

Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Hidrolisat Protein Jeroan Ikan Kakap Putih (*Lates calcalifer*)

*Antioxidant Activity and Bioactive Components of Protein Hydrolysate Visceral of Barramundi (*Lates calcalifer*)*

Nurjanah^a, Tati Nurhayati^a, Asti Latifah^a dan Taufik Hidayat^{b*}

^aDepartemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Korespondensi: Kampus IPB Dramaga, Jl. Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat Telp. (0251) 8622909-8622906, Fax (0251) 8622907

^bPusat Teknologi Agroindustri, Badan Pengkajian dan Penerapan Teknologi Gedung Laptiab Puspiptek Serpong

Riwayat Naskah:

Diterima 04 2021
Direvisi 05 2021
Disetujui 06 2021

ABSTRAK: Jeroan ikan kakap putih (*Lates calcalifer*) merupakan limbah padat dari industri pengolahan ikan yang belum dimanfaatkan secara optimal sehingga sangat berpotensi untuk dijadikan produk hidrolisat protein. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan senyawa antioksidan dan komponen bioaktif dari hidrolisat protein jeroan ikan kakap putih. Metode yang digunakan adalah optimasi konsentrasi enzim, waktu hidrolisis, dan pH; analisis proksimat, asam amino, aktivitas antioksidan, dan uji komponen bioaktif. Kondisi aktivitas antioksidan tertinggi hidrolisat protein jeroan kakap putih yaitu pada konsentrasi enzim 0,1%, waktu hidrolisis 4 jam, dan pH 7. Produk yang dihasilkan mengandung kadar air (6,83%), abu (5,18%), protein (80,88%), lemak (0,78%), dan karbohidrat (13,15%). Produk ini terdiri dari 15 macam asam amino, yaitu 8 asam amino esensial dan 7 asam amino non esensial. Asam glutamat merupakan asam amino dengan kadar tertinggi (8,71%), sedangkan asam amino dengan kadar terendah adalah histidina (1,38%). Produk ini menunjukkan aktivitas antioksidannya dengan nilai IC₅₀ sebesar 1.048,40 ppm, dan mengandung 5 dari 9 komponen bioaktif, yaitu flavonoid, karbohidrat, gula pereduksi, peptida, dan asam amino bebas.

Kata kunci: antioksidan, asam amino, bioaktif, hidrolisat, protein

ABSTRACT: Visceral of barramundi (*Lates calcalifer*) is waste in the company of fisheries which has not been optimized so that making it potentially made to be the product of protein hydrolysate. The purpose of this study was to determined antioxidant activity and bioactive compound in the protein hydrolysate from visceral of barramundi. The methods used were the optimization enzyme, hydrolysis time, and pH; proximate analysis, amino acids, antioxidant activity, and bioactive components. The condition of the highest antioxidant activity of visceral barramundi protein hydrolysate on the concentration of enzyme 0.1%, with hydrolysis times 4 hours length, and pH 7. The result of product contain water content (6.83%), ash (5.18%), protein (80.88%), fat (0.78%), and carbohydrate (13.15%). This product consists of 15 kinds of amino acids, which that 8 are essential amino acids and 7 are non essential amino acids. Glutamic acid is an amino acid with the highest levels (8.71%), while an amino acid with the lowest levels is histidine (1.38%). This product showed the antioxidant activity with IC₅₀ value amount to 1 048.40 ppm, and containing 5 from 9 bioactive components, among them are flavonoid, carbohydrate, reducing agent of sugar, peptide, and free amino acids.

Keywords: amino acid, antioxidant, bioactive, hydrolysate, protein

* Kontributor utama
Email : besthd22@gmail.com

1. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang kaya akan sumber daya hasil perikanan dengan potensi dan produktivitas yang cukup tinggi. Potensi produksi perikanan Indonesia tahun 2019 mencapai 38,3 juta ton (KKP 2020). Produksi dan usaha pengolahan perikanan menghasilkan limbah, salah satunya adalah jeroan ikan. Bahan baku yang berkualitas rendah atau limbah bila tidak digunakan akan menimbulkan masalah lingkungan, kesehatan, dan juga ekonomi. Banyaknya ikan yang dikonsumsi juga mengakibatkan banyaknya limbah jeroan ikan yang dihasilkan, salah satunya adalah ikan kakap putih (*Lates calcalifer*).

Upaya untuk mengatasi dan mengurangi limbah hasil perikanan adalah dengan memanfaatkannya secara optimal. Proses pengolahan limbah hasil perikanan termasuk jeroan ikan telah diteliti sebagai sumber protein termasuk enzim dan lemak (Bhaskar *et al.* 2007). Salah satu aplikasinya adalah usaha pembuatan hidrolisat protein. Hidrolisat protein ikan merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein ikan menjadi peptida sederhana dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh enzim, asam, atau basa. Hidrolisis protein menggunakan enzim paling sering dilakukan. Salah satu enzim yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat protein adalah enzim papain. Penelitian mengenai hidrolisat protein diantaranya dari limbah industri filet ikan patin (Nurilmala *et al.* 2018), optimasi hidrolisat protein jeroan ikan kakap putih (Nurhayati *et al.* 2014^a), hidrolisat dari fermentasi ikan telur cakalang (Aditia *et al.* 2018), berbahan baku ikan lele (Nurhayati *et al.* 2014^b), dan dari ikan selar (Nurhayati *et al.* 2007).

