

## Karakteristik Fisikokimia dan Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Kakap (*Lutjanus* sp.) Skala Pilot

### *Physicalchemical and Antioxidant Characteristics of Fish Protein Hydrolysate from Red Snapper (*Lutjanus* sp.) Using Pilot Plant Scale*

Tatty Yuniarti<sup>1\*</sup>, Nafa Ya'la Arrahmi<sup>1</sup>, Niken Dharmayanti<sup>1</sup>, Sri Sugiwati<sup>2</sup>, Mugi Mulyono<sup>1</sup>, Taufik Hidayat<sup>3</sup>, Pujoyuwono Martosuyono<sup>4</sup>, Aghitia Maulani<sup>1</sup>, dan Albar Alghany<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Politeknik Ahli Usaha Perikanan, Jl Aup Bar Jl Raya Pasar Minggu, Jati Padang, Ps. Minggu, Kota Jakarta Selatan, 12520, Indonesia

<sup>2</sup>Pusat Riset Agroindustri, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Kawasan Sains dan Teknologi (KST) Soekarno, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM 46, Cibinong, Jawa Barat 16911, Indonesia

<sup>3</sup>Pusat Riset Kimia, Badan Riset dan Inovasi Nasional; Gd. 452 Bldg, Jalan puspitek serpong Gate, II, Kota Tangerang Selatan, Banten 15314, Indonesia

<sup>4</sup>Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jl. Petamburan VI, Slipi, Jakarta, 10260, Indonesia

<sup>5</sup>Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Jalan Agatis, Bogor 16680 Jawa Barat, Indonesia

\*Korespondensi penulis : tatty.yuni@gmail.com

Diterima: 16 September 2023; Direvisi: 29 November 2023 ; Disetujui: 26 Juni 2024

#### ABSTRAK

Hidrolisat protein ikan (HPI) merupakan produk dari reaksi hidrolisis ikatan peptida menghasilkan pelepasan peptida aktif pendek dan lebih mudah diserap. Ikan kakap merupakan komoditas perikanan laut yang berlimpah di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan karakteristik fisikokimia dan kemampuan bioaktif HPI dari ikan kakap merah (*Lutjanus* sp.) pada skala pilot (biofermentor 120 kg). Pengujian bahan baku dan HPI yang dilakukan meliputi uji organoleptik, uji TVB, uji ALT, uji proksimat. pembuatan HPI dilakukan dengan menggunakan enzim alkalase 20.000 U/kg substrat saat suhu 55 °C dengan waktu hidrolisis pada jam ke-0 hingga jam ke-8. Pengujian derajat hidrolisis dan uji aktivitas antioksidan metode 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) dilakukan pada tiap jam. Hasil penelitian menunjukkan waktu hidrolisis mulai stabil pada jam ke-6 hingga jam ke-8. Derajat hidrolisis (DH) HPI pada jam ke-6 adalah sebesar 13,3% dan inhibisi antioksidan sebesar 6,75%. Bahan baku HPI merupakan ikan segar dengan nilai TVB 12,89%; kadar protein 21,41%; lemak 4,66%; air 72,36%; dan abu 0,95%. Komposisi kimia HPI memiliki kadar protein 19,20%; lemak 0,15%; air 0,06%; abu 1,15%. Rendemen HPI yang dihasilkan sebesar 15,75% dari bahan baku. Total mikroba dan organoleptik memenuhi standar SNI. Kandungan asam amino tertinggi dari bahan baku dan HPI merupakan asam glutamat dengan nilai masing-masing 3,3% dan 3,4%. Kandungan asam amino terendah pada bahan baku dan HPI adalah histidin dengan nilai masing-masing 0,43% dan 0,52%. Produksi HPI skala pilot menghasilkan HPI yang kaya asam amino esensial dan memiliki aktivitas antioksidan, sehingga berpotensi digunakan sebagai *ingredient* pangan fungsional.

**KATA KUNCI:** HPI, alkalase, *Lutjanus* sp., derajat hidrolisis

#### ABSTRACT

*Fish protein hydrolysate (FPH) is a product of the hydrolysis reaction of peptide bonds resulting in the release of short active peptides and more easily absorbed. Fish protein hydrolyzate (HPI) is a product of the hydrolysis reaction of peptide bonds resulting in the release of short active peptides that are more easily absorbed. Snapper is an abundant marine fishery commodity in Indonesia. The aim of this study was to determine the physicochemical characteristics and bioactive capabilities of HPI from red snapper (*Lutjanus* sp.) on a pilot scale (120 kg biofermentor). Raw material and HPI testing includes organoleptic tests, TVB tests, ALT tests, proximate tests; HPI production uses the alkalase enzyme 20,000 U/kg substrate at a temperature of 55°C with a hydrolysis time of 0 to 8 hours. Tests for the degree of hydrolysis and antioxidant activity tests using the DPPH method are carried out every hour. The results showed that the hydrolysis time began to stabilize at the 6<sup>th</sup> to the 8<sup>th</sup> hour. The value of DH HPI at the 6<sup>th</sup> hour was 13.3% and antioxidant inhibition was 6.75%. The raw material is fresh fish with a TVB of 12.89%; protein content 21.41%; fat 4.66%; water 72.36%; ash 0.95%. The resulting HPI has a protein content of 19.20%; fat 0.15%; water 0.06%; ash 1.15%. HPI yield 15.75% of raw materials. Total microbes and organoleptics meet SNI standards. The highest amino acid content of raw materials and*

*HPI is glutamic acid with values of 3.3% and 3.4% respectively. The lowest amino acid content in raw materials and HPI is histidine with values of 0.43% and 0.52% respectively. Pilot scale HPI production produces HPI which is rich in essential amino acids and has bioactive antioxidant capabilities, so it has the potential to be used as a functional food ingredient.*

**KEYWORDS:** FPH, alcalase, *Lutjanus* sp. hydrolysis degree

## PENDAHULUAN

Ikan sebagai salah satu sumber protein yang tinggi. Ikan memiliki kandungan asam lemak omega-3, asam amino esensial, mineral, dan vitamin yang berperan penting terhadap perkembangan serta pertumbuhan manusia. Akan tetapi, sebagian orang dapat mengalami alergi atau intoleransi terhadap protein ikan. Pada tahun 2011 hingga 2013 telah terjadi kasus alergi terhadap ikan sebanyak 6 orang anak dari 286 (Calcinai et al., 2022) orang (Tanukusumah et al., 2015). Salah satu upaya untuk mengurangi terjadinya kasus alergi terhadap konsumsi ikan adalah dengan mengkonsumsi hidrolisat protein ikan yang dapat dikembangkan secara bioteknologi. (Liang et al., 2021); (Schallreuter et al., 2008).

