



LITERATUR REVIEW:

**PERAN ENZIM DALAM PEMBUATAN PEPTON BERBAHAN DASAR
IKAN TERHADAP KUALITAS DAN MEDIA PERTUMBUHAN MIKROBA**

SKRIPSI

Oleh:

IPIN ORSHELLA NURWILIS SUNARNO

NIM. 16508030111004



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN
JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN
FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2020



LITERATUR REVIEW:

PERAN ENZIM DALAM PEMBUATAN PEPTON BERBAHAN DASAR IKAN TERHADAP KUALITAS DAN MEDIA PERTUMBUHAN MIKROBA

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Meraih Gelar Sarjana

Perikanan Di Fakultas Perikanan Dan Ilmu Kelautan

Universitas Brawijaya

Oleh :

IPIN ORSHELLA NURWILIS SUNARNO

NIM. 165080301111004



PROGRAM STUDI TEKNOLOGI HASIL PERIKANAN

JURUSAN MANAJEMEN SUMBERDAYA PERAIRAN

FAKULTAS PERIKANAN DAN ILMU KELAUTAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2020

**LITERATUR REVIEW:****PERAN ENZIM DALAM PEMBUATAN PEPTON BERBAHAN DASAR IKAN TERHADAP KUALITAS DAN MEDIA PERTUMBUHAN MIKROBA**

Oleh :

IPIN ORSHELLA NURWILIS SUNARNO**NIM. 165080301111004****Mengetahui,
Ketua Jurusan MSP****Dr. Ir. Muhamad Firdaus****NIP. 19680919 200501 1 001****Tanggal: 8/6/2020****Menyetujui,
Dosen Pembimbing****Dr. Ir. Dwi Setijawati, M.Kes****NIP. 19611022 1998802 2 001****Tanggal:**



ABSTRAK

Peningkatan jumlah tangkapan dan budidaya semakin banyak di Indonesia. Peningkatan yang terjadi tentunya menghasilkan ikan dengan nilai ekonomis rendah dan limbah yang belum termanfaatkan. Perlunya suatu penanganan yang baik untuk mengatasi permasalahan tersebut untuk meningkatkan nilai ekonomisnya. Tentunya diperlukan suatu bahan yang memiliki potensi untuk dikembangkan. Pepton merupakan salah satu hidrolisat protein yang dimanfaatkan sebagai salah satu media dan sumber nitrogen bagi mikroba dan berpotensi untuk dikembangkan. Pepton yang dihasilkan melalui proses asam ataupun basa memiliki karakteristik yang kurang baik. Banyak cara yang bisa dilakukan sebagai alternatif menghasilkan pepton, salah satunya adalah dengan cara enzimatik. Pembuatan pepton dengan enzim dilakukan untuk mengurangi beberapa kekurangan yang terdapat pada pepton yang dihasilkan dengan proses asam ataupun basa. Pepton ikan merupakan produk hidrolisat protein yang memiliki nilai ekonomis penting pada industri perikanan serta sebagai sumber nitrogen pada media pertumbuhan mikroba. Pepton berbahan baku ikan mampu menjadi alternatif pengganti pepton komersil. Karena hal ini dalam review mengulas dua proses hidrolisis secara enzimatik papain dan alcalase sebagai penghasil protease yang berperan dalam pertumbuhan mikroba. Serta membandingkan dari kedua enzim ini pada perlakuan terbaik.

Tujuan review ini untuk medeskripsikan peran enzim utamanya pada enzim papain terhadap produk hidrolisat protein pepton ikan terhadap kualitas dan media pertumbuhan bakteri.

Kata kunci: pepton, hidrolisat protein, pertumbuhan bakteri, papain, alcalase



KATA PENGANTAR

Dengan mengucapkan puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala anugerah dan karuniaNya, sehingga penulis dapat menyajikan Skripsi yang berjudul **“Peran Enzim Dalam Pembuatan Pepton Berbahan Dasar Ikan Terhadap Kualitas Dan Media Pertumbuhan Mikroba”**. Dalam penyusunannya, penulis banyak mengambil literatur-literatur yang bersumber dari artikel dan jurnal untuk dijadikan tinjauan yang mendukung pembuatan studi literatur ini.

Didalam tulisan disajikan beberapa bahasan yang meliputi peranan enzim pada proses hidrolisat pepton berbahan dasar kepala ikan lele dan hasil tangkapan lain sebagai pembandingnya, serta perlakuan pengujian pertumbuhan bakteri.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini belum sempurna, baik dari segi materi ataupun penyajiannya. Untuk itu saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan dalam penyempurnaan tugas akhir ini. Terakhir penulis berharap, semoga studi literatur ini dapat memberikan hal yang bermanfaat dan menambah wawasan bagi pembaca pada umumnya, terutama Mahasiswa Perikanan dan Ilmu Kelautan.

Malang, Juni 2020

Penulis



DAFTAR ISI

UCAPAN TERIMAKASIH	2
KATA PENGANTAR	4
DAFTAR ISI	5
DAFTAR TABEL	7
DAFTAR GAMBAR	8
BAB 1 PENDAHULUAN	9
1.1 Latar Belakang.....	9
1.2 Tujuan.....	11
BAB 2 METODE REVIEW	12
2.1 Metode Penelitian.....	12
2.2 Strategi Pencarian Data.....	12
2.3 Studi Yang Digunakan.....	13
BAB 3 HASIL REVIEW	14
3.1 Definisi Pepton.....	14
3.1.1 Pemanfaatan Hidrolisat Protein Ikan.....	15
3.1.2 Kandungan Protein Hewani.....	16
3.2 Potensi Pepton Ikan Sebagai Media Pertumbuhan Mikroba.....	16
3.2.1 Kandungan Protein dan Asam Amino.....	17
3.3 Enzim.....	18
3.3.1 Cara Kerja Enzim.....	19
3.4 Enzim Papain.....	20
3.4.1 Sifat Enzim Papain.....	22
3.4.2 Aplikasi Enzim Papain.....	22
3.4.3 Mekanisme Kerja Enzim Papain.....	23
3.5 Pepton Ikan Dengan Hidrolisis Enzim Papain.....	24
3.5.1 Mekanisme Hidrolisis Protein.....	24
3.5.2 Penentuan Konsentrasi Enzim Papain.....	25
3.5.3 Penentuan Waktu Hidrolisis.....	26
3.5.4 Penentuan Derajat Hidrolisis.....	27
3.5.5 Faktor Yang Menentukan Pada Hidrolisis Pepton Ikan Secara Enzimatis.....	27



3.5.6	Metode Pembuatan Pepton Dengan Enzim Papain.....	34
3.5.7	Pengujian Pepton Ikan.....	42
3.6	Aplikasi Pepton Dengan Enzim Papain Sebagai Media Pertumbuhan Mikroba	44
3.7	Perbandingan Dengan Pepton Komersil	46
3.8	Enzym Alcalase	48
3.9	Perbandingan Terbaik Enzim.....	51
BAB 4 PENUTUP		53
4.1	Kesimpulan.....	53
DAFTAR PUSTAKA.....		54



DAFTAR TABEL

Gambar 1. Mekanisme Kerja Enzim Papain	23
Gambar 2. Pembentukan Ikatan Peptida.....	25
Gambar 3. Diagram Proses Pembuatan Pepton Secara Enzimatis.....	36
Gambar 4. Prinsip pembuatan Hidrolisat Protein Pepton ikan.....	38
Gambar 5. Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli Dengan Hemositometer Pepton Kepala Ikan Lele Dengan Enzim Papain.....	46
Gambar 6. Alur Hidrolisis Enzim Alcalase.....	49



DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Mekanisme Kerja Enzim Papain 23

Gambar 2. Pembentukan Ikatan Peptida..... 25

Gambar 3. Diagram Proses Pembuatan Pepton Secara Enzimatis..... 36

Gambar 4. Prinsip pembuatan Hidrolisat Protein Pepton ikan..... 38

Gambar 5. Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli Dengan Hemositometer Pepton Kepala Ikan Lele Dengan Enzim Papain..... 46

Gambar 6. Alur Hidrolisis Enzim Alcalase 49



BAB 1 PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Sumberdaya laut di Indonesia sangatlah kaya dan melimpah. Kelimpahan sumberdaya ini masih belum termanfaatkan secara optimal. Hasil tangkapan hanya mementingkan ikan dengan ekonomis tinggi setelahnya hanya sebatas dijual tanpa ada proses lebih lanjut. Kelimpahan Ikan hasil tangkapan sampingan (HTS) mengandung protein yang berpotensi untuk dikembangkan menjadi produk hidrolisat protein yang memiliki nilai jual tinggi (Dede Saputra & Nurhayati, 2014).