Enzim dapat menghidrolisis protein menjadi senyawa nitrogen terlarut dan asam amino bebas yang dapat diaplikasikan menjadi pakan (Salamah *et al.* 2012), dan media pertumbuhan bakteri (Saputra *et al.* 2014). Ahmad *et al.* (2019) menyatakan bahwa hidrolisat protein ikan dapat dimanfaatkan sebagai bahan tambahan pangan, yaitu hidrolisat protein ikan rucah yang diaplikasikan ke dalam produk biskuit. Hidrolisat protein ikan juga memiliki aktivitas antioksidan yang bermanfaat untuk mencegah ketengikan pada makanan. Aktivitas antioksidan sangat erat kaitannya dengan ikatan peptida yang terdapat pada protein serta asam amino yang terkandung di dalamnya. Hal ini mengacu pada hasil penelitian produk hidrolisat protein jeroan ikan *Catla catla* (Bhaskar *et al.* 2008) dan produk hidrolisat protein cumi-cumi (Fang *et al.* 2012). Asam amino yang terkandung di dalamnya antara lain asam aspartat, treonina, serina, glutamina, prolina, glisina, alanina, valina, metionina, leusina, isoleusina, tirosina, fenilalanina, histidina, dan lainnya. Penelitian mengenai aktivitas antioksidan produk hidrolisat

protein ikan dan jeroannya sudah banyak dilakukan, namun informasi mengenai hidrolisat protein jeroan ikan kakap putih yang memiliki aktivitas antioksidan belum ada sehingga penelitian ini perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan senyawa antioksidan dan komponen bioaktif dari hidrolisat protein dari jeroan ikan kakap putih.

2. Bahan dan Metode

2.1 Bahan

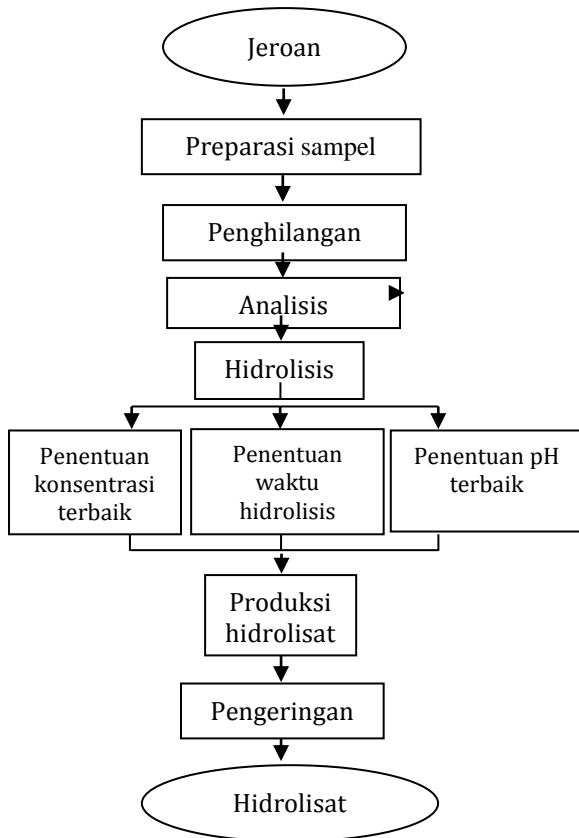
Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah jeroan ikan kakap putih (*Lates calcalifer*) dari perusahaan PT Fega Marikultura, Tangerang dan enzim papain produksi Merck dengan aktivitas 30 USP/mL. Bahan lainnya yang digunakan yaitu bahan untuk pengujian yaitu HCl 6 N (Merck), larutan bufer kalium borat pH 10,4 (Merck); pereaksi ortoftalaldehid (OPA) (Sigma Aldrich), Na asetat 0,025 M (Merck), Na-EDTA (Merck), metanol 95% (Merck), tetrahidrofuran (THF) (Merck), larutan brij-30 30% (Merck), larutan standar asam amino 0,5 $\mu\text{mol/mL}$ (Merck). Bahan untuk analisis aktivitas antioksidan yaitu pelarut etanol, kristal 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH) (Merck), dan antioksidan sintetik BHT (*Butylated hydroxytoluene*) (Merck).

2.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat untuk preparasi, wadah, timbangan digital, *aluminium foil*, blender, sentrifuge (Himac CR 21G), *waterbath shaker* (Certomat), *freeze dryer*, kertas saring, kain belacu, kertas milipore No. 45, oven (Memmert), kompor listrik, tanur pengabuan, labu Kjeldahl, tabung Soxhlet, spektrofotometer (*Spectro UV Vis 2500*), inkubator (Memmert), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merk Shimadzu, desikator, vortex, pipet, dan alat gelas lainnya misalnya tabung reaksi, *beaker glass*, gelas arloji, tabung ulir, botol kaca, corong kaca, labu takar, dan labu Erlenmeyer.

2.3 Metode

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap yaitu pengambilan sampel di PT Fega Marikultura, Tangerang; preparasi sampel; analisis proksimat bahan baku; pemilihan proses pembuatan hidrolisat protein berdasarkan kondisi aktivitas antioksidan tertinggi; produksi hidrolisat protein; analisis proksimat hidrolisat protein (AOAC 2005); analisis kandungan asam amino hidrolisat protein (AOAC 2005); analisis aktivitas antioksidan hidrolisat protein melalui nilai IC₅₀ (Hidayat *et al.* 2020); dan pengujian kelompok senyawa kimia.



Gambar 1. Proses pembuatan hidrolisat protein jeroan ikan kakap

Proses pembuatan hidrolisat protein dapat dilihat pada Gambar 1.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Komposisi kimia jeroan kakap putih

Sampel yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat protein merupakan bahan baku yang telah melalui proses penghilangan lemak (*defatting*). Tabel 1 menunjukkan komposisi kimia jeroan kakap putih sebelum dan sesudah proses

penghilangan lemak (*defatting*). Kadar air jeroan kakap putih sebelum *defatting* sebesar 63,66% meningkat sebesar 4,66% menjadi 68,32% setelah proses *defatting* (basis basah). Hasil ini juga sesuai dengan penelitian Bhaskar *et al.* (2008), kadar air jeroan ikan *Catla catla* sebelum proses *defatting* sebesar 76,25% meningkat sebesar 11,08% menjadi 87,33% setelah proses *defatting* (basis basah), hal ini disebabkan oleh penambahan air pada proses *defatting* sehingga kandungan airnya meningkat.

