

Hidrolisis Protein Ikan Patin Menggunakan Enzim Papain dan aktivitas antioksidant hidrolisatnya

by Ace Baehaki

Submission date: 02-Apr-2020 04:50PM (UTC+0700)

Submission ID: 1287685891

File name: nakan_Enzim_Papain_dan_aktivitas_antioksidant_hidrolisat_nya.pdf (562.14K)

Word count: 4093

Character count: 25750

³ **HIDROLISIS PROTEIN IKAN PATIN MENGGUNAKAN ENZIM PAPAIN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN HIDROLISATNYA**

Protein Hydrolysis from Catfish Prepared by Papain Enzyme and Antioxidant Activity of Hydrolyzate

Ace Baehaki*²³ Shanti Dwita Lestari, Achmad Rizky Romadholoni

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan

Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya Indralaya, Jalan Palembang-Prabumulih Km 32, Indaralaya Ogan Ilir Sumatera Selatan. Telepon: (0711) 580934.

*Korespondensi: ace76_none@yahoo.com

Diterima 2 Oktober 2015 / Disetujui 17 Desember 2015

Abstrak

Penelitian ini tujuan membuat hidrolisat protein dari ikan patin (*Pangasius pangasius*) secara enzimatis menggunakan enzim papain dan menganalisa aktivitas antioksidan dari hidrolisat protein yang dihasilkan. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap dengan satu faktor perlakuan dua ulangan, dengan perlakuan perbedaan konsentrasi enzim papain (0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, dan 6%). Parameter yang diamati adalah antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), kandungan protein, dan berat molekul protein yang ditentukan dengan metode SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis). Hasil menunjukkan nilai persentase derajat hidrolisis yang didapat tertinggi pada perlakuan dengan konsentrasi enzim papain 6% yaitu sebesar 71,98%. Persen penghambatan antioksidan hidrolisat protein yang dihasilkan berkisar antara 37,85%-67,62%. Nilai protein berkisar antara 20,86-54,47 mg/ml. Hidrolisat yang dihasilkan memiliki berat molekul antara 11,90- 65,20 kDa.

Kata kunci: Antioksidan, enzim papain, ikan patin, protein hidrolisat

Abstract

The objective of this research was to make a protein hydrolysates from catfish (*Pangasius pangasius*) enzymatically using papain enzyme and analyzed the antioxidant activity of protein hydrolysates produced. The research used the method completely randomized design with two replications the treatment were the difference concentration of the papain enzyme (0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, and 6%). The parameters of research were antioxidant activity using DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil), protein content, and molecular weight using SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis). The results showed that catfish protein hydrolysates prepared by papain enzyme has antioxidative activity. The highest degree of hydrolysis was 71.98% at enzyme concentration of 6%. Based on the DPPH scavenging method catfish protein hydrolysates has the antioxidative activity with the value 37.85-67.62%. The protein content of catfish protein hydrolysates were 20.86-54.47 mg/ml. The molecular weight of catfish protein hydrolysates were 11.90-65.20 kDa.

Keywords: Antioxidant, catfish, papain enzyme, protein hydrolyzate

PENDAHULUAN

¹ Antioksidan didefinisikan sebagai substansi yang secara signifikan menghambat proses oksidasi pada

konsentrasi rendah. Antioksidan dapat bekerja pada level yang berbeda dalam urutan oksidasi (Jun *et al.* 2004). Berdasarkan sumbernya antioksidan

ada dua yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan sintetik seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA), *butylated hydroxytoluene* (BHT), *tertiary butylhydroquinone* (TBHQ) dan *propyl gallate* ditambahkan pada produk pangan untuk memperlambat oksidasi lemak (Wanita & Lorenz 1996). Akan tetapi, penggunaan antioksidan sintetik pada bahan pangan harus mentaati regulasi yang ketat, karena berpotensi berbahaya terhadap kesehatan (Park *et al.* 2001). BHT dapat menyebabkan perubahan tiroid tikus, stimulasi sintesis DNA dan induksi enzim (Fang *et al.* 1989).

Antioksidan terdapat secara alami dalam hampir semua bahan pangan, baik yang berasal dari daratan maupun perairan. Oleh sebab itu pencarian antioksidan alami sebagai alternatif antioksidan sintetik mendapat perhatian yang besar dikalangan peneliti. Beberapa penelitian aktivitas antioksidan dari protein sudah dilakukan seperti protein ikan gerring (Gasualdo & Li-Chan 1999), hidrolisat gelatin kulit ikan Allaska Pollack (Kim *et al.* 2001), protein kuning telur (Park *et al.* 2001), protein daging babi (Carsen *et al.* 2003), protein ikan yellowfin (Jun *et al.* 2004) dan protein tulang ikan tuna (Je *et al.* 2007). Hidrolisat protein menunjukkan potensi sebagai antioksidan melalui kemampuannya dalam memerangkap radikal bebas (*free radical scavenging*), donor proton dan pengikat ion logam (Samaranayaka dan Li-Chan 2011).

Hidrolisat protein ikan adalah suatu produk hasil hidrolisis protein secara enzimatik dengan memanfaatkan enzim protease. Dibandingkan dengan hidrolisis secara kimia, hidrolisis enzimatik lebih menguntungkan karena tidak mengakibatkan kerusakan peptida dan asam amino. Papain merupakan enzim protease yaitu enzim yang mengkatalisa reaksi pemecahan rantai polipeptida pada protein dengan cara menghidrolisa ikatan

peptidanya menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida dan asam amino.