Dalam beberapa tahun terakhir banyak penelitian tentang hidrolisat difokuskan untuk memaksimalkan sumber laut yang berpotensi sebagai nilai tambah. Hasil tangkapan sampingan cenderung belum termanfaatkan secara optimal. Kebijakan setiap industri hanya menargetkan pada jenis ikan dengan ekonomis tertentu.

Pemanfaatan ini perlu dilakukan untuk mengurangi jumlah ikan yang belum termanfaatkan dengan mengembangkan hidrolisat protein. Pemanfaatan hidrolisat protein dilakukan dengan memanfaatkan bahan baku yang kaya akan protein sebagai sumber protein dan peptida bioaktif yang paling penting (Chalamaiah et al., 2014)

Berdasarkan data dari FAO (2018) perikanan global pada tahun 2016 mencapai 170 juta ton, terdiri 47% dari budidaya dan 53% dari hasil tangkapan.

Budidaya menjadi peluang yang menjanjikan selain hasil tangkapan. Berdasarkan pada potensi total produksi ikan lele sekitar 1,81 juta ton pada tahun 2018 dengan sistem bioflok (Kementerian Kelautan dan Perikanan, 2018). Ikan lele merupakan ikan tawar yang mempunyai potensi dikembangkan menjadi produk hidrolisat.

Pemanfaatan yang kurang pada limbah ikan lele utamanya pada kepala banyak digunakan sebagai produk bernilai rendah. Presentase dari rendemen kepala ikan lele terbesar setelah daging yaitu 29,73%(Widiyanto, 2018). Tentunya kepala ikan lele yang dianggap limbah memiliki nilai ekonomis tinggi apabila ditangani dengan



baik dan benar. Limbah menjadi salah satu permasalahan terbesar dalam industri pengolahan ikan (Atma, 2016). Limbah yang tidak dapat dikelola secara baik akan menimbulkan permasalahan terhadap lingkungan, terutama pada kandungan bahan organik pada ikan yang dapat dijadikan sumber nutrisi untuk pertumbuhan mikroba. Menandakan bahwa melimpahnya bahan baku yang digunakan untuk pembuatan hidrolisat pepton ikan.

Hidrolisat protein dapat dihasilkan dari proses penguraian protein ikan menjadi peptida lebih sederhana melalui proses hidrolisis enzim, asam ataupun basa. Pepton dari ikan adalah salah satu alternatif produksi protein hidrolisat untuk sumber nitrogen dalam pertumbuhan mikroba (Priatni, 2016). (Safari et al., 2011) juga menjelaskan pepton sebagai sumber nitrogen yang sangat penting sebagai media pertumbuhan mikroba. Aplikasi pepton banyak dimanfaatkan dalam aplikasi biologi dan bioteknologi seperti biomassa mikroba. Penggunaan pepton dengan ikan tidak hanya ramah lingkungan tetapi sebagai bahan baku yang murah dalam formulasi media. Sebagian besar produksi pepton berasal dari hewan darat seperti sapi dan babi serta turunannya. Mempertimbangkan menghadapi resiko dan penyakit serta bermasalah akan keyakinan agama. Pepton berbahan baku dari ikan tentunya dapat diterima semua kalangan tanpa terikat adanya kepentingan agama dan penyakit membahayakan serta menjadi alternatif yang aman sebagai pengganti bahan tersebut.

Kebutuhan pepton Indonesia hanya dipenuhi melalui impor dengan harga yang mahal. Pepton ikan merupakan produk hidrolisat protein yang memiliki nilai ekonomis penting pada industri perikanan serta sebagai sumber nitrogen pada media pertumbuhan mikroba dan mampu bersaing dengan pepton komersial (Nurhayati & Suhandana, 2013). Pepton merupakan produk yang kaya akan asam amino yang tidak terkoagulasi Pada suhu tinggi (Shirahigue et al., 2018). (Khalil, 2012) menyatakan bahwa kelarutan adalah sifat penting yang tidak terkoagulasi pada suhu tinggi serta menghasilkan pepton dengan kadar garam yang tinggi pada



proses netralisasi. Hidrolisis pepton dapat melalui proses asam, basa, enzim yang berasal bahan baku, atau menambahkan enzim dari luar (Dede Saputra & Nurhayati, 2014). Pembuatan pepton dengan cara asam dapat merusak sebagian atau semua asam-asam amino tertentu karena kondisi proses yang berlangsung pada suhu tinggi (Pantaya et al., 2018). (Kosasih et al., 2018) menjelaskan bahwa perlakuan asam dengan hidrolisis pada suhu tinggi berakibat merusak sebagian atau semua asam amino sedangkan proses enzimatik tidak memerlukan suhu tinggi untuk menghidrolisis polipeptida dan menjaga semua asam amino. Produksi pepton secara enzimatik telah banyak dilakukan oleh peneliti sebelumnya diantaranya adalah penelitian Nurhayati, et al., (2013). Suatu proses pembuatan pepton dari ikan memerlukan proses ekstraksi dengan cara hidrolisis protein pada bahan pangan. Salah satu produksi pepton dilakukan dengan cara hidrolisis secara enzimatik yaitu menggunakan enzim proteolitik dalam proses hidrolisis protein berupa enzim (Alpay & Uygun, 2015). Enzim dapat mempercepat laju reaksi proses biokimia di dalam sel jaringan pada pH, suhu dan konsentrasi yang optimal yang membuat enzim bekerja menjadi lebih efisien. Tanpa adanya enzim, proses biokimia memecah protein ikan menjadi protein hidrolisat memakan waktu lama (Utomo et al., 2014). Oleh karena itu, tujuan dari review untuk menganalisa peranan enzim dalam hidrolisat protein kepala ikan lele dan hasil tangkapan sampingan terhadap kualitas dan sebagai media pertumbuhan bakteri.

1.2 Tujuan

Tujuan review ini untuk medeskripsikan peran enzim utamanya pada enzim papain terhadap produk hidrolisat protein pepton ikan terhadap kualitas dan media pertumbuhan bakteri.



BAB 2 METODE REVIEW

2.1 Metode Penelitian

Metode review yang digunakan adalah metode primer dan deskriptif. Data primer adalah data yang langsung memberikan data secara langsung kepada pengumpul data. Sedangkan pada deskriptif merupakan bentuk penelitian yang bertujuan untuk mendeskripsikan fenomena-fenomena yang ada, baik manusia, maupun ilmiah. Fenomena tersebut dapat berupa bentuk aktivitas, perubahan, karakteristik, kesamaan, hubungan, dan perbedaan fenomena satu dengan yang lain.

2.2 Strategi Pencarian Data

Pencarian data dilakukan dengan FAO, *search engine Google, Google Scholar, Science Direct, Scopus* dengan kata kunci “Hidrolisat protein ikan secara enzimatis”, “Pepton berbahan dasar ikan sebagai media pertumbuhan mikroba”, “*Characteristic and Use of Peptones from fish*”

Penetapan kriteria inklusi data berupa jurnal baik nasional maupun internasional dan juga sumber buku yang berisi tentang pengetahuan hidrolisat protein, pepton ikan, enzim papain dan alcalase, beserta karakteristik dan peranan hidrolisat protein pepton ikan sebagai media pertumbuhan bakteri dan lain sebagainya yang dipublikasi pada kisaran tahun 2010-2020. Sedangkan kriteria eksklusinya adalah data yang diperoleh dari sumber yang tidak valid contohnya website tanpa penulis atau skripsi, jurnal baik nasional maupun internasional yang dipublikasikan sebelum tahun 2010 dengan pengecualian sumber empiris dan klasifikasi, data yang berisi mengenai pepton ikan berbahan dasar ikan yang berbeda tetapi memakai kemampuan yang sama berpotensi sebagai media pertumbuhan bakteri.



2.3 Studi Yang Digunakan

Sumber studi literatur yang digunakan 50 jurnal yang didapatkan dengan menggunakan kata kunci. Didapatkan jumlah 28 jurnal yang dianggap relevan dan 22 jurnal yang dianggap tidak relevan.



BAB 3 HASIL REVIEW

3.1 Definisi Pepton

Pepton adalah protein dari jaringan hewan atau tumbuhan yang mengalami proses hidrolisis yang telah mengalami pemutusan ikatan menjadi asam amino dan peptida yang dimanfaatkan sebagai nitrogen bagi mikroorganismenya. Pepton dapat didefinisikan sebagai produk hidrolisat protein yang telah diekstrak dari bahan yang mengandung protein tinggi. Proses ekstraksi pada protein dengan metode kjeldahl untuk penentuan pada kandungan nitrogen. Kandungan nitrogen yang dihasilkan menjadi sumber utama dalam media komersial untuk pertumbuhan mikroba (Saputra & Nurhayati, 2014). Pepton ikan merupakan produk hidrolisat protein yang memiliki nilai ekonomis penting pada industri perikanan serta sebagai sumber nitrogen pada media pertumbuhan mikroba (Nurhayati & Suhandana, 2013). Pepton dapat didefinisikan sebagai produk hidrolisis protein yang biasanya larut dalam air dan tidak dapat dikoagulasi panas (Andualem & Gessesse, 2013). Kandungan yang terdapat pada hidrolisat pepton terdiri dari asam amino, dipeptida, peptida dan campuran polipeptida yang dapat diperoleh dengan menghidrolisis bahan yang mengandung protein melalui reaksi asam atau enzimatis (Laoli, 2015).

