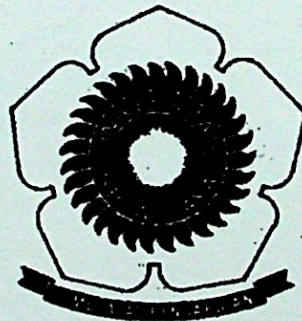


**PEMBUATAN HIDROLISAT KOLAGEN DARI KULIT DAN
TULANG IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*) DENGAN ENZIM
PAPAIN DAN PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDANNYA**

**Oleh
SHELA ANGRAINI**



**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

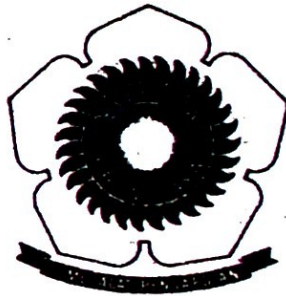
**INDRALAYA
2014**

R.26563/27124

**PEMBUATAN HIDROLISAT KOLAGEN DARI KULIT DAN
TULANG IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*) DENGAN ENZIM
PAPAIN DAN PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDANNYA**



**Oleh
SHELA ANGRAINI**



S
572-607
Ane.
P.
2013.

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA**

**INDRALAYA
2014**

SUMMARY

SHELA ANGRAINI. Production of Collagen Hydrolysate from Catfish's (*Pangasius Pangasius*) Skin and Bone by Papain Enzyme and Its Antioxidant Activity (Supervised by ACE BAEHAKI and RODIANA NOPIANTI).

The objective of this research was to investigate the influence of increasing incubation time in production collagen hydrolysate from Catfish's skin and bone that produced by papain enzyme and its antioxidant activity. The research was conducted from July 2013 until October 2013 at Fisheries Technology Laboratory, Fisheries Product Technology Study Programe and Chemistry and Microbiology Technology of Agriculture Laboratory, Technology of Agriculture Department, Agricultures Faculty of Universitas Sriwijaya and Microbiology and Biochemistry Laboratory, Biological Resource and Biotechnology Research Central, Institut Pertanian Bogor .

Data were expressed as descriptive. All assays were carried out in two repetition. Collagen hydrolysate produce from Catfish's (*Pangasius pangasius*) skin by papain enzyme (SHP) and Catfish's (*Pangasius pangasius*) bone by papain enzyme (BHP) with different incubation time (0, 5, 10, 20, 30, 40, 60, 90, 120 and 160 min, after 4 h of reaction). Parameter observed were collagen yield, degree of hydrolysis, protein content with Kjeldahl method, molecular weight with SDS PAGE (*Sodium Dodecil Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*) method, scavenging free radical DPPH and reducing power.

The result showed the yields of Catfish's skin and bone collagen were 47,55 % and 12,00 %, respectively. The increasing of incubation time could increase

degree of hydrolysis (DH) and antioxidant activity. The highest DH was 4,60 % for SHP and 1,75 % for BHP. Antioxidant activity was evaluated with DPPH radical scavenging activity and reducing power. The highest DPPH radical scavenging activity was 63,06 % for SHP and 71,55 % for BHP. The highest reducing power was 0,817 for SHP and 0,788 for BHP. In the other hand, the increasing of incubation time caused crude protein content decreased. The highest crude protein content were 0,19 % for SHP and 0,33 % for BHP. SDS PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis) analysis showed that hydrolysis process resulted peptides with low molecular weights between 13,84-23,08 kDa for SHP and 13,56-23,59 kDa for BHP.

RINGKASAN

SHELA ANGRAINI. Pembuatan Hidrolisat Kolagen dari Kulit dan Tulang Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) dengan Enzim Papain dan Pengujian Aktivitas Antioksidannya (Dibimbing oleh ACE BAEHAKI dan RODIANA NOPIANTI).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hubungan peningkatan waktu inkubasi terhadap pembuatan hidrolisat kolagen dari kulit dan tulang ikan patin yang dihasilkan dengan enzim papain dan pengujian aktivitas antioksidannya. Penelitian dilaksanakan dari bulan Juli 2013 sampai Oktober 2013 di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan, Program Studi Teknologi Hasil Perikanan dan Laboratorium Kimia dan Mikrobiologi Hasil Pertanian, Jurusan Teknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya serta Laboratorium Mikrobiologi dan Biokimia Pusat Penelitian Sumberdaya Hayati dan Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor.

Data yang didapat disampaikan secara deskriptif. Semua pengujian diselesaikan dengan dua kali pengulangan. Hidrolisat kolagen diproduksi dari kulit ikan patin (*Pangasius pangasius*) dengan enzim papain (HKP) dan tulang ikan patin (*Pangasius pangasius*) dengan enzim papain (HTP) dengan perbedaan waktu inkubasi (0, 5, 10, 20, 30, 40, 60, 90, 120 dan 160 menit, setelah reaksi selama 4 jam). Parameter yang diamati yaitu rendemen kolagen, derajat hidrolisis, kadar protein metode Kjeldahl, berat molekul metode SDS PAGE (*Sodium Dodecil Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*), penangkapan radikal bebas DPPH dan daya reduksi.