Hidrolisat protein ikan (HPI) merupakan aplikasi produk dari reaksi hidrolisis pada ikatan peptida dalam protein yang menghasilkan pelepasan peptida aktif yang lebih pendek dan lebih mudah diserap oleh tubuh (Witono et al., 2020). Produk HPI memiliki kelarutan air yang tinggi, kapasitas pengemulsi yang baik, dan kemampuan untuk mengembang yang besar (Kurniawati et al., 2019). Proses hidrolisis juga dapat meningkatkan kelarutan, aktivitas biologis, dan kegunaan protein ikan (Mutamimah et al., 2018). Protein dapat dihidrolisis dengan proses kimia menggunakan asam terhadap ikan ekonomis rendah (Wisuthiphaet & Kongruang, 2015); maupun dengan proses enzimatis seperti penggunaan enzim protease dari daun biduri terhadap ikan ekonomis rendah (Witono et al., 2014).

Hidrolisis secara enzimatis lebih banyak digunakan dibandingkan hidrolisis kimia. Hal ini disebabkan karena produk yang dihasilkan mengandung lebih banyak asam amino esensial serta ramah lingkungan (Bernadeta et al., 2012). Penelitian tentang aktivitas antioksidan dari HPI antara lain HPI mata ikan tuna memiliki aktivitas antioksidan tertinggi pada proses hidrolisis menggunakan konsentrasi enzim papain 0,1% selama 6 jam hidrolisis (Mutamimah et al., 2018); HPI ikan *mudskipper* menggunakan enzim alkalase dengan perlakuan perbedaan konsentrasi alkalase menghasilkan aktivitas antioksidan terbaik pada 1,5% selama waktu hidrolisis 2 jam (Edison et al., 2020); aktivitas antioksidan HPI dari ikan tangkapan

samping *trawl* yang dihidrolisis menggunakan enzim papain lebih tinggi dibandingkan enzim proteinase K (Dinakarkumar et al., 2022); aktivitas antioksidan HPI jeroan ikan kerapu terbaik didapatkan dari hidrolisis menggunakan konsentrasi bromelain 10% selama waktu 8 jam (Palla et al., 2022).

Menurut informasi data statistik perikanan Indonesia yang diunduh pada laman <https://statistik.kkp.go.id/>, nilai produksi ikan kakap di Indonesia pada tahun 2021 mencapai Rp 438.754,24 juta dan meningkat pada tahun 2022 mencapai Rp. 533.898,71 juta. Ikan kakap merupakan hasil tangkapan utama dan tangkapan samping (*by catch*). Biasanya dijual dalam bentuk segar, dengan harga Rp. 45.000,- hingga Rp.55.000,- per kg (Noija, Martasuganda, Murdiyanto, & Taurusman, 2014). Industri pengolahan ikan memanfaatkan ikan kakap untuk produksi fillet, menghasilkan limbah berupa kepala, kulit, tulang, ekor dan sisa daging (*trimming*) sekitar 50% (Elvina & Utami, 2022). Prosentase secara umum sisa daging ikan dari industri fillet sekitar 1.6% dan masih mempunyai kandungan protein yang tinggi, namun nilai ekonomi yang rendah (Kandyliari et al., 2020). Peningkatan nilai tambah (*added value*) baik dari segi ekonomi dan biokimia menjadi tantangan tersendiri bagi peneliti untuk menghasilkan produk perikanan unggul.

Pemanfaatan ikan kakap merah (*Lutjanus* sp.) sebagai bahan baku baru dilakukan beberapa penelitian, diantaranya pembuatan HPI otot kakap *brownstripe* (Khantaphant, Benjakul, & Kishimura, 2011); pembuatan surimi dari limbah fillet kakap merah (Rostini, 2013); pembuatan HPI dari potongan daging ikan kakap (Prayudi et al., 2020) dan pembuatan limbah tetelan *trimming* ikan kakap dengan penambahan tepung talas jepang sebagai surimi (Fattah & Agussalim, 2019). Ovissipour et al., (2013) menyebutkan bahwa HPI yang merupakan peptida sederhana, diproduksi dari hidrolisis daging ikan bisa menggunakan berbagai jenis enzim. Berdasarkan tingkat kemampuan antioksidan yang dihasilkan, maka jenis enzim yang menghasilkan HPI dengan aktivitas tertinggi adalah enzim alkalase, flavorenzim, bromelain, papain dan enzim endogeneous dari ikan kakap. Kemampuan bioaktif ini menjadikan HPI berpotensi untuk digunakan sebagai suplemen kesehatan.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Prayudi et al., (2020) sebelumnya, belum disebutkan mutu

bahan baku ikan kakap yang digunakan, padahal mutu bahan baku menentukan mutu produk akhir. Pada penentuan derajat hidrolisis HPI ikan kakap terus meningkat hingga jam ke-7, tidak disebutkan skala produksi, HPI yang dihasilkan berupa cairan, belum sampai dalam bentuk siap pakai (*powder*), serta belum diteliti mutu organoleptik HPI yang dihasilkan. Penelitian tersebut juga belum menentukan aktivitas antioksidan HPI per satuan waktu hidrolisisnya. Produksi HPI skala besar menggunakan biofermentor bertujuan untuk menghasilkan HPI sebagai *ingredient* produk olahan selanjutnya. Pemanfaatan HPI sebagai *ingredient* digunakan untuk pangan (penyedap rasa dan minuman), kosmetika, farmasetikal, nutrasetikal dan industri pangan fungsional (Elavarasan, 2019). Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengkararakteristik fisikokimia serta aktivitas antioksidan HPI yang berasal dari ikan kakap merah pada skala pilot (biofermentor 120 kg).

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan baku utama adalah sisa daging ikan kakap (*trimming*) industri fillet dari Tanjung Priok, Jakarta. Bahan-bahan lain yang digunakan diantaranya enzim alkalase merk Novozymes (aktivitas 20.000 U/kg substrat), akuades, maltodekstrin (*food grade*), bahan kimia untuk pengujian dengan mutu *pro analyst* (p.a) antara lain *trichloroacetic acid* (TCA), natrium hidroksida (NaOH), asam borat ( $H_3BO_4$ ), larutan indikator (tashiro dan fenolftalein), asam klorida (HCl 0,02 N), media *nutrient agar*, asam sulfat ( $H_2SO_4$ ), natrium tiosulfat ( $Na_2S_2O_3$ ), kloroform ( $CHCl_3$ ), larutan buffer, larutan ophthaldialdehida (OPA), *bovine serum albumin* (BSA), radikal bebas 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)(Merck-Singapore).

### Metode

Mutu bahan baku HPI yaitu sisa daging (*trimming*) ikan kakap diuji organoleptik menggunakan SNI ikan beku (SNI 4110:2014, BSN, 2014). Mutu organoleptik HPI diuji menggunakan SNI tepung ikan SNI: 2715:2013, BSN, 2013) meliputi atribut kenampakan, tekstur, dan bau oleh 30 orang panelis. Penilaian dilakukan dengan menggunakan lembar penilaian (*scoresheet*) organoleptik. Skor 1 sebagai terendah hingga nilai tertinggi skor 9 untuk masing-masing atribut sensoris. Pengujian kimia dilakukan untuk bahan baku dan HPI bubuk meliputi pengujian proksimat (BSN, 2006), *total volatile base* (TVB) (SNI 2354.8.2009, BSN, 2009), mikrobiologi (SNI 01-2729-2013, BSN, 2013), dan

asam amino menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) merk Shimadzu Aglient jenis kolom SEC; jenis kolom HPLC : ultra techspere (Coloum C-18); suhu : 27°C (suhu ruang); tekanan : 3,000 Psi; kecepatan alir eluen : 1 mL/menit; fase gerak : buffer Na-asetat dan methanol 95%; detektor; panjang gelombang : 350-450 nm, serta fluoresensi; (AOAC, 2005).

