis makin banyak enzim yang berdifusi ke dalam substrat sehingga produk yang dihasilkan makin besar pula, tetapi pada batas tertentu peningkatan lama hidrolisis tidak menambah jumlah produk disebabkan oleh terjadinya penghambatan berdasarkan fenomena umpan balik dari produknya.

Hasil pencernaan protein *in vitro* ini sesuai dengan hasil protein terlarut (Tabel 7), yaitu adanya interaksi antara konsentrasi papain 0,4% dan lama inkubasi 2 jam dengan hasil protein terlarut yang paling tinggi ($P < 0,05$). Nilai pencernaan protein paling rendah ($P < 0,05$) terjadi pada konsentrasi papain 0% dengan lama inkubasi 0 jam (63,87%). Hasil uji lanjut polinomial ortogonal menunjukkan bahwa tingkat optimum diperoleh pada konsentrasi papain 0,44% dengan lama inkubasi 2,49 jam (Lampiran 12). Kedua hasil uji tersebut menunjukkan kedekatan baik konsentrasi papain maupun lama inkubasi yang dilakukan.

Peningkatan persentase pencernaan protein *in vitro* sejalan dengan meningkatnya protein terlarut. Protein terlarut merupakan gambaran produk hidrolisat dari proses hidrolisis. Menurut Alder-Nissen (1986), protein produk hidrolisat lebih mudah dicerna, karena mengandung protein dengan rantai yang lebih pendek. Hasil penelitian Lyon (1992) membuktikan bahwa perlakuan enzimatik tepung bulu dapat meningkatkan pencernaan protein sampai 50% dibandingkan tepung bulu yang tidak dihidrolisis secara enzimatik.

4.4. Pencernaan Protein *In Vivo*

Berdasarkan hasil yang diperoleh, baik dari protein terlarut maupun pencernaan protein *in vitro*, maka dilakukan uji pencernaan protein *in vivo* terhadap 3 perlakuan, yaitu kombinasi konsentrasi papain 0,4% dan lama inkubasi 2 jam (C_2T_1), kombinasi konsentrasi papain 0% dan lama inkubasi 0 jam (C_0T_0) serta tepung pupa sebelum diolah (K). Rataan pencernaan protein *in vivo* pada ketiga perlakuan tersebut tercantum pada Tabel 10, dan data lengkap tertera pada Lampiran 13.

Tabel 10. Kecernaan Protein *In Vivo* dengan Perlakuan yang Berbeda

Perlakuan	Kecernaan Protein (%)
C ₂ T ₁	67,15 ^a
C ₀ T ₀	63,52 ^{ab}
K	60,76 ^b

Nilai rata-rata dengan superskrip berbeda menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$)

Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kecernaan protein *in vivo* (Lampiran 14). Hasil uji lanjut BNT terhadap ketiga perlakuan menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$), yaitu dengan konsentrasi papain 0,4% dan lama inkubasi 2 jam (C₂T₁) menghasilkan nilai kecernaan protein yang lebih tinggi ($P < 0,05$) dibandingkan dengan pemberian tepung pupa tanpa diolah/dimasak (K) (Lampiran 14). Hal ini berarti bahwa tepung pupa ulat sutera yang telah mengalami proses hidrolisis menggunakan papain menghasilkan produk hidrolisat yang lebih mudah dicerna oleh enzim pencernaan, karena protein telah terurai menjadi peptida dan asam amino bebas. Sebaliknya, pemberian tepung pupa tanpa diolah memberikan hasil kecernaan protein *in vivo* yang rendah, disebabkan oleh keadaan protein masih dalam keadaan asli sehingga tidak mudah dicerna oleh ayam. Kecernaan protein tanpa papain (0%) dan tanpa inkubasi (0 jam, C₀T₀) tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) dengan pemberian tepung pupa tanpa diolah (K). Selanjutnya, nilai kecernaan C₀T₀ tidak berbeda ($P > 0,05$) dengan C₂T₁. Tepung pupa yang telah dimasak terlebih dahulu dengan pemanasan pada suhu 60°C selama 30 menit, mengakibatkan ikatan protein menjadi lebih mudah dihidrolisis oleh

enzim dalam saluran pencernaan. Hal ini sependapat dengan Montgomery *et al.* (1993) bahwa protein dalam keadaan asli (native) tidak mudah dicerna, sedangkan protein yang struktur alaminya telah berubah, misalnya dengan cara dimasak (denaturasi panas), lebih mudah dicerna. Hal itu terjadi karena ikatan peptidanya menjadi lebih mudah untuk dihidrolisis oleh enzim dalam saluran pencernaan.