Merujuk dari beberapa hal di atas, proses pembuatan hidrolisat protein ikan masih perlu untuk dikaji dan dilakukan. Selain bahan baku berupa ikan yang cukup banyak tersedia dapat dimanfaatkan secara optimal, juga tersedianya bahan penghidrolisa berbentuk enzim papain yang dapat digunakan dengan aman. Tujuan dari penelitian ini adalah memperoleh hidrolisat protein dari ikan patin (*Pangasius pangasius*) menggunakan enzim papain yang memiliki aktivitas antioksidan tebaik.

36

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini untuk membuat hidrolisat protein adalah daging ikan patin (*Pangasius pangasius*) dan enzim papain. Bahan kimia yang dibutuhkan untuk analisis parameter ⁴⁶ yaitu hidrolisat protein ikan, kristal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (Sigma-aldrich), metanol (Merck), Na-bisulfit (Merck), HCl (Ajax Finechem), NaOH (Merck), H_2SO_4 (Merck), H_3BO_3 (Merck), asam tricloroasetat (Merck) dan asam asetat glacial (Merck). Peralatan yang digunakan pada penelitian ini adalah waterbath sheaker, oven, sentrifuse, timbangan analitik, dan spektrofotometer (Shimadzu).

Prosedur Penelitian

⁴² Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perbedaan konsentrasi enzim sebagai perlakuan dan setiap perlakuan dilakukan dua kali ulangan. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian adalah sebagai berikut: E0 = 0% (kontrol); E1 = 1% (b/v); E2 = 2% (b/v); E3 = 3% (b/v); E4 = 4% (b/v); E5 = 5% (b/v); E6 = 6% (b/v).

Hasil yang diperoleh dihitung

menggunakan analisis keragaman untuk parameter derajat hidrolisis dan kadar protein hidrolisat. Hasil analisis keragaman dilakukan dengan membandingkan F tabel pada uji 5% dengan dasar perbandingan sebagai berikut : jika Fhitung lebih besar dari pada ⁴ F tabel 5% maka dinyatakan berpengaruh nyata. Jika F hitung lebih kecil dari pada F tabel 5%, maka dinyatakan berpengaruh tidak nyata. Apabila berpengaruh nyata dilakukan uji lanjut Beda Jarak Nyata Duncan (BJND).

Pembuatan Hidrolisat Protein (Hidayat 2005)

Pembuatan hidrolisat protein ikan dilakukan melalui reaksi hidrolisis enzimatis menggunakan enzim papain adalah sebagai berikut: Ikan patin segar yang telah mati selanjutnya disiangi dan di-fillet ⁴¹, Fillet ikan kemudian direndam dengan air dingin dengan rasio daging dan air dingin 1:3 (b/v) pada suhu 5°C selama 40 menit dan diblender, selanjutnya daging dimasukan ke dalam beaker gelas dan dicampurkan dengan aquadest dan diaduk hingga homogen, perbandingan daging dan akuade ⁴⁵ (1:4). Enzim papain ditambahkan dengan konsentrasi 0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% dan 6% (b/v). Campuran tersebut diaduk dan pH ¹ ditur hingga mencapai pH 7, dengan HCl sebagai pengatur suasana asam dan NaOH sebagai pengatur suasana basa. Campuran kemudian dihidrolisis dengan cara diinkubasi dalam inkubator shaker pada suhu 55°C selama 6 jam, selama proses hidrolisis sampel diaduk setiap 60 menit. Hasil hidrolisis dimasukkan dalam waterbath pada suhu 90°C selama 20 menit untuk menonaktifkan enzim. Hasil kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat. Filtrat kemudian disentrifugasi menggunakan sentrifuge dingin pada 3.500 rpm selama 15 menit. Hidrolisat protein ikan patin (*Pangasius pangasius*) yang dihasilkan kemudian dianalisis.

Derajat hidrolisis (Hasnaliza et al. 2010)

Derajat hidrolisis dihitung berdasarkan persentase rasio trichloroacetic acid (TCA). Sebanyak 20 mL hidrolisat protein ditambahkan ⁶ TCA 20% (b/v) sebanyak 20 mL. Campuran tersebut kemudian didiamkan selama 30 menit agar terjadi pengendapan ⁶, lalu disentrifugasi (kecepatan 7.800 x g, selama 15 menit). Supernatannya lalu dianalisis kadar nitrogennya menggunakan metode Kjeldahl. Derajat hidrolisis dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Hidrolisis} = \frac{\text{Nitrogen terlarut dalam TCA } 20\% \text{ (b/v)}}{\text{Nitrogen total sampel}}$$

Kadar Protein (AOAC 1995)

Sampel sebanyak 10 mL, dimasukkan kedalam labu Kjeldahl 100 mL, selanjutnya ditambahkan 10 ml selen ¹⁰ dan 3 mL H₂SO₄ pekat. Destruksi selama kurang lebih 1 jam sampai larutan jernih lalu didinginkan. Setelah dingin, ke dalam labu Kjeldahl ditambahkan 50 mL akuades dan 20 mL NaOH 40%, kemudian dilakukan proses destilasi dengan suhu destilator 100°C. Destilat dititrasi dengan HCl 0,1 N sampai terjadi perubahan warna merah muda. Volume titran dibaca dan dicatat. Larutan blanko dianalisis. Kadar protein dihitung dengan rumus sebagai berikut: %Kadar protein = %N x faktor konversi (6,25)

Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Penghambatan dari hidrolisat ¹⁸ protein ikan patin terhadap larutan radikal bebas DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dengan pengukuran berdasarkan metode Shimada et al. (1992): 2 mL larutan sampel (perbandingan 1:1 v/v sampel/ etanol) ditambahkan ke dalam 2 mL dari 0,1 mM DPPH dilarutkan dalam 95% etanol. Campuran dikocok dengan vortex

