

LAPORAN AKHIR
KEGIATAN PENELITIAN

KARAKTERISTIK FISIKOKIMIA HIDROLISAT GELATIN
SISIK IKAN HARUAN (*Channa striata*)



TIM PENELITI

Dr. Bagus Fajar Pamungkas, S.Pi., M.Si.

(NIDN. 0004018004)

Dr. Ita Zuraida, S.Pi., M.Si.

(NIDN. 0001068002)

Andi Mismawati, S.Pd., M.Sc.

(NIDN. 0009068203)

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN
UNIVERSITAS MULAWARMAN
SAMARINDA

2023

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Karakteristik Fisikokimia Hidrolisat Gelatin Sisik Ikan Haruan (*Channa striata*)

Ketua Peneliti

- a. Nama : Dr. Bagus Fajar Pamungkas, S.Pi., M.Si.
- b. NIDN : 0004018004
- c. Pangkat/Golongan : Penata / IIIc
- d. Jabatan : Lektor
- e. Program Studi : Teknologi Hasil Perikanan
- f. Nomor HP/e-mail : 081258756280 / fajar.gus@gmail.com

Anggota Peneliti

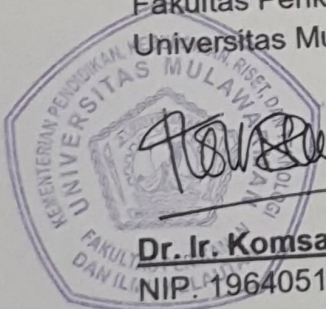
- 1. Dr. Ita Zuraida, S.Pi., M.Si. (NIDN. 0001068002)
- 2. Andi Mismawati, S.Pd., M.Sc. (NIDN. 0009068203)

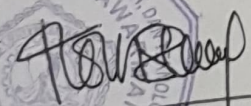
Biaya Penelitian : Rp. 20.000.000,00 (*Dua Puluh Juta Rupiah*)

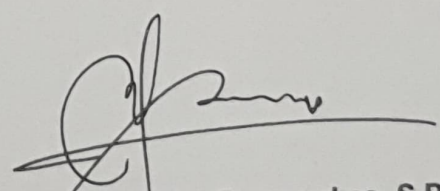
Samarinda, 17 Nopember 2023

Mengetahui,
Dekan
Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan
Universitas Mulawarman

Ketua Peneliti,




Dr. Ir. Komsanah Sukarti, M.P
NIP. 19640510 198903 2 003


Dr. Bagus Fajar Pamungkas, S.Pi., M.Si
NIP. 19800104 200312 1 004

DAFTAR ISI

HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
DAFTAR ISI	iii
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Permasalahan.....	2
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
2. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1. Ikan Haruan.....	4
2.2. Hidrolisat Gelatin	5
2.3. Enzim Papain	7
3. METODE PENELITIAN	8
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian.....	8
3.2. Bahan dan Alat Penelitian	8
3.2.1. Bahan	8
3.2.2. Alat.....	8
3.3. Prosedur Penelitian	9
3.3.1. Pembuatan Gelatin dari Sisik Ikan Haruan (<i>C. striata</i>).....	9
3.3.2. Pembuatan Hidrolisat Gelatin Sisik Ikan Haruan (<i>C. striata</i>)	10
3.3.3. Analisis Kadar Protein	11
3.3.4. Analisis Kadar Protein Terlarut	11
3.3.5. Analisis Kadar Air	12
3.3.6. Analisis Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)	13
3.3.7. Analisis Derajat Hidrolisis.....	13
3.3.8. Uji Aktivitas Antioksidan (DPPH).....	13
3.3.9. Analisis Data.....	14
4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	15
4.1. Nilai Rendemen, Kadar Air dan Kadar Protein Gelatin Sisik Ikan Haruan	15

4.2. Rendemen dan Derajat Hidrolisis Hidrolisat Gelatin.....	17
4.3. Protein <i>Pattern</i> Gelatin dan Hidrolisat Gelatin.....	18
4.4. Protein Terlarut dari Gelatin dan Hidrolisat Gelatin.....	20
4.2. Uji Aktivitas Antioksidan Gelatin dan Hidrolisat Gelatin	21
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	23
5.1. Kesimpulan.....	23
5.2. Saran.....	23

RINGKASAN

Sisik ikan merupakan salah satu hasil samping perikanan yang memiliki proporsi 5% terhadap ikan utuh, yang tinggi akan kandungan protein dan berpotensi menjadi bahan mentah untuk proses ekstraksi gelatin. Gelatin sisik ikan memiliki sifat struktur yang lemah sehingga menjadikannya lebih mudah untuk dihidrolisis menggunakan protease. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik fisikokimia dan aktivitas biologis dari hidrolisat gelatin sisik ikan haruan (*C. striata*). Rancangan percobaan yang digunakan untuk setiap analisis adalah rancangan acak lengkap. Perlakuan yang diamati adalah pemberian enzim papain dengan aktivitas berbeda yaitu P0 (gelatin tanpa penambahan enzim), P1 (5.000 U/g), P2 (7.000 U/g), dan P3 (9.000 U/g). Hasil penelitian menunjukkan bahwa hidrolisat gelatin sisik ikan haruan yang dihidrolisis menggunakan enzim papain memiliki perlakuan terbaik pada perlakuan P3, memiliki nilai rendemen 8,15% dengan nilai derajat hidrolisis 8,31%. Protein *pattern* dengan SDS-PAGE menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi enzim yang digunakan berpengaruh terhadap degradasi berat molekul hidrolisat gelatin. Namun, pada parameter protein terlarut P0 merupakan perlakuan terbaik dengan nilai protein terlarut 41,06%. Pada uji aktivitas antioksidan baik sampel tanpa penambahan enzim (P0) maupun sampel dengan penambahan enzim (P1, P2, dan P3) tidak memiliki aktivitas antioksidan

Kata Kunci: derajat hidrolisis, hasil samping perikanan, protein pattern, peptida bioaktif, SDS-PAGE

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ikan haruan (*Channa striata*) adalah ikan air tawar yang banyak ditemukan di wilayah tropis seperti Indonesia. Kalimantan Timur merupakan salah satu wilayah persebaran ikan haruan dan umumnya dikonsumsi sebagai lauk pauk pada suatu masakan oleh masyarakat setempat atau dapat pula diolah lebih lanjut menjadi kerupuk dan ikan asin (Pamungkas *et al.*, 2018). Berdasarkan data statistik Kementerian Kelautan dan Perikanan (2021) volume produksi ikan haruan di Kalimantan Timur pada tahun 2020 mencapai angka 20.642,52 ton. Tingkat konsumsi dan produksi perikanan yang tinggi tentunya akan meningkatkan jumlah hasil samping perikanan. Produksi hasil samping perikanan seperti kepala, tulang, kulit, dan sisik dapat mencapai 50-70% dari proporsi ikan utuh (Romadhon *et al.*, 2019). Sisik ikan memiliki proporsi 5% terhadap ikan utuh dan merupakan salah satu hasil samping perikanan yang tinggi akan kandungan protein sehingga berpotensi menjadi bahan mentah untuk proses ekstraksi kolagen (Choonpicharn *et al.*, 2015; Wangtueai *et al.*, 2016; Zuraida dan Pamungkas, 2020).

Gelatin merupakan hasil dari proses denaturasi parsial kolagen dan umumnya menggunakan bahan dasar yang berasal dari babi dan sapi (Yang *et al.*, 2019). Namun, penggunaan gelatin berbahan dasar babi dan sapi bertentangan dengan beberapa agama seperti Islam, Hindu, dan Yahudi lebih lanjut penggunaan gelatin dengan bahan dasar sapi menimbulkan kekhawatiran dikarenakan semakin banyaknya kemunculan penyakit-penyakit pada sapi seperti *Bovine Spongiform Encephalopathy* (BSE), *Transmissible Spongiform Encephalopathy* (TSE), dan *Foot and Mouth Disease* (FMD). Sisik ikan dapat menjadi sumber alternatif penggunaan gelatin dari babi dan sapi. Gelatin sisik ikan memiliki komposisi asam amino yang mirip dengan gelatin mamalia, selain itu gelatin sisik ikan

juga memiliki rentang yang lebih luas antara suhu leleh dan suhu gel dibandingkan gelatin mamalia dengan tetap mempertahankan viskositas dan kekuatan gel yang sebanding dengan gelatin sapi (Beishenaliyev *et al.*, 2019; Pamungkas *et al.*, 2018). Gelatin yang bersumber dari hasil perikanan salah satunya sisik ikan memiliki sifat struktur yang lemah sehingga menjadikannya lebih mudah untuk dihidrolisis menggunakan protease (Qiu *et al.*, 2019).