Hasil penelitian memberikan arti bahwa nilai kecernaan protein secara *in vivo* hampir sama dengan hasil yang diperoleh dari kecernaan protein secara *in vitro*. Hal ini menunjukkan bahwa produk hidrolisat tepung pupa yang dihasilkan dari proses hidrolisis enzimatis lebih mudah dicerna dan pada proses selanjutnya dalam tubuh mudah diserap oleh saluran pencernaan, sehingga mempunyai nilai manfaat yang lebih tinggi. Kecernaan protein merupakan banyaknya protein yang dihidrolisis menjadi asam amino oleh enzim pencernaan (protease). Protein yang mudah dicerna merupakan indikator dari jumlah asam amino yang dapat diserap dan digunakan oleh tubuh (Muchtadi, 1989).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Kesimpulan penelitian bahwa proses hidrolisis tepung pupa menggunakan enzim papain dengan konsentrasi 0,4% dan inkubasi selama 2 jam menghasilkan protein terlarut dan pencernaan protein *in vitro* yang terbaik. Pencernaan protein *in vivo* menunjukkan nilai yang mendekati dengan nilai pencernaan *in vitro*.

5.2. Saran

Perlu dilakukan penelitian terhadap proses hidrolisis tepung pupa ulat sutera dengan kombinasi faktor konsentrasi papain dan lama inkubasi yang lebih bervariasi mengacu pada titik optimal. Penelitian lanjutan penggunaan tepung pupa hidrolisat ("feeding trial") sebagai komponen pakan ayam broiler juga perlu dilakukan.

BAB VI

DAFTAR PUSTAKA

- Alder-Nissen, J. 1986. Enzymatic hydrolysis for increased solubility. *J. Agric. Chem.* 24 : 1090 – 1093.
- Anggorodi, R. 1980. Ilmu Makanan Ternak Umum. PT Gramedia. Jakarta.
- Anggorodi, R. 1985. Kemajuan Mutakhir dalam Ilmu Makanan Ternak Unggas. Universitas Indonesia, Jakarta.
- Boror, D.J., C.A. Triplehorn dan N.F. Johnson. 1992. Pengenalan Pelajaran Serangga. Edisi keenam. Gajah Mada University Press, Yogyakarta. (Diterjemahkan oleh S. Partosoedjono dan M.D. Brotowidjojo).
- Budisantoso, H. 1994. Pengeringan dan Penyimpanan Kokon Sutera. Balai Penelitian Kehutanan Ujung Pandang. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan.
- Darwis, A.A., Liesbetini, S. Illah dan H. Lien. 1988. Dasar Dasar Rekayasa Biokimia. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- deMan, J. M. 1999. Principles of Food Chemistry. 3rd Ed. Aspen Publ., Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Fox, P.E., P.M. Morrissy dan D.M. Mulvihill. 1982. Chemical and Enzymatic Modifications of Food Protein. In: Development in Food Protein. B.J.F. Hudson. Ed. Appl. Sci. Publ, London.
- Frandyanto. 2002. Pengaruh Penggunaan Tepung Pupa Ulat Sutera dalam Ransum terhadap Kecernaan Protein pada Ayam Broiler. Skripsi. Fakultas Peternakan. Universitas Diponegoro, Semarang (Tidak dipublikasikan).
- Han, Y. dan C.M. Parsons. 1991. Protein and amino acid quality of feather meals. *Poultry. Sci.* 70 : 812 – 822.
- Hartadi, H., S. Reksohadiprodjo dan A. D. Tillman. 1990. Tabel Komposisi Bahan Pakan untuk Indonesia. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Hasan, O.D.S. 2000. Pengaruh Pemberian Enzim Papain dalam Pakan Buatan terhadap Pemanfaatan Protein dan Pertumbuhan Benih Ikan Gurame (*Osphronemus Youramy Lac.*). Tesis. Institut Pertanian Bogor, Bogor (Tidak dipublikasikan).

- Jull, M.A. 1982. Poultry Husbandry. McGraw-Hill Book Co, Inc. New York.
- Khoirunnisa, H.M. 2002. Pengaruh Penggunaan Papain dalam Meningkatkan Kecernaan Protein Kedelai secara *in Vitro*. Skripsi. Fakultas Peternakan. Institut Pertanian Bogor, Bogor (Tidak dipublikasikan).
- Latshaw, J.D., N. Musyaraf dan R. Retrum. 1994. Processing of feather meal to maximize its nutritional value for poultry. *Anim. Feed and Tech.* 47:179 - 188.
- Lawrence, T.L.J. 1980. Growth in Animal. Butterworths, Inc. Boston.
- Lehninger, A.L. 1994. Dasar-dasar Biokimia. Jilid I. Erlangga. Jakarta (Diterjemahkan oleh M. Thenawidjaja).
- Lyon, T.P. 1992. Strategy for the Future : The role of biotechnology in the feed industry. *In* : Biotechnology in the Feed Industry. Proc. Altech Eighth Annual Symposium.
- Manullang, M., M. Tjahjo dan J. Hermanianto. 1995. Pengolahan kecap ikan kembung (*Rastrelliger* sp) secara hidrolisis enzimatis dan fermentasi. *Bul. Teknologi dan Industri Pangan.* Institut Pertanian Bogor, Bogor. Vol. IV. No. 2.
- Martoharsono, S. 1993. Biokimia. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Montgomery, R., R.L. Dryer, T.W. Conway dan A.A. Spector. 1993. Biochemistry. 4th Ed. A Case-Oriented Approach. The C.V. Mosby Company, St. Louis.
- Muchtadi, D. 1989. Evaluasi Nilai Gizi Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Muchtadi, D., N.S. Palupi dan M. Astawan. 1992. Enzim dalam Industri Pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Muller, Z.O. 1982. Feed from Animal Wastes. Feeding Manual. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.
- NRC. 1994. Nutrient Requirement of Poultry. National Academy of Science. Washington DC, New York.
- Natsir, M.H., A. Wibowo dan Zuprizal. 1997. Pengaruh hidrolisis tepung bulu terhadap protein, Ca dan P terlarut dan pencernaan protein *in vitro* tepung bulu hidrolisat. *Berkala Penelitian Pasca Sarjana.* Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 10 (4B) : 463 – 475.

