

## KARAKTERISTIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN HIDROLISAT PROTEIN IKAN NIKE (*Awaous melanocephalus*)

### *The Protein Hydrolyzate Antioxidant Characteristics and Activities of Nike Fish (*Awaous melanocephalus*)*

Wisna Taniyo, Yuszda K. Salimi, Hendri Iyabu\*

Program Studi kimia, Universitas Negeri Gorontalo, Gorontalo

Email: hendriiyabu@ung.ac.id

**Abstrak.** Ikan nike adalah salah satu jenis ikan endemik di provinsi Gorontalo. Ikan nike ini memiliki keunikan tersendiri yaitu siklus pemunculannya terjadi dalam jumlah besar pada lokasi tertentu terdapat di muara Sungai Bone, keberadaan nike yang musiman perlu dimanfaatkan secara baik-baik. Tujuan penelitian ini menganalisis aktivitas antioksidan dari hidrolisat protein ikan nike (*Awaous melanocephalus*) secara enzimatik menggunakan enzim bromelin variasi konsentrasi 4%, 5% dan 6% (b/v) serta variasi waktu hidrolisis selama 2, 4 dan 6 jam. Konsentrasi optimum enzim bromelin dalam pembuatan hidrolisat protein yaitu 5% (b/v) dengan waktu hidrolisis optimum selama 6 jam. Parameter yang diamati adalah TVB-N (*Total Volatil Basa Nitrogen*), uji kualitatif protein (biuret, ninhidrin, xanthoprotein dan Pb-sulfida), Kadar protein menggunakan BSA (*Bovine Serum Albumin*), dan aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Hasil menunjukkan bahwa hidrolisat protein ikan nike memiliki nilai TVB-N kurang dari 10 mgN/100g. Hidrolisat protein ikan nike positif mengandung protein pada uji kualitatif. Kadar protein yang dihasilkan sebesar 6,25%. Nilai aktivitas antioksidan tertinggi pada konsentrasi enzim 5% dengan waktu hidrolisis 6 jam memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 193 ppm.

**Kata Kunci:** ikan nike, enzim bromelin, hidrolisat protein, DPPH

**Abstract.** Nike fish is one of the endemic fish species in Gorontalo province. This Nike fish has its own uniqueness, namely, the appearance cycle occurs in large numbers at certain locations in the estuary of the Bone rivers; the seasonal existence of Nike needs to be utilized properly. This research aims at analyzing the antioxidant activity of Nike fish's (*Awaous melanocephalus*) protein hydrolyzate enzymatically using the bromelain enzyme. The variations of bromelain enzyme with concentrations of 4, 5, and 6% (w/v), as well as variations in hydrolysis time for 2, 4, and 6 hours. The research parameters are TVB-N (*Total Volatile Base Nitrogen*), protein qualitative test (biuret, ninhydrin, xanthoprotein, and sulfide timbal) of protein content using bovine serum albumin, and antioxidant activity using DPPH method (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Findings revealed that Nike fish's protein hydrolyzate contains the TVB-N value of less than 10 mgN/100g. Nike fish's protein hydrolyzate positively contains a protein of 6,25%. The highest antioxidant activity is one enzyme concentration of 5% with hydrolysis time of 6 hours which obtains  $IC_{50}$  of 193 ppm.

**Keywords:** Nike Fish, bromelain enzyme, hydrolyzate protein, DPPH

## PENDAHULUAN

Ikan nike adalah jenis ikan endemik di daerah Gorontalo. Ikan nike ini memiliki keunikan tersendiri yaitu siklus kemunculan ikan ini hanya bias ditemukan sekali dalam sebulan atau lebih. Berdasarkan data Dinas Kelautan dan Perikanan (DKP) Provinsi Gorontalo (Tuina *et al*, 2013).

Pemanfaatan ikan nike oleh masyarakat Gorontalo masih sebatas diolah menjadi makanan biasa seperti perkedel, pepes atau ditumis, dimana makanan atau olahan tersebut tidak dapat bertahan lama, cepat rusak/basi. Pemanfaatan ikan nike sebagai bahan produksi olahan yang dapat disimpan dalam jangka waktu lama seperti kerupuk ikan atau olahan lainnya masih kurang dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ikan nike memiliki kandungan protein yang cukup besar mencapai 16, 89% (Yusuf, 2011) sehingga berpotensi dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku hidrolisat protein ikan.

