

SKRIPSI

**PENGARUH PENAMBAHAN ENZIM PROTEASE
ISOLAT AIR RAWA TERHADAP AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN PEPTIDA KULIT IKAN GABUS
(*Channa striata*)**

***EFFECTS OF PROTEASE ENZYME ISOLATES FROM SWAMP
WATER WITH ANTIOXIDANT ACTIVITIES SKIN OF
SNAKEHEAD (*Channa striata*) FISH PEPTIDES***



**Citra H. Nainggolan
05061181419052**

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN PERIKANAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2019**

SUMMARY

CITRA H. NAINGGOLAN, Effects Of Protease Enzyme Isolates from Swamp Water with Antioxidant Activities Skin of Snakehead (*Channa striata*) Fish Peptides (Supervised by **ACE BAEHAKI** and **INDAH WIDIASTUTI**).

The purpose of this research was to know the content of bioactive peptides that have antioxidants function in skin of snakehead (*Channa striata*) protein. This research was conducted from August 2018 until December 2018. This research method used randomized block design (RBD) consist of 5 treatments hydrolysis time (0, 30, 60, 90, 120 minutes) and two replications which included several stages that were preparation and pretreatment skin of snakehead, production of protease enzymes isolates from swamp water, preparation of protein hydrolyzates, measurement of hydrolysis degrees, analysis of peptide content and analysis of antioxidant activity. The results showed that the treatment had gave a significant effect on the 5% level of the degree of hydrolysis produced (13.98%-27.08%), peptide content (2.73%-3.78%) and antioxidant activity (10.75%-20.7%).

Keywords: Protein Hydrolysates, Skin of Snakehead (*Channa striata*), Hydrolysis Time

RINGKASAN

CITRA H. NAINGGOLAN, Pengaruh Penambahan Enzim Protease Isolat Air Rawa Terhadap Aktivitas Antioksidan Peptida Kulit Ikan Gabus (*Channa striata*) (Dibimbing oleh, **ACE BAEHAKI** dan **INDAH WIDIASTUTI**).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kandungan peptida bioaktif yang berfungsi sebagai antioksidan pada protein kulit ikan gabus *Channa striata*. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus 2018 sampai Desember 2018. Metode penelitian ini menggunakan rancangan acak kelompok (RAK) terdiri dari 5 perlakuan waktu hidrolisis (0, 30, 60, 90, 120 menit) dan dilakukan sebanyak 2 kali ulangan yang meliputi beberapa tahapan yaitu preparasi dan pretreatment kulit ikan gabus, produksi enzim protease dari isolat air rawa, pembuatan hidrolisat protein, pengukuran derajat hidrolisis, analisa kadar peptida, dan analisis aktivitas antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan memberikan pengaruh nyata pada taraf 5% terhadap derajat hidrolisis yang dihasilkan (13,98%-27,08%), kadar peptida (2,73%-3,78%) dan aktivitas antioksidan (10,75%-20,7%).

Kata Kunci: Hidrolisat Protein, Kulit Ikan Gabus (*Channa striata*), Waktu Hidrolisis

SKRIPSI

**PENGARUH PENAMBAHAN ENZIM PROTEASE
ISOLAT AIR RAWA TERHADAP AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN PEPTIDA KULIT IKAN GABUS
(*Channa striata*)**

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Perikanan
pada Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya



Citra H. Nainggolan
05061181419052

**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN PERIKANAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2019**

LEMBAR PENGESAHAN

PENGARUH PENAMBAHAN ENZIM PROTEASE
ISOLAT AIR RAWA TERHADAP AKTIVITAS
ANTIOKSIDAN PEPTIDA KULIT IKAN GABUS
(*Channa striata*)

SKRIPSI


Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mendapatkan Gelar Sarjana Perikanan
pada Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya

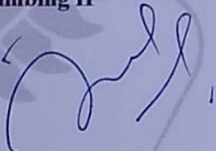
Oleh:

Citra H. Nainggolan
0506118119052

Pembimbing I

Indralaya, Mei 2019
Pembimbing II

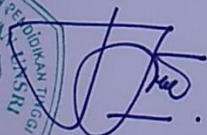

Dr. Ace Baehaki, S.Pi., M.Si
NIP 197606092001121001


Indah Widiastuti, S.Pi., M.Si, Ph.D
NIP 198005052001121002

Mengetahui,


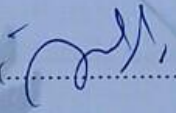
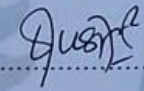
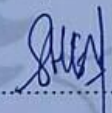
Dekan Fakultas Pertanian





Prof. Dr. Ir. Andy Mulyana, M.Sc.
NIP 196012021986031003

Skripsi dengan Judul “Pengaruh Penambahan Enzim Protease Isolat Air Rawa Terhadap Aktivitas Antioksidan Peptida Kulit ikan Gabus (*Channa striata*)” oleh Citra H. Nainggolan telah dipertahankan di hadapan Komisi Penguji Skripsi Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya pada tanggal 16 Mei 2019 dan telah diperbaiki sesuai saran dan masukan tim penguji.

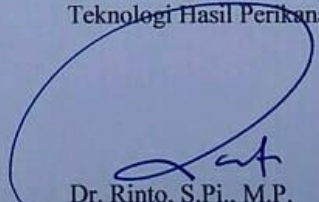
Komisi Penguji

- | | | |
|---|------------|---|
| 1. Dr. Ace Baehaki, S.Pi., M.Si.
NIP 197606092001121001 | Ketua | (..... ) |
| 2. Indah Widiastuti, S.Pi., M.Si., Ph.D
NIP 198005052001122002 | Sekretaris | (..... ) |
| 3. Susi Lestari, S. Pi., M.Si.
NIP 197608162001122002 | Anggota | (..... ) |
| 4. Dr. Sherly Ridhowati, S. TP., M. Sc.
NIP 198204262012122003 | Anggota | (..... ) |

Ketua Jurusan
Perikanan


Herpandi, S.Pi., M.Si., Ph.D
NIP 197404212001121002

Indralaya, Mei 2019
Koordinator Program Studi
Teknologi Hasil Perikanan


Dr. Rinto, S.Pi., M.P.
NIP 197606012001121001

PERNYATAAN INTEGRITAS

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Citra H. Nainggolan
NIM : 050611181419052
Judul : Pengaruh Penambahan Enzim Protease Isolat Air Rawa Terhadap
Aktivitas Antioksidan Peptida Kulit Ikan Gabus (*Channa striata*)

Menyatakan bahwa semua data dan informasi yang dimuat dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri dibawah supervisi pembimbing, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya. Apabila di kemudian hari ditemukan adanya unsur plagiasi dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sangsi akademik dari Universitas Sriwijaya.

Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar dan tidak mendapat paksaan dari pihak manapun.



Indralaya, Mei 2019



[Citra H. Nainggolan]

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Nainggolan, Medan, Sumatera Utara pada tanggal 22 Juni 1996 sebagai anak pertama dari lima bersaudara pasangan Bapak J. Sius Nainggolan dengan Ibu Rinna Simarmata. Pada tahun 2002 penulis menempuh pendidikan di SD 030296 Parbakalan, Desa Parbuluan III. Pada tahun 2008 melanjutkan pendidikan ke Sekolah Menengah Pertama SMP N 2 Pangiringan, Kabupaten Dairi dan pada tahun 2011 penulis melanjutkan pendidikan di SMA N 1 Parbuluan, Kabupaten Dairi dan selesai pada tahun 2014. Pada tahun yang sama penulis diterima sebagai mahasiswa Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya melalui jalur SNMPTN (Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri) sebagai penerima Beasiswa BidikMisi.