44 dan sisihkan selama 30 menit pada suhu ruang. Absorbansi dari larutan hasil akan terbaca pada 517 nm. Nilai absorbansi yang rendah menunjukkan aktivitas scavenging DPPH yang lebih tinggi. Efek scavenging dipercepat dengan melihat hasil perhitungan persentase hambatan (% inhibisi) berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{Inhibisi (penghambatan)} = \frac{A_0 - A_s}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan:

Ao: Absorbansi kontrol (blanko)

As: Absorbansi sampel

Analisis Berat Molekul dengan SDS-PAGE

10 Penentuan berat molekul dilakukan menggunakan SDS PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate ³⁸Polyacrylamide Gel Electrophoresis) (Laemmli 1970). Gel terdiri dari dua jenis, yaitu 8% gel pemisah dan 4% gel penahan. Pewarnaan yang digunakan dengan silver staining yaitu: gel direndam dalam larutan fiksasi (metanol 25% dan asam asetat 12%) selama 1 jam kemudian direndam dalam etanol 50% selama 20 menit, kemudian diganti dengan etanol 30% selama 2 x 20 menit, larutannya diganti dengan enhancer (larutan Na₂S₂O₃·5H₂O) kemudian dicuci dengan akuadestilata, setelah dicuci ditambahkan larutan silver nitrat selama 30 menit kemudian dicuci lagi dengan akuadestilata 2 x 20 detik dan ditambahkan larutan developer (campuran Na₂CO₃ dan formaldehida) dan terakhir dengan larutan fiksasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

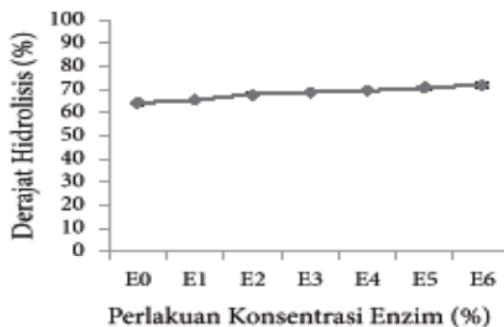
Derajat Hidrolisis

12 Selama proses hidrolisis terjadi pemutusan ikatan peptida pada protein oleh enzim proteolitik. Persentase ikatan peptida yang terlepas akibat proses hidrolisis dinyatakan dengan derajat hidrolisis. Derajat hidrolisis dalam proses

hidrolisis protein ikan patin ditentukan dengan metode soluble SN-TCA. Menurut Rutherford (2010), prinsip pengukuran derajat hidrolisis dengan metode SN-TCA adalah pengukuran kadar nitrogen yang terlarut dalam larutan trichloroacetic acid (TCA), setelah komponen yang tidak terlarut mengalami pengendapan akibat proses sentrifuge. Keuntungan dari penggunaan metode SN-TCA adalah proses analisisnya yang relatif lebih cepat dan praktis dibandingkan metode lainnya. Hasil pengukuran ⁵ derajat hidrolisis hidrolisat protein ikan patin dapat dilihat pada Gambar 1.

Gambar 1 memperlihatkan bahwa persentase derajat hidrolisis yang didapat meningkat dengan meningkatnya konsentrasi enzim yang digunakan. Derajat hidrolisis yang semakin tinggi dengan semakin tinggi konsentrasi enzim menunjukkan bahwa proses hidrolisis protein yang berlangsung semakin ¹⁹ lama. Menurut Hasnaliza *et al.* (2010), peningkatan derajat hidrolisis disebabkan oleh peningkatan peptida dan asam amino yang terlarut dalam TCA akibat dari pemutusan ikatan peptida selama hidrolisis protein.

Berdasarkan ²² analisis keragaman memperlihatkan bahwa konsentrasi enzim memberikan pengaruh nyata terhadap ²² derajat hidrolisis yang dihasilkan ($p > 0,05$). Hasil uji lanjut Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) menunjukkan bahwa perlakuan E0 (konsentrasi enzim papain 0%) dengan E1 (konsentrasi papain 1%) ⁴ tidak berbeda nyata, perlakuan E0 dan E1 berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Perlakuan E5 (konsentrasi enzim papain 5%) dan E6 (konsentrasi enzim papain 6%) tidak berbeda nyata yang menunjukkan penggunaan enzim 6% menghasilkan derajat hidrolisis yang sama penggunaan dengan enzim 5%. Nurhayati *et al.* (2013) menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi enzim papain



Gambar 1 Derajat hidrolisis hidrolisat protein ikan patin dengan konsentrasi papain yang berbeda. (E0= 0%, E1= 1%, E2= 2%, E3= 3%, E4= 4%, E5= 5%, E6= 6%).

yang ditambahkan, nilai derajat hidrolisis protein juga semakin besar, namun pada konsentrasi tertentu nilai derajat hidrolisis cenderung tetap atau tidak mengalami perubahan yang signifikan (Nurhayati *et al.* 2013). Pada hidrolisat protein ikan patin hanya difokuskan untuk mengamati pengaruh perbedaan konsentrasi enzim saja, sedangkan faktor lain dikontrol untuk tetap stabil seperti penggunaan suhu hidrolisis optimum 55°C, waktu hidrolisis 6 jam dan konsentrasi substrat yang sama banyak yaitu daging/akuades (1:4). Penelitian sebelumnya

Derajat hidrolisis terbaik didapatkan dari perlakuan konsentrasi enzim 6% yaitu sebesar 71,98%. Penelitian sebelumnya, Nurhayati *et al.* (2013) melakukan hidrolisis jeroan ikan tongkol menggunakan enzim papain didapatkan konsentrasi enzim terbaik 0,26% (b/v). Hidrolisis jeroan ikan kakap putih menggunakan enzim papain didapatkan konsentrasi enzim terbaik pada konsentrasi 1,5% (Nurhayati *et al.* 2014).