Hidrolisat protein ikan adalah produk cairan yang dihasilkan dari peruraian protein ikan menjadi senyawa-senyawa berantai pendek karena adanya proses hidrolisis baik oleh asam, basa maupun enzim . Proses pembuatan hidrolisat protein ikan yang paling efisien yaitu secara enzimatik karena enzim dapat menghasilkan peptida yang kurang kompleks dan sangat tinggi. Hidrolisat protein ikan secara enzimatik dapat menunjukkan protein sebagai antioksidan melalui kemampuannya dalam menangkap radikal bebas, donor proton dan pengikat ion logam.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi, dengan cara mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Antioksidan dapat bekerja pada level yang berbeda dalam urutan oksidasi. Berdasarkan sumbernya antioksidan dibedakan menjadi dua yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia dan diproduksi untuk tujuan komersial, antioksidan ini ditambahkan dengan tujuan untuk memperlambat oksidasi lemak. Antioksidan alami biasanya lebih diminati, karena tingkat keamanannya yang lebih baik dan manfaatnya lebih luas dibidang makanan, antioksidan jenis ini banyak ditemukan pada hampir semua bahan pangan. Oleh sebab itu, pencarian antioksidan alami sebagai alternatif antioksidan sintetis mendapat perhatian yang besar dikalangan peneliti (Baehaki *et al*, 2015).

Beberapa penelitian tentang hidrolisat protein sudah dilakukan dengan menggunakan berbagai macam jenis hewan maupun enzim. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Nofiandi *et al* (2020) terhadap pembuatan hidrolisat protein paru kambing memanfaatkan enzim yang berasal dari tanaman pepaya dan aktivitas antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pembuatan hidrolisat protein paru kambing terbaik pada penambahan konsentrasi enzim 4% selama 6 jam. Menurut Baehaki *et al* (2015) hidrolisat protein ikan patin menggunakan enzim papain dan aktivitas antioksidan hidrolisatnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hidrolisat protein ikan patin memiliki nilai terbaik pada penambahan konsentrasi 6% selama 6 jam.

Berdasarkan uraian di atas, yang menjadi tujuan dalam penelitian ini adalah untuk menganalisis aktivitas antioksidan dari hidrolisat protein ikan nike (*Awaous melanocephalus*) secara enzimatik menggunakan enzim bromelin dengan konsentrasi 4,5, dan 6% dengan waktu hidrolisis 2, 4 dan 6 jam

## **METODE PENELITIAN**

Metode dalam penelitian ini adalah eksperimen yang dilakukan di Laboratorium Kimia, jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Gorontalo (UNG) selama 3 bulan

### **Alat dan Bahan**

Sampel yang digunakan yaitu ikan nikel, enzim bromelin, NaOH (Merck), HCl (Merck), indikator phenolphthalein (Merck), akuades, HNO<sub>3</sub> (Merck), larutan ninhidrin, reagen biuret, larutan standar *Bovin Serum Albumin* (BSA), CuSO<sub>4</sub> (Merck), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (Merck), H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (Merck), Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (Merck), DPPH, dan *trichloroacetic acid* (TCA).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain seperangkat alat gelas laboratorium (pyrex) neraca analitik (Ohaus), kertas saring, termometer, pipet tetes, tabung reaksi, rak tabung reaksi, buret, statif dan klem, blender (Philips), sentrifuge (Sabata), oven (Thermo Scientific), pengaduk, *waterbath shaker* (Jisico), pH meter (Horiba), cawan *conway*, dan spektrofotometer UV-Vis (Orion AquaMate 8000).

### **Prosedur**

#### ***Preparasi Sampel***

Ikan nikel sebanyak 300 gram dibersihkan dengan air dan ditiriskan. Selanjutnya ikan nikel diblender menggunakan akuades dengan perbandingan (1:4 w/v), hasil yang diperoleh disaring dengan kertas saring. Selanjutnya diambil sebanyak 270 mL filtrat dari hasil penyaringan.

#### ***Hidrolisat Protein Ikan Nike***

Pembuatan hidrolisat protein dilakukan dengan menggunakan metode Nofiandi *et al*, (2020) yang telah dimodifikasi. Melalui reaksi enzimatik menggunakan enzim bromelin. Metode pembuatan hidrolisat protein ikan yang digunakan dalam penelitian ini merupakan Bahan baku yang telah dipreparasi dilakukan penambahan enzim bromelin dengan konsentrasi optimum 4, 5, dan 6% (b/v) dengan perbandingan 1:4. Selanjutnya diatur pH sampai memperoleh pH 7 dengan menambahkan HCl 1 M dan NaOH 1 M. Kemudian dilakukan proses hidrolisis pada suhu 55 °C selama 2, 4, dan 6 jam menggunakan *waterbath shaker*. Setelah itu, hasil hidrolisat dilakukan proses inaktivasi enzim pada suhu 90 °C selama 20 menit dengan menggunakan *waterbath*. Kemudian disaring untuk mendapatkan filtrat, Filtrat kemudian disentrifugasi pada suhu 4 °C dengan kecepatan 3.500 rpm selama 20 menit. Supernatan yang kaya akan protein disaring dengan menggunakan kertas saring. Kemudian filtrat diambil untuk dianalisis.