Enzim papain adalah salah satu protease yang umum digunakan untuk menghidrolisis gelatin. Enzim papain memiliki spesifisitas yang luas pada ikatan peptida yang memungkinkan diperolehnya derajat hidrolisis protein yang lebih tinggi (Shouket *et al.*, 2020). Hidrolisis secara enzimatik pada gelatin ikan menggunakan enzim papain menghasilkan peptida bioaktif dimana gelatin mengalami perlakuan hidrolisis terkontrol untuk memecah molekul gelatin menjadi potongan-potongan kecil yang mengandung kurang lebih 20 asam amino. Selama proses tersebut, rantai peptida dipecah menjadi rantai yang lebih kecil dan menghasilkan berat molekul yang lebih rendah. Komposisi dan struktur asam amino tersebut akan berpengaruh terhadap aktivitas biologisnya seperti aktivitas antioksidan, antihipertensi, dan antibakteri. Aktivitas biologis tersebut dipengaruhi oleh panjang rantai peptida dimana hal tersebut bergantung pada spesifitas enzim yang digunakan, kondisi lingkungan ketika hidrolisis serta tingkat proses hidrolisis (Mohammad *et al.*, 2015; Choonpicharn *et al.*, 2015).

1.2. Permasalahan

Penelitian mengenai hidrolisat gelatin dari hasil samping pengolahan ikan telah banyak dilaporkan diantaranya hidrolisat gelatin yang berasal dari sisik *lizard fish* atau ikan kadal (Wangteueai *et al.*, 2016), hidrolisat gelatin yang berasal dari kulit dan sisik *sole fish* atau ikan sebelah (Viji *et al.*, 2019), hidrolisat gelatin dari kulit ikan nila (Choonpicharn *et al.*, 2015), hidrolisat

gelatin dari sisik ikan cakalang (Qiu *et al.*, 2019), hidrolisat gelatin dari kulit ikan tuna sirip kuning (Han *et al.*, 2015), dan hidrolisat gelatin dari kulit ikan kakap (Khantaphant dan Benjakul, 2008). Penelitian mengenai hidrolisat gelatin yang berasal dari sisik ikan haruan (*C. striata*) masih belum banyak dilakukan. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui karakteristik fisikokimia dan aktivitas biologis dari hidrolisat gelatin sisik ikan haruan (*C. striata*).

1.3. Tujuan Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan untuk mengetahui karakteristik fisikokimia hidrolisat gelatin sisik ikan haruan (*C. striata*) yang dihidrolisis menggunakan enzim papain

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Ikan Haruan

Ikan haruan atau *C. striata* (Bloch, 1793) adalah jenis ikan karnivora yang dapat ditemukan diseluruh Indonesia, terutama di Provinsi Sumatera, Jawa, dan Kalimantan. Ikan haruan diketahui dapat hidup di rawa-rawa, sungai, danau, kolam, dan air payau. Ikan haruan disebut sebagai ikan berkepala ular (*snake head*) dikarenakan memiliki bentuk tubuh bundar di bagian depan dan pipih tegak ke arah belakang dengan punggung yang cembung dan perut yang rata. Ikan haruan memiliki rata-rata ukuran yang berkisar antara 30-40 cm dengan ukuran maksimal yang dapat mencapai 75 cm yang ditutupi dengan sisik sikloid dan stenoid (KKP, 2014; Suwandi *et al.*, 2014; Alam *et al.*, 2022). Klasifikasi ikan haruan berdasarkan KKP (2014) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Animalia
Filum : Chordata
Sub filum : Vertebrata
Kelas : Actinopterygii
Sub kelas : Neopterygii
Divisi : Teleostei
Sub divisi : Euteleostei
Ordo : Perciformes
Sub ordo : Channoidei
Famili : Channidae
Genus : Channa
Spesies : *Channa striata*

Tubuh ikan ditutupi oleh sisik dengan struktur yang terdiri dari lapisan kolagen dan berperan dalam melindungi dirinya dari objek tajam yang ada pada lingkungan alaminya serta melindungi diri mereka dari serangan penyakit dan predator. Sisik ikan memiliki variasi tipe yang berbeda pada tiap ikan tergantung pada jenis, ukuran, dan strukturnya (Qin *et al.*, 2022; Masood *et al.*, 2015; Rouf *et al.*, 2021). Sisik ikan merupakan salah satu produk hasil samping pengolahan yang berjumlah sekitar 5% dari proporsi ikan utuh yang tinggi kandungan protein dan sekitar 70% kandungannya merupakan protein kolagen (Zuraida dan Pamungkas, 2020; Masood *et al.*, 2015). Kolagen tipe I merupakan jenis kolagen yang dapat ditemukan pada jaringan ikat vertebrata seperti sisik ikan yang memiliki berbagai macam aplikasi diantaranya aplikasi pada bidang pangan, farmasetikal, biomedis dan kosmetik, selain itu sisik ikan juga berpotensi untuk diolah lebih lanjut menjadi gelatin karena kaya akan kandungan protein dan beberapa asam amino (Pamungkas *et al.*, 2018; Qin *et al.*, 2022)..

2.2. Hidrolisat Gelatin

Gelatin adalah bahan makanan hidrokoloid yang biasa digunakan dalam industri makanan karena sifat fungsionalnya. Gelatin adalah campuran heterogen dari protein larut air dengan berat molekul tinggi yang berasal dari kolagen yang terdenaturasi panas. Gelatin memiliki dua fungsi utama yaitu meningkatkan viskositas produk dan memberikan tekstur khusus karena kekuatan gelasi mereka. Gelatin juga dapat digunakan untuk menurunkan nilai kalori bahan makanan dengan meningkatkan kadar air atau mengganti sebagian gula atau lemak yang biasa digunakan (Giménez *et al.*, 2009; Schrieber dan Gareis, 2007).

Sumber utama gelatin adalah kolagen yang berasal dari sapi dan babi, namun penggunaannya bertentangan dengan beberapa agama seperti Islam, Yahudi, dan Hindu. Ikan merupakan salah satu alternatif sumber dari gelatin. Dibandingkan dengan gelatin mamalia, gelatin ikan memiliki kandungan asam imino (Pro dan Hyp) yang lebih rendah, hal ini

menyebabkan pelemahan terhadap stabilitas struktural dan perilaku reologinya, serta menurunkan suhu leleh dan kekuatan gelnya. Sifat fisikokimia tersebut sangat membatasi aplikasinya sebagai bahan rekayasa jaringan, karena sifat kekhususan strukturnya yang lemah ini gelatin ikan lebih cocok untuk pembuatan peptida bioaktif karena lebih mudah dihidrolisis oleh protease. Peptida bioaktif yang berasal dari gelatin ikan menunjukkan aktivitas biologis yang kuat dan telah menarik perhatian luas karena potensi aplikasinya yang luas dalam industri biomedis dan perawatan kesehatan (Qiu *et al.*, 2019).

Hidrolisis enzimatis dari gelatin disebut sebagai hidrolisat gelatin atau peptida kolagen. Proses hidrolisis memecah molekul gelatin menjadi potongan-potongan kecil yang mengandung kurang lebih 20 asam amino. Hidrolisat gelatin memiliki berat molekul yang rendah dibandingkan dengan prekursor gelatin (Subara dan Jaswir, 2021). Hidrolisis enzimatis dari gelatin akan menciptakan peptida bioaktif yang dapat berperan sebagai antioksidan. Peptida bioaktif yang berasal dari hidrolisis gelatin produk hasil samping perikanan diketahui memiliki fungsi sebagai radikal bebas, pengambil oksigen reaktif, dan agen pengkelat ion logam. Hidrolisat gelatin ikan juga dapat digunakan sebagai agen untuk pencegahan oksidasi lipid, selain itu hidrolisat gelatin ikan juga terdiri dari beberapa peptida yang dapat menghambat oksidasi protein karena kemampuannya untuk memperlambat pembentukan karbonil dan mengurangi hilangnya gugus sulfhidril (Kouhdasht *et al.*, 2021). Penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari hidrolisat gelatin yang bersumber dari beberapa jenis ikan telah banyak dilakukan diantaranya aktivitas antioksidan hidrolisat gelatin dari *sole fish* dan cumi-cumi (Giménez *et al.*, 2009), ikan cakalang (Qiu *et al.*, 2019), ikan tuna sirip kuning (Han *et al.*, 2015), ikan kakap (Khantaphant dan Benjakul, 2008).

2.3. Enzim Papain

Papain adalah enzim yang mempunyai fungsi proteolitik dengan aktivitas protease sistein yang berasal dari tanaman endolitik dan termasuk ke dalam superfamili papain. Papain diperoleh dari getah buah pepaya (*Carica papaya L.*) yang masih mentah yang selanjutnya dikumpulkan dan dikeringkan. Papain memiliki fungsi proteolitik yang luas terhadap protein, peptida rantai pendek, ester asam amino dan rantai amida dan diaplikasikan secara luas pada obat-obatan dan bahan makanan. Enzim papain memiliki spesifisitas yang luas pada ikatan peptida yang memungkinkan diperolehnya derajat hidrolisis protein yang lebih tinggi, namun secara khusus enzim papain memecah asam amino bermuatan positif terutama lisin, arginin, dan penilalanin. Enzim papain dapat berkerja secara optimal pada pH netral yaitu 6-7 namun tetap dapat mempertahankan aktivitasnya pada rentang pH yang luas yaitu 3-9 selain itu enzim papain juga diketahui stabil pada suhu tinggi dan dapat aktif dalam berbagai macam kondisi (Pascacio *et al.*, 2021; Shouket *et al.*, 2020). Penggunaan enzim pada hidrolisis gelatin ikan sangat efisien dikarenakan spesifitasnya yang luas dan memungkinkan diperolehnya derajat hidrolisis yang lebih tinggi (Putra *et al.*, 2017; Pascacio *et al.*, 2021). Hidrolisis enzimatik gelatin yang bersumber dari hasil samping perikanan menggunakan enzim papain telah banyak dilakukan, diantaranya hidrolisat kolagen kulit ikan nila (Prastyo *et al.*, 2020; Choonpicharn *et al.*, 2016), hidrolisat gelatin sisik ikan kadal atau *lizard fish* (Wangtueai *et al.*, 2016), hidrolisat gelatin sisik ikan cakalang (Qiu *et al.*, 2019), dan hidrolisat gelatin kulit ikan salmon (Vázquez *et al.*, 2021).

3. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli – September 2023. Analisis kadar protein kasar, kadar air, dan derajat hidrolisis akan dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman sedangkan analisis kadar protein terlarut, SDS-PAGE dan uji DPPH dilakukan di Laboratorium Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada.

3.2. Bahan dan Alat Penelitian

3.2.1. Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah sisik ikan haruan (*C. striata*) yang didapatkan di Pasar Segiri, Samarinda, Kalimantan Timur. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *trichloroacetic acid* (TCA), akuades, HCl, NaOH, *2,2-diphenyl1-1-picrylhydrazyl* (DPPH), *lowry reagent* (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA), enzim papain (EC 3.4.22.2), *Bovine Serum Albumine* (BSA), H₃BO₃, H₂SO₄, K₂SO₄, HgO, SDS-PAGE Standars (PM5100 ExcelBand™ 3-color Pre-Stained Protein Ladder, High Range (10-245 kDa), SMOBIO Technology, Inc.).

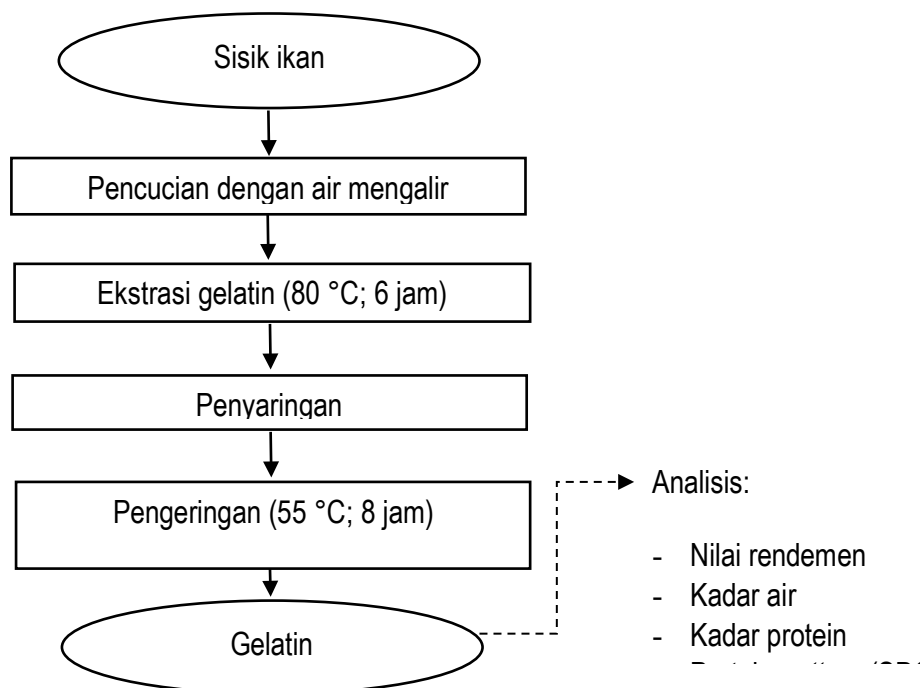
3.2.2. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain cawan porselin, timbangan digital, desikator (Adventurer), oven listrik (Mummert UN 55), kertas saring (Whatman No. 3), gelas kimia, cawan petri, labu ukur, corong kaca, klem, termometer, blender, piknometer, gelas ukur, pipet tetes, corong buchner, dan spatula. Alat analitikal yang digunakan antara lain *refrigated centrifuge* (Eppendorf Centrifuge 5417 R), SDS-PAGE (Biorad Mini Protean Unit), pH meter (Trans Instruments Aqua-pal tester), Spektrofotometer UV-VIS (Genesys 10S), *food dehydrator* (Wirastar).

3.3. Prosedur Penelitian

3.3.1. Pembuatan Gelatin dari Sisik Ikan Haruan (*C. striata*)

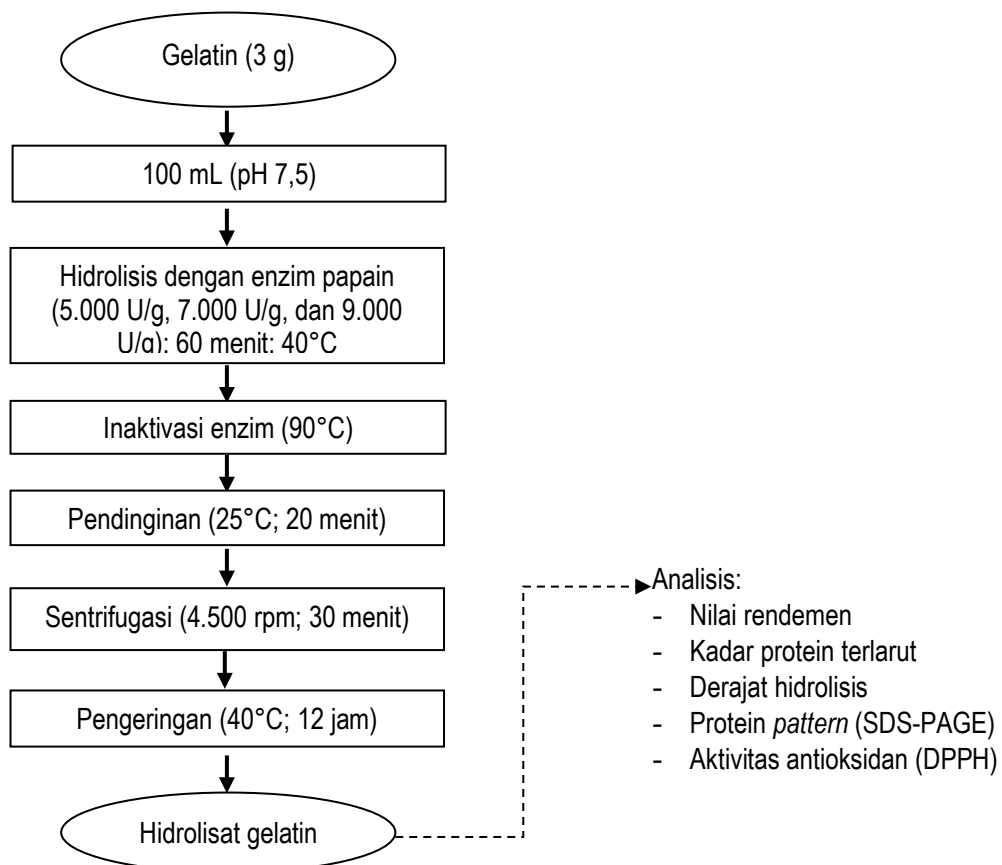
Metode yang digunakan untuk ekstraksi gelatin dilakukan berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Zuraida dan Pamungkas (2020) dengan modifikasi, penelitian ini tidak melakukan praperlakuan asam pada sisik ikan. Sisik ikan yang telah dipisahkan dari tubuhnya disimpan ke dalam wadah plastik untuk selanjutnya dipindahkan ke Laboratorium Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Mulawarman untuk dilakukan proses lanjutan. Sisik ikan selanjutnya dibersihkan dengan air mengalir dengan tujuan membersihkan kotoran agar memudahkan dalam proses ekstraksi. Sisik ikan yang telah dibersihkan kemudian diekstrak menggunakan air suling pada suhu 80 °C selama 6 jam. Hasil ekstraksi selanjutnya disaring dengan alat saring dan kain saring. Filtrat yang didapatkan selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan *food dehydrator*. Gelatin kering yang diperoleh selanjutnya dianalisis nilai rendemen, kadar air, kadar protein, dan pola protein. Diagram alir pembuatan gelatin dari sisik ikan haruan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pembuatan gelatin dari sisik ikan haruan