Hasil penelitian menunjukkan, rendemen kolagen dari kulit dan tulang ikan patin (*Pangasius pangasius*) adalah 47,55 % dan 12,00 %. Peningkatan waktu inkubasi dapat meningkatkan nilai derajat hidrolisis (DH) dan aktivitas antioksidan. Nilai DH tertinggi adalah 4,60 % untuk HKP dan 1,75 % untuk HTP. Aktivitas antioksidan ditaksir dengan aktivitas penangkapan radikal DPPH dan daya reduksi. Aktivitas penangkapan radikal DPPH tertinggi yaitu 63,06 % untuk HKP dan 71,55 % untuk HTP. Absorbansi tertinggi pada daya reduksi adalah 0,817 untuk HKP dan 0,788 untuk HTP. Sebaliknya, peningkatan waktu inkubasi menyebabkan kandungan protein kasar menurun. Kandungan protein kasar tertinggi adalah 0,19 % untuk HKP dan 0,33 % untuk HTP. Analisis SDS PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis*) menunjukkan bahwa proses hidrolisis dapat menghasilkan peptida dengan berat molekul lebih kecil yaitu antara 13,84-23,09 kDa untuk HKP dan 13,56-23,59 kDa untuk HTP.

**PEMBUATAN HIDROLISAT KOLAGEN DARI KULIT DAN TULANG
IKAN PATIN (*Pangasius pangasius*) DENGAN ENZIM PAPAIN DAN
PENGUJIAN AKTIVITAS ANTIOKSIDANNYA**

**Oleh
SHELA ANGRAINI**

SKRIPSI
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Perikanan

pada
PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SRIWIJAYA

INDRALAYA
2014

Skripsi

PEMBUATAN HIDROLISAT KOLAGEN DARI KULIT DAN TULANG IKAN
PATIN (*Pangasius pangasius*) DENGAN ENZIM PAPAIN DAN PENGUJIAN
AKTIVITAS ANTIOKSIDANNYA

Oleh
SHELA ANGRAINI
05091006026

telah diterima sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar
Sarjana Perikanan

Pembimbing I

Indralaya, 5 Maret 2014



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

Fakultas Pertanian
Universitas Sriwijaya
Dekan,

Pembimbing II



Rodiana Nopianti, S.Pi., M.Sc.



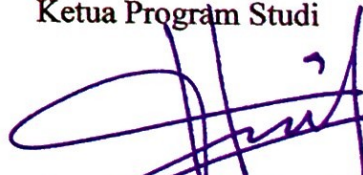
Dr. Ir. Erizal Sodikin
NIP. 196002111985031002

Skripsi berjudul "Pembuatan hidrolisat kolagen dari kulit dan tulang ikan patin (*Pangasius pangasius*) dengan enzim papain dan pengujian aktivitas antioksidannya" oleh Shela Angraini telah dipertahankan di depan komisi pengujian pada tanggal 27 Januari 2014

Komisi Penguji

- | | | |
|---------------------------------------|------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. Dr. Ace Baehaki, S.Pi., M.Si. | Ketua | () |
| 2. Rodiana Nopianti, S.Pi., M.Sc. | Sekretaris | () |
| 3. Agus Supriadi, S.Pt., M.Si. | Anggota | () |
| 4. Shanti Dwita Lestari, S.Pi., M.Sc. | Anggota | () |
| 5. Siti Hanggita R.J., S.T.P., M.Si. | Anggota | () |

Mengesahkan,
Ketua Program Studi



Agus Supriadi, S.Pt, M.Si.
NIP. 197705102008011018

Saya yang bertanda tangan di bawah ini menyatakan dengan sesungguhnya bahwa seluruh data dan informasi yang disajikan dalam skripsi ini, kecuali yang disebutkan dengan jelas sumbernya adalah hasil penelitian atau investigasi saya sendiri di bawah arahan pembimbing dan belum pernah atau tidak sedang diajukan sebagai syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan di tempat lain.

Indralaya, 5 Maret 2014
Yang membuat pernyataan



Shela Angraini

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Baturaja, Ogan Komering Ulu (OKU), Sumatera Selatan, pada tanggal 05 Januari 1992, merupakan anak kedua dari empat bersaudara pasangan Bapak Kesmedi Darwin dan Ibu Parteni.

Pendidikan Sekolah Dasar diselesaikan di SD Negeri 584 Palembang tahun 2003, Sekolah Menengah Pertama diselesaikan di SMP Negeri 53 Palembang tahun 2006, dan Sekolah Menengah Atas diselesaikan di SMA Plus Negeri 4 Ogan Komering Ulu (OKU) tahun 2009. Sejak Agustus 2009 penulis tercatat sebagai mahasiswa Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sriwijaya melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN).