Kadar abu jeroan kakap putih sebesar 1,10% meningkat sebesar 2,21% menjadi 3,31% setelah proses *defatting* (basis kering). Hasil ini tidak berbeda jauh dengan kadar abu jeroan ikan *Catla catla* yang mengalami peningkatan sebesar 1,07% setelah proses *defatting* (basis kering). Sebagian besar bahan makanan, yaitu sebesar 96% terdiri dari bahan organik dan air, sisanya terdiri dari unsur-unsur mineral. Unsur mineral dikenal sebagai bahan anorganik atau kadar abu.

Kadar protein jeroan kakap putih sebesar 31,45% menurun sebesar 8,22% menjadi 23,23% setelah proses *defatting* (basis kering). Hasil ini bertolak belakang dengan penelitian Bhaskar *et al.* (2008) yaitu kadar protein jeroan ikan *Catla catla* sebesar 35,87% meningkat sebesar 30,74% menjadi 66,61% setelah proses *defatting* (basis kering). Hasil penelitian ini diduga protein larut air yang terdapat pada jeroan kakap putih ikut hilang pada saat proses penyaringan (sentrifugasi) dengan air.

Kadar lemak jeroan kakap putih sebesar 61,45% menurun sebesar 2,74% menjadi 58,71% setelah proses *defatting* (basis kering). Hasil penelitian Bhaskar *et al.* (2008), kadar lemak jeroan ikan *Catla catla* sebesar 52,46% menurun sebesar 31,15% menjadi 21,31% setelah proses *defatting* (basis kering). Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses *defatting* pada jeroan ikan kakap putih ini kurang efektif. Faktor yang menyebabkan proses penghilangan lemak (*defatting*) kurang efektif yaitu

Tabel 1

Komposisi kimia jeroan kakap putih sebelum dan sesudah *defatting*

Parameter	Jeroan kakap putih sebelum <i>defatting</i> (%bb)	Jeroan kakap putih sebelum <i>defatting</i> (%bk)	Jeroan kakap putih setelah <i>defatting</i> (%bb)	Jeroan kakap putih setelah <i>defatting</i> (%bk)	Jeroan ikan <i>Catla catla</i> sebelum <i>defatting</i> (%bb)*	Jeroan ikan <i>Catla catla</i> sebelum <i>defatting</i> (%bk)*	Jeroan ikan <i>Catla catla</i> setelah <i>defatting</i> (%bb)*	Jeroan ikan <i>Catla catla</i> setelah <i>defatting</i> (%bk)*
Kadar air	63,66±0,5	-	68,32 ±0,43	-	76,25	-	87,33	-
Kadar abu	0,40±0,23	1,10 ±0,4	1,05 ±0,13	3,31±0,1	2,50	10,53	1,47	11,60
Kadar protein	11,43±0,3	31,45 ±0,2	7,36±0,43	23,23±0,15	8,52	35,87	8,44	66,61
Kadar lemak	22,3 ±0,33	61,45±0,3	18,60±0,3	58,71±0,25	12,46	52,46	2,70	21,31
Kadar karbohidrat	2,18 ±0,5	6,00±0,2	4,68±0,2	14,77±0,25	-	-	-	-

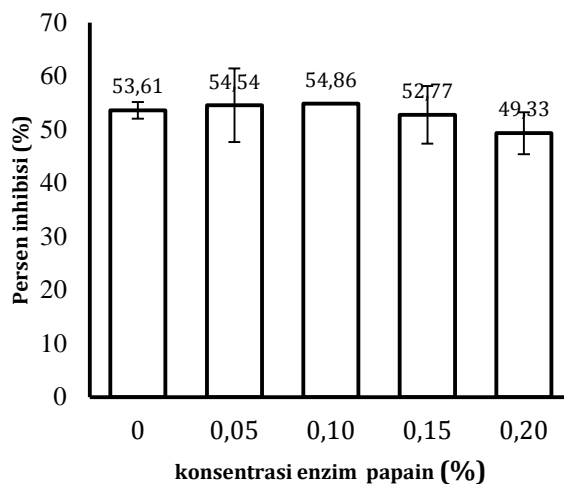
Sumber: * = Bhaskar *et al.* (2008)

jeroan ikan kakap putih belum tercacah menjadi ukuran yang lebih kecil dan belum terhomogenisasi; pada metode *defatting*, proses sentrifugasi yang dilakukan hanya satu kali sedangkan pada metode Bhaskar *et al.* (2008) jeroan ikan disentrifugasi sebanyak dua kali. Hasil penelitian menunjukkan persentase penurunan lemak jeroan ikan kakap putih lebih rendah dibandingkan dengan penurunan lemak jeroan ikan *Catla catla*.

3.2 Pemilihan proses pembuatan hidrolisat protein jeroan kakap putih

Aktivitas antioksidan sangat erat kaitannya dengan ikatan peptida yang terdapat pada protein, serta asam amino yang terkandung didalamnya. Menurut Abdullah *et al.* (2013), asam amino dapat berpotensi sebagai antioksidan. Kondisi hidrolisis umumnya dipengaruhi oleh beberapa faktor. Penambahan enzim eksogenous dapat membuat proses hidrolisis lebih terkontrol. Beberapa faktor misalnya pH, waktu, konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu, dan pengaruh aktivitas enzim dapat mempengaruhi proses hidrolisis.