3.3.2. Pembuatan Hidrolisat Gelatin Sisik Ikan Haruan (*C. striata*)

Metode yang digunakan pada hidrolisis gelatin mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Kittiphattanabawon *et al.* (2012) dengan modifikasi pada konsentrasi enzim yang digunakan. Sampel gelatin sebanyak 3 g dilarutkan ke dalam 100 mL larutan akuades, pH campuran sampel disesuaikan menjadi 7,5 menggunakan HCl 1 M atau NaOH 1 M. Hidrolisis dilakukan dengan menambahkan enzim papain 5.000 U/g (P1), 7.000 U/g (P2), dan 9.000 (P3) dan dihidrolisis selama 60 menit pada suhu 40 °C. Papain diinaktivasi dengan memanaskan campuran selama 15 menit pada suhu 90 °C. Campuran reaksi kemudian didinginkan pada suhu ruang selama 20 menit. Sampel selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 4.500 rpm selama 30 menit. Supernatan yang didapatkan selanjutnya dikeringkan menggunakan *food dehydrator*. Hidrolisat gelatin kering selanjutnya dianalisis nilai rendemen, kadar protein terlarut, derajat hidrolisis, protein *pattern* dengan SDS-PAGE, dan aktivitas antioksidannya (DPPH). Alur pembuatan hidrolisat gelatin dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Proses hidrolisis gelatin sisik ikan haruan (*C. striata*)

3.3.3. Analisis Kadar Protein

Analisis kadar protein mengacu pada Apriyantono *et al.*, (1989) dengan menggunakan metode Kjeldahl. Sebanyak 0,2 g sampel dimasukkan ke dalam labu kjeldahl 30 ml dan selanjutnya ditambahkan 0,7 g K₂SO₄ dan 3 mL H₂SO₄. Sampel kemudian didestruksi selama 1-1,5 jam sampai cairan berwarna hijau jernih lalu didinginkan dan ditambah air suling perlahan-lahan. Isi dari labu Kjeldahl selanjutnya dipindahkan ke dalam alat destilasi. Cuci dan bilas labu Kjeldahl 5-6 kali dengan 1-2 mL akuades kemudian pindahkan ke dalam alat destilasi. Letakkan erlenmeyer 125 mL yang berisi 5 mL larutan H₃BO₃ dan 2-4 tetes red indikator dibawah kondensor. Tambahkan 10 mL larutan NaOH ke dalam alat destilasi, kemudian lakukan destilasi sampai tertampung 15 mL destilat dalam erlenmeyer. Bilas tabung kondenser dengan akuades dan tampung bilasannya dalam erlenmeyer yang sama. Encerkan isi erlenmeyer sampai 40 mL kemudian lakukan titrasi dengan HCl 0,02 N sampai terjadi perubahan warna menjadi merah muda. Perhitungan analisis kadar protein menggunakan rumus:

$$\% N = \frac{(\text{ml HCl} - \text{ml Blanko}) \times 14,007 \times N \text{ HCL}}{\text{mg sampel}} \times 100$$

$$\% \text{Protein (b/b)} = \% N \times 5,5 \text{ (faktor protein)}$$

3.3.4. Analisis Kadar Protein Terlarut

Analisis kadar protein terlarut mengacu pada Viji *et al.* (2019) dengan modifikasi pada analisis kadar protein. Sampel hidrolisat gelatin sebanyak 1 g dilarutkan ke dalam 100 mL akuades. Sampel selanjutnya diaduk menggunakan pengaduk magnetik dan disentrifugasi pada kecepatan 5.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang diperoleh diuji kadar proteinnya menggunakan metode Lowry yang mengacu pada Apriyantono *et al.* (1989). Tahap awal metode Lowry adalah membuat larutan reaksi. Larutkan 2% natrium karbonat ke dalam NaOH 0,1 N (1). Larutkan 0,5% tembaga sulfat ke dalam larutan Na.K tartrat 1% (2). Campurkan 50 mL pereaksi (1) dan 1 mL pereaksi (2) untuk mendapatkan pereaksi (3). Tahap selanjutnya yaitu proses uji protein sampel. Sampel protein sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan akuades sampai larutan menjadi 4 mL. Selanjutnya tambahkan sebanyak 5,5 mL pereaksi (3), campurkan hingga merata dan diamkan selama 15 menit pada suhu ruang. Tambahkan

reagent folin-ciocalteu 0,5 mL, gojlok hingga merata kemudian diamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Sampel selanjutnya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer dengan dibaca serapannya pada panjang gelombang 750 nm. Larutan BSA dengan seri konsentrasi 0,1 mg/mL, 0,2 mg/mL, 0,4 mg/mL, 0,6 mg/mL, 0,8 mg/mL dan 1,0 mg/mL digunakan sebagai standar protein. Kadar protein pada sampel dan supernatan dihitung dengan rumus:

$$\text{Kadar protein (\%)} = \frac{\text{konsentrasi sampel.faktor pengenceran.Volume ekstrak}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100$$

Kadar protein terlarut selanjutnya dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Protein terlarut (\%)} = \frac{\text{kadar protein pada supernatan}}{\text{kadar protein pada sampel}} \times 100$$

3.3.5. Analisis Kadar Air

Analisis kadar air mengacu pada Apriyantono *et al.*, (1989) dengan menggunakan metode *Thermogravimetri*. Pengeringan dilakukan dengan menggunakan *drying oven* pada suhu 105 °C hingga berat sampel konstan. Cawan yang telah dioven selama 15 menit didinginkan ke dalam desikator selama 20 menit hingga mencapai suhu ruang dan ditimbang. Selanjutnya timbang sampel sebanyak 2 g dalam cawan. Cawan yang diisi sampel dikeringkan kedalam oven dengan suhu 105°C selama 16 jam. Sampel dipindahkan dengan menggunakan alat penjepit ke dalam desikator selama 20 menit kemudian ditimbang. Keringkan kembali ke dalam oven hingga diperoleh berat yang konstan. Perhitungan analisis kadar air menggunakan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{B-C}{B-A} \times 100$$

Keterangan:

A: berat cawan kosong (g)

B: berat cawan dan sampel awal (g)

C: berat cawan dan sampel kering (g)

3.3.6. Analisis Sodium Dodecyl Sulphate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE)

Analisis SDS-PAGE mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Zuraida dan Pamungkas (2020) dengan menggunakan *resolving gel* 10% dan *stacking gel* 5%. Hidrolisat gelatin sebanyak 10 mg dilarutkan dalam 0,5 mL SDS 10% (b/v) kemudian dipanaskan pada suhu 85 °C selama 1 jam dan disentrifugasi pada kecepatan 10.000 g selama 15 menit. Supernatan yang dihasilkan selanjutnya dicampur dengan buffer sampel yang mengandung β ME yang berperan sebagai zat pereduksi dan kemudian dipanaskan selama 3 menit. Sampel protein dimasukkan ke dalam gel poliakrilamida dan dielektroforesis pada 120 V.

3.3.7. Analisis Derajat Hidrolisis

Analisis derajat hidrolisis yang digunakan mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Tsumura *et al.* (1999) dengan modifikasi pada konsentrasi TCA yang digunakan. Sebanyak 0,5 mL alikuot dari campuran reaksi terlarut (hidrolisat gelatin 5 mg/mL dalam akuades) dan larutan TCA 20% dengan volume yang sama dicampur dan diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Selanjutnya campuran disentrifugasi pada kecepatan 4.500 rpm selama 30 menit untuk mendapatkan fraksi terlarut-TCA 10%. Fraksi terlarut-TCA 10% dan hidrolisat gelatin masing-masing diuji kadar proteinya menggunakan metode Kjeldahl. Derajat hidrolisis selanjutnya dihitung berdasarkan perbandingan fraksi protein terlarut-TCA 10% terhadap total protein pada hidrolisat gelatin, yang dinyatakan dalam persen.

3.3.8. Uji Aktivitas Antioksidan (DPPH)

Uji Aktivitas antioksidan dengan *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) mengacu pada penelitian yang dilakukan oleh Viji *et al.* (2019). Hidrolisat gelatin dengan konsentrasi 2 mg disiapkan dalam air suling. Alikuot dari 20 μ l konsentrasi yang berbeda ditambahkan ke 980 μ l larutan DPPH metanol 90 μ M. Larutan selanjutnya diinkubasi di bawah kegelapan pada suhu kamar selama 30 menit, dan absorbansi pada 517 nm diukur terhadap sampel kosong sebagai kontrol negatif (larutan metanol) menggunakan spektrofotometer UV-VIS. Campuran yang telah diinkubasi selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 10.000 g selama 10 menit sebelum penentuan absorbansi pada supernatant 515 nm. Perhitungan uji aktivitas antioksidan menggunakan rumus:

$$I\% = \frac{(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{blank}}} \times 100$$

A sample adalah nilai absorbansi dari larutan sampel yang dicampur dengan larutan DPPH sedangkan A blank adalah nilai absorbansi dari air suling yang dicampur dengan larutan DPPH.

3.3.9. Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan untuk setiap analisis adalah rancangan acak lengkap. Perlakuan yang diamati adalah pemberian enzim papain dengan aktivitas berbeda 5.000 U/g (P1), 7.000 U/g (P2), dan 9.000 (P3). Data yang diperoleh selanjutnya dianalisis menggunakan ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95% ($\alpha=0,05$) dan dilakukan uji lanjut BNT jika terdapat beda nyata pada tiap perlakuan.