Antioksidan dengan Metode DPPH

Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) digunakan secara luas untuk percobaan kemampuan komponen dalam menangkap senyawa radikal bebas atau donor hidrogen, dan menentukan

aktivitas antioksidan makanan. Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan murah untuk penapisan aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa. Metode DPPH dapat digunakan untuk sampel padatan atau cairan dan tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu. Oleh sebab itu, metode DPPH paling sering digunakan dibandingkan metode lainnya. Radikal bebas DPPH dapat ditunjukkan pada absorbansi maksimum 517 nm dalam etanol maupun metanol.

Pengaruh antioksidan pada penghambatan radikal bebas DPPH dikarenakan kemampuan mendonorkan hidrogen (Binsan *et al.* 2008). Menurut Jia *et al.* (2010), ketika radikal bebas DPPH berjumpa dengan substansi pendonor proton sebagai antioksidan, radikal ditangkap dan nilai absorbansi akan berkurang (menurun). Nilai absorbansi yang didapat maka dapat dihitung nilai persen penghambatan radikal bebas DPPH, semakin besar persen penghambatan maka aktivitas antioksidan semakin tinggi. Persen penghambatan radikal bebas DPPH hidrolisat protein ikan patin dapat dilihat pada Gambar 2.

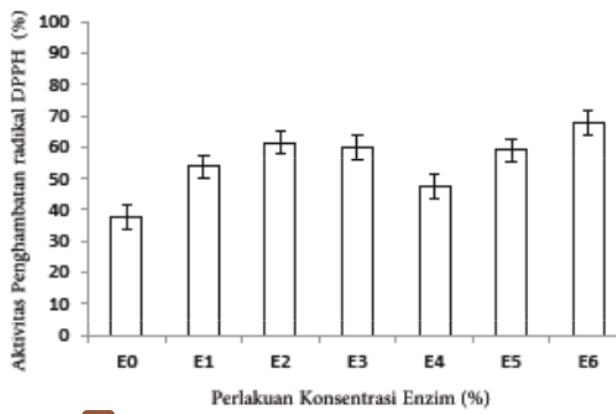
Gambar 2 menunjukkan persen penghambatan yang dihasilkan berkisar antara 37,85%-67,62%. Nilai persen

penghambatan terendah terdapat pada perlakuan E0 (konsentrasi enzim papain 0%) yaitu sebesar 37,85% dan tertinggi pada perlakuan E6 (konsentrasi enzim papain 6%) sebesar 67,62%. Menurut Molyneux (2004), suatu senyawa dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi warna kuning pucat.²⁷

Secara umum semua hidrolisat yang mengandung peptida atau protein dapat mendonorkan proton dan dapat bereaksi dengan senyawa radikal untuk mengubah menjadi senyawa yang lebih stabil. Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila saat diujikan mampu menangkap radikal bebas dari DPPH. Larutan DPPH berwarna ungu, namun ketika direaksikan dengan hidrolisat protein ikan patin sebagai antikosidan warna larutan berubah menjadi kuning terang. Perubahan warna ini menunjukkan bahwa elektron yang tidak berpasangan pada radikal bebas DPPH telah berpasangan. Interaksi antara sampel hidrolisat protein ikan patin yang mendonorkan proton pada radikal bebas

DPPH, sehingga radikal tersebut menjadi netral dan tidak lagi bersifat radikal. Perubahan tersebut menunjukkan bahwa hidrolisat protein ikan patin memiliki sifat antioksidan.

Pada Gambar 2 menunjukkan bahwa perbedaan perlakuan konsentrasi enzim papain menghasilkan persen penghambatan radikal bebas DPPH yang berbeda. Ini mengindikasikan bahwa terdapatnya hubungan antara aktivitas antioksidan dengan persentase enzim yang digunakan pada proses hidrolisis. Penambahan konsentrasi enzim, nilai persen inhibisi (persen penghambatan) meningkat sampai konsentrasi enzim 4%. Peningkatan konsentrasi enzim akan sejalan dengan peningkatan jumlah peptida dan asam amino bebas. Ketika penggunaan enzim jumlahnya ditingkatkan maka jumlah peptida dan asam amino bebas yang dihasilkan pada produk hidrolisat juga akan meningkat, sehingga nilai antioksidan yang dihasilkan juga akan ikut meningkat. Hanani *et al.* (2005), menyatakan bahwa persentase penghambatan (persen inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak.



Gambar 2 Persen penghambatan radikal bebas DPPH pada hidrolisat protein ikan patin dengan konsentrasi enzim yang berbeda (E0= 0%, E1= 1%, E2= 2%, E3= 3%, E4= 4%, E5= 5%, E6= 6%).¹⁹

Pada perlakuan E4 dan E5 terjadi penurunan nilai persen penghambatan, diduga bahwa peptida yang dihasilkan dari hidrolisat protein ikan patin yang berperan sebagai antioksidan tidak banyak mendonorkan hidrogen sehingga nilai persen penghambatannya cenderung menurun jika dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Bordbar *et al.* (2013) juga menambahkan bahwa ukuran peptida dan kelarutannya, komposisi asam amino, untaian dan banyaknya asam amino bebas merupakan kunci yang menentukan kapasitas penangkapan radikal DPPH.

25

Kadar Protein

Protein merupakan makromolekul yang terbentuk dari asam-asam ³⁵ amino yang berikatan peptida. Protein berfungsi sebagai bahan bakar dalam tubuh, serta berperan sebagai zat pembangun dan pengatur. Pengukuran protein pada bahan pangan digunakan untuk mengetahui kemampuan bahan pangan sebagai sumber protein atau tidak. ⁵ Grafik kadar protein hidrolisat protein ikan patin dapat dilihat pada Gambar 3.