Penulis sempat aktif dalam organisasi Himpunan Mahasiswa Teknologi Hasil Perikanan (HIMASILKAN) periode 2014-2017 dan aktif diberbagai organisasi lainnya seperti Keluarga Mahasiswa Bidikmisi Universitas Sriwijaya (Sekretaris Departemen Pengembangan Potensi Sumberdaya Daya Manusia) tahun 2015-2016, dan Dewan Perwakilan Mahasiswa Jurusan (Ketua Legislatif) periode 2016-2017. Selain itu penulis juga melaksanakan Praktek Lapangan di PT. Putri Indah di kawasan Pelabuhan Perikanan Samudera (PPS) Belawan, Medan, Sumatera Utara pada 11 Mei 2017 sampai 22 Juni 2017 dan melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) di Desa Tanjung Ali, Kecamatan Jejawi, Kabupaten Ogan Komering Ilir pada 14 Desember 2017 sampai 24 Januari 2018. Pengalaman dibidang akademik yang penulis ikuti selama menjadi mahasiswa Program Studi Teknologi Hasil Perikanan yaitu menjadi asisten Teknik Laboratorium dan asisten Teknologi Penanganan Hasil Perikanan.

Indralaya, Mei 2019

Penulis

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas segala rahmat dan karunia yang diberikan kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik mungkin. Skripsi ini berjudul “Pengaruh Penambahan Enzim Protease Isolat Air Rawa terhadap Aktivitas Antioksidan Peptida Kulit Ikan Gabus (*Channa striata*)” disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh Gelar Sarjana Perikanan di Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini terutama kepada :

1. Bapak Prof. Dr. Ir. Andy Mulyana, M.Sc selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
2. Bapak Herpandi, S.Pi., M.Si., Ph.D selaku Ketua Jurusan Perikanan Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
3. Bapak Dr. Rinto S.Pi., M.P selaku Koordinator Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
4. Bapak Dr. Ace Baehaki S.Pi., M.Si dan Ibu Indah Widiastuti, S.Pi., M.Si., Ph.D selaku dosen Pembimbing skripsi. Terimakasih atas bimbingan dalam memberikan arahan, serta kesabarannya dalam memotivasi dan membantu penulis selama penelitian serta penyelesaian skripsi.
5. Ibu Dr. Sherly Rhidowati, S.TP., M.Sc selaku dosen pembimbing akademik, terimakasih untuk setiap bimbingan, nasihat dan motivasi yang diberikan selama penulis aktif berkuliah di Universitas Sriwijaya.
6. Ibu Susi Lestari, S. Pi., M.Si. dan Ibu Dr. Sherly Ridhowati, S. TP., M. Sc. selaku Dosen penguji. Terimakasih telah bersedia meluangkan waktunya untuk menjadi dosen penguji dan memberikan masukan yang sangat bermanfaat untuk skripsi ini.
7. Ibu Shanti Dwita Lestari S.Pi., M.Sc., Ibu Dwi Inda Sari S.Pi., M.Si., Ibu Wulandari S.Pi., M.Si., Ibu Siti Hanggita RJ S.TP., M.Si., Ibu Rodiana Nopianti S.Pi., M.Sc., Bapak Sabri Sudirman S.Pi., M.Si., Bapak Agus Supriadi S.Pt., M.Si., Bapak Budi Purwanto S.Pi. atas ilmu, nasihat dan ajaran

yang diberikan selama ini. Mbak Ana dan Mbak Naomi atas bantuan yang diberikan kepada penulis.