#### ***Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan Nike***

##### ***TVB-N***

TVB-N dilakukan berdasarkan SNI-01-4495-1998. Sampel ditimbang 0,27 gram. Kemudian ditambahkan dengan 10 mL TCA 7%. Selanjutnya 1 mL asam borat dimasukkan ke dalam *inner chamber* cawan *conway*, lalu sampel dimasukkan ke bagian luar cawan *conway*. Selanjutnya cawan *conway* ditutup, lalu ditambahkan 1 mL larutan K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> jenuh pada bagian luar, Selanjutnya dilakukan hal yang sama pada blanko, filtrat diganti dengan larutan TCA 5%. Inkubasi sampel pada suhu 55 °C selama 30 menit. Setelah diinkubasi bagian dalam cawan *conway* baik pada blanko maupun sampel,

dititrasi dengan HCl 0,02 N sampai berwarna merah mudah seperti pada blanko. Hasil titrasi dicatat dan dimasukkan dengan perhitungan (Dalle, 2021):

$$\text{TVB (mgN\%)} = \frac{(v \text{ sampel} - v \text{ blanko}) \times N \text{ HCl} \times 14,007}{\text{berat sampel} \times 1000} \times 100\%$$

### **Uji Kualitatif Protein**

Uji kualitatif protein yang dilakukan adalah Uji Biuret, Ninhidrin, Xanthoprotein dan Uji Pb Sulfida. Untuk uji kualitatif, mengadopsi metode yang dilakukan oleh Hanum (2017)

#### **1. Uji Biuret**

Memasukkan 1-2 mL sampel kedalam tabung reaksi. Kemudian menambahkan 1 mL NaOH 10%. Selanjutnya tambahkan 1 mL larutan CuSO<sub>4</sub> 0,1% dan dikocok. Reaksi positif terbentuk warna kemerah-merahan sampai ungu.

#### **2. Uji Ninhidrin**

Memasukkan 1-2 mL sampel kedalam tabung reaksi. Kemudian menambahkan 5 tetes larutan ninhidrin 0,1%, kemudian panaskan sampai mendidih selama 5 menit dan mengamati perubahan yang terjadi dengan menghasilkan warna ungu.

#### **3. Uji Xanthoprotein**

Memasukkan 1-2 mL sampel kedalam tabung reaksi. Kemudian tambahkan HNO<sub>3</sub> pekat serta amati adanya endapan putih yang terbentuk, kemudian panaskan selama 2 menit. Selanjutnya mendinginkan masing-masing dengan air keran, setelah dingin tambahkan tetes demi tetes larutan NaOH pekat hingga suasana larutan menjadi basa. Perubahan terjadi dengan munculnya gumpalan atau cincin warna kuning.

#### **4. Uji Pb Sulfida**

Memasukkan 1-2 mL sampel kedalam tabung reaksi. Kemudian menambahkan beberapa tetes NaOH 4% dan dididihkan selama 2 menit. Kemudian didinginkan, setelah didinginkan kemudian menambahkan beberapa tetes larutan Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> selama 2 menit. Amati perubahan warna menjadi coklat sampai hitam.

### **Uji Kuantitatif Protein**

Pengukuran kadar protein dengan menggunakan *Bovin Serum Albumin* (BSA) sebagai standar. Memasukkan sebanyak 1 mL sampel dan kemudian diencerkan dengan aquadest hingga volume menjadi 5 mL. Setelah homogen dipipet 1 mL ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan reagen biuret sebanyak 4 mL dan diinkubasi selama 15 menit. Selanjutnya diukur absorbansi untuk mengetahui kadar protein dari hidrolisat protein ikan nike (*Awaous melanocephalus*).

$$\text{Konsentrasi} = \frac{A-b}{a}$$

$$\text{Berat protein} = \text{volume sampel} \times \text{konsentrasi protein}$$

$$\text{Kadar protein} = \frac{\text{berat protein}}{\text{berat sampel}} \times 100\%$$

#### **Aktivitas Antioksidan**

Sampel dibuat dalam konsentrasi 200, 400, 600,800 dan 1000 ppm. Masing-masing sampel diambil 2 mL dan direaksikan dengan 2 mL DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm untuk mengetahui persen inhibisi terhadap radikal bebas. Data absorbansinya yang diperoleh dari tiap konsentrasi masing-masing sampel dihitung daya anti oksidan (Sayuti, 2015):

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Hasil perhitungan persen (%) inhibisi disubstitusikan ke dalam persamaan:

$$y = ax + b$$

Dimana:

$$\begin{array}{ll} y = \% \text{ inhibisi} & a = \text{Gradien} \\ x = \text{Konsentrasi} & b = \text{Konstanta} \end{array}$$