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Nilai Rendemen, Kadar Air dan Kadar Protein Gelatin Sisik Ikan Haruan

Nilai rendemen, kadar air, dan kadar protein gelatin sisik ikan haruan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Nilai rendemen, kadar air, dan kadar protein gelatin sisik ikan haruan

No.	Analisis	Rata-rata (%)
1.	Rendemen	8,56 ± 0,92
2.	Kadar air	11,74 ± 0,01
3.	Kadar protein	74,31 ± 1,10

Rendemen gelatin merupakan perbandingan antara berat kering dari gelatin terhadap berat basah sisik ikan haruan. Nilai rendemen dari gelatin terhadap sisik ikan haruan adalah 8,56%. Nilai ini lebih rendah dari penelitian yang dilakukan oleh Zuraida dan Pamungkas (2020) dengan nilai rendemen 23,6% dan Truc *et al.* (2022) dengan nilai rendemen 14,3% dimana kedua penelitian tersebut menggunakan sampel sisik ikan haruan. Rendahnya rendemen gelatin dapat dipengaruhi karena tidak sempurnanya proses pemecahan kolagen menjadi gelatin dan juga berkurang atau menghilangnya kolagen pada proses pencucian (Alfaro *et al.*, 2014). Penggunaan asam dan basa pada saat praperlakuan sisik ikan sebelum ekstraksi gelatin juga dapat berpengaruh terhadap nilai rendemen, hal ini dikarenakan diperlakukan dengan asam atau basa dapat membantu perusakan atau pemecahan pada kolagen sehingga meningkatkan nilai rendemen gelatin. Rendahnya nilai rendemen pada penelitian ini kemungkinan disebabkan karena sisik ikan tidak melalui praperlakuan asam ataupun basa (Firdausiah *et al.*, 2021). Zuraida dan Pamungkas (2020) lebih lanjut menjelaskan bahwa tinggi rendahnya rendemen gelatin juga berkaitan dengan perbedaan metode yang digunakan pada saat ekstraksi gelatin sisik ikan. Nilai rendemen dapat dipengaruhi oleh waktu ekstraksi, semakin lama proses ekstraksi maka nilai rendemen akan semakin meningkat (Rosmawati *et al.*, 2021). Waktu ekstraksi pada penelitian ini berbeda jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Zuraida dan Pamungkas (2020) dimana pada penelitiannya ekstraksi dilakukan selama 12 jam, sedangkan pada penelitian ini ekstraksi hanya dilakukan selama 6 jam.

Kadar air pada bahan makanan akan menentukan penerimaan, kesegaran, penampakan, tekstur, rasa, serta kualitas dan ketahanan bahan makanan. Penentuan kadar air pada gelatin merupakan parameter yang sangat penting karena kadar air berkaitan erat dengan umur simpan gelatin dan berhubungan langsung dengan aktivitas mikroba yang mungkin terjadi pada saat penyimpanan gelatin (Sibuarian *et al.*, 2020). Hasil kadar air gelatin sisik ikan haruan adalah 11,74%. Kadar air gelatin sisik haruan telah memenuhi Standar Nasional Indonesia (SNI) dari gelatin dimana kadar air maksimal dari gelatin adalah 16% (SNI, 1995). Hasil penelitian ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Firdausiah *et al.* (2021) yang mengekstraksi gelatin dari kulit dan tulang ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*). Kadar air gelatin tidak dipengaruhi oleh suhu ekstraksi, namun dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti diantaranya jenis larutan pada proses ekstraksi, sumber bahan yang digunakan untuk ekstraksi gelatin, serta proses pengeringan dan penyimpanan gelatin sebelum analisis kadar air (Sibuarian *et al.*, 2020).

Kadar protein adalah salah satu parameter yang dapat menentukan kualitas dari gelatin (Firdausiah *et al.*, 2021). Kadar protein dari gelatin sisik ikan haruan adalah 74,31%, hasil ini lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rosmawati *et al.* (2021) dan Firdausiah *et al.* (2021) dimana keduanya mengekstraksi gelatin dari hasil samping ikan haruan (*C. striata*) dan ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*). Rosmawati *et al.* (2021) menjelaskan bahwa kadar protein pada gelatin tidak memiliki standar, karena nilainya dapat bervariasi tergantung pada bahan mentah yang digunakan, lebih lanjut dijelaskan bahwa perlakuan sebelum ekstraksi dan metode ekstraksi yang digunakan dapat mempengaruhi kadar protein yang diperoleh.

4.2. Rendemen dan Derajat Hidrolisis Hidrolisat Gelatin

Peningkatan konsentrasi enzim papain yang digunakan berpengaruh terhadap peningkatan nilai rendemen dan derajat hidrolisat gelatin sisik ikan haruan. Rendemen dan derajat hidrolisis pada tiap perlakuan dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai rendemen dan derajat hidrolisis dari hidrolisat gelatin sisik haruan

Sampel	Rendemen (%)	Derajat Hidrolisis (%)
P1	5,04 ± 0,02 ^a	7,54 ± 0,39
P2	7,01 ± 0,02 ^b	7,80 ± 0,39
P3	8,15 ± 0,14 ^c	8,31 ± 0,32

Keterangan: Sampel (penambahan enzim papain); P1 (5.000 U/g), P2 (7.000 U/g), P3 (9.000 U/g). Notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata berdasarkan uji BNT ($p < 0,05$).

Rendemen dari hidrolisat gelatin merupakan perbandingan dari presentase berat kering hidrolisat terhadap berat basah bahan baku yang digunakan (Viji *et al.*, 2019). Hasil rendemen pada Tabel 2 menunjukkan peningkatan nilai rendemen pada hidrolisat gelatin seiring peningkatan aktivitas enzim papain yang digunakan. Hasil nilai rendemen tertinggi ada pada perlakuan P3 dengan nilai rendemen 8,15% dan nilai rendemen terendah ada pada P1 dengan nilai rendemen 5,04%. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi enzim yang digunakan berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap nilai rendemen hidrolisat gelatin sehingga dilanjutkan uji lanjut BNT. Hasil uji BNT nilai rendemen pada penelitian ini menunjukkan bahwa setiap perlakuan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Peningkatan konsentrasi enzim yang digunakan pada saat hidrolisis akan meningkatkan pemotongan peptida pada substrat sehingga meningkatkan kecepatan reaksi dan berpengaruh terhadap peningkatan nilai rendemen hidrolisat gelatin (Aziz *et al.*, 2014; Rahmawati dan Nurjanah, 2020).

Derajat hidrolisis merupakan indikator yang banyak digunakan untuk mengukur tingkat hidrolisis protein. Derajat hidrolisis merupakan presentase jumlah ikatan peptida yang terpotong pada saat hidrolisis terhadap jumlah ikatan peptida yang ada pada protein. Derajat hidrolisis diketahui berperan dalam menentukan sifat fungsional, fisikokimia, dan bioaktivitas dari hidrolisat gelatin (Viji *et al.*, 2019; Dara *et al.*, 2020). Hasil uji derajat hidrolisis pada Tabel 2 menunjukkan

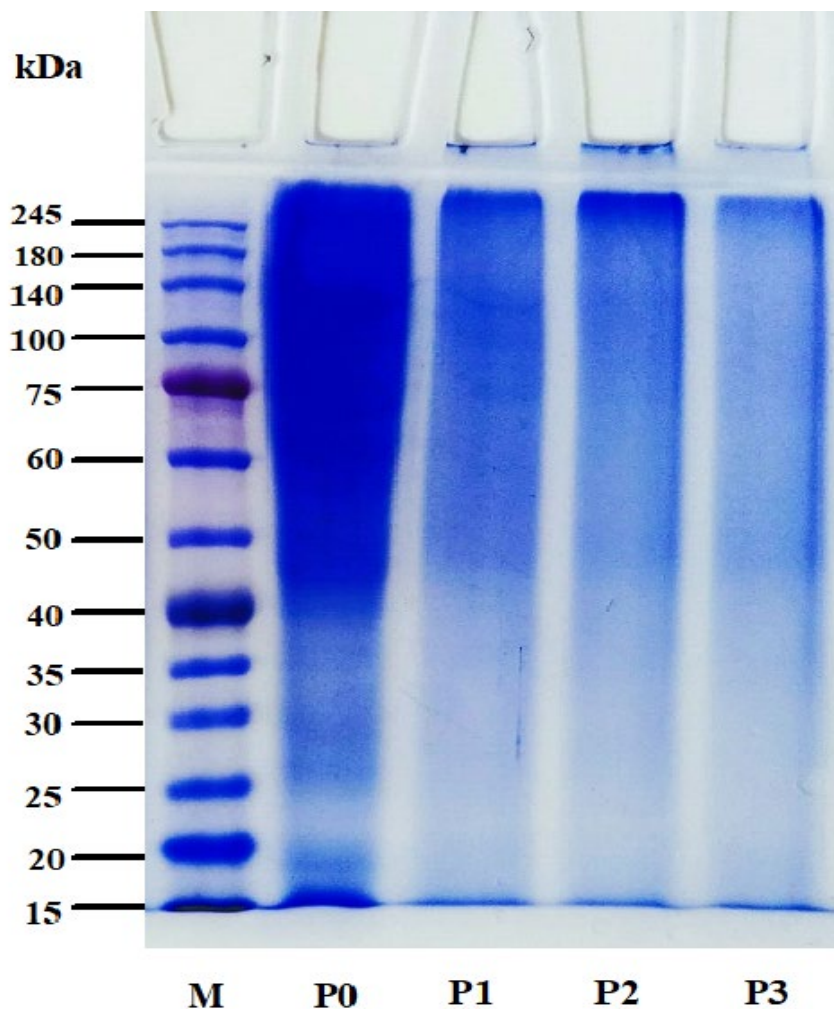
peningkatan nilai derajat hidrolisis seiring peningkatan konsentrasi enzim yang digunakan. Namun, hasil analisis ragam menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi enzim yang digunakan tidak berbeda nyata ($p < 0,05$). Derajat hidrolisis tertinggi ada pada perlakuan P3 dengan nilai derajat hidrolisis 8,31% dan derajat hidrolisis terendah ada pada perlakuan P1 dengan nilai derajat hidrolisis 7,54%. Peningkatan derajat hidrolisis pada hidrolisat gelatin mengindikasikan bahwa peningkatan konsentrasi enzim lebih banyak memotong ikatan peptida yang ada pada substrat (Aziz *et al.*, 2014).