8. Terimakasih untuk Alm. Mamak dan Bapakku tercinta sumber semangatku yang telah memberikan dukungan doa, dukungan moril maupun materil, nasehat dan motivasi sampai saat ini.
9. Terimakasih untuk Adek-adekku terkasih sumber semangatku Putri S. Nainggolan, Adrian B. Nainggolan, Christo W. Nainggolan, Josua A. Nainggolan atas semangat dan doa yang diberikan sampai saat ini.
10. Oppung Doli dan Oppung Boru ku, Namboru Amangboru, serta Keluarga besarku atas setiap doa dan nasehat yang tidak dapat dituliskan satu persatu.
11. Tipando S. Siboro, Dina M. Hutapea atas kebersamaan selama perkuliahan, saling membantu dan menyemangati serta teman-teman seangkatan THI 2014 yang tidak bisa disebutkan satu persatu.
12. Teman-teman satu sektor dan satu bedeng, Murni Simbolon, Kak Stephanie Naiborhu, Kak Anna Simanjuntak, Kak Natalina Nainggolan, Nancy Banjarnahor, Devi Sidauruk atas dukungan yang diberikan selama penyelesaian penelitian serta saling memotivasi.
13. Adek sekamarku Hanna Marpaung atas pengertiannya, motivasi dan doa yang diberikan selama ini serta abang-abang dan kakakku, Nasib Sibuea, Tommy Simarmata, Eko Sitorus, Atven Sianipar, Tumpol Simarmata, dan kak Misda Sagala atas dukungan moril maupun materil yang diberikan.
14. Teman-teman seperjuangan dan seangkatan 2014 di sektor timbangan Hartina Lumbantoruan, Murni Simbolon, Ester Sihombing, Novalia ritonga, Astuti Lumbantoruan atas kebersamaan selama masa kuliah.
15. Semoga Skripsi ini dapat memberikan informasi serta bermanfaat bagi kita semua.

Indralaya, Mei 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR ..	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Kerangka Pemikiran.....	2
1.3. Tujuan	3
1.3. Kegunaan.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Kulit Ikan	4
2.2. Enzim	4
2.3. Hidrolisis Protein.	5
2.4. Derajat Hidrolisis	6
2.5. Peptida Bioaktif.....	7
2.6. Peptida Antioksidan	8
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....	9
3.1. Tempat dan Waktu	9
3.2. Alat dan Bahan.....	9
3.3. Metode Penelitian.....	9
3.4. Cara Kerja	10
3.4.1. Preparasi Kulit Ikan Gabus	10
3.4.2. Produksi Enzim Protease dari Isolat AR ₁ TS ₁	10
3.4.3. Pembuatan Hidrolisat Protein	11
3.4.4. Derajat Hidrolisis	11
3.4.5. Analisa Kadar Peptida.....	12
3.4.6. Analisis Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	12
3.7. Analisis Data	13
3.7.1. Analisis Statistik Parametrik	13

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16
4.1. Derajat Hidrolisis	16
4.2. Kadar Peptida.....	18
4.3. Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	20
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	23
5.1. Kesimpulan.....	23
5.2. Saran.....	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN.....	28

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 4.1. Derajat hidrolisis protein kulit ikan gabus (<i>Channa striata</i>)... 17	
Gambar 4.2. Kadar peptida hidrolisat kulit ikan gabus (<i>Channa striata</i>)... 19	
Gambar 4.3. Persen penghambatan DPPH hidrolisat kulit ikan gabus (<i>Channa striata</i>)..... 21	

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 3.1. Perlakuan rancangan acak kelompok.....	14
Tabel 3.2. Model analisis sidik ragam	14

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisa Derajat Hidrolisis	28
Lampiran 2. Analisa Kadar peptida	30
Lampiran 3. Perhitungan Aktivitas Antioksidan.....	32
Lampiran 4. Dokumentasi.....	34

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ikan gabus di Sumatera Selatan secara umum dimanfaatkan sebagai bahan dasar industri makanan khas Palembang yaitu pempek, kerupuk dan kemplang. Proses pengolahan tersebut menghasilkan limbah, salah satunya adalah limbah kulit. Limbah tersebut masih kurang termanfaatkan karena kurangnya peralatan teknologi, nilai komersial yang rendah dan kurangnya pengaplikasian terhadap limbah tersebut (Blanco *et al.*, 2007).

Menurut Moller *et al.* (2008) limbah yang tidak dimanfaatkan tersebut mengandung senyawa gizi yang sangat penting seperti kandungan protein (kolagen dan keratin) dan komposisi mineral. Limbah ini berpotensi untuk dimanfaatkan menjadi hidrolisat protein yang mengandung peptida bioaktif. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa hidrolisat protein ikan memiliki sifat fungsional sebagai antihipertensi, antikanker, antimikroba dan antioksidan. Peptida bioaktif dapat diperoleh dengan beberapa cara hidrolisis, yaitu hidrolisis dengan enzim pencernaan dan hidrolisis oleh enzim proteolitik yang dihasilkan oleh mikroorganisme atau tumbuhan (Korhonen, 2009).

