

Kesan Masa Pendidihan dan Simulasi Pencernaan ke atas Protein dan Hidrolisat Protein yang Dihasilkan daripada Sarang Burung Walit Spesies *Aerodramus fuciphagus*

(Effects of Boiling Time and Digestion Simulation on Protein and Protein Hydrolysate Produced from Swiftlet Nest Species *Aerodramus fuciphagus*)

NUR 'ALIAH DAUD¹, ABDUL SALAM BABJI¹, 'IZZATI KHALIDAH ZAINAL ABIDIN¹, MASITAH MUSLIM¹ & SALMA MOHAMAD YUSOP^{1,2*}

¹Jabatan Sains Makanan, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan, Malaysia

²Pusat Inovasi Teknologi Manis, Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor Darul Ehsan, Malaysia

Diserahkan: 28 Februari 2022/Diterima: 14 April 2022

ABSTRAK

Sarang burung walit (SBW) dengan kandungan manfaat kesihatan yang pelbagai dihasilkan daripada burung walit *Aerodramus fuciphagus*. Sarang tersebut dihasilkan menggunakan air liur burung walit yang mengandungi bahan glikoprotein yang tinggi. Kajian ini dijalankan untuk menghasilkan hidrolisat protein SBW dan seterusnya menentukan kesan masa pendidihan (0 - 180 minit) dan proses pencernaan ke atas sampel SBW dan hidrolisat protein SBW. Proses hidrolisis berenzim telah dijalankan dengan menggunakan enzim alkalase untuk menghasilkan hidrolisat protein SBW. Ujian pencernaan terhadap protein SBW dan hidrolisat yang dihasilkan telah dijalankan menggunakan simulasi sistem pencernaan manusia *in vitro*. Hasil kajian menunjukkan dengan peningkatan masa pendidihan sehingga 180 minit, kandungan peptida yang terhasil daripada pendidihan SBW mentah dan hidrolisat adalah berbeza secara signifikan ($p < 0.05$) dengan nilai kandungan peptida daripada SBW mentah terdidih didapati lebih tinggi daripada hidrolisat SBW. Seterusnya, hasil daripada pencernaan protein terhadap SBW dan hidrolisat SBW menunjukkan nilai kandungan peptida yang berbeza secara signifikan ($p < 0.05$) dengan darjah hidrolisis protein SBW didapati paling tinggi (96.55%); diikuti dengan hidrolisat SBW 60 minit (88.69%), 120 minit (89.32%) dan 180 minit (89.81%) yang tidak berbeza secara signifikan ($p < 0.05$) antara sampel. Hasil kajian ini menunjukkan SBW didegradasi secara aktif dalam masa 30 minit pendidihan berbanding hidrolisat SBW. Perbezaan tersebut menjelaskan bahawa komponen protein pada hidrolisat SBW telah banyak dicernakan oleh tindak balas hidrolisis berenzim dalam penyediaan hidrolisat tersebut. Proses pencernaan *in vitro* pula menunjukkan bahawa protein SBW dan hidrolisatnya adalah protein makanan yang boleh dicernakan dengan baik oleh sistem pencernaan manusia.

Kata kunci: Hidrolisis berenzim; keterlarutan; pencernaan *in vitro*; protein; sarang burung walit

ABSTRACT

Edible swiftlet nest (ESN) with a diverse content of health benefits is produced from swiftlets of *Aerodramus fuciphagus*. The nest is produced using the swiftlet's saliva which contains high glycoprotein. This study was conducted to produce ESN protein hydrolysate and further determine the effect of boiling time (0 - 180 minutes) and digestion process on ESN samples and ESN protein hydrolysate. The enzymatic hydrolysis process was carried out using alcalase enzymes to produce ESN protein hydrolysate. Digestive tests on the ESN protein and hydrolysates produced were carried out using the simulations of *in vitro* human digestive system. Results showed that with increasing boiling time up to 180 minutes, the peptide content produced from boiled raw ESN and ESN hydrolysate was significantly different ($p < 0.05$), with the ESN peptide content from boiled raw ESN was observed to be higher than ESN hydrolysate. Furthermore, protein digestion results for ESN and ESN hydrolysate showed significantly different peptide content values ($p < 0.05$),

with ESN having the highest degree of protein hydrolysis at 96.55%; followed by ESN hydrolysate of 60 minutes (88.69%), 120 minutes (89.32%), and 180 minutes (89.81%) which did not differ significantly among the sample. The findings of this study showed that ESN has been actively degraded within 30 minutes of boiling as compared to ESN hydrolysate. The difference explains that the protein component of ESN hydrolysate has been extensively digested by the enzymatic hydrolysis reaction during the preparation of the hydrolysate. The *in vitro* digestion process showed that the ESN protein and its hydrolysate are food proteins that can be well-digested by the human digestive system.

Keywords: Enzymatic hydrolysis; *in vitro* digestion; protein; solubility; swiftlet nest

PENDAHULUAN

Khasiat dan manfaat kesihatan yang luas dengan pengambilan sarang burung walit (SBW) menjadikan SBW sebahagian daripada makanan perubatan yang memberikan permintaan yang tinggi di Asia. Permintaan SBW melonjak naik dalam keadaan pandemik COVID-19 yang lepas berikutan khasiatnya yang mempunyai aktiviti anti-viral, anti-radang dan pemulihan sel yang baik (Chua et al. 2021). Permintaan pasaran yang meluas terhadap SBW dan harganya yang mahal di pasaran dunia menyebabkan industri SBW terus berkembang di negara pengeluar SBW termasuk Malaysia (Jamalluddin et al. 2019; Nurul Nabilah Huda et al. 2018). Industri SBW di Malaysia merupakan salah satu industri berimpak tinggi dengan jumlah eksport sebanyak 5,654 tan metrik bernilai RM1.2 billion pada tahun 2020 (Jabatan Perkhidmatan Veterinar Malaysia 2021). SBW mengandungi glikoprotein yang banyak dan kaya dengan asid amino, karbohidrat, kalsium, natrium dan kalium (Norhayati et al. 2010). Glikoprotein SBW mengandungi kira-kira 9% asid sialik, 7.2% galaktosamina, 5.3% glukosamina, 16.9% galaktosa dan 0.7% fukosa (Kathan & Weeks 1969; Tung et al. 2008).