Pepton bersifat higroskopis ketika terkena udara dan mudah berikatan dengan air. Hal ini mempermudah pepton mengalami kerusakan mutu secara fisik dan kimiawi sehingga mempengaruhi pada hasil pepton. Dalam produksi protein hidrolisat dalam proses pepton faktor menjadi penting yang akan mempengaruhi kecepatan dan spesifikasi produk hidrolisis seperti suhu, waktu hidrolisis dan konsentrasi enzim yang diberikan. Hidrolisis adalah proses pemecahan banyak ikatan menjadi ikatan lebih kecil dan sederhana. Pada waktu hidrolisis adalah faktor terpenting dan berpengaruh pada kualitas hidrolisat yang dihasilkan. Produk akhir yang dihasilkan dapat berupa cairan, pasta atau bubuk (Utomo et al., 2014).



Sehingga yang membedakan dengan hidrolisat protein ikan adalah cairan yang terbuat dari ikan dengan penambahan enzim protease untuk mempercepat hidrolisis dalam suatu kondisi yang terkontrol. Memiliki sifat yang luas dan fungsional tinggi sehingga menjadikannya bermanfaat. Hidrolisat protein ikan adalah campuran dari polipeptida, peptida, dan asam amino. Hidrolisat protein ikan dapat dibuat dari proses dekomposisi protein ikan menjadi peptida sederhana dengan 2-20 asam amino dengan enzim, asam dan basa. Bahan baku yang digunakan dalam hidrolisis protein ikan utamanya pada pepton dari limbah hasil tangkapan sampingan dengan kandungan kaya protein (Nurhayati et al., 2015). Harga yang rendah kurang dimanfaatkan pada hasil tangkapan sampingan menjadi produk bernilai besar utamanya dibuat hidrolisat protein (Chalamaiah et al., 2014).

3.1.1 Pemanfaatan Hidrolisat Protein Ikan

Pemanfaatan hidrolisat protein ikan dapat dimanfaatkan karena kandungan asam amino salah satunya MSG (*Monosodium Glutamate*) (Witono et al., 2017). Pengembangan yang luas sebagai bahan *nutraceutical* dan berbagai obat-obatan dan lain sebagainya untuk menunjang kehidupan manusia. Semakin banyak manfaat dari ikan tentunya membuat banyak peneliti untuk mengembangkan hidrolisat protein yang mampu menggantikan produk impor dan tentunya pemanfaatannya tidak sebatas pada agama. Salah satunya hidrolisat protein untuk pepton ikan.

Ikan hasil tangkapan sampingan (HTS) banyak dimanfaatkan sebagai bahan untuk pakan, silase dan tepung ikan. Sedangkan ikan sendiri terdapat kandungan senyawa nitrogen dari asam amino sebagai kultur mikroba. Pemanfaatan ini dapat digunakan untuk hidrolisat protein ikan berupa pepton. Dari berbagai peneliti salah satunya (Saputra et al., 2020) memanfaatkan ikan hasil tangkapan sampingan



(HTS) menjadi hidrolisat protein ikan berupa pepton sebagai media dalam pertumbuhan mikroba.

3.1.2 Kandungan Protein Hewani

Dalam menunjang pengadaan bahan pembuatan khususnya pepton.

Pepton merupakan derivat protein mudah larut dalam air dan tidak menggumpal karena panas. Pepton dari komersil dipergunakan dalam pembuatan kultur media yang tersusun pada komponen protease, polipeptida dan asam amino. Kandungan protein dari bahan baku hewani banyak dimanfaatkan sebagai produk pepton salah satunya pada sapi dan produk hasil perikanan berupa ikan. Kandungan protein pada daging sapi yang umumnya digunakan sebagai bahan dasar pepton komersil mempunyai protein bervariasi berkisar antara 16-22% dan senyawa nitrogen sebesar 1,5% (Fausiah & Al Buqhuri, 2019). Sedangkan pada bahan perikanan berupa ikan mempunyai komposisi nutrisi terbesar pada protein yaitu 15-24% dengan nitrogen berkisar 8-176%. Kandungan ini bervariasi bergantung pada faktor biologis dan faktor pada alam (Listyarini, 2016). Pada umumnya ikan hasil budidaya mempunyai kandungan protein tinggi dan berlemak rendah pada ikan lele sebesar 17,7-26,7% (Listyarini et al., 2018).

3.2 Potensi Pepton Ikan Sebagai Media Pertumbuhan Mikroba

Peningkatan terhadap hasil tangkapan sampingan (HTS) berarti semakin banyak pula volume limbah yang kurang maksimal termanfaatkan. Hasil tangkapan sampingan (HTS) adalah spesies ikan yang tidak memiliki nilai ekonomis rendah. Pemanfaatan ikan HTS banyak tertuju pada pembuatan produk minyak ikan, silase, tepung ikan, protein konsentrat dan lain sebagainya. Perkembangan semakin pesat pada teknologi memungkinkan peningkatan nilai jual ikan HTS dengan menjadikan produk pepton ikan. Pepton merupakan sumber nitrogen utama dalam media pertumbuhan mikroba yang terdiri dari campuran polipeptida, dipeptida, asam amino yang didapat dari bahan yang mengandung protein. Pepton juga dijelaskan oleh



(Priatni, 2016) bahwa produk protein hidrolisat menjadi sumber nitrogen dalam pertumbuhan mikroba. Menurut (Nurhayat et al., 2015) hasil tangkapan sampingan (HTS) ikan memiliki nilai ekonomis yang tinggi apabila penanganan secara baik menjadi produk pepton dan media yang baik sebagai pertumbuhan mikroba.

3.2.1 Kandungan Protein dan Asam Amino

Kandungan protein pada Ikan terbesar pada skala nutrisi sebesar 0,1%-22% dan bervariasi bergantung pada faktor biologis dan faktor alam. Kandungan protein ini tentunya menjadikan sumber nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri (Juariyah & Sari, 2018). Pemanfaatan perlu dilakukan untuk meningkatkan nilai ekonomis pada bahan. Padahal, ikan ini berpotensi besar apabila dikelola dengan baik dan akan berdampak besar mengurangi limbah dan tentunya dapat meningkatkan nilai pendapatan. Perlakuan enzim, sangat dimungkinkan menjadikan produk pangan berkualitas salah satunya pada hasil tangkapan sampingan (HTS).

Hal ini juga didukung (Barokah *et al.*, 2017) bahwa pemanfaatan hasil samping ikan menjadi produk bernilai jual tinggi sangat diperlukan untuk mengatasi berbagai masalah dan salah satunya dengan menjadikannya pepton ikan.

Pemanfaatan ikan dengan enzimatis merupakan peluang produksi yang penting dalam industri. Potensi yang menghasilkan pendapatan tambahan dan pemanfaatan ikan ekonomis rendah. Pendekatan yang umum dengan pemanfaatan ikan hasil tangkapan sampingan (HTS) menjadi hidrolisat protein pepton ikan.

Produk dari HTS mengandung bahan kaya akan protein dan biasanya pemanfaatan sebatas pada pakan, tepung ikan dan bahan di laboratorium sebagai pendukung mikroba (Srikandace et al., 2016).

Kualitas pepton juga dapat ditentukan pada kadar asam amino esensial penyusunnya. Kebutuhan protein yang asam aminonya hampir sama dengan kebutuhan manusia merupakan protein yang memiliki mutu tinggi. Asam glutamat pada produk perikanan merupakan asam amino yang banyak ditemukan pada ikan sebagai cita rasa. Hasil serupa dengan penelitian yang dilakukan (Nurhayati et al.,



2013) bahwa kandungan asam glutamat pada jeroan ikan tongkol sebesar 6,38 % merupakan asam amino yang dominan dan tertinggi pada semua bagian ikan.

Meskipun lebih rendah dari pepton komersil. Namun, keberadaan asam amino akan berpeluang baik dalam pertumbuhan bakteri sebagai sumber nitrogen. (Dede

Saputra & Nurhayati, 2014) juga melaporkan pada pepton ikan selar memiliki 9 macam asam amino essensial. Hidrolisis akan berjalan sempurna apabila

menghasilkan 18-20 macam asam amino essensial maupun non-essensial. Hasil setara dengan (Barokah et al.,2017) analisis asam amino produk mikroenkapsulasi

pepton hasil tangkapan sampingan (HTS) memiliki 9 jenis asam amino essensial yaitu histidin, arginin,treonin, valin, metionin, isoleusin, leusin, fenilalanin dan lisin.