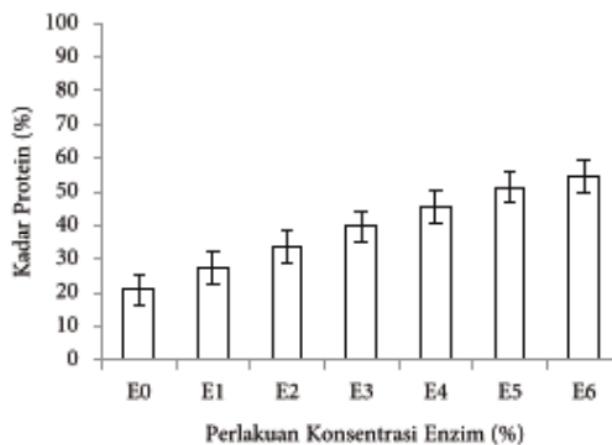
Gambar 3 memperlihatkan kadar protein yang dihasilkan berkisar antara

20,86 mg/ml–54,47 mg/mL. Nilai protein terendah terdapat pada perlakuan E0 (konsentrasi enzim papain 0%) yaitu sebesar 20,86 mg/mL dan tertinggi pada perlakuan E6 (konsentrasi enzim papain 6%) sebesar 54,47 mg/mL. Protein yang dikandung oleh produk hidrolisat ini adalah protein terlarut, sedangkan protein tidak terlarut sudah terbuang pada saat sentrifuse.

4

Selama hidrolisis terjadi konversi protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut, selanjutnya terurai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana, seperti peptida-peptida, asam amino dan amonia sehingga mudah diserap oleh tubuh. Kadar protein hidrolisat protein ikan patin mengalami peningkatan disebabkan peningkatan konsentrasi enzim yang digunakan sehingga kandungan nitrogen terlarut juga mengalami peningkatan. Hasnaliz ⁴ *et al.* (2010) menyatakan bahwa konsentrasi enzim proteolitik yang semakin meningkat dalam proses hidrolisis akan menyebabkan peningkatan kandungan nitrogen terlarut dalam hidrolisat protein ikan.

Berdasarkan analisis keragaman



Gambar 3 Kadar protein hidrolisat protein ikan patin dengan konsentrasi enzim yang berbeda (E0= 0%, E1= 1%, E2= 2%, E3= 3%, E4= 4%, E5= 5%, E6= 6%).

²⁵ konsentrasi enzim memberikan pengaruh nyata terhadap ²² nilai protein yang dihasilkan ($p > 0,05$). Hasil uji lanjut Beda Jarak Nyata Duncan (BJND) menunjukkan bahwa semua perlakuan konsentrasi enzim papain berbeda nyata. Penambahan konsentrasi enzim menyebabkan protein meningkat hal ini disebabkan enzim itu sendiri adalah protein.

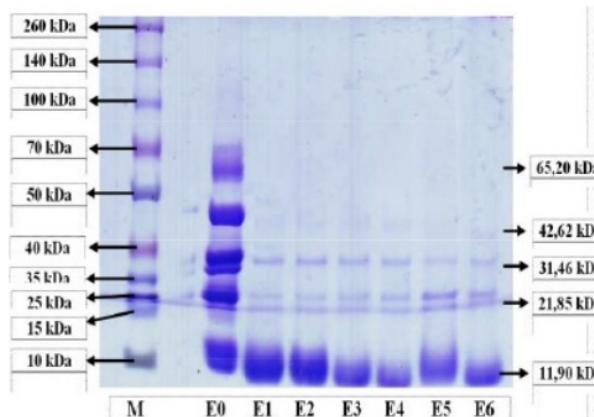
Berat Molekul dengan Metode SDS PAGE ¹²

Metode yang paling umum digunakan untuk memisahkan protein adalah dengan cara elektroforesis menggunakan discontinuous polyacrylamide gel sebagai medium penyanga dan sodium dedocyl sulfate (SDS) untuk mendekreasurasi protein. Metode ini disebut ⁴⁰ *Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS PAGE)*. Pita-pita protein hasil elektroforesis SDS PAGE pada hidrolisat protein ikan patin dapat dilihat pada Gambar 4.

Hasil yang didapat pada Gambar 4. memperlihatkan bahwa perlakuan E0 (Konsentrasi enzim 0%) menghasilkan jumlah pita (band) protein yang lebih banyak dan lebih tinggi dibandingkan

perlakuan lainnya. Jumlah pita (band) protein yang didapat adalah 7 pita dengan berat molekul yang didapat masing-masing adalah 65,20 kDa, 42,62 kDa, 31,46 kDa, 27,86 kDa, 27,85 kDa, 19,35 kDa dan 11,90 kDa. Sedangkan untuk perlakuan lainnya (Konsentrasi enzim 1%, 2%, 3%, 4%, 5% dan 6%), menghasilkan 4 pita (band) protein dengan berat molekul 42,62 kDa, 31,46 kDa, 27,85 kDa dan 11,90 kDa. Ini memperlihatkan bahwa penggunaan enzim papain efektif dalam memutus ikatan peptida protein menjadi peptida dan asam amino dengan berat molekul rendah.