Ciri berfungsi protein boleh diubah, untuk tujuan penambahbaikan (Babji et al. 2018), dengan melalui proses hidrolisis dan sangat dipengaruhi oleh darjah hidrolisis (Nurul Nadia et al. 2017). Ciri berfungsi protein yang diperoleh selepas dihidrolisis adalah termasuk peningkatan fungsi keterlarutan dan perolehan peptida berfungsi dengan aktiviti bioaktif yang pelbagai (Daud et al. 2021). Hidrolisat kebanyakannya dihasilkan melalui proses hidrolisis berenzim dan/atau asid. Hidrolisat protein yang terhasil terdiri daripada campuran kompleks asid amino bebas dan peptida dengan panjang rantaian yang berbeza. Darjah hidrolisis protein menggambarkan jumlah ikatan peptida yang diputuskan dan seterusnya menghasilkan saiz peptida yang khusus. Bilangan ikatan peptida yang diputuskan oleh tindak balas kimia sebagai sebahagian daripada jumlah ikatan peptida yang hadir adalah ditakrifkan sebagai darjah

hidrolisis (DH) (Rutherford 2019). Berdasarkan nilai DH yang diperoleh, nilai tersebut dapat membantu dalam pemantauan jumlah protein yang telah didegradasikan atau dicernakan.

Model sistem pencernaan manusia *in vitro* telah digunakan secara meluas untuk mengkaji perubahan struktur, pencernaan dan pembebasan komponen makanan di bawah keadaan simulasi pencernaan gastro-usus (Hur et al. 2011). Sepanjang dekad yang lepas, kajian yang mendalami proses pencernaan makanan semakin giat dijalankan untuk mengumpul maklumat berkenaan khasiat makanan berfungsi kepada kesihatan manusia (Bohn et al. 2018). Pencernaan makanan adalah sebaiknya dikaji secara *in vivo* pada manusia. Namun begitu, kaedah tersebut mempunyai kekangan dari segi etika penyelidikan dan sumber kewangan. Oleh itu, model pencernaan *in vitro* telah dicadangkan dengan penyediaan model simulasi saluran gastro-usus sebagai alternatif untuk uji kaji *in vivo*. Model seperti ini semakin banyak digunakan oleh komuniti penyelidik walaupun mempunyai pelbagai had dan batasan masing-masing dalam percubaan untuk mencerminkan saluran pencernaan sepenuhnya secara *in vitro* (Bohn et al. 2018). Kajian ini telah dijalankan dengan tujuan untuk mengenal pasti korelasi kandungan protein, peptida dan protein terlarut semasa penghasilan hidrolisat protein SBW melalui proses hidrolisis berenzim. Selain itu, kesan masa pendidihan sehingga 180 minit terhadap sampel SBW dan hidrolisat SBW yang dihasilkan dikenal pasti. Kemudian, kesan pencernaan sampel ditentukan melalui simulasi sistem pencernaan manusia *in vitro*.

BAHAN DAN KAEDAH

BAHAN

Sumber sarang burung walit yang digunakan diperoleh daripada syarikat Mobile Harvesters Malaysia Sdn Bhd, dikumpulkan daripada rumah burung walit di Pahang. Bahan kimia dan enzim yang digunakan dalam kajian ini adalah daripada Sigma-Aldrich, Amerika Syarikat.

Enzim alkalase yang digunakan adalah protease daripada *Bacillus licheniformis* (Sigma-Aldrich, Amerika Syarikat).

PENJANAAN HIDROLISAT DARIPADA SARANG BURUNG WALIT

Hidrolisat SBW yang disediakan adalah berdasarkan kaedah Guo et al. (2006) dengan menggunakan enzim alkalase (aktiviti enzim ≥ 2.4 U/g, Sigma-Aldrich Sdn. Bhd, USA). Sampel SBW dihomogenkan bersama air suling dengan nisbah 1:100 (w/v) dan diselaraskan kepada pH dan suhu optimum bagi enzim alkalase (pH 8; 37 °C). Nisbah enzim kepada protein SBW adalah 1:100 (v/w). Hidrolisis dijalankan selama tiga julat masa berbeza iaitu 60, 120 dan 180 minit di dalam takungan air pengeram yang bergoncang (orbital, 150 rpm). Tindak balas enzim dihentikan dengan merendam kelalang sampel ke dalam air bersuhu 90 °C selama 10 minit. Sampel tersebut kemudiannya diempar pada 3000×g selama 20 minit. Hidrolisat terlarut dipindahkan ke dalam bekas yang bersih dan dikeringkan melalui pengeringan sejuk beku.

PENGUKURAN NILAI pH SARANG BURUNG WALIT DAN HIDROLISAT YANG DIHASILKAN

Kaedah pengukuran pH bagi SBW dan hidrolisat SBW dalam kajian ini adalah dengan kaedah sistem pengukuran elektrokimia menggunakan elektrod dan milivoltmeter (meter pH) (Caballero et al. 2003). Hidrolisat SBW yang diuji adalah hasil hidrolisis protein daripada proses hidrolisis berenzim yang dilakukan selama 60 minit.

PENGUKURAN AKTIVITI AIR (A_w) SARANG BURUNG WALIT DAN HIDROLISAT YANG DIHASILKAN

Aktiviti air (A_w) makanan adalah nisbah antara tekanan wap makanan itu sendiri, ketika berada dalam keseimbangan yang tidak terganggu dengan media udara sekitarnya dan tekanan wap air suling dalam keadaan yang sama. Aktiviti air bagi SBW dan hidrolisatnya diukur dengan menggunakan meter aktiviti air (*Novasina LabPartner-aw*). Sampel diletakkan dalam ruangan plat dan dibaca secara automatik. Keputusan aktiviti air dinyatakan dalam A_w . Hidrolisat SBW yang diuji adalah hasil hidrolisis protein daripada proses hidrolisis berenzim yang dilakukan selama 60 minit.