Penulis pernah menjadi asisten praktikum Dasar-dasar Akuakultur pada tahun 2011, Penilaian Indrawi pada tahun 2012, Bahan Baku Hasil Perikanan pada tahun 2013, Pengolahan Limbah Hasil Perikanan pada tahun 2013 dan Tata Niaga Hasil Perikanan pada tahun 2013. Pengalaman organisasi penulis adalah anggota Ikatan Mahasiswa Teknologi Hasil Perikanan (IMASILKAN), Universitas Sriwijaya, pada tahun 2009 sampai 2013.

Penulis telah melaksanakan Kuliah Kerja Nyata (KKN) yang diselenggarakan oleh LPM di Desa Awal Terusan, Kecamatan Sirah Pulau Padang, Kabupaten Ogan Komering Ilir tahun 2012 dan telah melaksanakan Praktek Lapangan di PT. Indokom Samudra Persada dengan judul “Proses Produksi Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*) Lapis Roti Beku (*Frozen Breaded Shrimp*) di PT. Indokom Samudra Persada, Lampung” tahun 2013 dibimbing oleh Ibu Rodiana Nopianti, S.Pi., M.Sc.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis persembahkan kehadirat Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya yang dilimpahkan-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pembuatan Hidrolisat Kolagen dari Kulit dan Tulang Ikan Patin (*Pangasius pangasius*) dengan Enzim Papain dan Pengujian Aktivitas Antioksidannya “. Sholawat serta salam semoga tetap tercurah bagi Nabi Muhammad SAW sebagai suri tauladan umat manusia.

Penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Dekan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
2. Ketua Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.
3. Bapak Dr. Ace Baehaki, S.Pi., M.Si. dan Ibu Rodiana Nopianti, S.Pi., M.Sc. selaku pembimbing atas bimbingan, arahan, perhatian dan kesabaran dalam membantu penulis selama penelitian dan penyelesaian skripsi serta memberikan kepercayaan kepada penulis untuk ikut serta dalam penelitian dengan bantuan dana Hibah Penelitian Unggulan Kompetitif Universitas Sriwijaya Tahun 2013 atas nama Dr. Ace Baehaki, S.Pi., M.Si. dan Rodiana Nopianti, S.Pi., M.Sc.
4. Bapak Agus Supriadi, S.Pt., M.Si., Ibu Shanti Dwita Lestari, S.Pi., M.Sc. dan Ibu Siti Hanggita R.J., S.T.P., M.Si., selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik, saran dan arahan dalam penyelesaian skripsi.
5. Ibu Shanti Dwita Lestari, S.Pi., M.Sc. dan Bapak Budi Purwanto, S.Pi. selaku dosen pembimbing akademik selama kuliah di Universitas Sriwijaya.

6. Kedua orang tua (Ayah dan Ibu) dan saudara-saudara (Yuk Uci, Ika dan Ian) atas kasih sayang, doa, dorongan, bantuan dan kesabaran yang tanpa batas kepada penulis sejak penulis lahir hingga sekarang.
7. Bapak Herpandi, S.Pi., M.Si., Bapak Rinto, S.Pi., M.Si., Ibu Indah Widiastuti, S.Pi., M.Si., Ibu Susi Lestari, S.Pi., M.Si., Ibu Dian Wulansari S.T.P., M.Si. serta seluruh bapak dan ibu dosen Universitas Sriwijaya yang pernah mengajar atas ilmu, perhatian dan bantuannya.
8. Staf administrasi THI, mbak Ani dan para teknisi laboratorium, Mbak Upiet, Mbak Hafsa, Mbak Lisma, Mbak Tika, atas bantuan yang telah diberikan kepada penulis selama penelitian.
9. Sahabat seperjuangan, Gemala, Selly, Chintya, Ida dan Zainona yang telah banyak meluangkan waktu dan memberikan bantuan kepada penulis serta Kiki Agus Ariansyah, S.Pi. untuk arahan, kesabaran dan dorongan semangatnya.
10. Teman THI 2009, Cahya, Linda, Reni, Sandy, Atul, Winda, Siska, Danu, Ivan, Ulil, Reza, Hadi, Bewok, Agus, Diaz, Wahyu, Fajar, Mego, Nandes, Dofin, Yan Ayu dan Franzo, kakak dan adik tingkat THI untuk persahabatan, pengajaran, pengalaman, pengertian, doa dan semangatnya serta semua pihak yang telah membantu penulis. Semoga Allah SWT membalas dengan pahala lebih baik.

Akhirnya penulis semoga skripsi ini dapat berguna dan menjadi sumbangan pemikiran yang bermanfaat bagi semua. Amin Allohmma Amin.