Persamaan linear yang dihasilkan digunakan untuk memperoleh nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  merupakan konsentrasi yang diperoleh pada saat % inhibisi sebesar 50 dari persamaan  $y = ax + b$ . Pada saat % Inhibisi = 50, maka untuk menghitung nilai  $IC_{50}$  persamaannya menjadi:  $50 = ax + b$

$$x = \frac{50 - b}{a} \text{ Harga } x \text{ adalah } IC_{50}$$

## **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

### **Preparasi Sampel**

Ikan nike yang digunakan pada penelitian ini adalah ikan nike *Awaous melanocephalus* yang memiliki bentuk tubuh antara 1-2 cm dan terdapat garis merah melingkar. Ikan nike dengan pemunculan hari pertama dan masih segar ini diperoleh dari tempat pelelangan ikan Kota Gorontalo, Provinsi Gorontalo. Ikan nike kemudian dibekukan dalam freezer dengan tujuan agar komponen yang terdapat dalam sampel tidak rusak sebelum dianalisis di Laboratorium. Ikan nike yang telah dibekUCAIRKAN dicuci dengan air bersih dan ditiriskan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat dalam sampel.

### **Hidrolisat Protein Ikan Nike**

Pembuatan hidrolisat protein ikan nike dilakukan dengan hidrolisis secara enzimatik menggunakan enzim bromelin. Enzim merupakan protein yang memiliki aktivitas katalisis untuk menurunkan energi aktivasi suatu reaksi sehingga konversi

substrat menjadi produk dapat berlangsung lebih cepat. Pembuatan hidrolisat protein ikan pada penelitian ini dilakukan dengan variasi konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis. Tujuan memvariasikan konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis adalah untuk mengetahui kondisi optimum dari proses hidrolisis. Variasi konsentrasi enzim bromelin yang digunakan yaitu 4, 5, dan 6% (b/v). Variasi waktu hidrolisis yaitu 2, 4, dan 6 jam. Proses hidrolisis dilakukan menggunakan pH 7, karena enzim bromelin memiliki aktivitas optimal pada pH 7. Ketika nilai pH diubah, hal ini akan mengarah ke perubahan bentuk enzim. Perubahan tingkat pH yang signifikan akan membuat enzim dan substrat mengalami denaturasi, sehingga hidrolisis tidak berjalan secara optimal. Hidrolisis pada suhu 55 °C dilakukan karena merupakan suhu yang optimum untuk menghidrolisis protein ikan dengan enzim bromelin. Jika suhu hidrolisis lebih dari 55 °C maka stabilitas struktur molekul enzim tidak dapat dipertahankan sehingga aktivitas proteolitiknya hilang. Setelah proses hidrolisis dilakukan, hidrolisat yang diperoleh dipanaskan pada suhu 90 °C selama 20 menit untuk inaktivasi enzim dan menghentikan proses hidrolisis. Hidrolisat protein yang dihasilkan kemudian didinginkan dan diendapkan dengan tujuan mencegah kemungkinan proses hidrolisis yang masih berlangsung dan membekukan lemak yang terdapat pada hidrolisat sehingga lapisan lemak dapat dihilangkan dengan mudah. Setelah proses inaktivasi enzim dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3.500 rpm selama 20 menit pada suhu 4 °C untuk memisahkan fraksi terlarut (fitrat) dan fraksi tidak terlarut (pellet). Fraksi tidak terlarut sebagian besar merupakan lemak dan daging. Sedangkan supernatan yang didapatkan merupakan hidrolisat basa yang selanjutnya akan dianalisis.

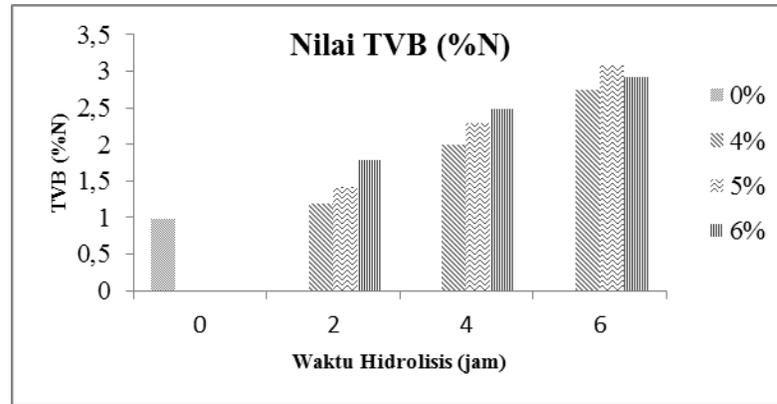
#### ***Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan Nike***

##### ***TVB-N***

Prinsip dari analisis TVB-N adalah menguapkan senyawa-senyawa basa volatil (amina, di-, dan trimetilamin). Senyawa tersebut kemudian diikat oleh asam borat dan dititrasi dengan larutan HCl. Kandungan basa mudah menguap (TVB) merupakan hasil akhir penguraian protein.