UJIAN PENDIDIHAN

Sampel SBW dan hidrolisat SBW dihomogenkan

bersama air suling dengan nisbah 1:100 (w/v). Ujian pendidihan telah dijalankan selama lima julat masa berbeza iaitu 30, 60, 90, 120 dan 180 minit di dalam takungan air pengeram yang bergoncang (orbital, 150 rpm). Sampel tersebut kemudiannya dibiarkan sejuk sehingga ke suhu bilik dan diempar pada 3000×g selama 20 minit. Hidrolisat terlarut daripada hasil pendidihan SBW dan hidrolisat SBW dipindahkan ke dalam bekas yang bersih dan dikeringkan melalui pengeringan sejuk beku.

UJIAN SIMULASI PENCERNAAN *in vitro*

Potensi pencernaan sarang burung walit diuji menggunakan kaedah simulasi seperti yang dijelaskan oleh Gil-Izquierdo et al. (2002) dan Minekus et al. (2014) dengan pengubahsuaian kecil mengikut kaedah penyediaan yang sesuai untuk sampel makanan. Sebelum dan selepas ujian pencernaan *in vitro* dijalankan, jumlah protein terlarut dan peptida ditentukan masing-masing menggunakan kaedah Bradford (Bradford 1976) dan kaedah o-phthaldehyde (OPA) (Church et al. 1983). Untuk kuantifikasi jumlah protein terlarut, sampel 50 μ L dalam kepekatan 1 mg/mL (w/v) dicampur dengan 1.5 mL reagen Bradford dan dibiarkan selama 10 minit pada suhu bilik. Bacaan penyerapan diambil pada 595 nm menggunakan spektrofotometer (Model UV-160A, Shimadzu, Kyoto, Jepun). Untuk kuantifikasi peptida, sampel 50 μ L dicampurkan dengan 2 mL reagen OPA dan dibiarkan pada suhu bilik selama 2 minit. Bacaan penyerapan diambil pada 340 nm menggunakan spektrofotometer (Model UV-160A, Shimadzu, Kyoto, Jepun).

Cecair sampel stok disediakan dengan melarutkan sampel yang telah ditimbang dalam air suling dalam nisbah 1:15 (w/v) untuk dijadikan bentuk pes (sesuai dengan keadaan selepas proses kunyahan). Setiap ujian dilakukan dalam tiga replikasi. Albumin serum bovin (ASB) dan kasein tripton digunakan sebagai sebatian piawai untuk membina lengkung piawai masing-masing bagi pengiraan kandungan protein terlarut dan peptida. Darjah hidrolisis (DH; %) untuk setiap proses simulasi pencernaan (fasa gastrik dan usus kecil (secara keseluruhan, diserap dan tidak diserap)) dihitung dengan menggunakan persamaan berikut:

$$DH (\%) = ([Ps - Po] / [Ts - Po]) \times 100$$

dengan Ps dan Ts masing-masing adalah jumlah protein terlarut/peptida dan jumlah keseluruhan protein, selepas ujian pencernaan *in vitro*. Po adalah jumlah protein

terlarut/peptida sebelum ujian simulasi pencernaan *in vitro*. Jumlah protein tidak tercerna diperoleh dengan pengiraan hasil tolak jumlah peratus protein SBW mentah terhadap peratus peptida tercerna.

Cecair simulasi gastrik (CSG) terdiri daripada kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4), kalium klorida (KCl), magnesium klorida (MgCl_2), natrium bikarbonat (NaHCO_3), ammonium karbonat ($(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$), natrium klorida (NaCl), kalsium klorida (CaCl_2) dan pepsin gastrik (4000 U/mL). Larutan CSG diselaraskan kepada pH 3.0 menggunakan 1.0 M HCl dan dicampur dengan sampel dalam isi padu yang sama (nisbah 1:1), dieram pada 37 °C dalam alat penggoncang selama 2 jam. Hasil campuran kemudiannya dididihkan selama 10 minit untuk menghentikan aktiviti enzim pencernaan.

Cecair simulasi usus (CSU) terdiri daripada kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4), kalium klorida (KCl), magnesium klorida (MgCl_2), natrium bikarbonat (NaHCO_3), natrium klorida (NaCl), kalsium klorida (CaCl_2) dan tripsin. Larutan CSU diselaraskan ke pH 7.0 menggunakan 0.1 M HCl dan dicampur dengan bolus gastrik sebelumnya, dieram dalam alat penggoncang pada 37 °C selama 2 jam. Hasil campuran kemudiannya dididihkan selama 10 minit untuk menghentikan aktiviti enzim pencernaan. Simulasi pencernaan usus tanpa menggunakan tiub dialisis adalah sebagai pencernaan usus secara keseluruhan (Yida et al. 2014).

Kesemua sampel selepas melalui fasa pencernaan (perut dan usus kecil) dibeku-keringkan untuk analisis lanjutan. Untuk analisis kandungan protein terlarut dan peptida, semua sampel kering dicampurkan dengan air suling dalam nisbah yang sama.

ANALISIS STATISTIK

Analisis data kajian ini dilakukan dengan menggunakan perisian Minitab versi 18. Analisis varians univariat satu-hala (*one-way* ANOVA) dan ujian perbezaan Tukey digunakan untuk menentukan perbezaan yang signifikan, dengan $p < 0.05$ dianggap signifikan secara statistik.

HASIL DAN PERBINCANGAN

KORELASI ANTARA PROTEIN TERLARUT, PEPTIDA DAN DARJAH HIDROLISIS

Jadual 1 menunjukkan peratus kandungan protein terlarut, peptida dan darjah hidrolisis dengan masa hidrolisis yang berbeza untuk penghasilan hidrolisat SBW. Peningkatan masa hidrolisis kepada 180 minit telah meningkatkan masing-masing kandungan protein terlarut, peptida dan darjah hidrolisis kepada $87.33 \pm$

2.53% , $51.93 \pm 0.28\%$ dan $88.63 \pm 0.47\%$. Hasil kajian ini menunjukkan apabila masa hidrolisis meningkat kepada 180 minit, kandungan protein terlarut, peptida dan darjah hidrolisis adalah berkadar langsung dan meningkat dengan signifikan ($p < 0.05$).