Hasil analisis deskriptif pada Gambar 2 menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi yang dihasilkan sebesar 54,86% pada perlakuan penambahan enzim sebesar 0,1%. Hasil penelitian Luo *et al.* (2013) menunjukkan aktivitas antioksidan optimum produk hidrolisat protein ikan hiu (*Sphyrna lewini*) sebesar 80,75% pada penambahan enzim papain sebesar 1,0%.



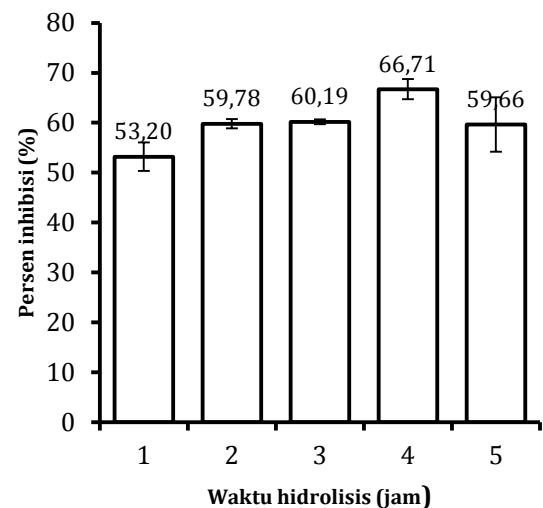
Gambar 2. Aktivitas antioksidan dengan perlakuan konsentrasi enzim papain

Kecepatan aktivitas katalitik enzim pada hidrolisis substrat akan semakin naik dan akhirnya akan mencapai suatu batas maksimum, lalu setelah batas ini terlampaui kecepatan reaksi tetap meningkat tetapi dengan nilai yang semakin kecil, pada kondisi tersebut enzim menjadi jenuh oleh substratnya dan tidak dapat berfungsi lebih cepat.

Berdasarkan hasil analisis deskriptif diduga bahwa kerja enzim yang optimum menghasilkan aktivitas antioksidan tertinggi yaitu pada konsentrasi 0,1%.

Hasil analisis deskriptif pada Gambar 3 menunjukkan aktivitas antioksidan tertinggi yang dihasilkan sebesar 66,71% pada perlakuan waktu hidrolisis selama 4 jam. Hasil penelitian Luo *et al.* (2013) menunjukkan aktivitas antioksidan optimum produk hidrolisat protein ikan hiu (*Sphyrna lewini*) sebesar 76,51% pada waktu hidrolisis selama 2 jam. Gambar 2 menunjukkan bahwa semakin lama waktu hidrolisis berlangsung semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dihasilkan namun mulai menurun ketika waktu hidrolisis mencapai 5 jam.

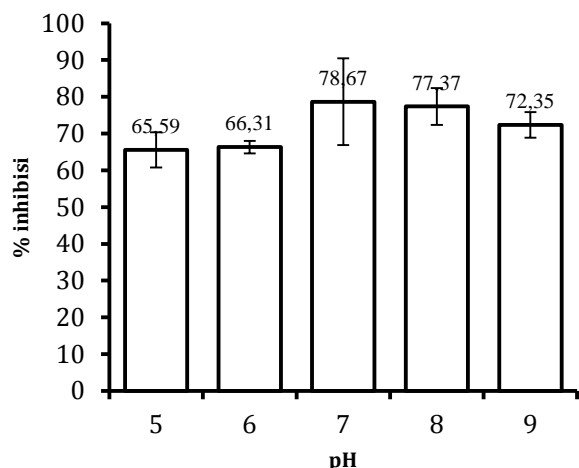
Enzim papain merupakan salah satu protease. Sesuai dengan fungsinya, protease mengkatalisis proses hidrolisis protein menjadi peptida dan asam amino. Selama hidrolisis, protease menghidrolisis substrat dengan kecepatan tertentu. Nilai kecepatan hidrolisis selain dipengaruhi konsentrasi enzim, juga dipengaruhi oleh waktu hidrolisis. Semakin lama waktu yang digunakan maka proses hidrolisis berjalan lebih sempurna. Selain itu nilai pH juga berpengaruh dalam proses hidrolisis.



Gambar 3. Aktivitas antioksidan dengan perlakuan waktu hidrolisis

Aktivitas antioksidan tertinggi yang dihasilkan sebesar 78,67% pada perlakuan pH netral (7,00) (Gambar 4). Hasil penelitian Luo *et al.* (2013) menunjukkan aktivitas antioksidan optimum produk hidrolisat protein ikan hiu (*Sphyrna lewini*) yang dihasilkan sebesar 84,76% pada perlakuan pH 6. Aktivitas antioksidan mulai menurun pada pH 8. Hidrolisis protein dan peptida sederhana dengan asam atau alkali menghasilkan campuran asam amino bebas (Abdullah *et al.* 2017). Pemecahan oleh papain maksimum pada pH 7,0 untuk menghasilkan kelarutan dan aktivitas antioksidan yang baik. Produk hidrolisat protein ikan yang

memiliki nutrisi tinggi kaya akan peptida dengan bobot molekul rendah, serta asam amino bebas.



Gambar 4. Aktivitas antioksidan dengan perlakuan pH

3.3 Komposisi kimia hidrolisat protein jeroan kakap putih

Analisis proksimat penting dilakukan untuk mengetahui karakteristik kimia produk hidrolisat protein yang dihasilkan. Komposisi kimia hidrolisat protein jeroan kakap putih disajikan pada Tabel 2.

Protein yang terdapat pada produk merupakan protein terlarut sedangkan protein yang tidak larut sudah terbuang pada saat proses penyaringan. Peningkatan kandungan protein dalam produk hidrolisat disebabkan selama proses hidrolisis terjadi konversi protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang larut, selanjutnya terurai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana, misalnya peptida dan asam amino sehingga mudah diserap oleh tubuh (Winarno 2008). Perbedaan kandungan protein pada beberapa jenis hidrolisat protein ikan juga dapat disebabkan oleh adanya perbedaan kadar protein yang terkandung dalam ikan yang dijadikan bahan baku awal.