Pada gambar 1 menunjukkan bahwa kandungan rata-rata TVB-N masing-masing perlakuan mengalami peningkatan. Dari hasil yang diperoleh nilai TVB-N terendah terdapat pada perlakuan 0%-0 jam yaitu sebesar 0,98 mgN/100 g dan tertinggi pada konsentrasi 5% selama 6 jam sebesar 3,08 mgN/100 g. Annisah (2019) membagi kesegaran ikan menjadi 4 kriteria berdasarkan nilai TVB-N. Ikan termasuk sangat segar apabila nilai TVB-N kurang dari 10 mgN/100 g. Ikan dengan nilai TVB-N antara 10-20 mgN/100 g termasuk dalam kriteria segar. Ikan termasuk kriteria masih bisa dikonsumsi apabila nilai TVB-N antara 20-30 mgN/100 g dan tidak bisa dikonsumsi apabila nilai TVB-N lebih dari 30 mgN/100 g.

Berdasarkan standar kandungan TVB-N maka semua perlakuan termasuk kategori sangat segar karena memiliki nilai TVB-N kurang dari 10 mgN/100 g. Adapun hasil penentuan nilai TVB-N dari hidrolisat protein ikan nike dapat diamati pada gambar 1.



Gambar 1. Nilai TVB-N hidrolisat protein ikan nike

Dari hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nyata terhadap jumlah TVB-N dari setiap perlakuan karena memiliki standar kurang dari 10 mgN/100g. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis maka semakin meningkat kadar TVB-N. Peningkatan TVB-N berkaitan dengan pemecahan protein menjadi senyawa-senyawa sederhana yang mengandung basa-basa menguap seperti amonia dan trimetilamina. Hal ini terjadi baik secara enzimatik maupun oleh aktivitas mikroba. Sesuai dengan pernyataan Jenny (2012) bahwa aktivitas enzim maupun mikroba dapat menguraikan protein sehingga menghasilkan senyawa yang bersifat mudah menguap seperti amonia dan lainnya.

#### Uji Kualitatif Protein

Ada beberapa macam uji kualitatif protein yang digunakan pada penelitian ini yaitu uji biuret, uji ninhidrin, uji xanthoprotein dan uji Pb-Sulfida. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan pada uji kualitatif disajikan pada tabel 1.

Tabel 1. Uji kualitatif hidrolisat protein ikan nike

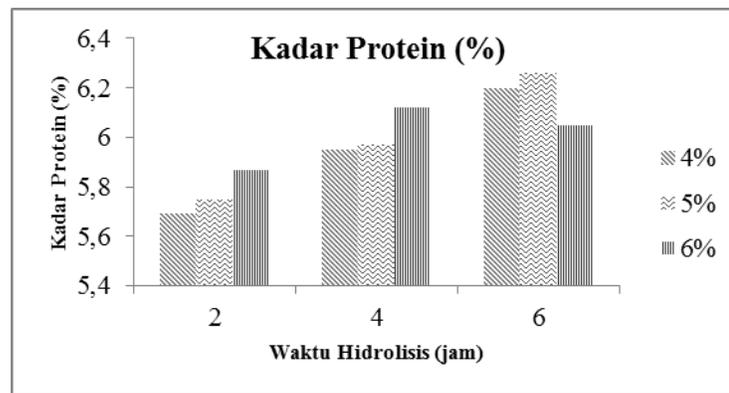
Sampel HPI nike	Uji Biuret	Uji Ninhidrin	Uji Xanthoprotein	Uji Pb-Sulfida
4%-2 jam	+	+	+	+
5%-2 jam	+	+	+	+
6%-2 jam	+	+	+	+
4%-4 jam	+	+	+	+
5%-4 jam	+	+	+	+
6%-4 jam	+	+	+	+
4%-6 jam	+	+	+	+
5%-6 jam	+	+	+	+
6%-6 jam	+	+	+	+

Keterangan:

Uji biuret	: (+) menandakan adanya protein
Uji ninhidrin	: (+) menandakan adanya asam amino bebas
Uji xanthoprotein	: (+) menandakan adanya senyawa aromatik
Uji Pb Sulfida	: (+) menandakan adanya sistein

### Uji Kuantitatif Protein

Metode penerapan protein dengan metode biuret dapat digunakan untuk analisis protein semua jenis bahan pangan. Prinsip dari metode ini yaitu ion-ion tembaga (Cu) dalam suasana alkalis akan membentuk senyawa kompleks yang berwarna ungu dan intensitas warnanya diukur dengan spektrofotometer menggunakan panjang gelombang 569 nm. Hasil penentuan analisis kadar protein dari hidrolisat protein ikan nike terlihat pada gambar 2.