Keterlarutan protein adalah penting dalam bidang perumusan dan penyediaan peptida bioaktif berfungsi dengan bilangan dan jenis cas ion dalam peptida menentukan keterlarutannya dalam larutan akuus (Smialowski et al. 2007). Enzim alkalase adalah endopeptidase enzim dengan kekhususan meluas yang mempunyai kebolehan dalam pemecahan ikatan peptida secara rawak (Cui et al. 2021). Rajah 1(a) merupakan graf korelasi antara peratus kandungan protein terlarut dan peptida hidrolisat SBW. Dalam proses penghasilan hidrolisat SBW, kandungan protein terlarut berkorelasi secara positif dengan kandungan peptida dengan nilai korelasi (R^2) adalah 0.7094. Rajah 1(b) merupakan graf korelasi antara peratus kandungan protein terlarut dan darjah hidrolisis SBW. Dalam proses penghasilan hidrolisat SBW, kandungan protein terlarut berkorelasi secara positif dengan darjah hidrolisis dengan nilai R^2 adalah 0.7095. Rajah 1(c) pula adalah graf yang menunjukkan korelasi antara peratus kandungan peptida dan darjah hidrolisis SBW. Dalam proses penghasilan hidrolisat SBW, kandungan peptida berkorelasi secara positif dengan darjah hidrolisis dengan nilai R^2 adalah 1. Nilai R^2 yang sama dengan atau menghampiri nilai 1 menunjukkan korelasi positif yang tinggi antara dua parameter yang diuji secara statistik.

Kajian oleh Nurfatin et al. (2016) melaporkan kandungan peptida yang lebih rendah berbanding kandungan protein terlarut apabila masa hidrolisis meningkat dengan menggunakan hidrolisis berenzim alkalase. Kandungan peptida dalam hidrolisat yang terhasil dipengaruhi oleh tindakan khusus enzim yang digunakan dalam pemisahan ikatan peptida (Arihara 2006). Hasil ini adalah sejajar dengan kajian dilakukan oleh Tang et al. (2009) yang melaporkan bahawa kandungan peptida meningkat apabila masa dan peratus darjah hidrolisis meningkat dengan menggunakan hidrolisis berenzim protease yang terdiri daripada 6 jenis campuran enzim iaitu alkalase, flavourzyme, neutrase, protamex, pepsin dan tripsin.

Zhang et al. (2019) telah menunjukkan bahawa peningkatan darjah hidrolisis menyebabkan peningkatan pemutusan ikatan peptida yang kemudiannya meningkatkan kelarutan peptida. Menurut kajian Morais et al. (2013), peningkatan hidrolisis boleh menghasilkan jumlah rantaian peptida pendek dan asid amino bebas yang tinggi. Selain itu, kajiannya juga

melaporkan terdapat korelasi yang signifikan antara derajat hidrolisis dan kandungan peptida dalam protein sampel. Kajian yang dilakukan oleh Ramachandran et

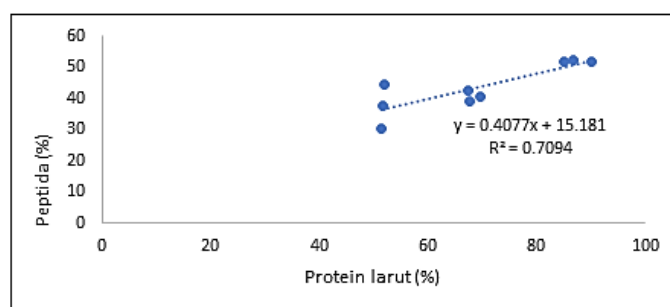
al. (2017) melaporkan sampel SBW yang dihidrolisis dengan masa yang lama menghasilkan kelarutan protein yang lebih baik.

JADUAL 1. Peratus kandungan protein terlarut, peptida dan darjah hidrolisis bagi hidrolisat SBW dengan tempoh masa hidrolisis berbeza

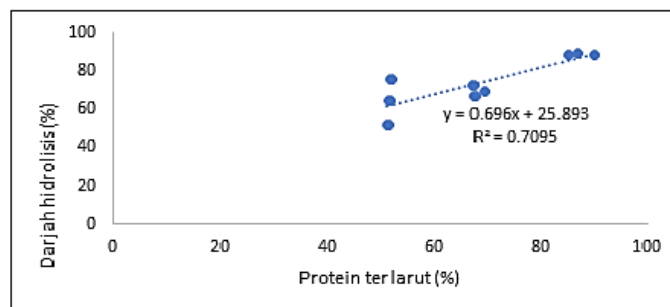
Masa hidrolisis (minit)	Kandungan protein terlarut (%)	Kandungan peptida (%)	Darjah hidrolisis (%)
0	0.0 (SBW mentah tidak larut air)	0.0	0.0
60	51.71 ± 0.24 ^c	37.49 ± 6.97 ^b	63.97 ± 11.90 ^b
120	68.21 ± 1.18 ^b	40.63 ± 1.85 ^b	69.33 ± 3.16 ^b
180	87.33 ± 2.53 ^a	51.93 ± 0.28 ^a	88.63 ± 0.47 ^a

Setiap data mewakili nilai purata ± sisihan piawai (n=3). Nilai purata pada lajur yang sama dengan abjad berbeza menunjukkan perbezaan signifikan di antara sampel ($p < 0.05$)