Aktivitas bioaktif dari peptida sangat beragam dan ditentukan oleh sekuen asam amino yang menyusunnya. Beberapa peptida bioaktif dapat berupa prekursor protein atau peptida yang akan aktif apabila dihidrolisis dari protein alamiahnya melalui proses hidrolisis enzimatis pada proses pencernaan, fermentasi dan pengolahan (Korhonen, 2009).

Menurut Elias *et al.* (2008) peptida bioaktif memiliki beberapa mekanisme antioksidan antara lain: sebagai *radical scavenging* (penangkal radikal bebas), pengkelat mineral, reduktor logam dan pelindung. Aktivitas antioksidan peptida bioaktif sangat dipengaruhi oleh sifat alami dan komposisi fragmen peptida yang bersangkutan (Phelan *et al.*, 2009). Hal ini sangat ditentukan oleh spesifitas enzim protease yang digunakan (Pihlanto, 2006). Potensi peptida sebagai antioksidan tidak hanya terbatas pada pencegahan faktor resiko penyakit degeneratif, tetapi

juga untuk komposisi kosmetik dan pengawetan makanan (Samaranayaka dan Li-Chan, 2011 *dalam* Saputro, 2016).

Protease adalah enzim hidrolitik yang dapat memecah ikatan peptida diantara asam-asam amino. Enzim protease menghidrolisis ikatan-ikatan peptida secara spesifik dari protein asalnya, kemudian menghasilkan peptida-peptida dengan sekuen dan sifat fungsional yang beragam (Gonzalez-Rabade *et al.*, 2011 *dalam* Saputro, 2016). Salah satu sumber protease adalah mikroba, beberapa mikroorganisme yang telah diketahui sebagai penghasil protease untuk aplikasi komersial adalah *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Pyrococcus*, *Termonospora rhizopus*, *Mucor*, *Endothia* dan *Aspergillus* (Rao *et al.*, 1998). Pada penelitian ini menggunakan isolat AR₁TS₁ yang berasal dari air rawa Tanjung Senai yang memiliki aktivitas enzim protease yang tinggi sebesar 0,1409 U/ml. Enzim protease digunakan untuk menghidrolisis protein pada kulit ikan gabus dan selanjutnya hidrolisat yang dihasilkan diuji aktivitas antioksidan. Antioksidan diketahui dapat menghambat kerja radikal bebas sehingga upaya pencarian antioksidan dari kulit ikan gabus merupakan salah satu upaya untuk mengoptimalkan pemanfaatan bahan alam perairan Indonesia.

1.2. Kerangka Pemikiran

Kulit ikan kaya akan kandungan protein berupa kolagen dan keratin. Kolagen merupakan jaringan ikat matrik ekstraseluler yang keberadaannya berlimpah yaitu sekitar 30% dari total protein dalam suatu organisme (Gelse *et al.*, 2003). Kulit ikan tersebut berpotensi untuk diolah sebagai hidrolisat protein. Hasil hidrolisis protein secara enzimatik berupa suatu hidrolisat yang mengandung peptida yang berat molekulnya lebih rendah dan asam amino bebas. Protease mikroba dapat menghidrolisis protein dari tumbuhan, hewan, dan ikan yang menghasilkan hidrolisis profil peptida yang terdefinisi dengan baik (Basu *et al.*, 2005).