Dapat dilihat pada **Tabel 2**.

3.3 Enzim

Enzim merupakan biomolekul yang berfungsi sebagai katalis dalam mempercepat proses reaksi kimia. Tanpa adanya proses enzim dalam suatu proses

maka terjadi perlambatan atau tidak berlangsung suatu proses tersebut

Kemampuan dalam menghasilkan produk tanpa harus kehilangan banyak asam amino esensial dengan pilihan enzim yang benar dan sesuai dengan produk akhir

yang dibutuhkan. Hampir dari semua enzim adalah protein yang berperan sebagai biokatalisator yang dapat mempercepat reaksi biologi tanpa mengalami perubahan

struktur kimia. Hidrolisis secara sempurna dapat dilakukan dengan enzim proteolitik yang dapat mempercepat proses hidrolisis dalam kondisi terkontrol dengan hasil

akhir dari campuran komponen protein (Utomo et al., 2014). Enzim adalah protein yang dapat mengalami kerusakan protein pada suhu tinggi yang dikenal dengan

denaturasi. Akibat dari denaturasi protein tentunya akan mengurangi aktivitas enzim. Pada proses hidrolisis secara enzimatis dapat dipengaruhi oleh beberapa

kondisi seperti suhu, waktu, pH substrat dan konsentrasin enzim (Priatni, 2016).



(Harahap, 2012) menjelaskan dalam suatu proses enzimatis terdapat beberapa faktor penentu dalam prosesnya yaitu temperatur, derajat keasaman (pH), konsentrasi enzim dan substrat.

a. Temperatur

Temperatur terlalu tinggi menyebabkan denaturasi pada protein. Namun, temperatur yang rendah akan menghambat reaksi. Pada umumnya temperatur optimum pada suhu 30-40°C. Enzim akan tahan pada suhu rendah dan akan mengalami kerusakan pada suhu diatas 50°C.

b. Derajat keasaman (pH)

perubahan pada derajat keasaman (pH) memberikan pengaruh pada perubahan asam amino. Kebutuhan derajat keasaman (pH) berbeda-beda bergantung pada jenis enzimnya.

c. Konsentrasi enzim dan substrat

Perbandingan yang sesuai dari enzim dan substra akan menentukan reaksi berjalan secara optimal. Semakin banyak enzim, reaksi menjadi semakin cepat. Jika enzim terlalu sedikit dan substrat terlalu banyak maka proses berjalan lambat bahkan terdapat substrat yang tidak mengalami katalisis

Beberapa metode untuk menghasilkan protein hidrolisat pada proses pembuatan pepton sudah tersedia tetapi proses hidrolisis secara enzimatis menjadi pilihan dan dianggap lebih tepat dan lebih murah. Pada proses hidrolisis yang digunakan untuk menghasilkan pepton adalah dengan enzimatis. Enzim yang sering digunakan adalah papain, bromelin, alkalase, atau enzim yang diisolasi dari perut ikan.

3.3.1 Cara Kerja Enzim

Enzim merupakan suatu protein dengan susunan dan sifat katalik dan fungsi aktivasi yang spesifik. Peningkatan laju reaksi dapat dilakukan dengan menaikkan temperatur dan menurunkan anergi aktivitasnya. Menurut (Harahap, 2012) bahwa enzim bekerja dengan cara menempel pada suatu permukaan zat-zat yang



bereaksi dan dengan demikian akan mempercepat proses reaksi. Enzim mempunyai kekhasan hanya bekerja pada satu reaksi saja dengan adanya hubungan antara enzim dengan substrat. Hubungan antara enzim dan substrat hanya terjadi pada bagian atau tempat tertentu saja. Hubungan ini menyebabkan terjadinya kompleks enzim-substrat.

a. Lock and key (gembok dan kunci)

Terjadinya suatu reaksi antara substrat dengan enzim karena adanya kesesuaian bentuk ruang antara substrat dengan sisi aktif dari enzim. Substrat akan berperan sebagai kunci dan masuk ke dalam situs aktif, yang berperan sebagai gembok, sehingga terjadi kompleks enzim-substrat sehingga sisi aktif enzim akan cenderung kaku. Pada ikatan kompleks tersebut terputus, produk dari hasil reaksi akan dilepas dan enzim akan mengalami denaturasi (rusak) karena panas yang akan menyebabkan sisi aktif dan akan berubah sehingga substrat tidak sesuai lagi.

b. Teori kecocokan induksi (Daniel Koshland)

Reaksi enzim dan substrat berlangsung karena adanya induksi substrat terhadap situs aktif enzim. Ketika substrat memasuki sisi aktif enzim, bentuk sisi aktif akan termodifikasi dan membentuk kompleks. Enzim akan sedemikian rupa membentuk produk yang dihasilkan, maka enzim akan dilepaskan dalam bentuk bebas dan akan melakukan reaksi kembali dengan substrat yang baru. Sehingga keduanya merupakan struktur yang komplemen atau saling melengkapi. Sehingga situs aktif tidak bersifat kaku, tapi lebih fleksibel.

3.4 Enzim Papain

Enzim papain merupakan enzim proteolitik yang terkandung dalam getah pepaya (*Carica papaya*). Hampir dari semua bagian tanaman pepaya mengandung enzim papain, namun kandungan tertinggi terdapat ada buah yang masih muda umur 75-100 hari dan Indonesia termasuk penghasil pepaya yang melimpah. Enzim papain banyak terkandung dalam getah pepaya, daun, batang maupun pada buah (Irawati et al., 2015). Enzim papain merupakan salah satu enzim yang banyak



dimanfaatkan dalam suatu industri. Beberapa dalam industri memanfaatkan enzim papain antara lain: industri farmasi, industri kosmetik, tekstil dan penyamakan kulit. Keuntungan yang didapat dari pemanfaatan enzim papain merupakan enzim yang tahan terhadap suhu, dan dengan konsentrasi yang rendah dapat berfungsi baik (Risnawati, 2013).

Pepaya adalah tumbuhan penghasil enzim papain yang merupakan golongan enzim protease sulfhidril serta termasuk dalam golongan tiol protease eukariotik yang mempunyai sisi aktif sistein. Pepaya adalah tumbuhan penghasil enzim papain yang merupakan golongan enzim protease. Penggunaan enzim papain dapat dipakai ada proses hidrolisis protein sebagai pengganti pada proses kimiawi. Enzim protease dengan kelebihan dapat diproduksi skala besar dengan waktu yang relatif pendek serta produksi secara kesinambungan. Enzim protease yang mampu mengkatalisa reaksi pemecahan rantai polipeptida pada protein dengan menghidrolisa ikatan peptidanya menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida dan asam amino (Simanjorang et al., 2012). Juga dijelaskan oleh (Yuniati et al., 2015) bahwa enzim protease merupakan enzim proteolitik yang dapat mengkatalis pemutusan ikatan peptida protein dan dibutuhkan secara fisiologi untuk kehidupan mikroorganisme. Enzim proteolitik ini akan merombak senyawa protein menjadi asam amino. Sejumlah nitrogen sangat dibutuhkan dalam proses pertumbuhan, karena nitrogen ini terkandung dalam protein.

Protease atau enzim proteolitik termasuk enzim yang mampu menguraikan atau memecah molekul protein. Enzim papain biasa diperdagangkan dalam bentuk serbuk berwarna putih kekuningan dan penyimpanan pada temperatur 4°C dengan suhu optimum berkisar antara 50°C - 65°C dan pH optimum diantara 5-7. Kelebihan enzim papain lebih tahan terhadap proses suhu dan kisaran pH yang luas serta lebih murni daripada enzim bromelin. Enzim papain lebih aktif bekerja pada protein nabati dan relatif tahan terhadap suhu (Irawati et al., 2015). (Nay & Agustini, 2013)



juga menjelaskan bahwa aktivitas proteolitik pada enzim papain dipengaruhi oleh pH, suhu, kekuatan ionik, konsentrasi enzim, konsentrasi pada substrat serta adanya reduktor atau oksidator dan buffer.

3.4.1 Sifat Enzim Papain

Papain memiliki stabilitas terhadap panas pada pH netral dan beberapa pelarut organik (Utomo et al., 2014). Dalam fase pemanasan dengan *spray* membentuk kristal seperti butiran kasar dan berwarna putih pada suhu $\pm 65^{\circ}\text{C}$ tanpa kehilangan aktivitas enzim. Memiliki karakteristik tidak larut dalam air dan mudah dipisahkan. Kemampuan aktivitas terbaik pada pH 5-7 dengan suhu 50°C - 60°C . Serta kehilangan aktivitasnya pada suhu 75°C - 85°C . Hal ini setara dengan (Zusfahair et al., 2014), bahwa aktivitas enzim akan mengalami peningkatan sebanding dengan kenaikan pada suhu untuk mencapai optimalnya.