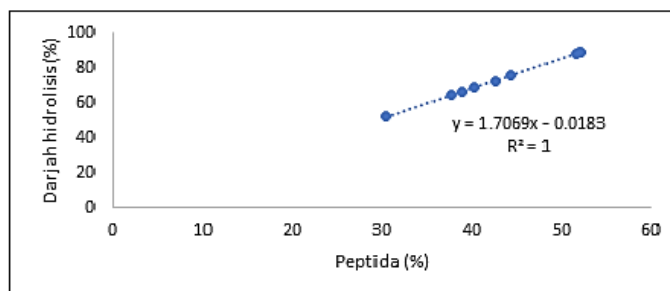
NILAI pH DAN AKTIVITI AIR



(a)



(b)



(c)

RAJAH 1. (a) Graf korelasi antara peratus kandungan protein terlarut dan peptida sarang burung walit; (b) Graf korelasi antara peratus kandungan protein terlarut dan darjah hidrolisis sarang burung walit; (c) Graf korelasi antara peratus kandungan peptida dan darjah hidrolisis sarang burung walit

Jadual 2 menunjukkan nilai pH dan aktiviti air (A_w) bagi SBW mentah dan hidrolisat SBW. Nilai pH adalah ukuran kepekatan ion hidrogen dalam larutan dan juga disebut sebagai tahap keasidan atau kealkalian (Boyd 2015). Nilai pH bagi SBW mentah dan hidrolisat SBW adalah sama iaitu 8.0. Hasil ini menunjukkan kedua-dua SBW mentah dan hidrolisat adalah bersifat alkali. Tahap kealkalian SBW juga tidak berubah selepas dihidrolisis selama 60 minit walaupun dengan nilai DH yang mencapai lebih daripada 50 peratus.

A_w adalah merujuk kepada molekul air bebas atau tidak terikat yang berada dalam makanan. Molekul air tersebut boleh menyumbang kepada pertumbuhan mikroorganisma, mengambil bahagian dalam tindak

balas enzim dan aktiviti tersebut menyebabkan serta mempercepatkan proses kerosakan makanan (Tapia et al. 2020). Makanan yang mempunyai A_w yang melebihi nilai 0.9 (90%) adalah lebih menggalakkan pertumbuhan bakteria dan kulat. Dengan itu, makanan dengan nilai A_w yang rendah adalah lebih baik (Tarafdar et al. 2018). Berdasarkan Jadual 2, SBW mentah menunjukkan nilai A_w yang lebih tinggi (0.68) berbanding hidrolisat SBW (0.61). Aktiviti air yang rendah dalam hidrolisat SBW menunjukkan proses pengeringan yang dilakukan selepas dihidrolisis dapat menyingkirkan kandungan lembapan hidrolisat SBW secara berkesan dan memanjangkan jangka-hayat serbuk hidrolisat SBW yang dihasilkan.

JADUAL 2. Nilai pH dan aktiviti air bagi sarang burung walit

dan hidrolisat sarang burung walit

Parameter	SBW mentah	Hidrolisat SBW
pH	8.0	8.0
Aktiviti air (A_w)	0.68 ± 0.03 ^b	0.61 ± 0.05 ^a

Setiap data mewakili nilai purata ± sisihan piawai (n=3). Nilai purata pada baris yang sama dengan abjad berbeza menunjukkan perbezaan signifikan di antara sampel ($p < 0.05$)

KESAN MASA PENDIDIHAN KE ATAS SARANG MENTAH DAN HIDROLISAT SARANG BURUNG WALIT

Jadual 3 menunjukkan kesan pendidihan terhadap protein SBW mentah dan hidrolisat SBW 60 minit (telah dihidrolisis sebelum ujian). Hidrolisat SBW 60 minit yang digunakan dalam analisis kesan pendidihan ini adalah merujuk kepada kebanyakan laporan penemuan daripada kajian terdahulu yang menunjukkan bahawa hidrolisat SBW selepas 60 minit masa hidrolisis adalah kaya dengan peptida berfungsi antioksidan (Mohd Khan et al. 2014). Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam kajian ini, nilai kandungan peptida daripada SBW mentah menunjukkan peningkatan yang signifikan ($p < 0.05$) daripada tiada kepada tahap $82.14 \pm 3.00\%$ apabila masa pendidihan meningkat daripada 0 kepada 90 minit. Nilai kandungan peptida SBW mentah kemudiannya menurun dengan signifikan kepada $60.11 \pm 4.62\%$ apabila masa pendidihan ditingkatkan kepada 180 minit. Hasil ini menunjukkan peptida yang terhasil sehingga selang masa 90 minit telah dipecahkan lagi menjadi asid amino bebas dan seterusnya memberikan hasil kandungan peptida yang rendah pada selang masa 180 minit.

Pada selang masa pendidihan 30 - 60 minit, kandungan peptida hidrolisat SBW 60 minit menunjukkan

penurunan secara signifikan ($p < 0.05$) daripada $55.79 \pm 0.91\%$ kepada $46.83 \pm 1.02\%$. Apabila masa ditingkatkan kepada 90 minit, penurunan kandungan peptida adalah tidak signifikan ($p > 0.05$). Hasil tersebut menunjukkan aktiviti pemecahan ikatan peptida yang kurang berlaku pada selang masa 60 - 90 minit. Seterusnya, penurunan kandungan peptida adalah signifikan ($p < 0.05$) apabila masa pendidihan ditingkatkan kepada 180 minit dengan nilai sebanyak $38.64 \pm 1.24\%$. Hasil tersebut menunjukkan aktiviti pemecahan ikatan peptida adalah aktif pada selang masa 90 - 180 minit.

Kesan proses pendidihan ke atas sampel sarang burung walit secara keseluruhan menunjukkan nilai kandungan peptida bagi SBW mentah adalah lebih tinggi berbanding dengan nilai kandungan peptida bagi hidrolisat SBW 60 minit. Kandungan peptida daripada hidrolisat SBW lebih rendah daripada SBW mentah mungkin disebabkan komponen protein yang telah sedia dipecahkan kepada kumpulan peptida yang berikat dengan kumpulan glikan dan menyebabkan agregasi rantai glikopeptida menjadi bergumpal berbanding SBW mentah (Berrill et al. 2011). Gumpalan tersebut menyebabkan kandungan peptida yang diukur adalah rendah. Penghasilan hidrolisat SBW dengan kaedah

hidrolisis berenzim adalah bertujuan menghasilkan peptida berfungsi bioaktif yang khusus dengan kaedah penghasilan terkawal (Babji et al. 2018).