Peptida dapat berdiri sendiri atau masih terikat dengan protein asalnya. Peptida bioaktif belum aktif dalam bentuk *parent protein* sehingga protein harus dipecahkan terlebih dahulu. Peptida bioaktif juga memiliki aktivitas biologis yang berperan sebagai antioksidatif (Nirmagustina dan Chandra, 2014). Sifat

antioksidan pada hidrolisat protein ikan berasal dari peptida bioaktif yang merupakan kumpulan asam amino yang terikat melalui ikatan peptida. Pada penelitian Mayasari (2016), melaporkan bahwa kulit ikan tuna memiliki potensi sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} terbaik sebesar 0,46 mg/mL. Peptida dari ikan dengan sifat fungsionalnya dapat diisolasi dengan menggunakan metode yang lebih efektif, yaitu hidrolisis enzimatis dibandingkan dengan ekstraksi secara kimiawi maupun dengan proses fermentasi (Samaranayaka dan Li-Chan, 2011). Pemanfaatan kulit ikan menjadi hidrolisat protein yang memiliki potensi sebagai antioksidan dapat dikembangkan untuk memanfaatkan limbah kulit serta menambah nilai komersial terhadap kulit ikan tersebut. Oleh karena itu, peneliti tertarik menganalisis aktivitas antioksidan dari kulit ikan gabus menggunakan enzim protease yang diisolasi dari air rawa dengan perbedaan lama waktu hidrolisis.

1.3. Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dan menganalisis pengaruh lama waktu hidrolisis terhadap kandungan peptida bioaktif sebagai antioksidan pada protein kulit ikan gabus (*Channa striata*).

1.4. Kegunaan

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan gambaran mengenai pengaruh lama waktu hidrolisis terhadap kandungan peptida dari kulit ikan gabus (*Channa striata*) yang berpotensi menjadi antioksidan.

DAFTAR PUSTAKA

- Baehaki, A., Rinto., dan Budiman, A. 2011. Isolasi dan karakterisasi protease dari bakteri tanah rawa indralaya, Sumatera Selatan. *Jurnal Teknologi dan Industri pangan* [online], 22(1).
- Baehaki, A., Lestari, S.D., Romadhoni, R. 2015. Hidrolisis protein ikan patin menggunakan mnmz papain dan aktivitas antioksidan hidrolisatnya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, [online], 18(3),230.
- Basu, B. dan Banik, A.K. 2005. Production of protein rich organic fertilizer from Ffsh scale by a mutant aspergillus niger AB₁₀₀ a media optimization study. *Journal of Scientific and Industrial Research*, [online], 64:293-298.
- Blanco, M., Sotelo, C.G., Chapela, M., and Perez Martin, R.I. 2007. Towards sustainable and efficient use of fishery resources: Present and future trends. *Trends in Food Science and Technology*. 18(1): 29-36.
- Boyer, H.W., Cartlon, B.C. 1971. Production of two proteolytic enzymes by a transformable strain of *Bacillus subtilis*, *Arch. Biochemistry. Biophys.* 128:442-455.
- Charoenpun, N., Benjamas, C., Nualpun, S., Wirote ,Y. 2013. Calcium binding peptides derived from tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein hydrolysate. *Eur Food ResTechnology*. 236:57-63.
- Elias, R.J., Kellerby, S.S., and Decker, E.A. 2008. Antioxidant activity of proteins and peptides. *Food Science Nutrition*. 48:430-441.
- Gelse, K., Poschlb, E., Aigner, T. 2003. Collagens-structure, function, and biosynthesis. *Adv Drug Delivery Reviews*. 55:1531–1546.
- Giyatmi. 2001. *Prospek Hidrolisat Protein Ikan sebagai Pemer kaya Nutrisi Makanan*, Tesis (Tidak dipublikasikan), Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Gomez-Guillen, M.C., Lopez-Caballero, M.E., Aleman, A., Gimenez, B., Montero, P. 2010. Antioxidant and antimicrobial peptide fractions from squid and tuna skin gelatin. *Sea By-Products as Real Material New ways Of Application*, [online], 10(2):89-115.
- Gomez-Guillen, M.C., Gimenes, B., Lopez-Caballero, M.E., Montero MP. 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative source: a review. *Food Hydrocolloid*, [online], 25:1813-27.
- Hanafiah, K.A. 2010. Rancangan Teori dan Aplikasi. and Ed. Jakarta: Rajawali Pers.
- Hasnaliza, H., Maskat, M.Y., Wan, A.W.M., 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 fresh water. *International Food Research Journal*, [online], 17:147-152.