3.4.2 Aplikasi Enzim Papain

Pada industri hanya penggunaan 59% enzim yang digunakan salah satunya proteasa dari enzim papain (Nay & Agustini, 2013). Aplikasi enzim tidak hanya untuk mengempukkan daging namun, pemanfaatannya dapat berupa pepton berbahan dasar ikan. Enzim papain dalam banyak diaplikasikan dalam bidang industri farmasi, kosmetik, tekstil, penyamakan kulit (Risnawati, 2013). Ikan sebagai sumber daya laut menempati peran penting dalam studi kontaminan air dan pemantauan kualitas air. Produksi ikan masih sebagai salah satu penghasil limbah utamanya bagian tubuh (Nurhayati & Suhandana, 2013). Tentunya produk hasil sampingan ini sedikit untuk memanfaatkannya namun, disisi lain ikan hasil tangkapan sampingan (HTS) mempunyai kandungan protein dan biasanya di olah menjadi pakan ternak dan tepung ikan. Hal ini berbeda dengan (Nurhayati *et al.*, 2015) yang didukung (Saputra et al., 2020) bahwa ikan hasil sampingan dapat dimanfaatkan menjadi produk hidrolisat protein berupa pepton ikan. Potensi ikan

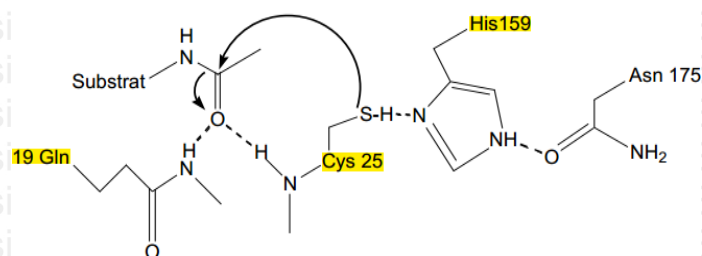


sangat luar biasa untuk dapat dimanfaatkan menjadi produk dengan nilai lebih melalui hidrolisis protein yang saat ini belum banyak terekspos secara luas.

3.4.3 Mekanisme Kerja Enzim Papain

Mekanisme dalam enzim papain melibatkan *triad* katalik yang terbentuk pada Cys 25, His159, dan Asn 175. Gugus dari Asn 175 akan melakukan penarikan pada proton dari inti imidazol His 159 sehingga akan meningkatkan nilai kebasaaan. Inti imidazol His 159 akan menarik H⁺ Dari -SH pada Cys 25 sehingga mengakibatkan nukleofilikan gugus SH bertambah. Sementara pada nitrogen amida dari Cys 25 akan membentuk ikatan hidrogen dengan atom O gugus karbonil pada substrat. Ikatan yang kedua akan terbentuk antara ada gugus -NH₂ dari Gln 19 dengan O gugus karbonil pada substrat. Keadaan ini akan mempengaruhi kemudahan ion sulfida (S²⁻) terhadap suatu gugus C=O dari substrat yang diikuti oleh pecahnya ikatan peptida dari substrat membentuk suatu amina.

Papain memiliki berat molekul 23.350 g/mol dan enzim ini terdiri dari 212 asam dengan Thio-SH pada cys-25 sebagai golongan katalik. Aktivitas enzim papain ditandai dengan memecahnya substrat menjadi asam amino His dan Sis pada sisi aktif enzim. Selama proses hidrolisis pada protein, maka gugus-amida akan terhidrolisis oleh papain yang dilakukan secara bertahap. Asam amino Sis25 bersifat sangat reaktif berikatan dengan substrat sisi aktif papain sehingga akan dihasilkan ikatan kovalen substrat pada enzim dan terbentuk ikatan tetrahedral. Sedangkan pada asam amino His 159 akan terpotronasi sehingga akan berikatan dengan nitrogen pada substrat (Sumarlin et al., 2012).



Gambar 1. Mekanisme Kerja Enzim Papain



3.5 Pepton Ikan Dengan Hidrolisis Enzim Papain

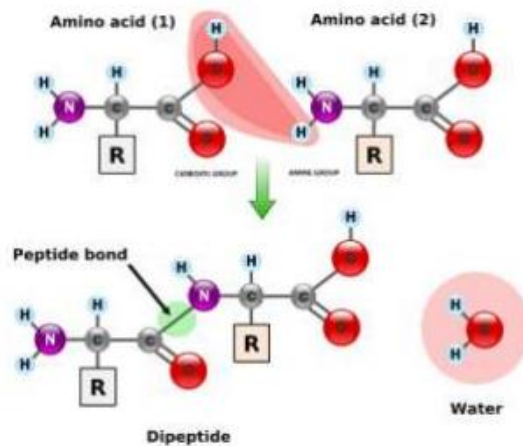
Ikan lele (*Clarias gariepinus*) merupakan komoditi populer di masyarakat.

Pertumbuhannya yang cepat dan kemampuan beradaptasi terhadap lingkungan tinggi serta kandungan gizi cukup tinggi dengan kandungan terbesar pada protein sebesar 17,17%. Pada penelitian yang sudah saya lakukan bahwasanya kepala ikan lele terdapat protein, lemak, garam kalsium, dan fosfat dan selama ini belum dimanfaatkan secara maksimal serta pemanfaatan hanya sebatas pada dagingnya saja. Menurut (Setijawati et al., 2020) pepton sebagai produk hidrolisis dari bahan baku sampingan dan budidaya dapat dihasilkan dengan hidrolisis secara enzimatik.

Pemanfaatan yang kurang optimal pada hasil tangkapan sampingan umumnya diolah dan digunakan untuk pakan ternak atau dibuat pakan ikan. Penelitian mengenai HPI tentunya telah banyak dilakukan sebelumnya dengan menggunakan berbagai jenis ikan dan enzim protease. Hidrolisat protein ikan (HPI) dengan pemanfaatan ikan lele dengan enzim protease dilakukan (Nurhayati & Sanapi, 2014).

3.5.1 Mekanisme Hidrolisis Protein

Protein merupakan polimer dari beberapa monomer amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida (Rosmawati, 2013). Pada hidrolisis merupakan pemutusan ikatan melalui hidrolisis secara enzimatik atau kimiawi menjadi peptida sederhana. Hidrolisis pada ikatan peptida menyebabkan perubahan pada protein menjadi lebih kecil sehingga dapat merubah karakteristik dan meningkatkan kualitas protein. Proses hidrolisis yang terjadi akan menyebabkan protein terpecah secara bertahap menjadi peptida lebih sederhana dan asam amino. Pada pembentukan ikatan peptida maka asam amino akan membentuk ikatan dengan molekul asam amino lainnya. Terbentuknya peptida karena ikatan antara amida pada gugus amino dengan gugus hidroksil.



Gambar 2. Pembentukan Ikatan Peptida

3.5.2 Penentuan Konsentrasi Enzim Papain

Konsentrasi enzim dari setiap jenis ikan berbeda-beda. Pada (Nurhayati & Sanapi, 2014) konsentrasi enzim papain memberikan pengaruh pada NTT/NTB ($p < 0,05$) sehingga penggunaan enzim 5% merupakan konsentrasi optimum dari hidrolisis protein ikan lele. Hasil ini sesuai dengan (Salamah et al., 2012) konsentrasi enzim papain 5% merupakan konsentrasi yang optimum. Hasil yang saya dapatkan menunjukkan bahwa pada 0,34% yang telah dimodifikasi dari (Nurhayati et al., 2013) bahan baku limbah merupakan hasil konsentrasi terbaik hidrolisis protein pada kepala ikan lele. (Haslaniza et al., 2010), menjelaskan bahwa konsentrasi yang semakin meningkat dalam suatu proses hidrolisis menyebabkan peningkatan kadar nitrogen terlarut

Penentuan terbaik enzim dengan menguji pada nilai nitrogen total terlarut (NTT) pada hidrolisat protein dibandingkan dengan nitrogen total bahan (NTB) (Nurhayati et al., 2013) pada jeroan ikan tongkol dan diterapkan lagi (Nurhayati & Sanapi, 2014) dengan ikan selar sebagai bahan bakunya serta (Nurhayati et al., 2015) pada hasil tangkapan sampingan. Penentuan konsentrasi enzim disesuaikan dengan jenis ikan yang digunakan serta perhitungan dengan hasil berbeda untuk mendapatkan konsentrasi yang optimal. Seperti halnya pada (Nurhayati et al., 2013) dan tahun-tahun berikutnya selalu melakukan penelitian



dengan jenis ikan yang berbeda dan konsentrasi enzim yang hampir serupa. Rasio terbaik yang didapat dari hidrolisis jeroan ikan tongkol dengan konsentrasi 0,26%.