Indralaya, 5 Maret 2014



Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan	3
C. Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. Ikan Patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	4
B. Kolagen	6
C. Enzim Papain	10
D. Hidrolisis Enzimatik	14
E. Hidrolisat Kolagen	15
F. Antioksidan Peptida	17
III. PELAKSANAAN PENELITIAN	
A. Tempat dan Waktu	20
B. Alat dan Bahan	20
C. Metode Penelitian	21
D. Cara Kerja	24
1. Ekstraksi Kolagen Kulit Ikan Patin	24

2. Ekstraksi Kolagen Tulang Ikan Patin	25
3. Pembuatan Enzim Papain	26
4. Hidrolisis Kolagen	26
E. Parameter yang Diamati	27
1. Rendemen Kolagen	27
2. Derajat Hidrolisis	27
3. Analisis Kadar Protein Cara Semi Mikro Kjeldhal	28
4. Penentuan Berat Molekul dengan SDS PAGE (<i>Sodium Dodecil Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>)	28
5. Antioksidan Metode DPPH	30
6. Antioksidan Metode Daya Reduksi	30
F. Analisis Data	31
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Rendemen Kolagen	32
B. Derajat Hidrolisis	33
C. Kadar Protein	37
D. Berat Molekul dengan Metode SDS PAGE (<i>Sodium Dodecil Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>)	40
E. Antioksidan dengan Metode DPPH	44
F. Antioksidan dengan Metode Daya Reduksi	47
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	50
B. Saran	50

DAFTAR PUSTAKA	51
LAMPIRAN	58

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Kandungan gizi ikan patin	5
2. Produksi ikan patin	6
3. Klasifikasi kolagen	9
4. Keaktifan enzim protease terhadap komponen daging	12
5. Komponen antioksidan alami	18

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	4
2. Susunan molekul tropokolagen pada fibril kolagen	8
3. Diagram alir penelitian	23
4. Rendemen kolagen dari kulit dan tulang ikan patin	32
5. Derajat hidrolisis (DH) pembuatan hidrolisat kolagen dengan enzim papain	34
6. Kadar protein kasar hidrolisat kolagen kulit dan tulang ikan patin dengan enzim papain	38
7. SDS PAGE hidrolisat kolagen kulit ikan patin dengan enzim papain ..	41
8. SDS PAGE hidrolisat kolagen tulang ikan patin dengan enzim papain	42
9. Persen penghambatan DPPH hidrolisat kolagen kulit dan tulang ikan patin dengan enzim papain	44
10. Nilai absorbansi daya reduksi hidrolisat kolagen kulit dan tulang ikan patin dengan enzim papain	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Komposisi bahan-bahan yang digunakan dalam analisis berat molekul dengan SDS PAGE (<i>Sodium Dodecil Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis</i>)	58
2. Rendemen kolagen kulit dan tulang ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	61
3. Protein kasar dan total nitrogen (N) hidrolisat kolagen kulit ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	62
4. Protein kasar dan total nitrogen (N) hidrolisat kolagen tulang ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	64
5. Total Nitrogen (N) hidrolisat kolagen kulit dan tulang ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>) yang ditambahkan TCA untuk perhitungan Derajat Hidrolisis (DH)	66
6. Derajat Hidrolisis (DH) hidrolisat kolagen kulit ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	67
7. Derajat Hidrolisis (DH) hidrolisat kolagen tulang ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	69
8. Kurva standar berat molekul hidrolisat kolagen kulit ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	71
9. Perhitungan berat molekul hidrolisat kolagen kulit ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	72
10. Kurva standar berat molekul hidrolisat kolagen tulang ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	73
11. Perhitungan berat molekul hidrolisat kolagen tulang ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	74
12. Persen penghambatan hidrolisat kolagen kulit ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	76
13. Persen penghambatan hidrolisat kolagen tulang ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	78

14. Daya reduksi hidrolisat kolagen kulit ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>)	80
15. Daya reduksi hidrolisat kolagen tulang ikan patin (<i>Pangasius pangasius</i>).....	81
16. Hasil ekstraksi kolagen	82
17. Kolagen pada proses hidrolisis	83
18. Analisis protein metode Kjeldahl (destruksi dan destilasi)	84
19. Analisis antioksidan metode DPPH	85
20. Analisis antioksidan metode daya reduksi	86



I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kolagen adalah protein fibrosa (berserat) yang paling banyak dan membentuk lebih dari 25% massa protein dalam tubuh hewan dan manusia (Muray *et al.*, 2009). Kolagen merupakan kelompok molekul yang terdiri lebih dari 20 jenis. Dari jenis-jenis kolagen yang ada, kolagen tipe I merupakan kolagen paling utama dari molekul spesies. Kolagen tipe I paling banyak terdapat pada bagian tubuh lunak seperti kulit dan tendon maupun bagian tubuh yang keras seperti tulang dan gigi serta jaringan penghubung (Liu *et al.*, 2001). Kolagen jarang menjadi penyebab reaksi alergi dan memiliki toleransi yang baik terhadap manusia (Waszkowiak, 2008). Oleh sebab itu, kolagen tipe I telah banyak digunakan dalam makanan, kosmetik dan bahan-bahan medis (Noitup *et al.*, 2005).

Sumber utama kolagen pada industri kolagen terbatas dari kulit dan tulang sapi dan babi. Akan tetapi, Yamauchi (2002) dalam Nagai *et al.* (2004), menyatakan bahwa terdapat invensi BSE (*Bovine Spongiform Encephalopathy*) yang mewabah pada sapi. Sedangkan kolagen bersumber dari babi, tidak dapat digunakan oleh kalangan masyarakat muslim karena alasan tidak halal. Sehingga banyak penelitian yang dilakukan untuk menemukan sumber kolagen yang aman, hasil menunjukkan bahwa sumber kolagen yang aman tersebut ialah berasal dari hewan air (Zhang *et al.*, 2011).