Menurut Belkaaloul *et al.* (2010), selama proses hidrolisis protein oleh enzim proteolitik berlangsung terjadi memecah protein menjadi fraksi-fraksi protein yang lebih kecil. Pada perlakuan E0 (konsentrasi enzim 0%) jumlah pita (band) protein yang didapat lebih banyak dan berat molekulnya lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya, dikarenakan tidak adanya penambahan enzim (kontrol) sehingga protein tidak terpecah menjadi fraksi-fraksi yang lebih kecil (peptida dan asam-asam amino). Menurut Damodaran (1996), hidrolisis



Gambar 4 Pita-pita protein hasil elektroforesis SDS-PAGE pada hidrolisat protein ikan patin ⁸ dengan perlakuan konsentrasi enzim yang berbeda (E0= 0%, E1= 1%, E2= 2%, E3= 3%, E4= 4%, E5= 5%, E6= 6%).

protein enzimatis menggunakan enzim protease umumnya hidrolisat protein yang dihasilkan mengandung peptida dengan bobot molekul rendah yang terdiri atas dua hingga empat asam amino.

Hasil penelitian Angraini (2013) mengenai hidrolisat kolagen dari kulit ikan patin (*Pangasius pangasius*) dengan enzim papain menghasilkan berat molekul rendah berkisar 13,84-23,08 kDa. Pada hidrolisat protein dari tulang ikan patin menggunakan enzim papain juga menghasilkan berat molekul rendah berkisar 11,90-65,20 kDa. Hal ini memperlihatkan bahwa penggunaan enzim papain efektif dalam memutus ikatan peptida protein kompleks menjadi peptida-peptida dan asam-asam amino dengan berat molekul rendah.

KESIMPULAN

Hidrolisat protein ikan patin menggunakan enzim papain memiliki derajat hidrolisis terbaik terdapat pada perlakuan menggunakan konsentrasi enzim papain 6%. Kadar protein dan persen penghambatan terhadap radikal DPPH hidrolisat mengalami peningkatan dengan meningkatnya konsentrasi enzim. Berat molekul hidrolisat protein ikan patin dengan menggunakan enzim papain memiliki berat molekul yang berkisar antara 11,90 kDa - 65,20 kDa.

DAFTAR PUSTAKA

- Angraini S. 2013. Hidrolisis kolagen dari kulit dan tulang ikan patin (*Pangasius pangasius*) dengan enzim papain serta pengujian aktivitas antioksidan produk hidrolisat yang dihasilkan. [Skripsi]. Indralaya: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Pertanian. Universitas Sriwijaya.
- Belkaaloul A, A Checroun, A.I Ait-Abdeslam, D Saidi, and O Kherououa. 2010. Growth, acidification & proteolysis performance of two co-
- cultures (*Lactobacillus plantarum*-*Bifidobacterium longum* and *Streptococcus thermophilus* bifido-bacterium longum). *African Journal of Biotechnology* 9(10):1463-1469. [21]
- Binsan W, Benkalul S, Visessangam W, Roytrakul S, Tanaka M, Kishimura H. 2008. Antioxidative activity of Mungon, an extract paste, from the cephalothorax of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Food Chemistry* 106:185-193.
- Bordbar S, Ebrahimpour A, Hamid AA, Saari N. 2013. The Improvement of the Endogenous Antioxidant Property of Stone Fish (*Actinopyga lecanora*) Tissue Using Enzymatic Proteolysis. *Journal of Food Science* 9:15-18.
- Carsen CU, Rasmussen KT, Kjeldsen KK, Westergaard P, Skibsted LH. 2003. Pro- and antioxidative activity of protein fractions from pork (*Longissimus dorsi*). *European Food Research and Technology* 217:195-200.
- Damodaran S. 1996. Functional properties. Di dalam: Nakai S, Modler H.W (editor). *Food protein: Properties and characterization*. New York: UCH Publisher. [20]
- Farag RS, Badel AZMA, Hewdel FM, El-Baroty GSA. 1989. Antioxidant activity of some species essential oils on linoleic oxidation in aqueous media. *Journal of the American Oil Chemists' Society* 66:792-799.
- Foh MBK, Tamara MT, Amadou I, Foh BM, Wenshui X. 2011. Chemical and physicochemical properties of tilapia (*Oreochromis niloticus*) fish protein hydrolysate and concentrate. *Journal of Food Biochemistry* 10: 1-15.
- Gesualdo AML, Li-Chan ECY. 1999. Functional properties of fish protein hydrolysate from herring (*Clupea harengus*). *Journal of Food Science* 64:1000-1004.
- Hanani E, Mun'im A, dan Sekarini R. 2005.

- Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons *Callyspongia* sp. dari Kepulauan Seribu. *Majalah Ilmu Kefarmasian* 2(3):127-133.
- ¹³ Hasnaliza H, Maskat MY, Wan AWM, Mamot S. 2010. The effect of enzyme concentration, temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water. *International Food Research Journal* 17:147-152.
- ¹⁷ Hidayat T. 2005. Pembuatan Hidrolisat Protein dari Ikan Selar Kuning (*Caranx leptolepis*) dengan Menggunakan Enzim Papain. [Skripsi]. Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- ¹⁴ Je JY, Qian ZJ⁹, Lee SH, Byun HG, Kim SK. 2007. Purification and Characterization of an antioxidant peptide obtained from backbone tuna protein by enzymatic hydrolysis. *Process Biochemistry* 42: 840-846.
- Jia J, Zhou Y, Chen A, Li Y, dan Zhenh G. 2010. Enzymatic Hidrolisis of Alaska Pollack (*Theragra chalcogramma*) Skin and Antioxidant Activity of The Result Hydrolysate. ³³ *Journal of the science of Food and Agriculture* 90: 635-640.
- ¹ Jun SY, Park PJ, Jung WK, Kim SK. 2004. Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of Yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein. *European Journal of Food Research and Techology* 219: 20-26.
- Kim SK, Kim Y, Byun HG, Nam KS, Joo DS, Shahidi F. 2001. Isolation and characterization of antioxidative peptides from gelatin hydrolysate of Allaska Pollack skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49:1984-1989.
- ¹ Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- ¹¹ Molyneux P. 2004. The Use Of The Stable Free Radical Dyphenylpicrylhydrazil (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology* 26:211-219.
- ³ Nurhayati T, Desniar, Made S. 2013. Pembuatan pepton secara enzimatis menggunakan bahan baku jeroan ikan tongkol. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 16(1):1-11.
- Nurhayati T, Salamah E, Choifah, Nugraha R. 2014. Optimasi proses pembuatan hidrolisat jeroan ikan kakap putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 17(1):42-52.
- ¹ Park PJ, Jung WK, Nam KS, Shahidi F, Kim SK. 2001. Purification and characterization of antioxidative peptides from protein hydrolysate of lecithin-free egg yolk. *Journal of the American of Oil Chemists' Society* 78:651-656. ²⁹
- Rutherford SM. 2010. Methodology for determining degree of hydrolysis of protein hydrolysates: a review. *Journal of AOAC International* 93(5):1515-1522.
- ¹⁴ Samaranayaka AGP dan Li-Chan ECY. 2011. Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. *Journal of Functional Food* 3:229-254.
- ¹⁶ Shimada K, Fujikawa K, Yahara K, Nakamura T. 1992. Antioxidative properties of Xhantan on the antioxidation of soy bean oil in cyclodextrin emulsion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 40: 945-948.
- ³² Wanita A, Lorenz K. 1996. Antioxidant potential of 5-N-pentadecylresorcinol. *Journal of Food Process Preservative* 20:417-429.

Hidrolisis Protein Ikan Patin Menggunakan Enzim Papain dan aktivitas antioksidant hidrolisatnya

ORIGINALITY REPORT



PRIMARY SOURCES

- | | | |
|---|---|-----------|
| 1 | Submitted to Padjadjaran University
Student Paper | 7% |
| 2 | Submitted to Fakultas Ekonomi dan Bisnis
Universitas Gadjah Mada
Student Paper | 4% |
| 3 | Reinal Putalan, Ifah Munifah, Tati Nurhayati,
Ekowati Chasanah. "Antioxidant and Ace
Inhibitor Potential of Stripe Trevally Fish
(Selaroides leptolepis) Hydrolysate", Squalen
Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest
and Biotechnology, 2018
Publication | 3% |
| 4 | Submitted to Universitas Brawijaya
Student Paper | 2% |
| 5 | Ace Baehaki. "Pengaruh Hidrolisat Kolagen dari
Kulit Ikan Patin (Pangasius pangasius) terhadap
Umur Simpan Pempek Ikan Gabus (Channa
striata)", JURNAL AGROINDUSTRI HALAL,
2019 | 2% |

6

Submitted to UIN Syarif Hidayatullah Jakarta

1 %

Student Paper

7

Submitted to Unika Soegijapranata

1 %

Student Paper

8

Submitted to Cardean Learning Group

1 %

Student Paper

9

Mingyong Zeng, Shiyuan Dong, Yuanhui Zhao,
Zunying Liu. "Antioxidant Activities of Marine
Peptides from Fish and Shrimp", Wiley, 2013

1 %

Publication

10

Submitted to Universitas Diponegoro

1 %

Student Paper

11

Febrina Olivia Akerina, Janer Sangaji. "Analisis
Fitokimia dan Toksisitas serta Aktivitas
Antioksidan Beberapa Jenis Teripang di Desa
Kakara, Halmahera Utara", Agrikan: Jurnal
Agribisnis Perikanan, 2019

1 %

Publication

12

Submitted to iGroup

1 %

Student Paper

13

Submitted to Universiti Sains Malaysia

1 %

Student Paper

14

Anbazahan Sannasimuthu, Jesu Arockiaraj.

1 %

"Intracellular free radical scavenging activity and

protective role of mammalian cells by antioxidant peptide from thioredoxin disulfide reductase of *Arthrospira platensis*", Journal of Functional Foods, 2019

Publication

15

Vanessa Natali Jane Lekahena. "Pengaruh substitusi daging ikan madidihang dengan rumput laut *Kappaphycus alvarezii* terhadap komposisi gizi bakso ikan madidihang", Agrikan: Jurnal Agribisnis Perikanan, 2015

1 %

Publication

16

Thiansilakul, Y.. "Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*)", Food Chemistry, 2007

1 %

Publication

17

Umi Chodrijah, Ria Faizah. "BIOLOGI REPRODUKSI SELAR BENTONG (Selar crumenophthalmus Bloch, 1793) DI PERAIRAN KWANDANG, GORONTALO UTARA", BAWAL Widya Riset Perikanan Tangkap, 2019

1 %

Publication

18

Submitted to Udayana University

1 %

Student Paper

19

M. Habbib Khirzin, Sukarno Sukarno, N.D. Yuliana, Yusro Nuri Fawzya, Ekowati Chasanah. "Aktivitas Inhibitor Enzim Pengubah Angiotensin

1 %

(ACE) dan Antioksidan Peptida Kolagen dari Teripang Gama (*Stichopus variegatus*)", Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 2015