Hal ini setara dengan konsentrasi enzim ikan selar. Serta hasil yang berbeda pada hasil tangkapan sampingan sebesar 0,3%. dalam penjelasan (Haslaniza et al., 2010) bahwa penggunaan konsentrasi enzim yang semakin tinggi akan meningkatkan nitrogen terlarut dalam proses hidrolisat protein yang mengakibatkan pemutusan ikatan peptida. Dalam suatu kondisi hidrolisis pada umumnya dipengaruhi konsentrasi substrat dan enzim, suhu, pH serta waktu (Nemati et al., 2012). Pernyataan yang sama pada (Saputra et al., 2020) pengaruh hidrolisis utamanya pada proses enzimatik ditentukan pada pH, waktu, konsentrasi enzim, dan suhu.

3.5.3 Penentuan Waktu Hidrolisis

Pengaruh yang terjadi pada kondisi hidrolisis dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti konsentrasi enzim, suhu, pH, dan waktu (Nemati et al., 2012). Penentuan waktu hidrolisis merupakan salah satu penentu dari kualitas pepton. (Utomo et al., 2014) bahwa waktu hidrolisis adalah faktor yang paling mempengaruhi untuk kualitas hidrolisat yang dihasilkan. Waktu hidrolisis optimum pada ikan lele optimal pada waktu 5 jam (Nurhayati & Sanapi, 2014). Waktu yang sama pada (Nurhayati et al, 2015) dengan bahan baku hasil tangkapan sampingan. Perbedaan hasil pada (Salamah et al., 2012) bahwa waktu hidrolisis akan meningkat secara cepat pada waktu 5 jam dan menyatakan bahwa hidrolisis terbaik pada waktu 6 jam. Sedangkan (Barokah et al., 2017) menyatakan bahwa waktu hidrolisis dilakukan pada hasil tangkapan sampingan (HTS) multispecies busuk dilakukan pada waktu 3 jam, 5 jam, dan 7 jam yang ditentukan dengan perbandingan total nitrogen terlarut dan total nitrogen bahan.



3.5.4 Penentuan Derajat Hidrolisis

Konsentrasi enzim dan substrat dan waktu hidrolisis yang berbeda memberikan pengaruh pada derajat hidrolisis (Haslaniza et al., 2010). Hal ini telah dibuktikan pada (Salamah et al., 2012) dan (Nurhayati & Sanapi, 2014) didapatkan perlakuan derajat hidrolisis dengan bahan baku yang sama yaitu ikan lele didapatkan hasil yang berbeda diantaranya 35,37% dan 47,24%. Peningkatan yang terjadi pada nilai derajat hidrolisis disebabkan peningkatan dari asam amino terlarut dan dalam TCA yang diakibatkan oleh pemutusan ikatan peptida selama proses hidrolisis yang terjadi. Menurut (Annisa et al., 2017) peningkatan derajat hidrolisis yang terjadi akan mempengaruhi pada tingkatan suhu dan menurunkan pada viskositas serta aktivitas enzim akan mempengaruhi proses reaksi hidrolisis.

3.5.5 Faktor Yang Menentukan Pada Hidrolisis Pepton Ikan Secara Enzimatis

Proses hidrolisis merupakan terjadinya pemecahan pada senyawa kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana dengan bantuan air dalam prosesnya. Proses hidrolisis dalam perlakuannya dapat dipengaruhi beberapa faktor. Pengaruh yang terjadi pada kondisi hidrolisis dipengaruhi oleh beberapa faktor dalam prosesnya untuk menghasilkan hidrolisat terbaik seperti konsentrasi enzim, suhu, pH, dan waktu (Nemati et al., 2012). Faktor penentu pada waktu hidrolisis adalah faktor yang paling mempengaruhi untuk kualitas hidrolisat yang dihasilkan (Utomo et al., 2014). (Safari et al., 2011) juga menjelaskan pepton sebagai sumber nitrogen yang sangat penting sebagai media pertumbuhan mikroba. Keberadaan dari asam amino memberikan peluang yang sangat baik sebagai salah satu bahan untuk media pertumbuhan bakteri. Pada prosesnya bakteri memerlukan asam amino sebagai sumber dari nitrogen untuk pertumbuhannya. (Nurhayati et al., 2013). Berikut merupakan AN/TN, α -Amino yang dihasilkan beserta waktu yang digunakan pada proses hidrolisis secara enzimatis. Pada **Tabel 1**.



Tabel 1. AN/TN, α -Amino dan bakteri yang digunakan pada beberapa jurnal dengan enzim papain

Bahan Baku	AN/TN	α - Amino	Waktu Hidrolisis terbaik	Bakteri Pertumbuhan	Referensi
Ikan selar	9,02%	1,07	6 jam	<i>Salmonella sp.</i> dan <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(Saputra & Nurhayati, 2014)
HTS	15,41% HTS	1,76	5 jam	<i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	(Nurhayati, et al, 2015)
Ikan Kerong	0,54%	0,29	4 jam	<i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	(Srikandace et al, 2016)
Ikan Boso	5,47%	0,5%	7 jam	<i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	(Priatni, 2016)
HTS multispecies	15,4%	1,76	5 jam	<i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	(Barokah et al., 2017)
Ikan Beku			8 jam	<i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	(Kosasih et al., 2018)
<i>Yellowstripe scad fish</i>	Post rigor 9.02% akhir fase 8.31%	Post rigor 1.07% akhir post rigor 1.03%	6 jam	<i>Bacillus sp,S. aureus</i> dan <i>Escherichia coli</i>	(Saputra et al., 2020)

Enzim papain adalah enzim proteolitik yang penting dalam proses hidrolisis pepton. Pepton ikan lebih banyak menggunakan hasil sampingan yang tidak termanfaatkan akan tetapi, memiliki kandungan protein yang berperan penting dalam pembuatan pepton. Semakin tinggi kadar protein pada bahan baku, maka



semakin besar pula nitrogen yang dihasilkan (Laoli, 2015). Salah satu ikan hasil tangkapan sampingan yang umumnya digunakan untuk umpan memancing. (Saputra & Nurhayati, 2014) bahwa produk dari hasil sampingan memiliki kandungan protein yang baik untuk pertumbuhan bakteri begitu juga dengan (Priatni, 2016) Pembuatan pepton ikan boso pernah dilakukan bahwasanya ikan boso menjadi bahan yang lebih murah dan ramah lingkungan sebagai formulasi media pembuatan pepton. Sejalan dengan (Srikandace *et al*, 2016) kandungan dari ikan kerong terdapat protein tinggi, asam amino dan peptida bioaktif yang dapat dimanfaatkan menjadi produk hidrolisat protein ikan (HPI).

Di dalam produksi protein hidrolisat pada proses pembuatan pepton ikan. Beberapa faktor dapat mempengaruhi dalam kecepatan dan spesifikasi produk hidrolisis yaitu suhu, waktu hidrolisis dan konsentrasi enzim. Waktu hidrolisis adalah faktor yang paling mempengaruhi untuk kualitas hidrolisat yang dihasilkan (Utomo *et al.*, 2014). Hasil berbagai penelitian bahwa waktu hidrolisis optimum sebesar 6 jam. Proses enzimatis mempengaruhi waktu yang dibutuhkan dalam hidrolisis. Proses hirolisis akan meningkat selama 2 jam pertama, setelah itu menjadi semakin lambat. Dalam suatu proses hidrolisis penentuan waktu sangat penting dimana semakin lama waktu hidrolisis maka semakin bertambah kecepatan reaksinya (Nurhayati *et al.*, 2013). (Khalil, 2012), juga menyatakan semakin lama waktu hidrolisis pada jeroan ikan *Tilapia nilotica* memberikan peningkatan pada kandungan protein terlarut. suatu proses hidrolisis memerlukan air sebagai pemecah protein menjadi asam-asam amino. Waktu hidrolisis terbaik pada pepton jeroan ikan tongkol 3 jam (Nurhayati & Suhandana, 2013). Hal ini menjadikan penentu dan dapat terjadi karena pemecahan ikatan peptida yang dilakukan oleh enzim. Kandungan protein pada berbagai suhu dan waktu inkubasi optimal didapatkan pada inkubasi 65°C pada waktu inkubasi 4 jam dengan total protein 3,6 mg / mL dan N-amino 0,07%. Aktivitas enzim papain dapat dipengaruhi konsentrasi dan kemurnian, suhu dan waktu hidrolisis (Srikandace, *et al*, 2016) setara dengan



(Priatni, 2016), bahwa kandungan protein dalam ikan boso sebesar $67,32\% \pm 1,86$.

Penentuan optimasi pepton ikan dilakukan pada suhu $50-65^{\circ}\text{C}$ dengan waktu hidrolisis 5-8 jam. Kandungan protein didapatkan tertinggi pada suhu 50°C setelah waktu hidrolisis enzimatis selama 7 jam dan menurun pada hidrolisis 5 jam dan peningkatan kembali pada hidrolisis 6 jam. Peningkatan reaksi ini dapat dilakukan pada suhu tertentu, ketika suhu tinggi enzim akan terdenaturasi dan struktur tersier enzim akan terganggu dan aktivitas katalik enzim akan berkurang. (Harahap, 2012) juga menjelaskan bahwa enzim adalah protein yang dapat mengalami kerusakan protein pada suhu tinggi yang dikenal dengan denaturasi. Akibat dari denaturasi protein tentunya akan mengurangi aktivitas enzim.