### Pembuatan hidrolisat protein ikan (Yuniarti et al., 2021).

Sebanyak 70 kg sisa daging beku, dithawing, kemudian digiling menghasilkan 60,38 kg, ditambah dengan akuades lalu dicampurkan dengan perbandingan 1:1 (berat/volume). Suhu yang digunakan adalah 55-60°C. Enzim alkalase ditambahkan dengan konsentrasi 20.000 U/kg substrat saat suhu telah mencapai 55°C, dengan waktu hidrolisis selama 8 jam. Enzim diinaktivasi dengan menaikkan suhu hingga mencapai 90°C selama 20 menit. Pengendapan dilakukan dengan cara mendinginkan larutan tersebut selama semalam, sehingga menghasilkan dua fraksi yang terpisah yaitu fraksi filtrat dan residu. Filtrat disaring *spinner* dengan kantong filtrasi yang dilengkapi dengan 18-20 mesh. Selanjutnya, disaring dengan mesin mikro dan ultrafiltrasi berukuran pori membran 0,5 dan 0,1 µm yang bertujuan memisahkan antara filtrat HPI cair bening dan residu. Pada setiap jam diambil sampel HPI cair sebanyak 500 mL untuk dianalisa derajat hidrolisis dan kemampuan antioksidan HPI. Hasil HPI cair bening diubah menjadi bubuk menggunakan *spray dryer* dengan maltodekstrin sebagai pengisi pada konsentrasi 20% (berat/volume). *Spray dryer* dilakukan di inlet suhu 160°C, suhu keluar 90°C, dan aspirator 90%, sehingga diperoleh HPI dalam bentuk serbuk.

### Analisis derajat hidrolisis (Prastyo et al., 2020)

Sampel HPI diambil sebanyak 500 µL kemudian dilakukan homogenisasi dengan 500 µL TCA 20%. Selanjutnya, sampel dilakukan inkubasi selama 30 menit pada suhu 4°C. Setelah itu, sampel disentrifugasi pada kecepatan 3.000 rpm selama 20 menit. Supernatan diambil dan kandungan protein terlarut dianalisis (Lowry, Rosebrough, Farr, & Randall, 1951), diawali dengan membuat reagen. Reagen A berisi 2%  $Na_2CO_3$  dalam larutan NaOH 0,1 N. Reagen B berisi 0,5%  $CuSO_4$  dalam 1% natrium kalium tartrat ( $NaKC_4H_4O_6$ ). Reagen C berisi campuran reagen A 50 mL dan reagen B 1 mL. Reagen D berisi *Follin Ciocalteu* 10 mL ditambahkan dengan akuades 10 mL. Selanjutnya dilakukan pencampuran larutan sampel 0,05 mL; *aquadest* 1,95 mL; reagen C 2,75 mL; reagen D 0,5

mL, dihomogenkan dengan *vortex* dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Kemudian sampel ditera absorbansinya pada panjang gelombang 660 nm. Standar protein yang digunakan adalah *Bovine serum albumin* (BSA). Perhitungan derajat hidrolisis menggunakan rumus:

$$\text{Derajat Hidrolisis (\%)} = \frac{\text{Protein terlarut TCA}}{\text{Protein total}} \times 100$$

### Analisis rendemen

Rendemen merupakan salah satu parameter yang digunakan dalam menghitung jumlah bagian dari suatu bahan yang bisa dimanfaatkan dalam proses pengolahan hasil perikanan. Perhitungan rendemen diperoleh dari persentase berat produk akhir dibandingkan berat input yang diberikan pada suatu proses pengolahan. Apabila nilai persentase rendemen semakin besar, maka semakin banyak output produk yang dihasilkan (Adhamatika et al., 2023). Perhitungan rendemen menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rendemen(\%)} = \frac{\text{Berat output (produk)}}{\text{Berat input}} \times 100$$

### Analisis aktivitas antioksidan (Wulandari et al., 2021)

Analisis aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH berdasarkan Wulandari et al (2021). Sampel HPI 1 mL (konsentrasi 25; 12,5; 6.25 dan 3.25 ppm) ditambahkan 2 mL larutan DPPH (konsentrasi 0.1 mM) dan dihomogenkan. Selanjutnya, di dalam ruangan yang tidak terpapar langsung dengan sinar matahari sampel diinkubasi dalam waktu 30 menit. Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 515 nm dilakukan pada setiap konsentrasi HPI. Kontrol (negatif) yang digunakan adalah 2 mL metanol, sedangkan untuk kontrol (positif) yang digunakan 2 mL asam askorbat (2-14 ppm).

### Perhitungan IC<sub>50</sub>

Pada persamaan regresi linear, nilai konsentrasi sampel pada persentase inhibisi diplotkan pada masing-masing sumbu x dan sumbu y. Nilai IC<sub>50</sub>

(*Inhibitor Concentration* 50%) menggunakan persamaan linear dengan persamaan  $y=a+bx$ , yakni nilai x menunjukkan nilai IC<sub>50</sub> di setiap perlakuan dan nilai y sebagai 50. Nilai IC<sub>50</sub> dinyatakan sebagai konsentrasi yang diperlukan untuk mereduksi radikal bebas sebesar 50%.

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{\text{Absorbansi (Kontrol - Sampel)}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100$$

### Analisis Statistik

Pengukuran derajat hidrolisis tiap jam ke 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, dan ke 8 dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Untuk parameter analisis proksimat, TVB, ALT bahan baku dan HPI bubuk dilakukan sebanyak tiga kali ulangan. Selanjutnya, dilakukan penghitungan data untuk mencari nilai rata-rata dan standar deviasi. Data pengukuran derajat hidrolisis dianalisis menggunakan uji ANOVA kemudian dengan uji lanjut Duncan dengan SPSS v.25 X86 - X64 versi IBM dengan selang kepercayaan 95% ( $p<0,05$ ). Penentuan IC<sub>50</sub> menggunakan data antioksidan % inhibisi menggunakan model persamaan linier (Steel & Torrie, 1980).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil uji organoleptik bahan baku ikan kakap dan HPI

Uji organoleptik atau sensori atau pengujian dengan panca indra sudah dilakukan sejak dahulu yaitu panca indra manusia digunakan untuk menilai keamanan serta kualitas makanan dan minuman (Setyaningsih et al., 2010). Hasil uji organoleptik bahan baku dan HPI tersaji pada Tabel 1.

Nilai organoleptik bahan baku pada Tabel 1 menunjukkan nilai 7,32 dengan spesifikasi kenampakan kurang cemerlang, bau segar mengarah ke netral, tekstur sedikit kurang kompak serta kurang elastis. Hal tersebut menunjukkan bahwa bahan baku yang diterima telah sesuai dengan SNI 4110-2014 (BSN, 2014) ikan beku dengan nilai minimal 7. Mutu bahan baku segar sangat mempengaruhi mutu produk yang dihasilkan dan mutu bahan baku ikan yang telah menurun tidak bisa diperbaiki pada produk akhir sehingga penting untuk selalu memeriksa mutu bahan baku ikan (Bayarkli & Duyar, 2019).