Peningkatan konsentrasi enzim yang digunakan pada penelitian ini berbanding lurus dengan peningkatan derajat hidrolisis dan nilai rendemen dari hidrolisat gelatin. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Islam *et al.* (2021) dan Agustin *et al.* (2023) dimana pada penelitiannya peningkatan aktivitas enzim akan berpengaruh terhadap derajat hidrolisis dan nilai rendemen hidrolisat gelatin. Derajat hidrolisis pada penelitian ini lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Agustin *et al.* (2023) dan Viji *et al.* (2019). Nilai rendemen yang diperoleh pada penelitian ini lebih tinggi jika dibandingkan penelitian yang dilakukan oleh Agustin *et al.* (2023) dengan sampel kepala ikan haruan (*Channa striata*) yang melakukan hidrolisis dengan menggunakan enzim papain namun lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Viji *et al.* (2019) yang menggunakan sampel dari kulit dan sisik ikan sole atau ikan sebelah yang melakukan hidrolisis dengan menggunakan enzim alkalase. Variasi nilai rendemen dan derajat hidrolisis ini dipengaruhi oleh kandungan protein pada bahan baku yang digunakan serta kondisi pada saat hidrolisis enzimatis seperti pH, suhu, waktu, dan spesifisitas enzim yang digunakan (Islam *et al.*, 2021; Dara *et al.* 2020).

4.3. Protein Pattern Gelatin dan Hidrolisat Gelatin

Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide electrophoresis gel (SDS-PAGE) merupakan metode yang banyak digunakan untuk menentukan berat molekul protein. *Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide electrophoresis gel* (SDS-PAGE) melibatkan pemisahan protein berdasarkan berat molekulnya. Prinsipnya dengan memanaskan sampel dalam kondisi denaturasi dan reduksi, protein menjadi tidak terikat dan dilapisi dengan molekul deterjen SDS, memperoleh muatan negatif

tinggi yang sebanding dengan panjang rantai polipeptida. Ketika dimuat ke matriks gel dan ditempatkan di medan listrik, molekul protein bermuatan negatif bermigrasi menuju elektroda bermuatan positif dan dipisahkan oleh efek penyaringan molekul. Setelah visualisasi dengan teknik pewarnaan spesifik protein, ukuran protein dapat diperkirakan dengan membandingkan jarak migrasinya, dengan standar berat molekul yang diketahui (Roy dan Kumar, 2014). Protein *pattern* dari gelatin dan hidrolisat gelatin sisik ikan haruan dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Protein *pattern* dari gelatin dan hidrolisat gelatin sisik ikan haruan. M (marker); P0 (gelatin/kontrol); P1, P2, dan P3 (penambahan enzim papain); 5.000 U/g (P1), 7.000 U/g (P2), dan 9.000 U/g (P3).

Berdasarkan hasil SDS-PAGE, sampel P0 menunjukkan penyebaran berat molekul pada pita protein antara 40-245 kDa. Namun, dengan penambahan konsentrasi enzim yang digunakan terjadi penurunan berat molekul pada hidrolisat gelatin yang ditunjukkan dengan terdegradasinya berat molekul pada pita protein

antara 40-245 kDa. Selama proses hidrolisis gelatin dengan enzim papain berlangsung, terjadi pemotongan protein menjadi fraksi-fraksi protein yang lebih kecil (Baehaki *et al.*, 2015). Dapat dilihat pada perlakuan P1, P2, dan P3 memiliki berat molekul yang lebih rendah dibandingkan perlakuan P0 yang ditunjukkan melalui penipisan pada pita protein, hal ini disebabkan penambahan enzim papain yang membantu dalam proses pemecahan protein menjadi fraksi protein yang lebih kecil dan menghasilkan berat molekul yang lebih rendah (Baehaki *et al.*, 2015). Hasil ini menunjukkan proses hidrolisis dengan protease enzim papain berhasil memotong ikatan peptida pada gelatin dan menghasilkan ikatan peptida dengan berat molekul yang lebih rendah (Baehaki *et al.*, 2015).

4.4. Protein Terlarut dari Gelatin dan Hidrolisat Gelatin

Protein terlarut merupakan parameter fungsional yang sangat penting pada protein, karena tinggi rendahnya protein terlarut akan berpengaruh terhadap sifat fungsional lainnya seperti *foaming* (busa), pengemulsi, dan pembentukan gel (O'Dwyer *et al.*, 2022). Nilai protein terlarut dari gelatin dan hidrolisat gelatin dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai protein terlarut gelatin dan hidrolisat gelatin

Sampel	Rata-rata (%)
P0	41,06 ± 0,04 ^d
P1	22,67 ± 0,06 ^c
P2	19,80 ± 0,01 ^b
P3	17,56 ± 0,05 ^a

Keterangan: Sampel (penambahan enzim papain); P0 (gelatin/kontrol), P1 (5.000 U/g), P2 (7.000 U/g), P3 (9.000 U/g). Notasi huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata berdasarkan uji BNT ($p < 0,05$).

Nilai protein terlarut pada Tabel 3 menunjukkan penurunan kelarutan protein seiring dengan penambahan konsentrasi enzim. Nilai protein terlarut tertinggi ada pada perlakuan P0 dengan nilai 42,06% dan nilai protein terlarut terendah ada pada perlakuan P3 dengan nilai 17,56%. Hasil analisis ragam menunjukkan peningkatan konsentrasi enzim berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap nilai protein terlarut sehingga dilakukan uji lanjut BNT. Hasil uji BNT protein terlarut menunjukkan masing-masing perlakuan berbeda nyata terhadap perlakuan lainnya.

Protein terlarut dapat dipengaruhi oleh derajat hidrolisis dan berat molekul sampel, semakin tinggi derajat hidrolisis maka semakin rendah pula berat molekul

protein, yang akan meningkatkan nilai protein terlarutnya (Putra *et al.*, 2018). Namun pada penelitian ini, semakin meningkat dan menurunnya nilai derajat hidrolisis dan berat molekul hidrolisat, maka semakin menurun pula nilai protein terlarutnya. Hal ini kemungkinan disebabkan pada saat proses hidrolisis, enzim papain lebih memotong asam amino yang memiliki sifat polar (*hydrophilic*), yang kemudian menghasilkan hidrolisat gelatin dengan susunan asam amino yang bersifat non-polar (*hydrophobic*), hal ini sesuai dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Putra *et al.* (2018), yang menghidrolisis siput murbai menggunakan enzim papain dengan nilai derajat hidrolisis 72,96% namun memiliki nilai protein terlarut yang rendah dengan nilai protein terlarut 29,83%.

4.2. Uji Aktivitas Antioksidan Gelatin dan Hidrolisat Gelatin

Metode DPPH (*2,2-difenil-1-pikrilhidrazil*) merupakan metode yang banyak digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu komponen untuk menangkap senyawa radikal bebas (Baeheki *et al.*, 2015). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil dan bekerja maksimal pada absorbansi 517 nm pada etanol, ketika bertemu bahan dengan sifat pendonor proton, seperti antioksidan, radikal bebas akan menjadi stabil (Khantaphant dan Benjakul, 2008). Hasil uji antioksidan gelatin dan hidrolisat gelatin dengan metode DPPH dapat dilihat pada table 4.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antioksidan gelatin dan hidrolisat gelatin

No.	Sampel	Rata-rata (%)
1.	P0	ttd
2.	P1	ttd
3.	P2	ttd
4.	P3	ttd

Keterangan: Sampel (penambahan enzim papain); P0 (gelatin/kontrol), P1 (5.000 U/g), P2 (7.000 U/g), P3 (9.000 U/g). ttd (tidak terdeteksi)