Bakteri memerlukan nitrogen untuk memacu pertumbuhan. Pertumbuhan mikroba pada pepton ikan memiliki pertumbuhan yang relatif lebih baik dengan pepton komersial. Nitrogen dalam pepton menjadi sumber utama untuk pertumbuhan mikroba. Pemakaian nitrogen oleh bakteri berbeda-beda dikarenakan perbedaan dalam kemampuan bertahan hidup masing-masing bakteri. Dapat dikatakan dalam (Setijawati et al., 2020) kandungan protein yang tinggi pada sampel pepton akan memberikan kandungan nitrogen yang tinggi pada pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dipantau selama 24 jam kepadatan sel menunjukkan kinerja yang lebih baik pada bakteri *Escherichia coli* dibandingkan dengan pepton komersial. Bakteri *Escherichia coli* mampu memanfaatkan dan mengkonsumsi asam amino dengan baik dalam jumlah maksimal mencukupi untuk pertumbuhan bakteri. Seketika glukosa tidak mencukupi, bakteri menggunakan asam amino dari pepton untuk pertumbuhannya. Fase log dari ikan terjadi selama 12 jam sedangkan pepton komersial terjadi pada 16 jam (Priatni, 2016). Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* menunjukkan hasil dengan fase yang sama dengan *Escherichia coli* hasil setara dengan (Saputra et al., 2020), fase lag *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* lebih pendek pada waktu 10 jam. Serta dijelaskan pada (Nurhayati & Suhandana, 2013) pada bakteri *Staphylococcus*



aureus dalam awal pertumbuhannya lebih memanfaatkan glukosa sederhana.

Serta (Kosasih et al., 2018) menjelaskan bahwa pertumbuhan *Staphylococcus aureus* pepton lebih tinggi daripada pepton komersial dan fase lag terjadi pada jam ke-4. (Saputra et al., 2020) Bakteri *Bacillus sp.* stabil pada waktu 2 jam dan pertumbuhan eksponensial terjadi pada 4-16 jam menandakan bahwa pertumbuhan bakteri dengan pepton ikan lebih tinggi daripada pepton komersil. Hasil pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menunjukkan tingkat pertumbuhan yang serupa. (Saputra & Nurhayati, 2014) juga melaporkan penggunaan pepton ikan selar memiliki pertumbuhan yang baik utamanya pada *Salmonella sp.* dan *Pseudomonas aeruginosa*.

Fase lag sebagai transisi ke fase eksponensial setelah populasi awal meningkat dua kali lipat dan disebabkan oleh adaptasi fisiologis sel terhadap kondisi kultur (Kosasih et al., 2018). Sementara itu, selama fase lag atau pertumbuhan eksponensial, laju peningkatan sel dalam kultur sebanding dengan jumlah sel yang ada pada waktu tertentu serta fase kematian ditandai dengan hilangnya sel-sel yang dapat dikultur dalam suatu fase yang terjadi.



Tabel 2. Perbandingan Asam Amino

Raw Material	Histidin	Isoleusin	Lisin	Leusin	Metionin	Fenilalanin	Threonin	Valin	Arginin	Alanin	Asam aspartat	Asam glutamat	Sistein	Tirosin	Glycine	prolin	serine	Triptofan	Referensi
Ikan lele Dumbo	1,68%	1,97%	5,23%	3,55%	0,98%	2,02%	2,22%	2,57%	2,77	2,93	5,98	7,77		2,56	4,85		2,61		(Salamah et al., 2012)
Ikan selar	4,70	1,33	2,76	4,76	4,01	2,76	1,25	3,82	1,45										(Saputra & Nurhayati, 2014)
HTS Multispesies	1,18	3,6	4,96	6,06	2,93	3,56	1,82	4,06	1,08	5,57	5,03	13,08		0,90	5,21		1,75		(Nurhayati, et al., 2015)
HTS Multispesies Busuk	1,18	3,6	4,96		2,93	3,56	1,82	4,06	1,08	5,57	5,03	13,08		0,9	5,21		1,75		(Barokah et al., 2017)
Yellowstripe Scadfish	4,7	1,33	2,76	4,76		2,17	1,25	3,82	1,42	0,74	6,5	10,18	1,6	1,45	1,04	1,8	2,88		(Saputra et al., 2020)



Pada **Tabel 2** diatas dapat diketahui setiap bahan baku yang digunakan memiliki asam amino yang berbeda-beda atau bervariasi. Ikan air tawar berupa ikan lele dumbo mempunyai asam amino yang tertinggi pada asam glutamat dan terendah pada asam amino metionin. Sedangkan pada ikan selar tidak terdapat asam amino asam glutamat dalam penelitiannya yang telah dilakukan sehingga kandungan tertinggi pada leusin dan asam amino terendah pada asam amino threonin. Pada HTS multispecies didapatkan hasil tertinggi pada asam amino asam glutamat sebesar 13,08% sedangkan terendah pada asam amino tirosin sebesar 0,90% hasil yang sama juga didapatkan pada HTS multispecies busuk. Pada ikan *Yellowstripe scadfish* tetap terbesar pada asam glutamat sebesar 10,18% dan terendah pada asam amino alanin sebesar 0,74%. Hal ini (Klompong et al., 2012) menjelaskan bahwa komposisi asam amino dalam ikan bervariasi bergantung pada bahan baku, sumber enzim dan kondisi hidrolisis. Serta dalam proses hidrolisis akan berjalan baik atau sempurna apabila menghasilkan campuran 18-20 macam asam amino esensial dan non-esensial. Sedangkan pada pepton ikan selar memiliki 9 macam asam amino esensial seperti dalam penelitian (Saputra & Nurhayati, 2014). Serta Komponen terbesar dari jeroan ikan memiliki 17 jenis asam amino (Nurhayati & Suhandana, 2013). Hasil sama dengan (Barokah et al., 2017) pepton ikan hasil tangkapan sampingan busuk (HTS) mengandung 17 jenis asam amino. Serta mirip dengan hasil dari (Seniman et al., 2014) bahwa ikan lele hasil dari hidrolisat memiliki asam amino esensial maupun non-esensial. Pada **Tabel 2** Dapat dilihat bahwa asam glutamat menjadi asam amino dengan nilai tertinggi. Kandungan dari asam amino asam glutamat ini sangat diperlukan bakteri dalam pertumbuhan dan perkembangan. Kandungan asam amino pada fase ini memberikan peran penting dalam pertumbuhan bakteri sebagai sumber nitrogen. (Safari et al., 2011) juga menjelaskan dan telah menunjukkan bahwa asam amino yang menguntungkan dan kandungan protein yang tinggi merupakan sumber yang potensial untuk dikembangkan lebih luas. Hal ini didukung (Shirahigue et al., 2018)



bahwa asam amino terkandung pada pepton mampu berperan dalam meningkatkan kinerja pertumbuhan mikroorganisme. Serta tidak hanya itu (Setijawati et al., 2020) menambahkan dalam komposisi asam amino sampel pepton yang diisolasi berbahan dasar kepala ikan lele menunjukkan bahwa pepton ini penting dalam pertumbuhan mikroorganisme.

3.5.6 Metode Pembuatan Pepton Dengan Enzim Papain

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *beaker glass* 250 mL, spatula, sendok bahan, baskom, timbangan digital, gelas ukur, termometer, *waterbath*, *sentrifuge*, pipet tetes, *beaker glass* 50 mL, pH meter, nampan, corong, tabung Appendorf, botol kaca, *spray dryer*, kulkas, tabung reaksi, rak tabung, pipet ukur 1mL, bola hisap, bunsen, *sprayer*, pipet volume, autoklaf, erlenmeyer 500 mL, *waterbath*, *chamber*, *cover glass*, korek api, *beaker glass* 1 L, mikroskop, spektrofotometer.

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu limbah kepala ikan lele, aquades, HCl, NaOH, Enzim Papain, *Lactose Broth*, alkohol 70%, spirtus, kultur bakteri *E. Coli*, Natrium Fisiologis 0,9%, plastik HDPE, karet gelang, aluminium foil, *plastic wrap*, *tissue*, kapas, kertas label, kain blacu.

Proses pembuatan

Proses pembuatan diawali dengan tahap preparasi sampel. Pengambilan sampel ikan lele (*Clarias* sp.) yang dibeli dari salah satu UKM di daerah Dau, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Jarak dari Dau sampai ke kota Malang adalah 6 km yang dapat ditempuh sekitar 30 menit. Untuk menjaga kesegaran ikan, maka dalam perjalanan hingga ke Malang, ikan dimasukkan ke dalam *coolbox* dan diberi es.