Tabel 2
 Komposisi kimia hidrolisat protein jeroan kakap putih

Parameter	Hidrolisat protein jeroan kakap putih (%bb)	Hidrolisat protein jeroan kakap putih (%bk)	Hidrolisat protein jeroan ikan <i>Catla catla</i> (%bb)*	Hidrolisat protein jeroan ikan <i>Catla catla</i> (%bk)*	Hidrolisat protein ikan komersial (%bb)**	Hidrolisat protein ikan komersial (%bk)**
Kadar air	6,83±0,5	-	3,85	-	3,0-5,0	-
Kadar abu	4,83±0,2	5,18±0,1	0,45	0,47	4,0-7,0	4,12-7,37
Kadar protein	75,36±0,1	80,88±0,2	89,06	92,63	73,0-75,0	75,26-78,95
Kadar lemak	0,73±0,35	0,78±0,1	1,94	2,02	19,0-22,0	19,59-23,16
Kadar karbohidrat	12,25±0,5	13,15±0,4	-	-	-	-

Sumber: *= Bhaskar *et al.* (2008)
 **= International Quality Ingredients (2011)

Kadar lemak hidrolisat protein jeroan kakap putih sebesar 0,78%, menunjukkan nilai yang lebih rendah dibandingkan dengan kadar lemak hidrolisat protein jeroan ikan *Catla catla* (2,02%) dan hidrolisat protein ikan komersial (19,59-23,16%) (basis kering). Kadar air umumnya berbanding terbalik dengan kadar lemak. Pernyataan hubungan tersebut dapat disimpulkan bahwa apabila kadar air yang terkandung pada bahan nilainya tinggi, maka kadar lemaknya semakin rendah.

Kandungan lemak pada produk hidrolisat protein jeroan kakap putih yang dihasilkan menunjukkan nilai yang lebih rendah (0,78%) daripada bahan baku awal yang digunakan (58,71%) (basis kering), hal ini disebabkan oleh proses penyaringan. Proses penyaringan yang dilakukan selama produksi hidrolisat protein yaitu dengan cara manual dan metode sentrifugasi. Penyaringan secara manual dilakukan dengan cara hidrolisat protein diendapkan selama 24 jam pada suhu 4°C untuk memisahkan bagian lemak pada produk.

Klasifikasi hidrolisat protein tipe A yaitu produk yang mengandung kadar protein lebih dari 67,5% dan lemak kurang dari 0,75% (basis kering), sedangkan tipe B yaitu produk hidrolisat yang mengandung lemak lebih dari 10%. Berdasarkan hasil analisis dapat disimpulkan produk hidrolisat protein jeroan kakap putih termasuk ke dalam produk hidrolisat tipe A.

3.4 Komposisi asam amino hidrolisat protein jeroan kakap putih

Hasil analisis asam amino pada Tabel 3 menunjukkan bahwa produk hidrolisat protein jeroan kakap putih memiliki 15 macam asam amino. Hidrolisis yang berjalan sempurna akan menghasilkan hidrolisat yang terdiri dari campuran 18-20 macam asam amino. Hal ini berarti proses hidrolisis yang dilakukan mendekati sempurna.

Tabel 3

Komposisi asam amino produk hidrolisat protein jeroan kakap putih

Asam amino	Hidrolisat protein jeroan kakap putih (%)	Hidrolisat protein jeroan ikan <i>Catla catla</i> (%)*	Hidrolisat protein ikan komersial (%)**
Alanina	4,63	7,04	6,50
Arginina	2,30	10,82	7,10
Asam aspartat	2,80	8,50	8,80
Asam glutamat	8,71	15,01	13,50
Fenilalanina	2,94	3,53	3,70
Glisina	5,29	10,99	11,10
Histidina	1,38	2,06	2,10
Isoleusina	3,22	3,60	4,30
Leusina	5,03	7,17	7,10
Lisina	1,88	7,07	7,50
Metionina	1,71	2,02	2,90
Prolina	-	6,24	5,60
Serina	1,72	4,34	4,90
Sisteina	-	0,23	-
Tirosina	1,74	2,57	-
Treonina	3,31	4,02	3,90
Triptofan	-	-	-
Valina	3,81	4,79	4,90

Sumber : * = Bhaskar *et al.* (2008)

** = International Quality Ingredients (2011)

Asam amino yang memiliki kandungan tertinggi pada hidrolisat protein jeroan kakap putih yaitu asam glutamat sebesar 8,71%. Hasil ini juga serupa dengan hidrolisat protein jeroan ikan *Catla catla* yang memiliki kandungan asam amino tertinggi pada asam glutamat (15,01%) dan hidrolisat protein ikan komersial (13,50%). Asam glutamat merupakan asam amino non esensial, berperan dalam menunjang fungsi otak, mempermudah belajar dan memperkuat ingatan. Asam glutamat juga bermanfaat untuk membantu dalam meningkatkan massa otot (memperbesar otot). Asupan asam glutamat yang berlebihan (lebih dari 120 mg per kg berat badan) dapat menyebabkan kerusakan sistem syaraf sehingga dapat menimbulkan penyakit *Alzheimer* dan *amyotrophic lateral sclerosis*.

Asam amino yang memiliki kandungan terendah pada hidrolisat protein jeroan kakap putih yaitu histidina sebesar 1,38%. Hasil ini juga serupa dengan hidrolisat protein ikan komersial yang memiliki kandungan asam amino terendah pada histidina (2,10%), namun pada hidrolisat protein jeroan ikan *Catla catla* kandungan terendah terdapat pada sisteina (0,23%). Histidina merupakan asam amino esensial yang diperlukan untuk sintesis histamin. Sisteina merupakan prekursor dari taurin.