Tabel 1. Nilai organoleptik bahan baku ikan kakap dan hidrolisat protein ikan (HPI)

Table 1. Organoleptic fish and fish protein hydrolysate (FPH)

Pengamatan/Observation	Nilai Rata-rata/Average
Daging ikan/Meat fish	7.32 ± 0.98
Hidrolisat protein ikan/Fish protein hydrolysate	7.07 ± 0.96

Nilai organoleptik HPI bubuk yang dihasilkan selama waktu inkubasi 8 jam, berdasarkan Tabel 1 yaitu rata-rata 7,07 dengan spesifikasi kenampakan cemerlang spesifikasi produk (putih keruh), bau spesifikasi produk ikan kakap, tekstur padat serbuk. Pengamatan menunjukkan produk HPI bubuk dalam keadaan baik. Produk HPI yang sesuai SNI diperoleh dengan mutu bahan baku yang diperhatikan, proses penanganan serta proses pengolahan sesuai prosedur, serta kebersihan dan sanitasi peralatan yang dijaga. HPI yang dihasilkan merupakan produk bubuk kering yang telah melawati *spray drying*. Pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air yang dapat menjadi media untuk pertumbuhan bakteri, sehingga diharapkan dapat memperpanjang mutu HPI dan terhindar dari kecepatan pertumbuhan bakteri. Karakteristik organoleptik HPI tergantung pada spesies ikan, bahan tambahannya (Shaviklo, 2015) dan proses perlakuan awal bahan baku ikan pembuatan HPI (Yarnpakdee et al., 2012).

**Proksimat, Total Volatil Base (TVB) dan Angka Lempeng Total (ALT) bahan baku dan HPI bubuk**

Bahan baku dan HPI bubuk dilakukan pengujian proksimat, nilai TVB dan ALT bakteri dapat dilihat pada Tabel 2.

Kadar protein ikan kakap sebesar 21.41 % dan kadar lemak 4.66 %. Data ini menunjukkan bahwa ikan kakap adalah ikan dengan jenis ikan tinggi protein dan sedang lemak. Menurut (Elfidasari et al. (2019) kategori ikan dengan kadar protein tinggi mempunyai kadar protein >20%, sedang 15-20% dan rendah <15%. Kadar lemak ikan mempunyai katagori tinggi jika mempunyai kadar lemak >5%, sedang 1-5%, kurang <1%. Kadar protein dari HPI bubuk diperoleh nilai 13,26%. Nilai kadar protein penelitian ini lebih kecil dari penelitian kadar protein Salamah et al. (2012) (53,29%) dengan menggunakan daging lele sebagai bahan baku. Sedangkan, kadar protein Annisa et al. (2017) sebesar 30,17% menggunakan daging ikan nila. Kadar protein HPI bubuk pada penelitian ini lebih rendah karena adanya penambahan maltodekstrin

sebagai bahan pengisi. Maltodekstrin meningkatkan derajat kering pada produk berbentuk bubuk (Romulo & Audrey, 2024). Protein yang tidak larut mengalami konversi menjadi senyawa nitrogen yang larut selama proses hidrolisis. Proses ini kemudian berlanjut dengan pemecahan senyawa seperti seperti peptida-peptida dan asam amino menjadi komponen yang lebih sederhana sehingga mudah diserap oleh tubuh (Nurhayati et al., 2014).

Kadar lemak dalam HPI pada penelitian ini adalah sebesar 0,60%. Jika dibandingkan dengan bahan baku kadar lemak HPI ini tergolong lebih rendah. Sebagian lemak di dalam hidrolisat protein ikut terpisah bersamaan dengan protein tidak terlarut, yakni ketika proses sentrifugasi dilakukan. Hidrolisat protein memiliki kadar lemak rendah yang pada umumnya lebih stabil terhadap reaksi oksidasi lemak dibandingkan HPI yang memiliki kadar lemak tinggi (Salamah et al. , 2012).

Prinsip pengujian pada analisis TVB yaitu dilakukan proses penguapan pada senyawa-senyawa basa volatil (amina, di-, dan trimetilamin). Selanjutnya asam borat mengikat senyawa tersebut dan dilakukan titrasi menggunakan larutan HCl. Kandungan TVB (basa yang mudah menguap) merupakan hasil akhir protein yang telah diurai. Tabel 2 menunjukkan bahwa kandungan rata-rata TVB sebesar 12,89. Berdasarkan nilai TVB, kesegaran ikan ada empat kriteria yaitu ikan sangat segar (nilai TVB <10 mgN/100 g); ikan segar (nilai TVB 10-20 mgN/100 g); ikan masih bisa dikonsumsi (nilai TVB 20-30 mgN/100 g); dan tidak bisa dikonsumsi (nilai TVB >30 mgN/100 g) (Annisa et al., 2017). Berdasarkan standar kandungan TVB maka ikan kakap sebagai bahan baku termasuk kategori sangat segar karena nilai TVB <20 mgN/100 g. HPI tidak diuji nilai TVB karena HPI dalam bentuk kering sudah tidak mengandung basa volatil. Nilai TVB juga tidak dipersyaratkan dalam SNI tepung ikan.

Nilai organoleptik bahan baku berdasarkan Tabel 1 sebesar 7,32 dengan spesifikasi kenampakan kurang cemerlang, bau segar mengarah ke netral, tekstur sedikit kurang kompak serta kurang elastis.

Tabel 2. Komposisi proksimat, TVB dan ALT pada bahan baku ikan dan HPI bubuk

Table 2. Composition of proximate, TVB and TPC in fishraw material and FPH powder

	<b>Protein/ Protein</b>	<b>Lemak/ Fat</b>	<b>Air/ Moisture</b>	<b>Abu/ Ash</b>	<b>Karbohidrat/ Carbohydrate</b>	<b>TVB</b>	<b>ALT/TPC (Koloni/g/ Colony/g)</b>
	<b>% w/w</b>						
Daging ikan/ <i>Meat fish</i>	21.41	4.66	72.36	0.95	0.62	12.89	2.5 x 10 <sup>3</sup>
Hidrolisat protein ikan bubuk/ <i>Fish protein hydrolysate powder</i>	13.26	0.60	4.97	1.42	79.75	-	2.7 x 10 <sup>3</sup>

Mutu bahan baku yang diterima memenuhi standar persyaratan bahan baku yaitu 7 sesuai SNI 4110-2014 ikan beku. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa produk HPI bubuk dalam keadaan baik.

Hasil uji mikrobiologi bahan baku dan HPI pada Tabel 2 diatas menunjukkan bahwa nilai ALT berkisar  $2,5 \times 10^3$  koloni/g sampai  $2,7 \times 10^3$  koloni/g. Jumlah koloni mikroba berada dibawah SNI 4110:2014 ikan beku yaitu  $5 \times 10^3$  koloni/g (BSN, 2014). Nilai ini menunjukkan bahwa bahan baku ikan kakap yang digunakan pada penelitian ini masih segar. Jumlah koloni mikroba akan semakin bertambah dengan penurunan mutu ikan (Pal et al., 2016).