Ikan patin merupakan hewan air yang memiliki habitat di perairan air tawar. Ikan yang termasuk dalam famili *Pangasidae* ini memiliki rasa yang khas dan sangat

digemari oleh dunia Internasional. Ikan patin merupakan spesies yang banyak dijumpai di pulau Sumatra dan Kalimantan. Produksi ikan patin di Sumatra Selatan (Sumsel) sangat berlimpah dan cenderung mengalami peningkatan setiap tahunnya. Berdasarkan data yang diperoleh dari Pusat Data Statistik dan Informasi (2012), produksi ikan patin pada tahun 2008 sebesar 38.543 ton. Tahun 2009 mencapai 47.265 ton dan pada tahun 2010 terus meningkat hingga 55.583 ton.

Peningkatan produksi ikan patin di Sumsel tentu nantinya akan menghasilkan limbah yang cukup besar. Menurut Centenaro *et al.* (2011), alternatif pemanfaatan limbah yang ada dapat dikembangkan menjadi produk dengan nilai yang lebih tinggi. Kulit dan tulang ikan patin merupakan limbah yang menjadi sumber protein kolagen. Kolagen telah diketahui kaya akan asam amino hidrofobik. Oleh karena itu, kolagen diharapkan menyediakan antioksidan peptida alami dan memberikan sifat antioksidan lebih tinggi (Lin *et al.*, 2010).

Penentuan secara kuantitatif komponen dan susunan asam amino suatu peptida dapat dilakukan dengan menganalisis hidrolisatnya (Bodanszky, 1988). Hidrolisis enzimatis merupakan satu metode yang efektif untuk menyiapkan peptida bioaktif seperti peptida-peptida antioksidan (Lin *et al.*, 2010). Hidrolisis enzimatis telah luas digunakan untuk memperbaiki dan meningkatkan nilai gizi dan sifat fungsional (Centenaro *et al.*, 2011), karena penggunaan enzim sebagai katalis pada produk hidrolisat dapat meningkatkan laju reaksi yang luar biasa tanpa pembentukan produk samping (Yazid dan Nursanti, 2006).

Enzim papain merupakan enzim endopeptidase yang bekerja memutus ikatan peptida yang berada di bagian tengah atau dalam molekul protein substrat sehingga terbentuklah peptida-peptida dengan ukuran yang lebih kecil (Sadikin, 2002).

Penelitian mengenai produk hidrolisat dengan beberapa enzim telah banyak dilakukan terutama menggunakan enzim papain dengan bahan baku ikan, beberapa diantaranya hidrolisat dari kulit ikan allaska pollack dengan enzim papain, neutrase, flavourzyme, alkalase, trypsin dan protamex (Jia *et al.*, 2010), hidrolisat dari ikan rucah dengan enzim papain (Koesoemawardani *et al.*, 2011), hidrolisat dari ikan selar kuning dengan enzim papain (Hidayat, 2005), hidrolisis kecap ikan dengan enzim papain (Hasnan, 1991), hidrolisat kolagen dari kulit ikan tilapia dengan enzim papain, alkalase dan enzim kode 894 (Wang *et al.*, 2013), hidrolisat dari kolagen tulang dengan enzim papain dan alkalase (Lin *et al.*, 2010).

Latar belakang di atas menunjukkan adanya potensi limbah ikan patin yaitu kulit dan tulang untuk dapat dikembangkan menjadi produk bernilai tinggi, salah satunya sifat antioksidan dari peptida yang didapat dari hidrolisis enzimatik. Hal ini menjadi alasan peneliti untuk membuat hidrolisat kolagen dari kulit dan tulang ikan patin (*Pangasius pangasius*) dengan enzim papain serta pengujian aktivitas antioksidan produk hidrolisat kolagen yang dihasilkan.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh peningkatan waktu inkubasi terhadap pembuatan hidrolisat kolagen dari kulit dan tulang ikan patin yang diproduksi dengan enzim papain dan aktivitas antioksidannya.

C. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah diduga adanya pengaruh peningkatan waktu inkubasi terhadap produk hidrolisat kolagen kulit dan hidrolisat kolagen tulang ikan patin dengan enzim papain yang dihasilkan serta aktivitas antioksidannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Almatsier, S. 2009. Prinsip Dasar Ilmu Gizi. PT. Sun, Jakarta.
- Ali, M., N.M. Noor, Y.S. Leksono. 2010. Ekstrak Kolagen dari Sisik Ikan Kakap Merah (*Lutjanus sp*). Prosiding Seminar Nasional Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jakarta.
- Al-Zahrani, R. 2010. Extraction and Isolation of Collagen Type I from Fish Skin. Thesis. University of Otago, New Zealand. (published). ([http://faculty.mu.edu.sa/public/uploads/1338113774.7306projectpdf\[1\].pdf](http://faculty.mu.edu.sa/public/uploads/1338113774.7306projectpdf[1].pdf), diakses tanggal 28 Mei 2013).
- Anwar, E. 2012. Eksipien dalam Sediaan Farmasi, Karakteristik dan Aplikasinya. Dian Rakyat, Jakarta.
- Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist. The Association of Official Analytical Chemist Incorporated, Arhington.
- Bahar, B. 2006. Panduan Praktis Memilih dan Menangani Produk Perikanan. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Balai Budidaya Air Tawar Jambi. 2011. Ikan Patin Siam. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Kementerian Kelautan dan Perikanan. (Online), (<http://www.bbatjambi.co.id/index1.php?act=patinsiam>, diakses pada 28 Mei 2013).
- Benjakul, S., dan M. T. Morrissey. 1997. Protein hydrolysates from Pacific Whiting Solid Wastes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45:3423–3430.
- Bintang, M. 2010. Biokimia-Teknik Penelitian. Erlangga, Jakarta.
- Bodanszky, M. 1988. Peptide Chemistry. *Diterjemahkan oleh Padmawinata, K.* 1998. Kimia Peptida. ITB, Bandung.
- Bordbar, S., A. Ebrahimpour, A.A. hamid, M.Y.A. Manap, F. Anwar dan N. Saari. 2013. The Improvement of the Endogenous Antioxidant Property of Stone Fish (*Actinopyga lecanora*) Tissue Using Enzymatic Proteolysis. *Journal of Biomedical Research International*, (Online) (<http://dx.doi.org/10.1155/2013/849529>, diakses 28 April 2013).

- Cahyadi, W. 2009. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. PT. Bumi Aksara, Jakarta.
- Cahyana, M., T. Ekaprasada. dan A. Herry. 2002. Isolasi Senyawa Antioksidan Kuit Batang Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii* Nees ex Blume). ISSN, 0216-0781.
- Centenaro, G.S., M.S. Mellado dan C.P. Hernandez. 2011. Antioxidant Activity of Protein Hydrolysate of Fish and Chicken Bones. Food Science and Technology, 3(4):280-288.
- deMan, J.M. 1997. Kimia Makanan. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Fatchiyah, E.L. Arumingtyas, S. Widyarti dan S, Rahayu. 2011. Biologi Molekuler Prinsip Dasar Analisis. Erlangga, Jakarta.
- Gomez-Guillen, M.C., B. Gimenez, M.E Lopez-Caballero dan M.P. Montero. 2008. Alternative Sources, a Review. Spanish Ministry of Science and Innovation Under Projects, Madrid.
- Gomez-Guillen, M.C., M.E. Lopez-Caballero, A. Aleman, A.L.D. Lacey, B. Gimenez dan P. Montero. 2010. Antioxidant and Antimicrobial Peptide Fractions from Squid and Tuna Skin Gelatin. Journal of Transworld Research Network, 89-115.
- Hartati, I. dan L. Kurniasari. 2010. Kajian Produksi Kolagen dari Limbah Sisik Ikan secara Ekstraksi Enzimatis. Momentum, 6(1):33-35.
- Hasnaliza, H., M.Y. Maskat, A.W.M. Wan dan S. Mamot. 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. Journal of International Food Research, 17:147-152.
- Hasnan, M. 1991. Pengaruh Penggunaan Enzim Papain Selama Proses Hidrolisis Kecap Ikan. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. (tidak dipublikasikan).
- Hema, G.S., K. Shyni. S. Mathew, R. Anandan dan G. Ninan. 2013. A Simple Methode for Isolation of Fish Skin Collagen-Biochemical Characterization of Skin Collagen Extracted from Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*), Dog Shark (*Scoliodon sorrakowah*) and Rohu (*Labeo rohita*). Journal of Scholars Research Library, 4(1):271-278.
- Herpandi, N. Huda, A. Rosma dan W. A. W. Nadiyah. 2012. Degree of Hydrolysis and Free Tryptophan Content of Skipjack Tuna (*Katsuwonus pelamis*) Protein

Hydrolysates Produced With Different Type of Industrial Proteases. *Journal of International Food Research*, 19(3):863-867.

Hidayat, T. 2005. Pembuatan Hidrolisat Protein dari Ikan Selar Kuning (*Caranx leptolepis*) dengan menggunakan Enzim Papain. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. (dipublikasikan).

Je, J.Y., K.H. Lee, M.H. Lee, and C.B. Ahn, 2009. Antioxidant and Antihypertensive Protein Hydrolysates Produced from Tuna Liver by Enzymatic Hydrolysis. *Journal of Food Research International*, 42: 1266-1272.

Jia, J., Y. Zhou, J. Lu, A. Chen, Y. Li dan G. Zheng. 2010. Enzymatic Hydrolysis of Allaska Pollack (*Theragra chalcogramma*) Skin and Antioxidant Activity of The Result Hydrolysate. *Journal of Science Food Agriculture*, 90:635-640.

Junianto, K. Haetami dan I. Maulina. 2006. Produksi Gelatin dari Tulang Ikan dan Pemanfaatannya Sebagai Bahan Dasar Pembuatan Cangkang Kapsul. Laporan Penelitian Hibah Bersaing IV. Universitas Padjajaran. (dipublikasikan).