- Herpandi., N. Huda., A. Rosma., and W.A.W. Nadiah. 2012. Degree of hydrolysis and free tryptophan content of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) protein hydrolysates produced with different type of industrial proteases. *International Food Research Journal*, [online], 19(3): 863-867.
- Intarasirisawat, R., Benjakul, S., Visessanguan, W., Wu, J. 2014. Effects of skipjack roe protein hydrolysates on properties and oxidative stability of fish emulsion sausage. *Food Science and Technology*. 58:280-286.
- Kamelia, R., M Sindurmarta., dan D Natalia. 2005. *Isolasi dan karakterisasi protease intraseluler termostabil dari bakteri Bacillus stearothermophilus RPI*. Prosiding Seminar Nasional MIPA. Universitas Indonesia. 24-26 November. Depok.
- Karnia, E. 2018. *Ekstraksi, Hidrolisis, dan Fraksinasi Gelatin Kulit Ikan Tuna Sirip Kuning (Thunnus albacores)*. Skripsi. Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Khirzin, M.H., Sukarno, Yuliana, N.D., Fawzya, Y.N., dan Chasanah, E. 2015. *Aktivitas inhibitor enzim pengubah angiotensin (ACE) dan antioksidan peptida kolagen dari teripang gamma (Stichopus variegates)*. JPB. Kelautan dan Perikanan. 10(1), 27-35.
- Kitts, D.D., dan Weiler, K. 2003. Bioactive proteins, and peptides from food source. Applications of bioprocesses used in isolation and recovery. *Curr Pharm Des*, [online], (9):1309-1323.
- Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., Shahidi, F. 2007. Antioxidative activity and functional properties of protein hydrolysate of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*) as influenced by the degree of hydrolysis and enzyme type. *Food Chemistry*. 102 (4):1317-1327.
- Korhonen, H., Pihlanto, A. 2007. Bioactive peptide from food protein. In: *Handbook of Food Product Manufacturing*. Y.H. Hui, eds. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ. Pp: 5-37.
- Korhonen, H. 2009. Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of Functional Foods*, [online], 1, 177-187.
- Kurniawan., Lestari, S., Hanggita, S. 2012. Hidrolisis protein tinta cumi-cumi (*Loligo sp*) dengan enzim papain. *Fishtechnology*. 1(1):2012.
- Kusumaningtyas, E. 2013. Peran peptide susu sebagai antimokroba untuk meningkatkan kesehatan. *Wartazoa*. 23(2),63-75.
- Latifah, A. 2013. *Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Hidrolisat Protein Jeroan Ikan Kakap Putih (Lates calcalifer)*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Lee, C.H., Singla, A., Lee, Y. 2001. Review biomedical applications of collagen. *International Journal of Pharmaceutics*. 221:1-22 (2001).