### Rendemen

Rendemen hidrolisat merupakan persentase jumlah HPI yang dihasilkan terhadap berat bahan baku sebelum dihidrolisis. Hasil perhitungan rendemen dilakukan untuk mengetahui efisiensi proses pembuatan hidrolisat disajikan pada Tabel 3.

Berdasarkan data pada Tabel 3, rendemen HPI bubuk yang dihasilkan sebesar 15,75%. Pada penelitian sebelumnya, proses hidrolisis menggunakan enzim alkalase dan protamex menghasilkan rendemen sebesar 9,41% dan 5,31% (Amiri et al., 2016). Nilai rendemen HPI cair mencapai 70% menggunakan enzim papain 0,5% selama 1 jam (Himonides, Taylor, & Morris, 2011). Nilai rendemen HPI cair sebesar 77,77% selama 6 jam proses hidrolisis (Martosuyono, Fawzya, Patantis, & Sugiyono, 2019). Terdapat empat bentuk HPI yang dihasilkan dari produksi skala pilot. Bentuk produk HPI tersebut adalah serbuk HPI (terlarut) *spray dried*, HPI cair, serbuk HPI (sebagian terlarut) *spray drier* dan bentuk HPI kasar (biasanya untuk pakan hewan) (Himonides et al., 2011).

Nilai rendemen HPI tergantung dari bentuk HPI yang dihasilkan, jenis ikan, jenis enzim, pH, lama waktu hidrolisis, suhu hidrolisis. Bentuk HPI cair dari hidrolisis kepala ikan *parrotfish* (*Chlorurus sordidus*) menggunakan enzim endogenus dari ikan itu sendiri, pada pH 9 selama 24 jam menghasilkan rendemen HPI sebesar  $49.04 \pm 0.90\%$  (Prihanto

et al., 2019). Produksi HPI dari belut (*Monopterus albus*) menggunakan enzim papain 0.9% pada suhu 45 °C selama 9 jam yang dikeringkan menggunakan spray drier pada suhu 160 °C (*inlet*) dan 80 °C (*outlet*) menghasilkan rendemen HPI sebesar 14.99% (Priatni et al., 2020).

### Profil asam amino

Profil asam amino dari bahan baku dan HPI diuji menggunakan HPLC yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.

Pada sampel ikan beku dan HPI, kandungan asam amino tertinggi adalah asam glutamat dengan nilai masing-masing 3,3% dan 3,4%. Kandungan asam amino terendah pada masing-masing adalah histidin dengan nilai masing-masing 0,43% (bahan baku) dan 0,52% (HPI). Kandungan asam glutamat pada daging tinggi menurut Schweigert et al. (2010). Hal ini dikarenakan proses deaminasi yang terjadi antara asparagin dan asam amino glutamin yang membentuk asam glutamat. Salah satu asam amino non esensial yaitu asam glutamat memiliki peran dalam menunjang fungsi otak dan semakin kuat ingatan. Selain itu, manfaat dari asam glutamat membantu untuk meningkatkan massa otot. Apabila asupan asam glutamat lebih dari 120 mg per kg berat badan per hari dapat menyebabkan kerusakan sistem syaraf yang dapat menyebabkan penyakit *amyotrophic lateral sclerosis* dan alzheimer (Winarno, 2008). Histidin merupakan zat yang berperan penting dalam membentuk area sistem syaraf dan karnosin. Manfaat dari histidin yaitu memperkuat sel syaraf mielin yang berada di otak agar impuls mengalir ke seluruh tubuh sehingga resiko gangguan mental dapat dihindari (Iqbal et al., 2019).

### Derajat Hidrolisis

Derajat hidrolisis adalah nilai persentase (%) pelepasan gugus amino bebas selama proses hidrolisis berlangsung terhadap total jumlah nitrogen dalam substrat. Hasil penelitian menunjukkan nilai derajat hidrolisis meningkat selama proses hidrolisis dari jam ke-0 hingga jam ke-2. Nilai derajat

Tabel 3. Rendemen hidrolisat protein ikan

Table 3. Yield of fish protein hydrolysate

Komponen bahan/Ingredients	Rendemen/Yield
Total bahan/Material total	60.84 kg
Hidrolisat protein ikan bubuk/Fish protein hydrolysate powder	9.58 kg
Rendemen Hidrolisat protein ikan bubuk/Yield of Fish protein hydrolysate powder	15.75%

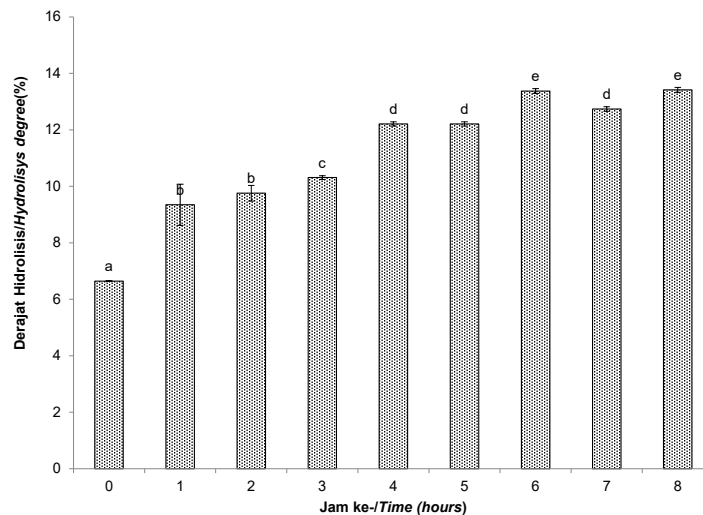
Tabel 4. Profil asam amino bahan baku ikan kakap dan HPI  
 Table 4. Profile of raw material amino acid and HPI

Parameter/ Parameters	Bahan Baku/Raw material (%)	HPI/Fish Protein Hydrolysate (%)
Asam Aspartat/Aspartic acid	2.01	1.84
Treonin/Threonine	0.84	0.81
Serin/Serine	0.71	0.68
Glutamat/Glutamate	3.3	3.4
Glisin/Glysin	1.77	2.07
Alanin/Alanine	1.45	1.67
Valin/Valine	0.95	0.94
Metionin/Methionine	0.56	0.51
Ileusin/Ileusine	0.86	0.74
Leusin/Leusine	1.49	1.51
Tirosin/Tyrosine	0.57	0.33
Penilalanin/Phenylalanine	0.75	0.72
Histidin/Histidine	0.43	0.52
Lisin/Lysine	1.66	1.93
Arginin/Arginine	1.39	1.03
<b>Total</b>	<b>18.74</b>	<b>18.7</b>

hidrolisis yang dihasilkan dari jam ke-0 hingga jam ke-7 adalah 4,91-14,57% disajikan pada Gambar 1.