Gambar 2. Kadar Protein hidrolisat protein ikan nike

Dari gambar 2 dapat diketahui bahwa hidrolisat protein ikan nike memiliki kadar protein tertinggi pada konsentrasi enzim 5% (b/v) selama 6 jam sebesar 6,29 %, sedangkan kadar protein terendah pada konsentrasi 4% (b/v) selama 2 jam sebesar 5,69 %. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan selama proses hidrolisis. Peningkatan kandungan protein dalam produk hidrolisat disebabkan selama proses hidrolisis terjadi konversi protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut, selanjutnya terurai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida, asam amino dan amonia sehingga mudah diserap oleh tubuh (Deviani, 2021). Menurut Hasnaliza *et al* (2010) dalam Kurniawan (2014) mengatakan bahwa waktu hidrolisis yang semakin meningkat dalam proses hidrolisis akan menyebabkan peningkatan kandungan protein terlarut dalam hidrolisat protein ikan. Konsentrasi enzim berpengaruh terhadap reaksi antara enzim dengan substrat yang akan menentukan kecepatan reaksi hidrolisis (Amelia, 2012). Gambar 2 menunjukkan bahwa konsentrasi enzim berpengaruh terhadap perubahan kenaikan kadar protein terlarut, hal tersebut dapat dilihat bahwa kadar protein terlarut mengalami peningkatan pada konsentrasi 4% dan 5% sedangkan pada konsentrasi 6% mengalami penurunan. Menurut Amelia (2012) penggunaan konsentrasi enzim yang lebih tinggi dapat menurunkan aktivitas hidrolisis yang ditandai

dengan penurunan kadar protein terlarut. Penggunaan enzim berlebihan menyebabkan tidak semua enzim dengan substrat sehingga kecepatan maksimum tidak dapat dicapai dan proses hidrolisis menjadi tidak efisien.

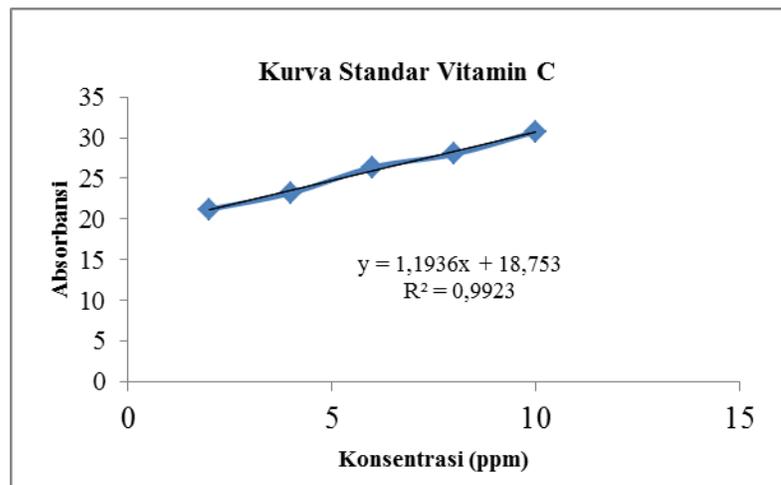
Kondisi optimum proses hidrolisis protein ikan nike oleh enzim bromelin tercapai pada konsentrasi enzim 5% dan waktu hidrolisis 6 jam dengan perolehan kadar protein sebesar 6,29 %. Penelitian sebelumnya Khairunissa (2019) memiliki kadar protein terlarut pada hidrolisat protein ikan tembakul sebesar 8,58%. Jika dibandingkan dengan penelitian ini maka kadar protein pada penelitian sebelumnya lebih besar. Hal ini disebabkan karena perbedaan jenis ikan dan enzim yang digunakan berbeda sehingga kadar protein yang dihasilkan berbeda.