Hasil penelitian menunjukkan baik gelatin maupun hidrolisat gelatin tidak memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan dari hidrolisat gelatin dipengaruhi oleh banyak faktor diantaranya ukuran peptida, penggunaan enzim, dan derajat hidrolisis. Nadzri *et al.* (2021) menjelaskan bahwa derajat hidrolisis yang tinggi akan menghasilkan peptida dengan berat molekul yang lebih rendah, sehingga terjadi peningkatan jumlah peptida berukuran kecil terdiri dari 2-16 asam

amino yang memiliki komponen bioaktivitas pada hidrolisat gelatin, yang berpengaruh terhadap aktivitas antioksidannya. Gelatin dan hidrolisat gelatin pada penelitian ini kemungkinan tidak tersusun oleh peptida berukuran kecil (2-16 asam amino) yang menyebabkan tidak adanya bioaktivitas pada gelatin dan hidrolisat gelatin. Faktor lain yang mempengaruhi aktivitas antioksidan adalah komposisi asam amino dan susunan peptida pada hidrolisat gelatin (Viji *et al.*, 2019). Kehadiran asam amino dan posisinya dalam susunan peptida memiliki peran penting terhadap kemampuan antioksidannya. Asam amino hidropobik dan asam amino aromatik seperti histidin, triptopan, dan tirosin diketahui berperan penting dalam kemampuan antioksidan hidrolisat gelatin (Akbarian *et al.*, 2022). Feng Chi *et al.* (2015) menjelaskan bahwa peptida dengan komposisi asam amino aromatik dan hidropobik memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas DPPH yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan peptida yang hanya terdiri dari asam amino hidropobik. Hidrolisis gelatin dengan menggunakan enzim papain kemungkinan memotong asam amino yang berperan sebagai antioksidan dan menghasilkan peptida yang hanya terdiri dari asam amino dengan gugus alkil dan penil. Xu *et al.* (2017) menjelaskan asam amino dengan gugus alkil dan gugus penil (valin, leusin, alanin, glisin, isoleusin, treonin, serin, penilalanin, aspartat, glutamat, asparagin, glutamin, dan prolin) memiliki atom dan gugus yang stabil pada rantai sampingnya yang menyebabkan asam amino dengan sifat ini tidak memiliki kemampuan sebagai penangkal radikal bebas ketika berhadapan dengan senyawa oksidator, menyebabkan rendahnya kemampuan antioksidatif dan bahkan tidak memiliki kemampuan antioksidatif.

5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Hidrolisat gelatin sisik ikan haruan (*C. striata*) yang hidrolisis menggunakan enzim papain memiliki rendemen dan derajat hidrolisis tertinggi pada perlakuan P3, dengan nilai rendemen 8,15% dan derajat hidrolisis 8,31%, namun pada parameter protein terlarut perlakuan P0 merupakan perlakuan terbaik dengan nilai protein terlarut 41,06%. Peningkatan aktivitas enzim juga berpengaruh terhadap berat molekul hidrolisat gelatin, semakin tinggi aktivitas enzim yang diberikan semakin rendah berat molekul yang dihasilkan hidrolisat gelatin. Gelatin dan hidrolisat gelatin sisik ikan haruan tidak memiliki aktivitas antioksidan.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, sebaiknya dilakukan uji komposisi asam amino pada bahan baku yang akan digunakan, dilakukan uji spesifitas enzim yang akan digunakan, dan dilakukan uji *sequence* (urutan asam amino) untuk mengetahui hubungannya pada tiap parameter.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, V., Putra, M. M. P., dan Husni, A. 2023. Impact of enzymatic hydrolysis on antioxidant activity of snakehead fish (*Channa striata*) head protein hydrolysate. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 15(1): 44-56.
- Akbarian, M., Khani, A., Eghbalpour, S., dan Uversky, V. N. 2022. Bioactive peptides: synthesis, sources, applications, and proposed mechanisms of action. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(3): 1445-1481.
- Alam, M. S., Projina, F., Zafrin, M. S., Das, R., dan Khan, M. G. Q. 2022. Assessment of genetic diversity, detection of strain-specific single nucleotide polymorphisms and identification of the Bangladesh and Vietnam strain of *Channa striata* by PCR-RFLP Analysis of the mitochondrial COI Gene fragment. *Aquaculture and Fisheries*. 7: 287-295.
- Alfaro, A. T., Balbinot, E., Weber, C. I., dan Tonial, A. M. 2014. Fish gelatin: characteristic, functional properties, applications and future potentials. *Food Engineering Reviews*. 6(4).
- Atma, Y., Fitriani, D., dan Mustopa, A. Z. 2021. Radical-scavenging activity of fish gelatin hydrolysates from bone of pangasius catfish (*Pangasius sutchi*) by microbial protease hydrolysis. *Biointerface Research in Applied Chemistry*. 11(1): 7903-7911.
- Apriyantono, A., Fardiaz, D., Puspitasari, N. L., Sedarnawati, dan Budiyanto, S. 1989. *Analisis Pangan*. IPB Press. Bogor
- Aziz, A. G. K., Mohammad, A. W., Suhimi, N. M., dan Jahim, J. M. 2014. Influence of substrate and enzyme concentration towards degree of hydrolysis for gelatine. *Journal of Applied Sciences*. 14(12): 1347-1350.
- Baehaki, A., Lestari S. D., dan Romadhoni A. R. 2015. Hidrolisis protein ikan patin menggunakan enzim papain dan aktivitas antioksidan hidrolisatnya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 18(3): 108-117.
- Baharuddin, N. A., Halim, N. R. A., dan Sarbon, N. M. 2016. Effect of degree of hydrolysis (DH) on the functional properties and angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity of eel (*Monopterus* sp.) protein hydrolysate. *International Food Research Journal*. 23(4): 1424-1431.
- Beishenaliev, A., Lim, S. S., Tshai, K. Y., Sghayyar, H. N. M., dan Loh, H. S. 2019. Fabrication and preliminary in vitro evaluation of ultraviolet-crosslinked electrospun fish scale gelatin nanofibrous scaffolds. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 30 (62).
- Feng Chi, C., Fu, F. Y., Wang, B., Ren, X. J., Deng, S. G., dan Wu, C. W. 2015. Purification and characterization of three antioxidant peptides from protein hydrolysate of croceine croaker (*Pseudosciaena croacea*) muscle. *Food Chemistry*. 168: 662-667.
- Choonpicharn, S., Jaturasitha, S., Rakariyatham, N., Suree, N., dan Niamsup, H. 2015. Antioxidant and antihypertensive activity of gelatin hydrolysate from Nile tilapia skin. *Journal Food Science & Technology*. 52(5).

- Dara, P. K., Elavarasan, K., dan Shamasundar, B. A. 2020. Improved utilization of croaker skin waste and freshwater carps visceral waste: conversion of waste to health benefitting peptides. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. 26(1): 2641-2651.
- deMan, J. M., Finley, J. W., Hurst, W. J., dan Lee, C. Y. 2018. *Principles of food chemistry*. Springer Cham. Swiss
- Expotech USA. 1998. *A guide to kjeldahl nitrogen determination methods and apparatus*. An industry Service Publication, LabConco.
- Firdausiah, S., Madya, N., Seniwati, dan Rapak, M. T. 2021. Chemical properties of fish gelatin from skin and bone of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Jurnal Akta Kimia Indonesia*. 14: 38-42.
- Giménez, B., Alemán, A., Montero, P., dan Guillén, M. C. M. 2009. Antioxidant and functional properties of gelatin hydrolysates obtained from skin of sole and squid. *Food Chemistry*. 114: 976-983.
- Han, Y., Byun, S. H., Park, J. H., dan Kim, S. B. 2015. Bioactive properties of enzymatic hydrolysates from abdominal skin gelatin of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). *Institute of Food Science and Technology*. 50: 1996-2003.
- Ionita, P. 2021. The chemistry of DPPH free radical and congeners. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(4): 1545-1559.
- Islam, M., Hongxin, W., Admassu, H., Noman, A., Ma, C., dan An wei, F. 2021. Degree of hydrolysis, functional, and antioxidant properties of protein hydrolysates from grass turtle (*Chinemys reevesii*) as influenced by enzymatic hydrolysis conditions. *Food Science and Nutrition*. 9: 4031-4047.
- Janas, S. 2019. Determination of food products' water content performed using MA.X2 moisture analyzers (IR radiation) and PMV moisture analyzers (microwave radiation). *RADWAG Laboratory*. Polandia.
- Kazlou, A. Y. 2019. Determination of the concentration (content) of total protein by the Lowry method in the Peterson modification. *National Academy of Sciences of Belarus*.
- Kedare, S. B., dan Singh, R. P. 2011. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Journal of Food Science and Technology*. 48(4): 412-422.
- Kittiphattanabawon, P., Benjakul, S., Visessanguan, W., dan Shahidi, F. 2012. Gelatin hydrolysate from blacktip shark skin prepared using papaya latex enzyme: antioxidant activity and its potential in model systems. *Food Chemistry*. 135: 1118-1126.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan, Ditjen Perikanan Tangkap. 2021. *Statistik perikanan tangkap indonesia*. [Internet]. [Diakses pada tanggal 15 April 2022].
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan, Ditjen Perikanan Tangkap. 2014. *Naskah akademik ikan gabus haruan (*channa striata* Bloch 1793) hasil domestikasi*. [Internet]. [Diakses pada tanggal 10 April 2022].