Penentuan waktu hidrolisis selama 8 jam berdasarkan informasi awal dari Prayudi et al., (2020) yang telah meneliti lama waktu hidrolisis ikan kakap. Derajat hidrolisis (DH) meningkat

terus hingga jam ke-7, sehingga penelitian ini menggunakan waktu hidrolisis selama 8 jam, dan pengukuran DH dilakukan per jam waktu hidrolisis. Hasil pengujian ini menunjukkan bahwa mulai jam ke-6 hingga jam ke-8 terjadi produksi HPI yang mulai stabil dan tetap. Hasil yang tidak



Keterangan/Note: nilai dengan huruf yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan respon signifikan antar perlakuan ( $p < 0.05$ )/Values with different superscript letters in the column indicate significant differences between treatments ( $p < 0.05$ ).

Gambar 1. Nilai derajat hidrolisis dengan perlakuan waktu hidrolisis  
 Figure 1. The value of the degree of hydrolysis with hydrolysis time treatment

berbeda nyata ditunjukkan pada waktu hidrolisis di atas 6 jam. Pada penelitian hidrolisis enzimatis protein *Thunnus albacares* menunjukkan bahwa pada dua jam pertama waktu hidrolisis, derajat hidrolisis meningkat cepat, kemudian setelah itu menjadi semakin lambat. Proses hidrolisis substrat oleh produk yang diperoleh saat proses hidrolisis menyebabkan kecepatan peningkatan derajat hidrolisis semakin menurun.

Derajat hidrolisis mengalami nilai yang terus menurun dikarenakan terdapat proses hidrolisis pada substrat yang terhambat oleh produk yang dihasilkan (Ovissipour et al., 2010). Derajat hidrolisis yang dihasilkan dari proses hidrolisis HPI pada jam ke-6 sebesar 13,3% dan tidak berbeda nyata dengan DH HPI jam ke-8. Perbedaan nilai derajat hidrolisis dapat disebabkan oleh perbedaan jenis enzim yang digunakan saat proses hidrolisis, konsentrasi enzim, jenis substrat, konsentrasi substrat, suhu dan pH selama proses (Thi et al., 2018).

#### Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh proses hidrolisis dilihat dengan melakukan perbandingan aktivitas setiap variasi hidrolisis, yaitu dimana jam ke-0 mewakili ikan yang belum dihidrolisis. Bahan baku pada variasi jam ke-0 memperoleh perlakuan yang sama dengan variasi jam ke 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8.

Nilai antioksidan positif ditunjukkan dengan perubahan warna yang terjadi pada saat awal warna adalah ungu yang kemudian menjadi warna kuning pucat ketika larutan DPPH 2 mL ditambahkan.

Perubahan warna dipengaruhi oleh molekul DPPH yang tereduksi akibat adanya senyawa yang mampu memberikan atom pada hidrolisat sehingga radika berubah menjadi netral. Jika senyawa yang dapat mendornorkan atom semakin kuat, maka aktivitas antioksidan semakin tinggi. Hal ini dapat dilihat dari reaksi larutan DPPH berubah dari warna ungu menjadi pudar.

Dari hasil penelitian dapat dilihat nilai HPI ikan kakap mengalami terjadinya perubahan warna menjadi warna kuning yang menandakan adanya aktivitas antioksidan. Penilaian aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengukur nilai absorbansi pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) maks 515 nm. Kemudian dilakukan perhitungan inhibisi (%) dari jam ke-0 hingga jam ke-8, untuk menghitung nilai  $IC_{50}$ . Hasil penghitungan  $IC_{50}$  tersaji pada Tabel 5.

Berdasarkan Tabel 5 menunjukkan bahwa HPI pada waktu hidrolisis dari mulai jam ke-0 hingga 2 memiliki nilai  $IC_{50} < 150$  ppm yang menunjukkan nilai aktivitas antioksidan lemah. Pada hidrolisis jam ke-3 hingga ke-8 nilai  $IC_{50}$  sebesar 100-150 ppm, yang berarti aktivitas antioksidan sedang. Kemampuan antioksidan dinyatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai  $IC_{50} < 50$  ppm; kuat jika nilai  $IC_{50}$  sebesar 50-100 ppm; sedang jika nilai  $IC_{50}$  sebesar 100-150 ppm; lemah jika nilai  $IC_{50}$  sebesar 150-200 ppm (Molyneux, 2004). Peningkatan waktu hidrolisis, rasio enzim, kapasitas antioksidan menunjukkan kecenderungan meningkat diikuti dengan penurunan (Zhidong et al., 2012). Selain itu, aktivitas antioksidan dan nilai derajat hidrolisis hidrolisat dari kasein susu unta meningkat secara signifikan dalam waktu hidrolisis

Tabel 5. Nilai  $IC_{50}$  HPI pada waktu hidrolisis yang berbeda  
Table 5.  $IC_{50}$  of the FPH at different hydrolysis times

Waktu hidrolisis (jam) / Hydrolysis time (hours)	$IC_{50}$ (ppm)	Kategori antioksidan / Antioxidant category
0	172.45+12.07 <sup>a</sup>	Lemah/Weak
1	170.40+11.93 <sup>ab</sup>	Lemah/Weak
2	166.73+15.01 <sup>b</sup>	Lemah/Weak
3	128.19+14.36 <sup>c</sup>	Sedang/Moderate
4	112.49+12.60 <sup>d</sup>	Sedang/Moderate
5	115.02+12.88 <sup>d</sup>	Sedang/Moderate
6	123.09+11.08 <sup>e</sup>	Sedang/Moderate
7	119.39+09.55 <sup>de</sup>	Sedang/Moderate
8	112.12+10.09 <sup>d</sup>	Sedang/Moderate
Vitamin C	1.65+0.18 <sup>g</sup>	Sangat kuat/Very strong



hingga 6 jam (Kumar et al., 2016). Selama proses hidrolisis perbedaan ukuran, jumlah dan struktur peptida dan asam amino dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan (Wu et al., 2003).