#### **Aktivitas Antioksidan**

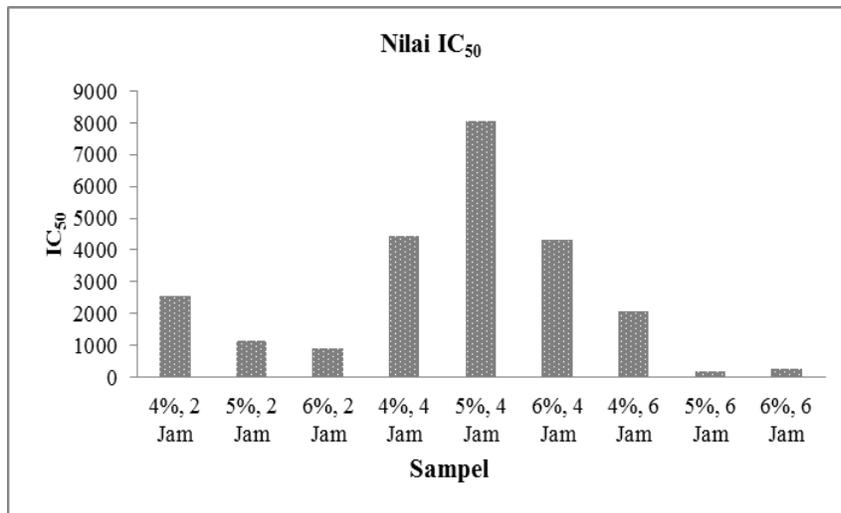
Penentuan nilai aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). Pemilihan penggunaan metode ini karena merupakan metode yang sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Selain itu metode uji antioksidan menggunakan DPPH adalah salah satu metode uji kuantitatif untuk mengetahui seberapa besar aktivitas hidrolisat protein ikan nike sebagai antioksidan.

Pengukuran aktivitas antioksidan secara spektrofotometer dilakukan pada panjang gelombang 517 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum DPPH. Nilai absorbansi DPPH yang diperoleh dapat ditentukan nilai persentase penghambat radikal DPPH (%inhibisi), dari nilai % inhibisi dapat ditentukan nilai  $IC_{50}$  (*inhibitory concentration*).

Hasil uji aktivitas antioksidan hidrolisat protein ikan nike dengan variasi konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 3. Kurva Standar Vitamin C



Gambar 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

Nilai IC<sub>50</sub> dari masing-masing sampel hidrolisat protein ikan nike dan vitamin C ditentukan berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh. Hasil perhitungan akhir menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> untuk sampel (4%-2 jam) sebesar 2.570 ppm, sampel (5%-2 jam) sebesar 1.166 ppm, sampel (6%-2 jam) sebesar 920 ppm, Pada sampel (4%-4 jam) sebesar 4.450 ppm, sampel (5%-4 jam) sebesar 8.073 ppm, sampel (6%-4 jam) sebesar 4.330 ppm, pada sampel (4%-6 jam) sebesar 2.095 ppm, sampel (5%-6 jam) sebesar 193 ppm dan sampel (6%-6 jam) sebesar 288 ppm. Untuk nilai IC<sub>50</sub> yang dihasilkan vitamin C sebesar 26,19 ppm. Berdasarkan nilai IC<sub>50</sub> yang diperoleh dapat dijelaskan bahwa vitamin C sebagai pembanding atau kontrol positif termasuk antioksidan yang lebih kuat. Jika dibandingkan dengan hidrolisat protein ikan nike yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah. Hal ini disebabkan akibat pemutusan ikatan peptida oleh enzim tidak bekerja efektif, sehingga pembentukan asam amino yang bersifat sebagai antioksidan sedikit. Hidrolisat protein ikan nike memiliki aktivitas antioksidan tertinggi pada konsentrasi enzim 5% dengan waktu hidrolisis selama 6 jam dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 193 ppm.

Nilai aktivitas antioksidan berdasarkan perhitungan mengalami perubahan seiring berjalannya waktu hidrolisis dan perbedaan konsentrasi enzim yang ditambahkan. Hasil pengukuran aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi yaitu sebesar 193 ppm yang diperoleh dari perlakuan konsentrasi enzim 5% dengan waktu hidrolisis selama 6 jam. Nilai tersebut sejalan dengan kadar protein terlarut yang didapatkan, dimana pada perlakuan konsentrasi enzim 5% dengan waktu hidrolisis selama 6 jam mempunyai kadar protein terlarut yang paling tinggi dibandingkan dengan konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis yang lainnya. Bamad *et al* (2011) menyatakan bahwa hidrolisis enzim mampu meningkatkan kadar protein terlarut yang berbanding lurus dengan peningkatan aktivitas antioksidan.

Aktivitas antioksidan terkecil terdapat pada penggunaan konsentrasi enzim 5% dengan waktu hidrolisis 4 jam yaitu sebesar 8.073 ppm. Hasil tersebut tidak sesuai

dengan kadar protein terlarutnya, dimana kadar protein terlarut terkecil terdapat pada konsentrasi 4% dengan waktu hidrolisis selama 2 jam. Hal ini mengindikasikan bahwa tidak semua komponen protein terlarut yang dihasilkan dari proses hidrolisis secara enzimatis menggunakan peptida yang bersifat sebagai antioksidan.