Menurut López-Sánchez et al. (2016) yang mengkaji kesan tindakan haba ke atas aktiviti biologi hidrolisat protein produk makanan bijian, kehadiran peptida dalam makanan boleh mempunyai ketahanan terhadap pemprosesan haba pada suhu 40 hingga 100 °C, namun menunjukkan perubahan bioaktiviti yang

semakin berkurangan pada suhu 120 °C. Tambahan lagi, masa pemanasan merupakan faktor penting yang boleh memberi kesan kepada bioaktiviti peptida di dalam hidrolisat makanan. Tindakan haba boleh menyebabkan denaturasi dan pengagregatan protein semasa perubahan suhu pada 60 hingga 90 °C yang seterusnya memberi kesan kepada peptida berjisim molekul tinggi membentuk gugusan dan menghalang kemampuan mengikat enzim seterusnya mengakibatkan bioaktiviti hilang atau berkurangan (Bloom et al. 2014).

JADUAL 3. Peratus kandungan peptida bagi sarang burung walit mentah dan hidrolisat daripada selang masa 60 minit selepas melalui tempoh masa pendidihan selama 180 minit

Masa pendidihan (minit)	Kandungan peptida (%)	
	SBW mentah	Hidrolisat SBW
0	0	37.49 ± 6.97 ^E
30	67.89 ± 1.13 ^d	55.79 ± 0.91 ^A
60	78.50 ± 1.60 ^b	46.83 ± 1.02 ^B
90	82.14 ± 3.00 ^a	46.92 ± 1.29 ^B
120	76.02 ± 2.72 ^c	40.52 ± 0.91 ^C
180	60.11 ± 4.62 ^e	38.64 ± 1.24 ^D

Setiap data mewakili nilai purata ± sisihan piawai (n=3). Nilai purata pada lajur yang sama dengan abjad berbeza menunjukkan perbezaan signifikan di antara sampel (p < 0.05)

KESAN PENCERNAAN MELALUI SIMULASI SISTEM PENCERNAAN MANUSIA

Jadual 4 menunjukkan peratus kandungan peptida sebagai hasil pencernaan protein SBW dan hidrolisat SBW menggunakan model simulasi pencernaan manusia *in vitro* yang terdiri daripada fasa gastrik dan fasa usus kecil. Kandungan peptida SBW mentah yang tidak tercerna selepas proses simulasi pencernaan menunjukkan perbezaan yang signifikan (p<0.05) berbanding sampel hidrolisat SBW dengan nilai purata yang terendah iaitu 2.02 ± 0.03%, diikuti dengan hidrolisat SBW 180 minit, 120 minit dan 60 minit masing-masing dengan nilai sebanyak 5.97 ± 0.04%, 6.26 ± 0.04%, dan 6.63 ± 0.08%. Nilai kandungan peptida yang tidak tercerna bagi hidrolisat SBW lebih tinggi daripada SBW mungkin kerana kehadiran peptida bebas yang banyak dalam sampel hidrolisat SBW dan boleh menjadi perencat berbalik kepada enzim pencernaan.

Kandungan peptida yang tercerna bagi SBW mentah menunjukkan perbezaan yang signifikan (p<0.05) dengan nilai sebanyak 56.58% berbanding dengan hidrolisat SBW 60 minit (51.97%), 120 minit (52.34%) dan 180 minit (52.63%). Hasil tersebut menunjukkan proses hidrolisis berenzim yang dijalankan ke atas SBW memberi kesan kepada kandungan peptida yang tercerna selepas simulasi pencernaan *in vitro*. Namun begitu, peratusan peptida tercerna tidak berbeza secara signifikan di antara hidrolisat SBW dengan selang masa berbeza. Hasil yang diperoleh daripada pencernaan protein SBW adalah hampir sama dengan kajian oleh Bottari et al. (2017), pencernaan ke atas sampel keju melalui simulasi sistem pencernaan gastrousus telah dijalankan dengan lebih daripada 90% jujukan protein menunjukkan telah tercerna.

Komponen yang tidak tercerna daripada SBW berpotensi menjadi bahan prebiotik (Daud et al. 2019).

Kajian yang dilaporkan oleh Babji dan Daud (2019) menjelaskan bahawa pertumbuhan bakteria probiotik dengan kehadiran komponen SBW dan hidrolisat SBW dalam bentuk rantai glikopeptida adalah signifikan. Pertumbuhan bakteria probiotik dengan nilai OD dan CFU/mL yang tinggi dalam media kaldu dengan hidrolisat SBW menunjukkan bakteria probiotik dapat menggunakan sumber hidrolisat SBW dengan baik sebagai sumber pertumbuhan berbanding SBW terdidih.

Tambahan lagi, pertumbuhan spesies bakteria yang berbeza dengan kebolehan mencernakan komponen SBW, yang tidak dicernakan oleh pencernaan manusia, boleh memberikan aktiviti prebiotik yang berbeza (Babji & Daud 2019; Daud et al. 2019). Dengan itu, sementara peptida yang dapat dicernakan kemudian diserap dan digunakan oleh tubuh manusia, peptida tidak tercerna juga berpotensi untuk dicernakan dengan bantuan kumpulan bakteria probiotik dan bermanfaat yang hadir pada bahagian usus manusia.