## KESIMPULAN

Berdasarkan uji organoleptik, TVB dan mikrobiologi, mutu ikan kakap dalam bentuk *trimming*, sebagai bahan baku pembuatan HPI, termasuk dalam ikan segar. Komposisi kimia ikan kakap menunjukkan kategori ikan tinggi protein dan lemak sedang. Komposisi kimia HPI bubuk mempunyai kadar protein yang lebih rendah, dan mempunyai nilai organoleptik HPI yang baik. Rendemen HPI diperoleh sebesar 15,75% dari total keseluruhan bahan baku ikan kakap. Komposisi asam amino tertinggi dari bahan baku dan HPI adalah asam glutamat dengan nilai masing-masing 3,3% dan 3,4%, menjadikan HPI berpotensi digunakan sebagai penyedap rasa. Kemampuan antioksidan HPI ikan kakap skala pilot meningkat dengan lamanya waktu hidrolisis, namun kemudian stabil hingga jam ke-8. Jenis antioksidan HPI ini merupakan antioksidan yang kuat, sehingga HPI berpotensi juga untuk *ingredient* produk kesehatan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) berdasarkan Surat Keputusan Deputi Bidang Riset dan Inovasi Nomor 65/II.7/HK/2022 atas nama Dr. Tatty Yuniarti, M.Si.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adhamatika, A., Brilliantina, A., Sari, E. K. N., Wijaya, R., Triardiarto, D., & Sucipto, A. (2023). Analisis neraca massa dan energi pembuatan keripik kentang (*Solanum tuberosum* L). *Jurnal Sains Dan Terapan*, 2(1), 69–76.
- Amiri, R., Safari, R., Bakhshandeh, T., & Ahmadi, V. F. (2016). Functional Properties of fish protein hydrolysates from cuttlefish (*Sepia pharaonis*) muscle produced by two commercial enzymes. *Iranian Journal of Fisheries Sciences*, 15(4), 1485–1499.
- Annisa, S., Darmanto, Y. S., & Amalia, U. (2017). Pengaruh perbedaan spesies ikan terhadap hidrolisat protein ikan dengan penambahan enzim papain. *Saintek Perikanan*, 13(1), 24–30. <https://doi.org/10.14710/ijfst.13.1.24-30>
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis of AOAC International*. In *Aoac* (p. 3172).
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2006). *Cara uji kimia-bagian 2: Penentuan kadar air pada produk perikanan* (No. SNI-01-2354.2.2006).
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2014). *SNI 4110-2014. Ikan Beku*. Jakarta: BSN
- Badan Standardisasi Nasional (BSN).(2013). *SNI 2715-2013. Tepung Ikan Bahan Baku Pakan*. Jakarta: BSN
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2008). *SNI 2354.8.2008. Cara uji kimia-Bagian 8: Penentuan kadar Total Volatil Base Nitrogen (TVB-N)*. Jakarta: BSN.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2013). *SNI 01. 2729-2013. Ikan Segar. Spesifikasi*. Jakarta: BSN
- Badan Standardisasi Nasional (BSN).BSN. 2006. Cara Uji Kimia-Bagian 3: Penentuan Kadar Lemak Total pada Produk Perikanan. SNI-01-2354.3-2006.
- Bayrakli, B., & Duyar, H. A. (2019). The Effect of raw material freshness on fish oil quality produced in fish meal & oil plant. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences*, 4(3), 473–479. <https://doi.org/10.35229/jaes.636002>
- Bernadeta, Ardiningsih, P., & Silalahi, I. H. (2012). Penentuan kondisi optimum hidrolisat protein dari limbah ikan ekor kuning (*Caesio cuning*) Berdasarkan Karakteristik Organoleptik. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 1(1), 26–30.
- Calcinaï, L., Bonomini, M. G., Leni, G., Faccini, A., Puxeddu, I., Giannini, D., Petrelli, F., Prandi, B., Sforza, S., & Tedeschi, T. (2022). Effectiveness of enzymatic hydrolysis for reducing the allergenic potential of legume by-products. *Scientific Reports*, 12(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21296-z>
- Dinakarkumar, Y., Krishnamoorthy, S., Margavelu, G., Ramakrishnan, G., & Chandran, M. (2022). Production and characterization of fish protein hydrolysate : effective utilization of trawl by-catch. *Food Chemistry Advances*, 1(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100138>
- Edison, Dewita, Karnila, R., & Yoswaty, D. (2020). The hydrolysis of fish protein from giant mudskipper (*Periophthalmodon schlosseri*) using alcalase enzyme. *Nutrition and Food Science Journal*, 8(3), 1056–1063. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.8.3.32>
- Elavarasan, K. (2019). Health benefits and potential applications of fish protein hydrolysate. *ITEC Training Programme on 'Protocols for the Production of High Value Secondary Products from Industrial Fish and Shellfish Processing'*, 65–78.
- Elfidasari, D., Shabira, A. P., Sugoro, I., & Ismi, L. N. (2019). The nutrient content of Plecostomus (*Pterygoplichthys pardalis*) flesh from Ciliwung River Jakarta, Indonesia. *Nusantara Bioscience*, 11(1), 30–34. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n110106>
- Elvina, W., & Utami, R. T. (2022). Kajian potensi pemanfaatan limbah sisik ikan dari usaha ikan tangkap laut (studi kasus pasar kota Bengkulu). *Manfish Journal*, 2(3), 151–158. <https://doi.org/10.31573/manfish.v2i3.468>
- Fattah, N., & Agussalim. (2019). Kualitas gel surimi dari limbah tetelan trimming ikan tuna (*Thunnus* sp) dan ikan kakap (*Lates calcarifer*) dengan penambahan tepung talas jepang. In *Sustainability and Environmentally of Agricultural System for Safety, Healthy and Security*