Penelitian Nofiandi *et al* (2020) melaporkan bahwa aktivitas antioksidan tertinggi pada konsentrasi enzim 8% selama 6 jam dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 981 ppm. Jika dibandingkan dengan penelitian ini hidrolisat protein ikan nikel yang dihasilkan lebih tinggi pada konsentrasi enzim 5% selama 6 jam dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 193. Hal ini disebabkan karena adanya penambahan jenis enzim yang berbeda pada pembuatan hidrolisat protein ikan sehingga nilai  $IC_{50}$  yang dihasilkan berbeda pula.

### SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa hidrolisat protein ikan nikel termasuk kategori sangat segar karena memiliki nilai TVBN kurang dari 10 mgN/100 g. Berdasarkan hasil uji kualitatif pada hidrolisat protein ikan nikel positif mengandung protein. Hidrolisat protein ikan nikel menggunakan enzim bromelin memiliki kadar protein terbaik terdapat pada perlakuan menggunakan konsentrasi enzim 5% (b/v) selama 6 jam sebesar 6,25%. Hidrolisat protein ikan nikel memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 193 ppm pada konsentrasi 5% (b/v) selama 6 jam.

### DAFTAR PUSTAKA

- Amelia, A. (2012). *Pengaruh Variasi Konsentrasi Enzim dan Substrat Terhadap Sakarifikasi Limbah Pengolahan Kertas Menggunakan Enzim Selulase dari Bacillus sp*. BPPT CC RK2. Skripsi.
- Anissah, U., Rohmad Barokah, G., & Ariyani Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, F. (2019). Pengaruh Penyimpanan Terhadap Profil Formaldehida Alami Dan Kemunduran Mutu Pada Ikan Beloso (Saurida tumbil). *Jphpi* 2019, 22(3), 535–547.
- Bamad, F. Wu, J & Chen, L. 2011. Effects of enzymatic hydrolysis on molecular structure & antioxidant activity of barley hordein. *Jurnal of cereal science*, 34(1):20-28
- Baehaki, A, Shanti Dwita L, Ahmad Rizky Romadhoni. 2015. Hidrolisis Protein Ikan Patin Menggunakan Enzim Papain dan Aktivitas Antioksidan Hidrolisatnya. *Journal.ipb.ac.id/jphpi*
- Chan, E.C.S. 2005. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Jakarta; UI Press
- Dalle, D., Natsir, H., & Dali, S. (2021). Analisis Total Volatile Base (TVB) dan Uji Organoleptik Nugget Ikan Dengan Penambahan Kitosan 2,5%. *IJCA (Indonesian Journal of Chemical Analysis)*, 4(1), 1–10.
- Deviarni, I. M., Nur, N., & Fitriyani, E. (2021). *Sifat Kimiawi Hidrolisat Protein Ikan Gabus ( Channa striata ) Chemical Properties of Fish Protein Hydrolyzate from Snakehead fish ( Channa striata )*. 10(April), 91–97.
- Hadiwiyato, S. 2003. *Teknologi pengolahan hasil pertanian jilid 1*. Liberty. Yogyakarta
- Hanum, G, R. (2017). *Biokimia Dasar*. UMSIDA Press; Sidoarjo Jawa Timur
- Hidayanto, A. P., & Si, M. (2018). *Biokimia KES 200*.

- Jenny, I., Surono, & Christiyanto, M. (2012). Produksi Amonia, Undegraded Protein dan Protein Total secara in vitro Bungkil Biji Kapuk yang Diproteksi dengan Tanin Alami. *Animal Agricultural Journal*, 1(1), 277–284
- Khairunissa, Indah. 2019. *Pengaruh pH Terhadap Hidrolisis Protein Ikan Tembakul dengan Penggunaan Enzim Alcalase*. perikanan & kelautan. Universitas Riau.
- Kurniawan, K., Lestari, S., & R. J., S. (2014). Hidrolisis Protein Tinta Cumi-cumi (*Loligo sp*) Dengan Enzim Papain. *Jurnal Fishtech*, 1(01), 1–113.
- Murray, R. K, 2009. *Biokimia Harper*. Buku Kedokteran EGC; Jakarta.
- Nofiandi, D., Wardi, E., & Putri, M. (2020). *Pembuatan Hidrolisat Protein dari Paru Kambing (*Capra aegagrus hircus L.*) dan Uji Aktivitas Antioksidannya*. Jurnal Akademi Farmasi Prayoga 5(1).
- Tuina .F, Asri Silvana Naiu, D., & Yusuf, N. S. (2013). *Penentuan Lama Pengeringan Dan Laju Perubahan Mutu Nike (*Awaous Melanocephalus*) Kering*. 1(September), 95–102.
- Yusuf, N. (2011). *Karakterisasi Gizi Dan Pendugaan Umur Simpan Savory Chips Ikan Nike (*Awaous melanocephalus*)*. Tesis. IPB.