- Kouhdasht, A. M., Nasab, M. M., Yousefi, R., dan Eun, J. B. 2021. Bio/multi-functional peptides derived from fish gelatin hydrolysates: technological and functional properties. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 36.
- Kramer, R. M., Shende, V. R., Motl, N., Pace, C. N., dan Scholtz, J. M. 2012. Toward a molecular understanding of protein solubility: increased negative surface charge correlates with increased solubility. *Biophysical Journal*. 102: 1907-1915.
- Martina, V., dan Vojtech, K. 2015. A comparison of biuret, lowry, and bradford methods for measuring the egg's proteins. *MendelNet*. 394-398.
- Masood, Z., Iqbal, F., Haider, M. S., Tarar, O. M., Zehra, L., Saddozai, S., Achakzai, W. M., Razzaq, W., Din, N., Rafique, N., Jamil, N., dan Gharsheen, H. G. 2015. Evaluation of crude protein and amino acid analysis in the scales of a rohu species, *Labeo rohita* collected from korangi fish harbor, pakistan. *Global Veterinaria*. 15(3): 328-331.
- Mohammad, A. W., Kumar, A. G., dan Basha, R. K. 2015. Optimization of enzymatic hydrolysis of tylopia (*Oreochromis* spp.) scale gelatine. *International Aquatic Resources*. 7(1).
- Nadzri, F. N., Tawalbeh, D., dan Sarbon, N. M. 2021. Physicochemical properties and antioxidant activity of enzymatic hydrolysed chickpea (*Cicer arietinum* L.) protein as influence by alcalase and papain enzyme. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 36.
- O'Dwyer, M., V., Sahin, A., W., Arendt, E., K., dan Zannini, E. 2022. Enzymatic hydrolysis of pulse proteins as a tool to improve techno-functional properties. *Foods*. 11(1307): 1-25.
- Pamungkas, B. F., Supriyadi, Murdiati, A., dan Indrati, R. 2018. Ekstraksi dan karakterisasi kolagen larut asam dan pepsin dari sisik ikan haruan (*Channa striatus*) kering. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(3): 513-521.
- Pascacio, V. G. T., Sterling, R. M., Valbuena, D. C., Murcia, Á. B., Kamli, M. R., Tavano, O., dan Lafuente, R. F. 2021. Immobilization of papain: a review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 188: 94-113.
- Plaza, P. S., Navas, M. J., Wybraniec, S., Michalowski, T., dan Asuero, A. G. 2013. An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. part II. Sample preparation, working scale, instrumental finish, and quality control. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 43: 224-272.
- Prastyo, D. T., Trilaksani, dan Nurjanah, W. 2020. Aktivitas antioksidan hidrolisat kolagen kulit ikan nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(3): 423-433.
- Putra, S. N. K. M., Ishak, N. H., dan Sarbon, N. M. 2018. Preparation and characterization of physicochemical properties of golden apple snail (*Pomacea canaliculate*) protein hydrolysate as affected by different proteases. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 13: 123-128.
- Qin, D., Bi, S., You, X., Wang, M., Cong, X., Yuan, C., Yu, M., Cheng, X., dan Chen, X. G. 2022. Development and application of fish scale wastes as versatile natural biomaterials. *Chemical Engineering Journal*. 428.

- Qiu, Y. T., Wang, Y. M., Yang, X. R., Zhao, Y. Q., Chi, C. F., dan Wang, B. 2019. Gelatin and antioxidant peptides from gelatin hydrolysate of skipjack tuna (*Katsuwonus pelamis*) scales: preparation, identification and activity evaluation. *Marine Drugs*. 17(565): 1-16.
- Rahmawati, R., dan Nurjanah, S. 2020. Pengaruh konsentrasi enzim papain terhadap mutu gelatin bubuk dari tulang dan cakar ayam. *Konversi*. 9(1): 39-51.
- Romadhon, Darmanto, Y. S., dan Kurniasih, R. A. 2019. Karakteristik kolagen dari tulang, kulit, dan sisik ikan nila. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 22(2): 403-410.
- Rosmawati, Tawali, A., B., Said, M., I., Zzaman, W., Kobun, R., dan Huda, N. 2021. Characteristics of gelatin from skin and bone of snakehead (*Channa striata*) extracted with different temperature and time. *Journal of Food Sciences*. 15: 648-661.
- Rouf, M. A., Golder, M. R., Kana, N. A., Debnath, S., Rahman, M. M., Mathew, R. T., dan Alrashada, Y. N. 2021. Production, trading and potential utilization of fish scale in khulna, bangladesh. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 9(12): 2194-2200.
- Roy, S., dan Kumar, V. 2014. A practical approach on SDS PAGE for separation of protein. *International Journal of Science and Research*. 3(8): 955-960.
- Rutherford, S. M. 2010. Methodology for determining degree of hydrolysis of proteins in hydrolysates: a review. *Rutherford: Journal of AOAC International*. 93(5): 1515-1522.
- Schrieber, R., dan Gareis, H. 2007. *Gelatine handbook: theory and industrial practice*. Wiley-VCH.
- Shiao, W. C., Wu, T. C., Kuo, C. H., Tsai, Y. H., Tsai, M. L., Hong, Y. H., dan Huang, C. Y. 2021. Physicochemical and antioxidant properties of gelatin and gelatin hydrolysates obtained from extrusion-pretreated fish (*Oreochromis sp.*) scales. *Marine Drugs*. 19 (275): 1-18.
- Shouket, H. A., Ameen, I., Tursunov, O., Kholikova, K., Pirimov, O., Kurbonov, N., Ibragimov, I., dan Mukimov, B. 2020. Study on industrial applications of papain: a succinct review. *Institute of Physics Publishing*. 614: 1-6.
- Siburian, W. Z., Rochima, E., Andriani, Y., dan Praseptiangga, D. 2020. Fish gelatin (definition, manufacture, analysis, of quality characteristics, and application): A review. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*. 8(4): 90-95.
- Silvestre, M. P. C., da Silva, M. C., Souza, M. W. S., Silva, V. D. M., de Aguiar, M. J. B., dan Silva, M. R. 2013. Hydrolysis degree, peptide profile and phenylalanine removal from whey protein concentrate hydrolysates obtained by various proteases. *International Journal of Food Science & Technology*. 48: 588-595.
- Sirivibulkovit, K., Nouanthavong, S., dan Sameenoi, Y. 2018. Paper-based DPPH assay for antioxidant activity analysis. *Analytical Sciences*. 34: 795-800.

- [SNI] Standar Nasional Indonesia. 1995. SNI (06-3735-1995): Standar Mutu Gelatin. Badan Standardisasi Nasional. Jakarta
- Subara, D., dan Jaswir, I. 2021. The effect of processing parameters on the properties of fish gelatin hydrolysate nanoparticle. *Journal of Science and Applicative Technology*. 5(1): 17-24.
- Suwandi, R., Nurjanah, dan Winem, M. 2014. Proporsi bagian tubuh dan kadar kadar proksimat ikan gabus pada berbagai ukuran. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 17(1): 22-28.
- Truc, T. T., Thom, N. V., Ha, N. T. N., Thuan, N. H. D., dan Thuy, L. T. M. 2022. Properties of gelatin extracted from snakehead fish (*Chitala striata*) by-product various temperatures and times. *Food science and technology* (42).
- Tsumura, K., Kugimiya, W., Bando, N., Hiemori, M., dan Ogawa, T. 1999. Preparation of hypoallergic soybean protein with processing functionality by selective enzymatic hydrolysis. *Food Science and Technology*. 5(2): 171-175.
- Vázquez, J. A., Merino, C. H., Merino, D. H., Piñeiro M. M., Johansen, J., Sotelo, C. G., Martin, R. I., dan Valcarcel, J. 2021. Characterization of gelatin and hydrolysates from valorization of farmed salmon skin by-products. *Polymers*. 13 (2828): 1-18.
- Viji, P., Phannendra, T. S., Jesmi, D., Rao, B. M., Das, P. H., dan George, N. 2019. Functional and antioxidant properties of gelatin hydrolysate prepared from skin and scale of sole fish. *Journal of Aquatic Food Product Technology*. 28(10): 976-986.
- Wangtueai, S., Siebenhandl-Ehn, S., dan Haltrich, D. 2016. Optimization of the hydrolysate with antioxidative activity from lizardfish (*Saurida* spp.) scales gelatin. *Chiang Mai Journal Science*. 43(1): 68-79.
- Xu, N., Chen, G., dan Liu, H. 2017. Antioxidative categorization of twenty amino acids based on experimental evaluation. *Molecules*. 22: 2066-2073.
- Zahid, A., Jamil, W., dan Begum, R. Method development and validation of sds-page for quality control testing of pegylated interferon alpha-2a. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. 9(6): 32-36.
- Zambrano, M. V., Dutta, B., Mercer, D. G., MacLean, H. L., dan Touchie, M. F. 2019. Assesment of moisture content measurement methods of dried food products in small-scale operations in developing countries: a review. *Trends in Food Science & Technology*. 88: 484-496.
- Zayas, J. F. 1997. *Functionality of proteins in food*. Springer. Berlin.
- Zuraida, I., dan Pamungkas, B. F. 2020. Effect of acid pretreatment and extraction temperature on the properties of gelatin from striped snakehead (*channa striata*) scales. *AACL Bioflux*. 13(5): 2937-2945.