- Human Life* (pp. 238–246).
- Himonides, A. T., Taylor, A. K. D., & Morris, A. J. (2011). Enzymatic hydrolysis of fish frames using pilot plant scale systems. *Food and Nutrition Sciences*, 2(6), 586–593. <https://doi.org/10.4236/fns.2011.26082>
- Iqbal, M., Suparmi, & Desmelati. (2019). Studi Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Lomek (*Harpodon nehereus*) dengan Menggunakan Enzim Papain. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Perikanan Dan Ilmu Kelautan*, 6(2), 5–13.
- Kandyliari, A., Mallouchos, A., Papandroulakis, N., Golla, J. P., Lam, T. K. T., Sakellari, A., Karavoltzos, S., Vasiliou, V., & Kapsokafalou, M. (2020). Nutrient composition and fatty acid and protein profiles of selected fish by-products. *Foods*, 9(2), 1–14. <https://doi.org/10.3390/foods9020190>
- Khantaphant, S., Benjakul, S., & Kishimura, H. (2011). Antioxidative and ace inhibitory activities of protein hydrolysates from the muscle of brownstripe red snapper prepared using pyloric caeca and Commercial Proteases. *Process Biochemistry*, 46(1), 318–327. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.09.005>
- Kumar, D., Chatli, M. K., Singh, R., Mehta, N., & Kumar, P. (2016). Enzymatic hydrolysis of camel milk casein and its antioxidant properties. *Dairy Science and Technology*, 96(3), 391–404. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0275-9>
- Kurniawati, E., Ibrahim, B., & Desniar. (2019). Potency of Catfish (*Clarias* sp.) protein hydrolysates as candidates matrices for microbiology reference material. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 14(3), 121–130.
- Liang, X., Sun, J., Yang, H., Cheng, J., Shi, X., Yang, M., ... Yue, X. (2021). Effects of enzymatic hydrolysis on the allergenicity of natural cow milk based on a BALB/c mouse model. *Journal of Dairy Science*, 104(12), 12353–12364. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-20260>
- Lowry, O., Rosebrough, N., Farr, A., & Randall, R. (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem.*, 193(1), 265–275.
- Martosuyono, P., Fawzya, Y. N., Patantis, G., & Sugiyono. (2019). Enzymatic production of fish protein hydrolysates in a pilot plant scale. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 14(2), 85–92.
- Molyneux, P. (2004). The Use of the stable free radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, 26(2), 211–221.
- Mutamimah, D., Ibrahim, B., & Trilaksani, W. (2018). Antioxidant activity of protein hydrolysate produced from tuna eye (*Thunnus* sp.) by Enzymatic Hydrolysis. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(3), 522–531.
- Noija, D., Martasuganda, S., Murdiyanto, B., & Taurusman, A. A. (2014). Pengelolaan sumberdaya ikan kakap merah (*Lutjanus* spp.) di Perairan Utara Cirebon, Laut Jawa. *Jurnal Teknologi Perikanan Dan Kelautan*, 5(1), 65–74. <https://doi.org/10.24319/jtpk.5.65-74>
- Nurhayati, T., Salamah, E., Cholifah, -, & Nugraha, R.-. (2014). Optimasi proses pembuatan hidrolisat jeroan ikan kakap putih. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 17(1), 42–52. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v17i1.8136>
- Ovissipour, M., Benjakul, S., Safari, R., & Motamedzadegan, A. (2010). Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna *Thunnus albacares* head using alcalase and protamex. *International Aquatic Research*, 2(1), 87–95.
- Ovissipour, M., Rasco, B., Shiroodi, S. G., Modanlow, M., Gholami, S., & Nemati, M. (2013). Antioxidant activity of protein hydrolysates from whole anchovy sprat (*Clupeonella engrauliformis*) prepared using endogenous enzymes and commercial proteases. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(7), 1718–1726. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5957>
- Pal, M., Ketema, A., Anberber, M., Mulu, S., & Dutta, Y. (2016). Microbial quality of fish and fish products. *Microbial Quality of Fish and Fish Products*, 43(2), 1–4.
- Palla, F., Metusalach, & Amir, N. (2022). Protein hydrolyzate of grouper viscera : effects of crude bromelain extract concentration and hydrolysis time on yield and degree of hydrolysis. *International Journal of Applied Biology*, 6(2), 222–229.
- Prastyo, D. T., Trilaksani, W., & Nurjanah. (2020). Aktivitas antioksidan hidrolisat kolagen kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(3), 423–433.
- Prayudi, A., Yuniarti, T., Taryoto, A., Supenti, L., & Martosuyono, P. (2020a). C. (2020). Chemical and amino acid composition of snapper scrap meat hydrolysate. 13(4), 14.
- Prayudi, A., Yuniarti, T., Taryoto, A., & Supenti, L. (2020). Chemical and amino acid composition of snapper scrap meat hydrolysate. *AACL.Bioflux*, 13(4), 2228–2241.
- Priatni, S., Harimadi, K., Buana, E., Kosasih, W., & Rohmatussolihat, R. (2020). Production and characterization of spray-dried swamp eel (*Monopterus albus*) Protein hydrolysate prepared by Papain. *Sains Malaysiana*, 49(3), 545–552. <https://doi.org/10.17576/jsm-2020-4903-09>
- Prihanto, A. A., Nurdiani, R., & Bagus, A. D. (2019). Production and characteristics of fish protein hydrolysate from parrot fish (*Chlorurus sordidus*) head. *PeerJ*, 7, 1–16. <https://doi.org/10.7717/peerj.8297>
- Romulo, A., & Audrey Aurellia, C. (2024). Effect of maltodextrin and egg white powder on physical characteristics of sorghum powdered drink. *BIO Web of Conferences*, 98. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20249806005>
- Rostini, I. (2013). Pemanfaatan daging limbah fillet ikan kakap merah sebagai bahan baku surimi untuk produk perikanan. *Jurnal Akuatika*, 4(2), 141–148. <https://doi.org/10.1093/acref/9780192803511.013.0376>
- Salamah, E., Nurhayati, T., & Widadi, I. R. (2012). Pembuatan dan Karakteristik Hidrolisat Protein dari Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Menggunakan

- Enzim Papain. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 15(1), 9–16.
- Schallreuter, K. U., Kothari, S., Chavan, B., & Spencer, J. D. (2008). Regulation of melanogenesis-controversies and new concepts. *Experimental Dermatology*, 17(5), 395–404. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0625.2007.00675.x>
- Shaviklo, A. R. (2015). Development of fish protein powder as an ingredient for food applications: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 648–661. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1042-7>
- Steel, R. G. D., & Torrie, J. H. (1980). *Principles and procedures of statistics a biometrical approach* (2nd ed.). New York: McGraw-Hill Book Company: New York.
- Tanukusumah, M., Kurniati, N., & Amelia, N. (2015). prevalensi alergi makanan pada anak usia kurang dari 3 tahun di Jakarta berbasis survei dalam jaringan/online. *Sari Pediatri*, 16(5), 365–374.
- Thi, H., Thanh, T., & Van, N. (2018). Optimization of Protein Hydrolysis Conditions from Shrimp Head Meat (*Litopenaeus vannamei*) Using Commercial Alcalase and Flavourzyme Enzymes. *Can Tho University, Journal of Science*, 54(1), 16–25. <https://doi.org/10.22144/ctu.jsci.2018.090>
- Wisuthiphaet, N., & Kongruang, S. (2015). Production of Fish protein hydrolysates by acid and enzymatic hydrolysis. *Journal of Medical and Bioengineering*, 4(6), 466–470. <https://doi.org/10.12720/jomb.4.6.466-470>
- Witono, Y., Maryanto, M., Taruna, I., Masahid, A. D., & Cahyaningati, K. (2020). Aktivitas Antioksidan hidrolisat protein ikan wader (*Rasbora jacobsoni*) dari hidrolisis oleh enzim calotropin dan papain. *Jurnal Agroteknologi*, 14(1), 44–57. <https://doi.org/10.19184/j-agt.v14i01.14817>
- Witono, Y., Taruna, I., Widrati, W. S., & Ratna, A. (2014). Hidrolisis ikan bernilai ekonomi rendah secara enzimatis menggunakan protease biduri. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 25(2), 140–145. <https://doi.org/10.6066/jtip.2014.25.2.140>
- Wu, H. C., Chen, H. M., & Shiau, C. Y. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, 36(1), 949–957. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(03\)00104-2](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(03)00104-2)
- Wulandari, L., Nugraha, A. S., & Himmah, U. A. (2021). Penentuan aktivitas antioksidan dan antidiabetes ekstrak daun matoa (*Pometia pinnata* J.R. Forst. & G. Forst.) secara In Vitro. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*, 11(2), 132–141. <https://doi.org/10.22435/jki.v11i2.3196>
- Yarnpakdee, S., Benjakul, S., & Kristinsson, H. G. (2012). Effect of pretreatments on chemical compositions of mince from Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and fishy odor development in protein hydrolysate. *International Aquatic Research*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/2008-6970-4-7>
- Yuniarti, T., Prayudi, A., Supenti, L., Suhwardan, H., & Martosuyono, P. (2021). The Hydrolysis protein profile of the by-product of the Fresh Shrimp Processing Industry. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 23(1), 63. <https://doi.org/10.22146/jfs.59906>
- Zhidong, L., Benheng, G., Xuezhong, C., Zhenmin, L., Yun, D., Hongliang, H., & Wen, R. (2012). Optimisation of hydrolysis conditions for antioxidant hydrolysate production from whey protein isolates using response surface methodology. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 52(1), 53–65.