JADUAL 4. Hasil pencernaan protein melalui simulasi pencernaan manusia *in vitro* terhadap sarang burung walit mentah dan hidrolisat yang dihasilkan pada selang masa berbeza

Kandungan peptida (%)	SBW mentah	Hidrolisat SBW	Hidrolisat SBW	Hidrolisat SBW
		60 minit	120 minit	180 minit
Sebelum pencernaan	0	32.68 ± 0.04	40.72 ± 0.01	52.62 ± 0.03
Selepas pencernaan (tidak tercerna)	2.02 ± 0.03 ^a	6.63 ± 0.08 ^b	6.26 ± 0.04 ^b	5.97 ± 0.04 ^b
Selepas pencernaan (tercerna)	56.58 ^a	51.97 ^b	52.34 ^b	52.63 ^b
Darjah hidrolisis protein	96.55 ^a	88.69 ^b	89.32 ^b	89.81 ^b

Setiap data mewakili nilai purata ± sisihan piawai (n=3). ^{a,b} Nilai purata pada baris yang sama dengan abjad berbeza menunjukkan perbezaan signifikan di antara sampel (p < 0.05)

KESIMPULAN

Penghasilan protein hidrolisat SBW menunjukkan peningkatan masa hidrolisis berenzim SBW daripada 60 minit kepada 180 minit telah meningkatkan kandungan protein terlarut dan peptida bebas dengan signifikan (p<0.05) dan berkorelasi positif. Dengan peningkatan masa pendidihan sehingga 180 minit, kandungan peptida yang terhasil daripada SBW mentah dan hidrolisat SBW adalah berbeza secara signifikan (p<0.05). Kesan pencernaan protein terhadap SBW dan hidrolisat SBW menggunakan model simulasi pencernaan manusia *in vitro* menunjukkan perbezaan yang signifikan (p<0.05) dengan nilai pencernaan protein ke atas SBW adalah lebih tinggi berbanding hidrolisat SBW, tetapi keduanya boleh dicernakan dengan baik. Maklumat pencernaan protein SBW ini yang terbukti berkait rapat dengan kaedah penyediaan produk SBW adalah penting terutamanya dalam membantu pihak pengguna dan industri dalam mengoptimumkan khasiat pengambilan SBW dan produk hidrolisat protein berasaskan SBW.

PENGHARGAAN

Penyelidikan ini telah disokong oleh Projek *CoE-Swiftlet*

di bawah geran penyelidikan (6371400-10301-(PN3): UPM / ST-2016-013: UKM).

RUJUKAN

- Arihara, K. 2006. Functional properties of bioactive peptides derived from meat proteins. In *Advanced Technologies for Meat Processing*. Boca Raton: CRC Press. hlm. 245-274.
- Babji, A.S. & Daud, N.A. 2019. Physicochemical properties of glycan within swiftlet's nest (*Aerodramus fuciphagus*) as potential prebiotic. *ACTA Scientific Medical Sciences* 3: 09-13.
- Babji, A.S., Syarmila, E.I., Daud, N.A., Muhammad, N.N., Dahlan, H.A., Norrakiah, A.S., Ghassem, M., Najafian, L. & Yusop, S.M. 2018. Assessment on bioactive components of hydrolysed edible bird nest. *International Food Research Journal* 25: 1936-1941.
- Berrill, A., Biddlecombe, J. & Bracewell, D. 2011. Product quality during manufacture and supply. In *Peptide and Protein Delivery*, edited by Van Der Walle, C. Massachusetts: Academic Press. hlm. 313-339.
- Bloom, K.A., Huang, F.R., Bencharitwong, R., Bardina, L., Ross, A., Sampson, H.A. & Anna, N. 2014. Effect of heat treatment on milk and egg proteins allergenicity. *Pediatric Allergy and Immunology* 25: 740-746.