Publication

- 20 ERHAN, Kuddusi, AKTAŞ BÖLÜKBAŞI, Canan and ÜRÜŞAN, Hilal. "Etlik Piliç Yemlerine İlave Edilen Yarpuz un (*Mentha Pulegium L*) Doku Yağ Asidi Kompozisyonu ve Raf Ömrüne Etkileri", Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 2015. 1 %
- Publication
- 21 Ida-Johanne Jensen, Karl-Erik Eilertsen, Hanne K. Maehre, Edel O. Ellevoll, Rune Larsen. "Health Effects of Antioxidative and Antihypertensive Peptides from Marine Resources", Wiley, 2013 1 %
- Publication
- 22 Sri Purwaningsih, Riyan Triono. "Effects of Alkaline Pretreatment on the Characteristics of Collagen from Mangrove Conch (*Telescopium telescopium*)", Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 2019 1 %
- Publication
- 23 Herpandi Herpandi, Indah Widiasuti, Wulandari Wulandari, Cynthia Aprita Sari. "Effectiveness of Sodium Bicarbonate (NaHCO₃) on 1 %

Physicochemical and Sensory Characteristic of
Notopterus notopterus Bone Chips", Jurnal
Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 2019

Publication

-
- 24 Megawati Syahruddin, Muhammad Aswad, Yohanes D.P. Agung Embu, Khadijah Khadijah. "UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL DAUN MURBEI (*Morus alba L*) ASAL KUPANG, NUSA TENGGARA TIMUR DENGAN METODE DPPH (2,2 DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL)", TECHNO: JURNAL PENELITIAN, 2019
- Publication
- 1 %

-
- 25 Submitted to Universitas Andalas
- Student Paper
- 1 %

-
- 26 Submitted to Glasgow Caledonian University
- Student Paper
- 1 %

-
- 27 Ike Yulia Wiendarlina, Runi Sukaesih. "PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale var Amarum*) DAN JAHE MERAH (*Zingiber officinale var Rubrum*) DALAM SEDIAAN CAIR BERBASIS BAWANG PUTIH DAN KORELASINYA DENGAN KADAR FENOL DAN VITAMIN C", Jurnal Fitofarmaka Indonesia, 2019
- Publication
- 1 %

Krishnamoorthy Elavarasan, Bangalore

28

Aswathnarayan Shamasundar. "Effect of oven drying and freeze drying on the antioxidant and functional properties of protein hydrolysates derived from freshwater fish (*Cirrhinus mrigala*) using papain enzyme", *Journal of Food Science and Technology*, 2015

1 %

Publication

29

Submitted to Massey University

<1 %

Student Paper

30

Yuqing Tan, Sam K.C. Chang, Shi Meng. "Comparing the kinetics of the hydrolysis of by-product from channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fillet processing by eight proteases", *LWT*, 2019

<1 %

Publication

31

Submitted to Universiti Teknologi MARA

<1 %

Student Paper

32

Tripathi, R.. "Modulation of oxidative damage by natural products", *Food Chemistry*, 2007

<1 %

Publication

33

R. A. Nazeer. "Evaluation of antioxidant activity of muscle and skin protein hydrolysates from giant kingfish, *Caranx ignobilis* (Forsskål, 1775) : Antioxidant activity from *Caranx ignobilis*", *International Journal of Food Science & Technology*, 02/2012

<1 %

Publication

34	Submitted to University of Leeds Student Paper	<1 %
35	Submitted to Universitas Airlangga Student Paper	<1 %
36	Raudhi Kurniawan, Nurjanah, Agoes M.Jacoeb, Asadatun Abdullah, Rizsa Pertiwi. "Characteristics of Functional Salt from Green Seaweed <i>Ulva lactuca</i> ", Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 2019 Publication	<1 %
37	Submitted to University of Hertfordshire Student Paper	<1 %
38	Submitted to School of Business and Management ITB Student Paper	<1 %
39	Submitted to Oklahoma State University Student Paper	<1 %
40	Abdul S. Ethayathulla, Devendra B. Srivastava, Janesh Kumar, Kolandaivelu Saravanan et al. "Structure of the buffalo secretory signalling glycoprotein at 2.8 Å resolution", Acta Crystallographica Section F Structural Biology and Crystallization Communications, 2007 Publication	<1 %
41	Murdinah Murdinah. "PENANGANAN DAN DIVERSIFIKASI PRODUK OLAHAN KERANG	<1 %

**HIJAU", Squalen Bulletin of Marine and
Fisheries Postharvest and Biotechnology, 2009**

Publication

-
- 42 Romadhon Romadhon, Yudhomenggolo Sastro Darmanto, Retno Ayu Kurniasih. "The Difference Characteristics of Collagen from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Bone, Skin, and Scales", Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 2019 **<1 %**
Publication
-
- 43 Submitted to Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia **<1 %**
Student Paper
-
- 44 Submitted to State Islamic University of Alauddin Makassar **<1 %**
Student Paper
-
- 45 Fensia Analda Souhoka, Nikmans Hattu, Marsye Huliselan. "Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Kesumba Keling (*Bixa orellana L*)", Indo. J. Chem. Res., 2019 **<1 %**
Publication
-
- 46 Ellya Sinurat, Nurun Nisa Maulida. "Pengaruh Hidrolisis Fukoidan terhadap Aktivitasnya sebagai Antioksidan", Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 2018 **<1 %**
Publication
-
- Submitted to Asian Institute of Technology

48

Achmad Poernomo, Farida Ariyani, Murdinah
Murdinah. "Storage Stability of Fish Waste
Peptone at Ambient Temperature", Squalen
Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest
and Biotechnology, 2019

<1 %

Publication

49

Bougatef, A.. "Purification and identification of
novel antioxidant peptides from enzymatic
hydrolysates of sardinelle (*Sardinellaaurita*) by-
products proteins", Food Chemistry, 20100201

<1 %

Publication

50

Norita Norita, Mala Nurilmala, Asadatun
Abdullah. "Quality of Longtail Tuna (*Thunnus*
tonggol) in Different Storage Conditions", Jurnal
Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 2019

<1 %

Publication

Exclude quotes

Off

Exclude matches

Off

Exclude bibliography

On