- Nesheim, M.C., R.E. Austic dan L.E. Card. 1979. Poultry Production. 11th Ed. Lea and Febiger, Philadelphia.
- North, M.O. 1984. Commercial Chickens Production Manual. 3rd Ed. The Avi Publ. Co, Inc. Westport, Connecticut.
- Nuraini, E., Koentjoko dan Soehardjono. 2002. Pengaruh Penggunaan Tepung Bulu dan Papain dalam Pakan terhadap Penampilan Ayam Pedaging. Biosain. Universitas Brawijaya, Malang. Vol. 2. No. 1.
- Papadopoulus, M.C., A.R. Boushy dan E.H. Katelaars. 1985. Effect of different processing conditions amino acid digestibility of feather meal determined by chickens assay. Poultry Sci. 64 : 1729 – 1741.
- Parakkasi, A. 1983. Ilmu Gizi dan Makanan Ternak Monogastrik. Angkasa, Bandung.
- Poedjiadi, A. 1994. Dasar-dasar Biokimia. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Rao, P.U. 1994. Chemical composition and nutritional evaluation of spent silk worm pupae. J. Agric. Food Chem. 42 : 2201 – 2203.
- Ravindran, V. dan R. Blair. 1993. Feed resources for poultry production in Asia and the Pacific. III. Animal protein sources. World's Poultry Sci. 49 : 219 – 235.
- Reed, G. 1975. Enzyme in Food Processing. 2nd Ed. Food Science and Technology. Academic Press, New York.
- Samsijah dan A.S. Kusumaputra. 1976. Pedoman Pemeliharaan Ulat Sutera. Proyek Pembinaan Persuteraan Alam. Direktorat Jenderal Kehutanan, Jakarta.
- Santoso, U. 1991. Isolasi Kitin Cangkang Udang menggunakan Papain dan EDTA. Laporan Penelitian. Fakultas Teknologi Pertanian. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. (Tidak dipublikasikan).
- Sarastri, E.S. 1998. Industri Benang Sutera. Makalah Pelatihan Persuteraan Alam. Perum Perhutani dan Masyarakat Persuteraan Alam Indonesia, Pati.
- Scott, M.L., M.C. Nesheim dan R.J. Young. 1982. Nutrition of the Chicken. 3rd Ed. M.L. Scott and Associates, Ithaca, New York.
- Scrimshaw, S.N. 1978. Protein. In: Encyclopedia of Food Science. M.S. Peterson dan A.H. Johnson (Ed). AVI Publ. Co.Inc, New York.

- Sibbald, I.R. 1976. A bioassay for true metabolizable energy in feedstuffs. *Poultry Sci.* 55:303-308.
- Smith, K.J. dan S.J. Circle. 1972. *Soybean : Chemical and Technology*. Vol. 1. The Avi Publ. Co. Inc, New York.
- Soendoro, R. 1997. *Prinsip Prinsip Biokimia*. Erlangga, Jakarta.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 1984. *Prosedur Analisa untuk Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty, Yogyakarta.
- Surisdiarto dan L.E. Radiati. 1998. Hidrolisis bungkil kedelai dengan menggunakan enzim papain. *Buletin Peternakan*. Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Malang. 22(3) : 121 – 127.
- Tillman, A.D., H. Hartadi, S. Reksohadiprojo, S. Prawirokusumo dan S. Lebdoesoekjo. 1991. *Ilmu Makanan Ternak Dasar*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Whitaker, J.R. 1994. *Principles of Enzimology for The Food Science*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Williams, C.M., C.G. Lee, J.D. Garlich dan J.C.H. Shih. 1991. Evaluation of a bacterial feather fermentation product, feather lysate, as a feed protein. *Poultry Sci.* 70 : 85-94.
- Winarno, F.G. dan S. Fardiaz. 1987. *Biofermentasi dan Biosintesa Protein*. Angkasa. Bandung.
- Winarno, F.G. 1995. *Enzim Pangan*. Gramedia, Jakarta.
- Wirahadikusumah, M. 1989. *Biokimia, Protein, Enzim dan Asam Nukleat*. Penerbit ITB. Bandung.
- Woerjadi, N. 1999. *Pembibitan dan Prospek Persuteraan di Indonesia*. Disampaikan pada Academic Networking Ulat Sutera. Unsoed, Purwokerto.
- Yamamoto. 1975. *Proteolytic Enzyme*. In: *Enzymes in Food Processing*. Academic Press, London.