- Bohn, T., Carriere, F., Day, L., Deglaire, A., Egger, L., Freitas, D., Golding, M., Le Feunteun, S., Macierzanka, A., Ménard, O., Miralles, B., Moscovici, A., Portmann, R., Recio, I., Rémond, D., Santé-Lhoutelier, V., Wooster, T.J., Lesmes, U., Mackie, A.R. & Dupont, D. 2018. Correlation between *in vitro* and *in vivo* data on food digestion. What can we predict with static *in vitro* digestion models? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 58: 2239-2261.
- Bottari, B., Quartieri, A., Prandi, B., Raimondi, S., Leonardi, A., Rossi, M., Ulrici, A., Gatti, M., Sforza, S., Nocetti, M. & Amaretti, A. 2017. Characterization of the peptide fraction from digested Parmigiano Reggiano cheese and its effect on growth of lactobacilli and bifidobacteria. *International Journal of Food Microbiology* 255: 32-41.
- Boyd, C.E. 2015. pH, carbon dioxide, and alkalinity. In *Water Quality*. Springer, Cham. hlm. 153-178.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Caballero, B., Trugo, L.C. & Finglas, P.M. 2003. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. Massachusetts: Academic Press.
- Chua, K.H., Mohamed, I.N., Mohd Yunus, M.H., Shafinaz Md Nor, N., Kamil, K., Ugusman, A. & Kumar, J. 2021. The anti-viral and anti-inflammatory properties of Edible Bird's nest in influenza and coronavirus infections: From pre-clinical to potential clinical application. *Frontiers in Pharmacology* 12: 633292.
- Church, F.C., Swaisgood, H.E., Porter, D.H. & Catignani, G.L. 1983. Spectrophotometric assay using o-phthalaldehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. *Journal of Dairy Science* 66: 1219-1227.
- Cui et al. 2021
- Daud, N.A., Mohamad Yusop, S., Babji, A.S., Lim, S.J., Sarbini, S.R. & Hui Yan, T. 2021. Edible bird's nest: Physicochemical properties, production, and application of bioactive extracts and glycopeptides. *Food Reviews International* 37: 177-196.
- Daud, N.A., Sarbini, S.R., Babji, A.S., Mohamad Yusop, S. & Lim, S.J. 2019. Characterization of edible swiftlet's nest as a prebiotic ingredient using a simulated colon model. *Annals of Microbiology* 69: 1235-1246.
- Gil-Izquierdo, A., Zafrilla, P. & Tomás-Barberán, F.A. 2002. An *in vitro* method to simulate phenolic compound release from the food matrix in the gastrointestinal tract. *European Food Research and Technology* 214: 155-159.
- Guo, C.T., Takahashi, T., Bukawa, W., Takahashi, N., Yagi, H., Kato, K., Kazuya, I.P., Miyamoto, D., Suzuki, T. & Suzuki, Y. 2006. Edible bird's nest extract inhibits influenza virus infection. *Antiviral Research* 70: 140-146.
- Hur, S.J., Lim, B.O., Decker, E.A. & McClements, D.J. 2011. *In vitro* human digestion models for food applications. *Food Chemistry* 125: 1-12.
- Jamalluddin, N.H., Tukiran, N.A., Fadzillah, N.A. & Fathi, S. 2019. Overview of edible bird's nests and their contemporary issues. *Food Control* 104: 247-255.
- Kathan, R.H. & Weeks, D.I. 1969. Structure studies of collocalia mucoide: I. Carbohydrate and amino acid composition. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 134: 572-576.
- López-Sánchez, J., Ponce-Alquicira, E., Pedroza-Islas, R., De la Peña-Díaz, A. & Soriano-Santos, J. 2016. Effects of heat and pH treatments and *in vitro* digestion on the biological activity of protein hydrolysates of *Amaranthus hypochondriacus* L. grain. *Journal of Food Science and Technology* 53: 4298-4307.
- Minekus, M., Alminger, M., Alvito, P., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu, C., Carrière, F., Boutrou, R., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Egger, L., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., Lesmes, U., Macierzanka, A., Mackie, A., Marze, S., McClements, D.J., Ménard, O., Recio, I., Santos, C.N., Singh, R.P., Vegarud, G.E., Wickham, M.S.J., Weitschies, W. & Brodtkorb, A. 2014. A standardised static *in vitro* digestion method suitable for food - An international consensus. *Food and Function* 5: 1113-1124.
- Mohd Khan, A., Ety Syarmila, I.K., Nurfatin, M.H., Farahniza, Z., Engku Hanisah, E.U., Norhasidah, S., Masitah, E.H., Masturah, A.K., Nurul'Ain, M., Maaruf, A.G. & Abdul Salam, B. 2014. Antioxidative property of ready-to-drink products incorporated with enzymatically hydrolysed edible bird nest. *Edible Bird Nest Industry Conference*, 25-26 November, Marriot Hotel, Putrajaya, Malaysia.
- Morais, H.A., Silvestre, M.P.C., Silva, V.D.M., Silva, M.R., e Silva, A.C.S. & Silveira, J.N. 2013. Correlation between the degree of hydrolysis and the peptide profile of whey protein concentrate hydrolysates: Effect of the enzyme type and reaction time. *American Journal of Food Technology* 8(1): 1-16.
- Norhayati, M.K., Azman, O. & Nazaimoon, W.N. 2010. Preliminary study of the nutritional content of Malaysian edible bird's nest. *Malaysian Journal of Nutrition* 16: 389-396.
- Nurfatin, M.H., Syarmila, I.E., Daud, N.A., Zalifah, M.K., Babji, A.S. & Ayob, M.K. 2016. Effect of enzymatic hydrolysis on Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitory activity in swiftlet saliva. *International Food Research Journal* 23: 141-146.
- Nurul Nabilah Huda Mohamad Shukri, N.M. Nawi, Amin Mahir Abdullah & Norsida Man. 2018. Consumer's perception on the quality of controversial contents in edible bird's nest products. *Pertanika Journal of Scholarly Research Reviews* 4(1): 1-9.
- Nurul Nadia, M., Babji, A.S., Ayub, M.K. & Nur'Aliah, D. 2017. Effect of enzymatic hydrolysis on antioxidant capacity of cave edible bird's nests hydrolysate. *International Journal ChemTech Research* 10(2): 1100-1107.
- Ramachandran, R., Babji, A.S. & Wong, P. 2017. Effect of heating on antioxidant activity on edible bird nest. In *7th International Seminar on Tropical Animal Production*. Contribution of Livestock Production on Food Sovereignty in Tropical Countries, September 12-14, Yogyakarta, Indonesia. hlm. 380-386.

- Rutherford, S.M. 2019. Methodology for determining degree of hydrolysis of proteins in hydrolysates: A review. *Journal of AOAC International* 93: 1515-1522.
- Smialowski, P., Martin-Galiano, A.J., Mikolajka, A., Girschick, T., Holak, T.A. & Frishman, D. 2007. Protein solubility: Sequence based prediction and experimental verification. *Bioinformatics* 23(19): 2536-2542.
- Tang, C.H., Wang, X.S. & Yang, X.Q. 2009. Enzymatic hydrolysis of hemp (*Cannabis sativa* L.) protein isolate by various proteases and antioxidant properties of the resulting hydrolysates. *Food Chemistry* 114: 1484-1490.
- Tapia, M.S., Alzamora, S.M. & Chirife, J. 2020. Effects of water activity (a_w) on microbial stability as a hurdle in food preservation. In *Water Activity in Foods: Fundamentals and Applications*. 2nd ed., edited by Barbosa-Cánovas, G.V., Fontana Jr., A.J., Schmidt, S.J. & Labuza, T.P. New Jersey: John Wiley & Sons. hlm. 323-355.
- Tarafdar, A., Shahi, N.C., Singh, A. & Sirohi, R. 2018. Artificial neural network modeling of water activity: A low energy approach to freeze drying. *Food and Bioprocess Technology* 11: 164-171.
- Tung, C.H., Pan, J.Q., Chang, H.M. & Chou, S.S. 2008. Authentic determination of bird's nests by Saccharides profile. *Journal of Food and Drug Analysis* 16: 86-91.
- Yida, Z., Imam, M.U. & Ismail, M. 2014. *In vitro* bioaccessibility and antioxidant properties of edible bird's nest following simulated human gastro-intestinal digestion. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 14: 468.
- Zhang, C., Wang, Z., Li, Y., Yang, Y., Ju, X. & He, R. 2019. The preparation and physiochemical characterization of rapeseed protein hydrolysate-chitosan composite films. *Food Chemistry* 272: 694-701.

* Pengarang untuk surat-menyurat; email: salma_my@ukm.edu.my