Kartasapoetra, G. dan H. Marsetyo. 2010. Ilmu Gizi, Korelasi Gizi dan Produktivitas Kerja. PT. Rineka Cipta, Jakarta.

Khairuman dan D. Sudenda. 2011. Budidaya Patin Secara Intensif. PT. Agromedia Pustaka, Jakarta.

Kirk, R. E dan J. B. Othmer. 1953. *Encyclopedia of Chemical Technology*. The Interscience Encyclopedia Inc, New York.

Kittiphattanabawon, P., B. Soottawat, V. Wonnop, N. Takashi dan T. Munehiko. 2005. Characterisation of acid Soluble Collagen from Skin and Bone of Bigeye Snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Chemistry*, 89:363-372.

Klompong, V., S. Benjakul, D. Kantachote dan F. Shahidi. 2007. Antioxidative Activity and Functional Properties of Protein Hydrolysate of Yellow Stripe Trevally (*Selaroides leptolepis*) as Influenced by Degree of Hydrolysis and Enzyme Type. *Food Chemistry*, 102:1317-1327.

Koesoemawardani, D. 2001. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein Ikan Kembung (*Rastrelliger neglectus*) menggunakan Enzim Papain. Tesis S2. Universitas Gadjah Mada (Abstr).

Koesocmawardani, D., F. Nurainy dan S. Hidayati. 2011. Proses Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Rucah. *Jurnal Natur Indonesia*, 13(3):256-261.

- Kusmartono, B. dan M.A. Noya. 2008. Hidrolisis Kolagen Pembuatan Lem dari Kulit Split dengan Katalisator H₂SO₄. *Jurnal Teknologi*, 1(1):78-82.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of Structural Proteins During Assembly of Head of Bacteriophage T4. *Journal of Nature*, 277:680-685.
- Li, B., F. Chen, X. Wang, B. Ji dan Y. Wu. 2007. Isolation and Identification of Antioxidative Peptides from Porcine Collagen Hydrolysate by Consecutive Chromatography and Electrospray Ionization-mass Spectrometry. *Food Chemistry*, 102:1135-1143.
- Lin, Y.J., G.W. Le, J.Y. Wang, Y.X. Li, Y.H. Shi dan J. Sun. 2010. Antioxidative Peptides Derived from Enzyme Hydrolysis of Bone Collagen after Microwave Assisted Acid Pre Treatment and Nitrogen Protection. *International Journal of Molecular Science*, 11:4297-4308.
- Liu, D.C., Y.K. Lin dan M.T. Chen. 2001. Optimum Condition of Extracting Collagen from Chicken Feet and Its Characteristics. *Asian-Australian Journal of Animal Science*, 14:1638-1644.
- Mal, R., L. E. Radiati dan Purwadi. 2013. Pengaruh Lama Penyimpanan pada Suhu Refrigerator Terhadap Nilai pH, Viskositas, Total Asam Laktat dan Profil Protein Terlarut Kefir Susu Kambing. Skripsi. Universitas Brawijaya. (dipublikasikan).
- Muchtadi, D. 2012. Pangan Fungsional dan Senyawa Bioaktif. CV. Alfabeta, Bandung.
- Muralidharan, N., R. J. Shakila, D. Sukumar, G. Jayasekaran. 2011. Skin, Bone and Muscle Collagen Extraction from the Trash Fish, Leather Jacket (*Odonus niger*) and Their Characterization. *Journal of Food Science Technology*.
- Murray, R.K., D. K. Granner dan V.W. Rodwell. 2009. Biokimia Harper. Buku Kedokteran ECG, Jakarta.
- Nagai, T. dan Suzuki, N. 2000. Preparation and Characterization of Several Fish Bone Collagens. *Journal of Food Biochemistry*, 24: 427-436.
- Nagai, T., M. Izumi dan M. Ishii. 2004. Fish Scale Collagen, Preparation and Partial Characterization. *International Journal of Food Science and Technology*, 39:239-244.