Asam amino yang perlu mendapat perhatian khusus bagi nutrisi protein adalah asam amino esensial. Suatu protein yang dapat menyediakan asam amino esensial dalam suatu komposisi yang hampir menyamai kebutuhan manusia, pada prinsipnya mempunyai mutu yang tinggi. Produk hidrolisat protein yang dihasilkan mengandung 8 asam amino esensial yaitu histidina, treonina, metionina, valina, fenilalanina, isoleusina, leusina, dan lisina serta 7 asam amino non esensial yaitu

asam aspartat, asam glutamat, serina, glisina, arginina, alanina, dan tirosina.

Produk hidrolisat protein jeroan kakap putih ini mengandung asam-asam amino esensial yang dibutuhkan oleh tubuh, namun asam amino triptofan tidak dianalisis karena untuk menganalisis asam amino tersebut harus dengan proses hidrolisis basa, sedangkan asam amino non esensial sisteina dan prolina tidak dianalisis karena membutuhkan metode preparasi yang berbeda.

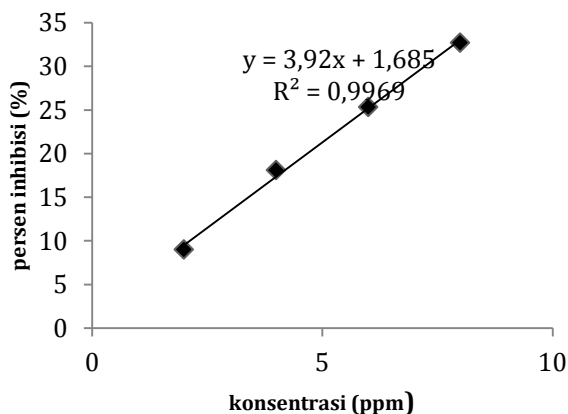
Menurut Putalan *et al.* (2020) komposisi dan banyaknya asam amino bebas dan peptida yang terkandung dalam hidrolisat dilaporkan dapat berpotensi sebagai senyawa antioksidan. Asam amino aromatik yaitu tirosina, histidina, dan fenilalanina, serta asam amino hidrofobik yaitu valina, alanina, prolina, dan leusina, juga metionina dilaporkan dapat menangkalkan senyawa radikal bebas.

3.5 Aktivitas antioksidan hidrolisat protein jeroan kakap putih

Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH dengan hasil yang didapatkan berupa persen inhibisi dan nilai IC₅₀. Persen inhibisi merupakan kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi bahan. Nilai IC₅₀ didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas, yaitu menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi.

Hasil analisis pada Gambar 5 menunjukkan hubungan antara konsentrasi BHT dengan persen inhibisinya. Persen inhibisi tertinggi sebesar 32,71% dihasilkan oleh larutan BHT dengan

konsentrasi tertinggi (8 ppm), sedangkan persen inhibisi terendah sebesar 8,99% dihasilkan oleh larutan BHT dengan konsentrasi terendah (2 ppm). Nilai IC_{50} larutan BHT (sebagai kontrol positif) yang dihasilkan sebesar 12,33 ppm. Antioksidan BHT merupakan antioksidan sintetik dan menunjukkan aktivitas penghambatannya sangat kuat (< 50 ppm).

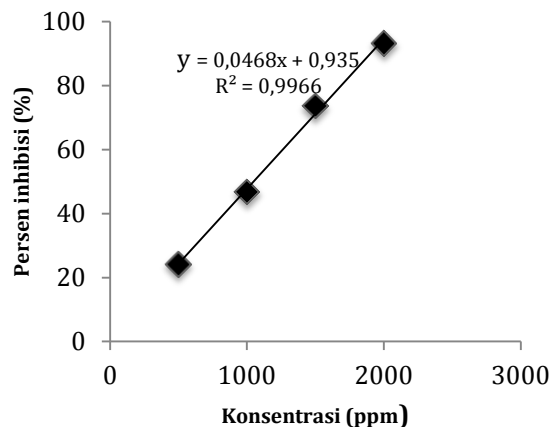


Gambar 5. Hubungan konsentrasi BHT dengan persen inhibisinya

Aktivitas antioksidan hidrolisat protein yang tinggi bergantung kepada jenis enzim penghidrolisis. Nurjanah *et al.* (2020) menyatakan bahwa kulit ikan cobia yang dihidrolisis oleh enzim papain menunjukkan hasil aktivitas antioksidan yang baik. Hidrolisat dengan menggunakan enzim papain menunjukkan aktivitas antioksidan dan derajat hidrolisis yang tinggi sehingga dijadikan acuan pada penelitian ini.

Hasil analisis pada Gambar 6 menunjukkan hubungan antara konsentrasi sampel hidrolisat dengan persen inhibisinya. Persen inhibisi tertinggi sebesar 93,13% dihasilkan oleh larutan sampel dengan konsentrasi tertinggi (2.000 ppm), sedangkan persen inhibisi terendah sebesar 24,09% dihasilkan oleh larutan sampel dengan konsentrasi terendah (500 ppm). Semakin tinggi konsentrasi sampel yang ditambahkan, maka semakin tinggi persen inhibisi yang dihasilkan. Hidayat *et al.* (2020) menyatakan bahwa persentase penghambatan (persen inhibisi) terhadap aktivitas radikal bebas akan ikut meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak.

Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila nilai IC_{50} kurang dari 0,05 mg/mL (< 50 ppm), kuat apabila nilai IC_{50} sebesar 0,05-0,10 mg/mL (50-100 ppm), sedang apabila nilai IC_{50} sebesar 0,10-0,15 mg/mL (100-150 ppm), dan lemah apabila nilai IC_{50} sebesar 0,15-0,20 mg/mL (150-200 ppm) (Molyneux 2004). Nilai IC_{50} larutan sampel hidrolisat protein jeroan kakap putih yang dihasilkan sebesar 1.048,40 ppm.



Gambar 6. Hubungan konsentrasi sampel hidrolisat dengan persen inhibisinya

Hasil penelitian Luo *et al.* (2013) menunjukkan nilai IC_{50} hidrolisat protein ikan hiu (*Sphyrna lewini*) sebesar 3.060 ppm. Menurut klasifikasi, sampel hidrolisat protein jeroan kakap putih memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah, karena nilainya lebih besar dari 0,20 mg/mL atau 200 ppm, hal ini jauh berbeda dengan antioksidan BHT dan diduga dalam sampel hidrolisat protein masih terdapat senyawa-senyawa yang bukan sebagai antioksidan.

3.6 Kelompok senyawa kimia hidrolisat protein jeroan kakap putih

Uji komponen bioaktif dilakukan untuk mengetahui kelompok senyawa kimia yang terdapat pada produk hidrolisat protein jeroan kakap putih. Hasil uji pada Tabel 4 menunjukkan sampel hidrolisat protein jeroan kakap putih positif mengandung flavonoid, karbohidrat, gula pereduksi, peptida, dan asam amino. Reaksi positif juga ditunjukkan pada uji alkaloid namun hanya pada dua pereaksi, yaitu *Dragendorff* dan *Wagner*.

Tabel 4

Hasil uji kelompok senyawa kimia produk hidrolisat protein jeroan kakap putih

Uji	Standar (warna)	Hidrolisat protein jeroan kakap putih
<i>Meyer</i>	Endapan putih kekuningan	-
<i>Dragendorff</i>	Endapan merah sampai jingga	+
<i>Wagner</i>	Endapan coklat	+
Steroid	Perubahan merah menjadi biru/ hijau	-
Flavonoid	Lapisan amil alkohol berwarna merah/ kuning/ hijau	+
Saponin	Terbentuk busa	-
Fenol hidrokuinon	Warna hijau hingga hijau biru	-
<i>Molisch</i>	Warna ungu di antara dua lapisan cairan	++
<i>Benedict</i>	Warna hijau/ kuning, endapan merah bata	+++
Biuret	Warna ungu	++
Ninhidrin	Warna ungu	+++

Keterangan: += agak kuat, +=kuat +++=sangat kuat

Senyawa metabolit sekunder pada produk hidrolisat protein jeroan kakap putih dapat diketahui dengan pengujian terhadap senyawa alkaloid, steroid, flavonoid, dan saponin. Uji alkaloid dilakukan untuk mendeteksi adanya senyawa organik siklik yang mengandung nitrogen. Kandungan alkaloid pada bahan ditandai terbentuknya endapan merah oleh pereaksi *Dragendorff*, endapan coklat oleh pereaksi *Wagner*, dan endapan putih oleh pereaksi *Meyer*. Berdasarkan hasil uji, hidrolisat protein jeroan kakap putih menunjukkan reaksi positif terhadap pereaksi *Dragendorff* dan *Wagner*. Berdasarkan hasil pengujian komponen bioaktif, sampel hidrolisat protein jeroan kakap putih tidak menunjukkan reaksi positif terhadap uji steroid, saponin, dan fenol hidrokuinon.

Uji *Molisch* positif menunjukkan bahwa dalam produk hidrolisat protein mengandung karbohidrat yang ditandai dengan terbentuknya lapisan ungu saat pengujian. Hasil uji menunjukkan bahwa pada produk hidrolisat protein jeroan kakap putih positif mengandung karbohidrat. Karbohidrat dalam produk hidrolisat dipecah oleh asam sulfat pekat menjadi gugus furfural yang akan bereaksi dengan sulfonat alfa-naftol membentuk senyawa berwarna ungu.

Sifat pereduksi dari suatu molekul gula ditentukan oleh ada tidaknya gugus hidroksil (OH) bebas yang reaktif. Gugus hidroksil yang reaktif pada glukosa (aldosa) biasanya terletak pada karbon nomor dua. Sukrosa tidak mempunyai gugus OH bebas yang reaktif karena keduanya sudah saling terikat, sedangkan laktosa mempunyai OH bebas pada atom C nomor 1 pada gugus glukosanya (Winarno 2008). Hasil uji menunjukkan bahwa hidrolisat protein jeroan kakap putih mengandung gula pereduksi, hal ini ditunjukkan dengan adanya endapan merah bata pada larutan sampel yang telah diberikan pereaksi *Benedict*. Gula pereduksi yang terdeteksi pada sampel menandakan bahwa pada sampel tersebut terdapat gula jenis aldosa.

Peptida merupakan ikatan kovalen antara dua atau lebih molekul asam amino melalui suatu ikatan amida substitusi. Ikatan ini dibentuk dengan menarik unsur H₂O dari gugus karboksil suatu asam amino dan gugus α -amino dari molekul lain, dengan reaksi kondensasi yang kuat (Winarno 2008). Berdasarkan hasil pengujian dengan metode biuret, komponen peptida terdeteksi pada sampel hidrolisat protein jeroan kakap putih dengan indikasi sampel hidrolisat menghasilkan warna ungu.