- Lehninger, A.L. 1982. *Dasar-dasar Biokimia Jilid 1*. Erlangga, Jakarta.
- Luo, H.Y., Wang, B., Li, Z.R., Zhang, Q.H., He G.Y. 2012. Preparation and evaluation of antioxidant peptide from papain hydrolysate of sphyrna lewini muscle protein. *Food Science Technology*. 51:281-288.
- Marks, D.B.A.D., Marks, C.M., Smith. 2000. *Biokimia Kedokteran Dasar. Sebuah Pendekatan Klinis*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Mayasari, D. 2016. *Ekstraksi Kolagen Optimum dari Kulit Ikan Tuna (Thunnus sp.) sebagai Antioksidan*. Skripsi. Teknologi Hasil Perairan, Fakultas perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Moller, N.P., Scholz Ahrens, K.E., Roos, N., and Schrezenmeir, J. 2008. Bioactive peptides and proteins from foods: indication for health effects. *European Journal of Nutrition*, [online], 47(4): 171-182.
- Moon, S.H dan Parulekar, S.J. 1993. Some observation on protease producing in continuous suspentin cultures of *Bacillus firmus*. *Biotechnology and Bioengineering*. 41,43-45.
- Nagai, T., Izumi, M., dan Ishii, M. 2004. Fish scale collagen preparation and partial characterization. *International Journal of Food Science and Technology*, [online], 39: 239–244.
- Najafian, L dan Babji, A.S. 2012. A review of fish derived antioxidant and antimicrobial peptides: Their Production, Assessment, and Applications. *Peptides*. 33: 178-185.
- Nielsen, H., Engelbrecht, J., Brunak, S., von Heijne, G. 1997. Identification of prokaryotic and eukaryotic signal peptides and prediction of their cleavage sites. *Protein Engineering*. 10(1), 1-6.
- Nirmagustina, D.E. dan Chandra, U.W. 2014. Potensi susu kedelai asam (soygart) kaya bioaktif peptide sebagai antimikroba. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, [online], 14(3):158-166.
- Pihlanto, A. 2006. Antioxidative peptides derived from milk proteins. *Int Dairy Journal*, [online], 16:1306–1314.
- Phelan, M., Aherne, A., FitzGerald, R.J., O Brien. N.M. 2009. Casein-derived bioactive peptides: Biological effects, industrial uses, safety aspects and regulatory status. *Int Dairy Journal*, [online], 19:643–654.
- Purbasari, D. 2008. *Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Keang Mas Ngur (Atactodea striata)*. Skripsi. Teknologi Hasil Perairan, Fakultas perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Putalan, R. 2018. *Fraksinasi peptida Ikan Selar (Selaroides leptolepis) serta Aktivasnya sebagai Antioksidan dan Inhibitor ACE*. Tesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Rao, M.M, Tanksale, A.M, Gatge, M.S, and Desphande, V.V. 1998. Molecular and biotechnological aspect of microbial proteases. *Microbiology and Mol Biol Rev.* 62, 597-635.
- Salwanee, S., Aida, W.M., Mamot, S., Maskat, M.Y., and Ibrahim, S. 2013. Effects of enzyme concentration, temperature, pH and time on the degree of hydrolysis of protein extract from viscera of tuna (*Euthynnus affinis*) by using alcalase. *Sains Malaysiana.* 42(2), 279-287.
- Samarayanaka, A.G.P. 2010. Pacific hake (*Merluccius productus*) fish protein hydrolysates with antioxidative properties. Tesis. Vancouver (CA): University of British Columbia.
- Samaranayaka, A.G.P and Li-Chan, E.C.Y. 2011. Food-derived peptidic antioxidants: A review of their production, assessment, and potential applications. *Journal Functional Foods*, [online], 3, 229-254.
- Saputro, M.N.B. 2016. *Profil Protein, Aktivitas Antioksidan, dan Inhibitor Ace dari Susu Kuda dan Hidrolisatnya*, Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Setiawati, I.H. 2009. *Karakterisasi Mutu Fisika Kimia Gelatin Kulit Ikan Kakap Merah (Lutjanus sp.) Hasil Proses Perlakuan Asam*. Skripsi. Teknologi Hasil Perairan, Fakultas perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Shahidi, F., Xiao-Qing, H., Synowiecki, J. 1995. Production and characteristics of protein hydrolysates from Capelin (*Mallotus villosus*). *Food Chemical*, [online], 53, 285-293.
- Udenigwe, C.C., Aluko, R.E. 2011. Chemometric analysis of the amino acid requirement of antioxidant food protein hydrolysates. *International Journal of Molecule Science*, [online], 12(5), 3148-3161.
- Wikandari, P.R., dan Lenny, Y. 2016. Pengaruh degradasi enzim proteolitik terhadap aktivitas angiotensin converting enzyme Inhibitor Bekasam dengan *Lactobacillus plantarum* B1765. *Agritechnology.* 36(2), 258-264.
- Wulandari., Suptijah, P., Tarman, K. 2015. Efektivitas pretreatmen alkali dan hidrolisis asam asetat terhadap karakteristik kolagen dari kulit ikan gabus. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, [online], 18(3), 287.
- Wu Hui-chun., Chen, H.M., Shiau, C.Y. 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International.* 36, 949-957.
- Zhishen, J., Mengcheng, T., and Jianming, W. 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry.* 64: 555-559.