- Noitup, P, W. Garnjanagoonchorn dan M.T. Morrissey. 2005. Fish Skin Tipe I Collagen, Characteristic Comparison of Albacore Tuna (*Thunnus alalunga*) and Silver-Line Grunt (*Pomadasys kaakan*). Kasetsart University, Bangkok.
- Ogawa, M., R. J. Portier, M. W. Moody, J. Bell, M.A. Schexnayder dan J. N. Losso. 2004. Biochemical Properties of Bone and Scale Collagens Isolated from the Subtropical Fish Black Drum (*Pongonia cromis*) and Sheepshead Seabream (*Archosargus probatocephalus*). Journal of Food Chemistry, 88:495-501.
- Ohba, R., T. Deguchi, M. Kishikawa, F. Arsyad, S. Morimura dan K. Kida. 2003. Physiological Functions of Enzymatic Hydrolysates of Collagen or keratin Contained in Livestock and Fish Waste. Journal of Food Science Technology Research, 9(1):91-93.
- Perwitasari, D.S. 2008. Hidrolisis Tulang Sapi Menggunakan HCl Untuk Pembuatan Gelatin. Makalah Seminar Nasional Soebardjo Brotohardjono, Surabaya.
- Prasetyo, N.M., N. Sari dan C.S. Budiayati. 2012. Pembuatan Kecap Ikan Gabus secara Hidrolisis Enzimatik Menggunakan Sari Nanas. Jurnal Teknologi Kimia dan Industri, 1(1):270-276.
- Prayitno. 2007. Ekstraksi Kolagen Cakar Ayam dengan Berbagai Jenis Larutan Asam dan Lama Perendamannya. Animal Production, 2(9):99-104.
- Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*). Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor. (dipublikasikan).
- Pusat Data Statistik dan Informasi. 2012. Statistik Perikanan Tangkap, Perikanan Budidaya dan Ekspor Impor Setiap Provinsi Seluruh Indonesia 2003-2010. Pusat Data Statistik dan Informasi, Sekretariat Jenderal Kementerian Kelautan dan Perikanan, Jakarta.
- Putri, Y.S., Fatimah dan S. Sumarsih. 2012. Skrining dan Uji Aktivitas Enzim Protease Bakteri dari Limbah Rumah Pemotongan Hewan. Universitas Airlangga, Surabaya.
- Sadikin, M. 2002. Biokimia Enzim. Widya Medika, Jakarta.
- Sani. 2008. Penambahan Natrium Bisulfit pada Kualitas Enzim Papain dari Getah Pepaya secara MCU. Unesa University Press, Surabaya.
- Schrieber, R. dan H. Gareis. 2007. Gelatine Handbook. Wiley VCH Verlag GmbH & Co, Bicentennial.

- Sediaoetama, A. D. 2004. Ilmu Gizi. Dian Rakyat, Jakarta.
- Setiawan, R. 2006. Enzim Bromelin dan Enzim Papain. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Silalahi, J. 2006. Makanan Fungsional. Kanisius. Yogyakarta.
- Singh, P., S. Benjakul, S. Maqsood dan H. Kishimura. 2011. Isolation and Characterization of Collagen From the Skin of Striped Catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). Journal of Food Chemistry, 124(2011):07-105.
- Sudarmadji, S. 1984. Prosedur Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 2003. Analisa Bahan Makanan dan Pertanian. Liberty. Yogyakarta.
- Sumarlin, L.O., S. Nurbayti dan S. Fauziah. 2011. Penghambatan Enzim Pemecah Protein (Papain) oleh Ekstrak Rokok, Minuman Beralkohol dan Kopi secara In Vitro. Valensi 2(3):449-458.
- Tabarestani, H.S., Y. Maghsoudlou, A. Motamedzadegan, A.R.S. Mahoonak dan H. Rostamzad. Studu on Properties of Acid Soluble Collagen Isolated from Fish Skin and Bones of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*). International Journal of Food Research, 19(1):251-257.
- Toha, A.H.A. 2001. Biokimia, Metabolisme Biomolekul. Alfabeta. Jakarta.
- Wang, W., Z. Li, J. Liu, Y. Wang, S. Liu dan M. Sun. 2013. Comparison Between Thermal Hydrolysis adn Enzymatic Proteolysis Process for the Preparation of Tilapia Skin Collagen Hydrolysates. Czech Journal of Food Science, 31(1):1-4.
- Waszkowiak, K. 2008. Antioxidative Activity of Rosemary Extract Using Connective Tissue Proteins as Carriers. International Journal of Food Science Technology, 43:1437-1442.
- Whittaker, J.R. 1994. Principle of Enzymology for the Food Science. Marcel Decker, New York, 29-62.
- Winarno, F.G. 1983. Enzim Pangan. PT. Gramedia, Jakarta
- Winarsi, H. 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas, Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Kanisius, Yogyakarta.

- Witono, Y., Aulanni'am, A. Subagio dan S.B. Widjanarko. 2007. Karakterisasi Hidroisat Protein Kedelai Hasil Hidrolisis Menggunakan Protease dari Tanaman Biduri (*Calotropis gigantean*). Berk. Penel. Hayati, 13:7-13.
- Yazid, E. dan L. Nursanti. 2006. Penuntun Praktikum Biokimia Untuk Mahasiswa Analis. Andi, Yogyakarta.
- Yuniwati, M., Yusran dan Rahmadany. 2008. Pemanfaatan Enzim Papain sebagai Penggumpal dalam Pembuatan Keju. Seminar Nasional Aplikasi Sains dan Teknologi, Yogyakarta.
- Zhang, F., A. Wang, Z. Li, S. He dan L. Shao. 2011. Preparation and Characterisation of Collagen from Freshwater Fish Scales. Journal of Scientific Research, 2(8):8-823.
- Zhang, Z., G. Li, dan B. Shi. 2005. Physicochemical Properties of Collagen, Gelatin and Collagen Hydrolysate Derived from Bovine Lined split Wastes. Journal of The Society of Leather Technologists and Chemists, 90:23-28.