Asam amino merupakan unit struktural dasar dari protein. Asam amino dapat diperoleh dengan menghidrolisis protein dalam asam, alkali, ataupun enzim. Sebuah asam amino tersusun atas sebuah atom α -karbon yang berikatan secara kovalen dengan sebuah atom hidrogen, sebuah gugus amino, dan sebuah gugus rantai R (Abdullah *et al.* 2013). Berdasarkan hasil pengujian, komponen asam amino terdeteksi pada sampel hidrolisat protein jeroan kakap putih. Uji ninhidrin positif menunjukkan bahwa dalam sampel mengandung asam amino bebas yang ditandai dengan terbentuknya warna biru atau ungu muda. Asam amino yang terdeteksi ini merupakan asam-asam amino dari proses hidrolisis protein, serta asam-asam amino non protein (bukan penyusun protein). Asam-asam amino yang terlarut pada pelarut polar merupakan asam amino yang memiliki sifat polar (hidrofilik), baik yang bermuatan maupun yang tidak bermuatan, misalnya arginina, histidina, lisina (asam amino polar bermuatan), dan treonina (asam amino polar tak bermuatan).

4. Kesimpulan

Produk hidrolisat protein jeroan kakap putih yang dihasilkan memiliki kadar air (6,83%) (%bb), abu (5,18%), protein (80,88%), dan lemak (0,78%) (%bk). Produk dihasilkan berdasarkan pemilihan kondisi aktivitas antioksidan tertinggi, yaitu pada konsentrasi enzim 0,1%, waktu hidrolisis 4 jam, dan nilai pH 7. Produk mengandung 15 jenis asam amino dengan kadar tertinggi yaitu asam glutamat

(8,71%) dan kadar terendah histidina (1,38%). Produk hidrolisat menghasilkan aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 1.048,40 ppm dan mengandung senyawa flavonoid, karbohidrat, gula pereduksi, peptida, dan asam amino.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada Kemenristek Dikti dalam skema PTUPT yang telah membantu dalam pendanaan riset ini.

Daftar Pustaka

- [AOAC]. Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Abdullah, A., Nurjanah, Hidayat, T., Yusefi, Y.. 2013. Profil asam amino dan asam lemak kerang bulu (*Anadara antiquata*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 16(2): 159-167.
- Abdullah, A, Nurjanah, Hidayat, T., Chairunisah, R.. 2017. Karakteristik kimiawi *Meretrix meretrix*, *Pholas dactylus*, dan *Babylonia spirata*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. 28(1): 78-84.
- Aditia, R., P., Desniar, Trilaksana, W., 2018. Aktivitas antioksidan dan antibakteri hidrolisat protein hasil fermentasi telur ikan cakalang. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(1): 1-12.
- Ahmad, M.G., Setyaningsih, I., Trilaksana, W., 2019. Formulasi dan bioaktivitas suplemen tablet berbasis Spirulina dan hidrolisat kolagen kulit ikan nila. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(3): 453-463
- Bhaskar, N., Sathista, A.D., Sachindra N.M., Sakhare PZ, Mahendrakar NS. 2007. Effect of acid ensiling on the stability of visceral waste proteases of Indian major carp *Labeo rohita*. *Journal Aquatic Food Product Technology*. 16 (1).
- Bhaskar, N., Benila, T., Radha, C., Lalitha, R.G., 2008. Optimization of enzymatic hydrolysis of visceral waste proteins of Catla (*Catla catla*) for preparing protein hydrolysate using a commercial protease. *Journal of Bioresource Technology*. 99 (10): 335-343.
- Fang, X., Xie, N., Chen, X., Yu, H., Chen, J. 2012. Optimization of antioxidant hydrolysate production from flying squid muscle protein using response surface methodology. *Journal Food and Bioproducts Processing*. 90 (4): 676-682.
- Hidayat, T., Nurjanah., Jacob, A., M., Putera, B., A. 2020. Aktivitas antioksidan *Caulerpa* sp. segar dan rebus. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(3): 566-575.
- International Quality Ingredients. 2011. Fish Protein Hydrolysate. <http://www.eyequye.nl>. [26 Agustus 2013].
- [KKP]. Kementerian Kelautan dan Perikanan. 2020. *Laporan Akuntabilitas Kinerja Kementerian Kelautan dan Perikanan Tahun 2020*. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia.
- Luo, H., Wang, B., Li, Z., Chi, C., F., Zhang, Q., He., G. 2013. Preparation and evaluation of antioxidant peptide from papain hydrolysate of *Sphyrna lewini* muscle protein. *Journal Food Science Technology*. 51 (1): 281-288.
- Nurhayati, T., Salamah, E., Hidayat, T. 2007. Karakteristik hidrolisat protein ikan selar (*Caranx leptolepis*) yang diproses secara enzimatik. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*. 10(1): 23-34.
- Nurhayati, T., Nurjanah, Sanapi, CH. 2014. Karakterisasi hidrolisat protein ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 16(3): 207-214.
- Nurhayati, T., Salamah, E., Cholifah, Nugraha, R. 2014. Optimasi pembuatan hidrolisat dari jeroan ikan kakap putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(1): 42-52.
- Nurilmala, M., Nurhayati, T., Roskananda R. 2018. Limbah industri filet ikan patin untuk hidrolisat protein. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(2): 287-294.
- Nurjanah., Suwandi, R., Hidayat, T., Oktorina, V. 2020. Chemical composition and amino acid profile of fresh and steamed cobia (*Rachycentron canadum* L.). *Foodscitech Journal*. 2(1): 12-19.
- Putalan, R., Nurhayati, T., Chasanah, E. 2020. Fraksinasi peptida dari hidrolisat protein ikan selar (*Selaroides leptolepis*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(3): 434-440.
- Salamah, E., Nurhayati, T., Rahayu, I., R., 2012. Pembuatan dan karkaterisasi hidrolisat protein ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) menggunakan enzim papain. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 15(1): 9-16.
- Saputra, D., Nurhayat, T., 2014. Produksi dan aplikasi pepton ikan selar untuk media pertumbuhan bakteri. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 16(3): 215-223.
- Winarno, F., G. 2008. Ilmu pangan dan gizi. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.