Kepala Ikan lele (*Clarias* sp.) dicacah dan digiling dengan menggunakan mesin penggiling daging di Pasar Landungsari, Dau, Kota Malang. Sampel halus ini



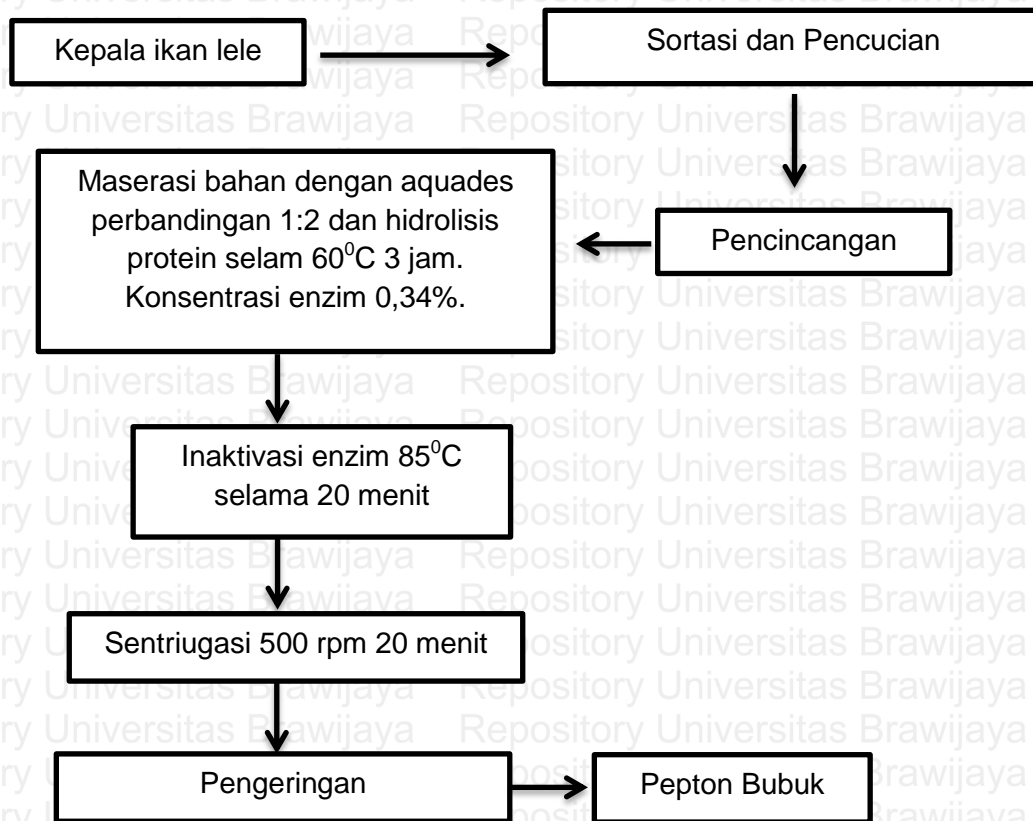
dimasukkan kedalam beberapa plastik besar dan kecil agar memudahkan proses *thawing*, diberi label dan dimasukkan kedalam *freezer* Laboratorium Ilmu Teknologi Hasil Perikanan, Divisi Perekayasaan Sumberdaya Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Brawijaya. Pembuatan pepton ikan lele (*Clarias* sp.) yang digunakan untuk mencari konsentrasi enzim terbaik dan waktu terbaik yang digunakan dalam proses pembuatan pepton. Enzim papain yang memiliki aktivitas proteolitik 125.2 TU/mg.

Pembuatan Hidrolisat

Proses hidrolisis dengan mencampurkan bahan baku kepala ikan lele yang telah dicincang ditimbang dengan menggunakan timbangan digital sebanyak 100 gram dan akuades dengan perbandingan 1:2 (b/v) dalam erlenmeyer 250 mL dimana aquades yang ditambahkan sebanyak 50 ml. Suhu hidrolisis digunakan sebesar 85°C selama selama 20 menit untuk menginaktivasi enzim endogen.

Perlakuan pengukuran pH menggunakan pH meter, jika pH belum mencapai pH 6 maka dilakukan penambahan pH dengan 4N NaOH jika terlalu asam dan 4N HCl jika terlalu basa. Enzim papain dengan konsentrasi tertentu ditambahkan ke dalam sampel. Selanjutnya *beaker glass* ditutup dengan *aluminium foil* dan masuk ke tahap inkubasi selama 3 jam menggunakan waterbath dengan suhu 60°C. Sampel yang telah diinkubasi disentrifuge pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit.

Sentrifuge bertujuan untuk memisahkan cairan dan padatan. Kemudian cairan yang didapatkan diukur menggunakan gelas ukur dan ditimbang menggunakan timbangan digital. Selanjutnya sampel cair dikeringkan menggunakan oven. Pada suhu 50°C. Penggunaan oven dimaksudkan untuk mempermudah dalam pemeriksaan didalam proses pengeringan serta penggunaan ini sebagai proses jika nantinya hasil pepton berdampak baik pada hasil. Sehingga hasil yang didapat mampu menjadikan acuan untuk penerapan suhu optimum. Diagram alir pembuatan pepton kepala ikan lele dapat dilihat pada **Gambar 2**.



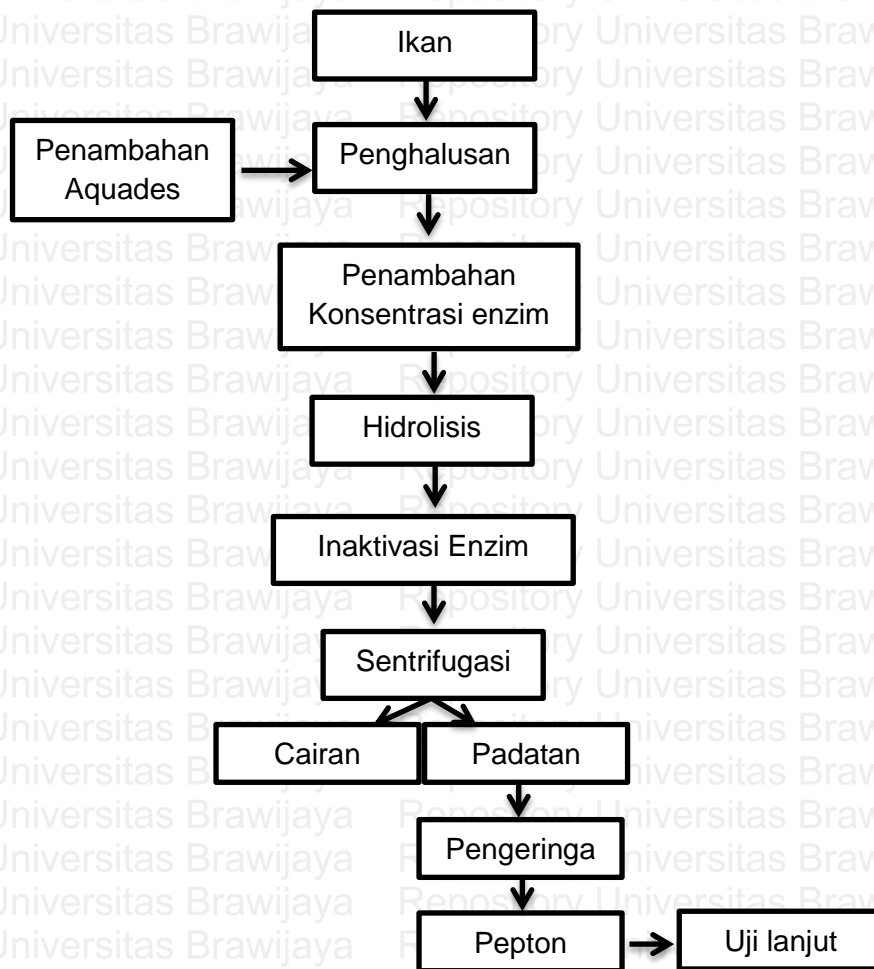
Gambar 3. Diagram Proses Pembuatan Pepton Secara Enzimatis

Produksi pepton ikan secara hidrolisis enzimatis menggunakan enzim proteolitik. Enzim ini dapat mempercepat waktu hidrolisis dalam kondisi yang terkontrol. Pepton dapat dihasilkan dengan cara hidrolisis melalui proses asam, basa, enzim yang berasal bahan baku, atau menambahkan enzim dari luar (Dede Saputra & Nurhayati, 2014). Ikan dengan hasil dari hasil sampingan dilakukan penimbangan dan penambahan aquades 1:2 ikan dengan aquades dan diaduk. Selanjutnya pengukuran pH 7 dan suhu 60°C sebagai suhu optimal. Proses hidrolisis dengan penambahan enzim pada 6 perlakuan dengan kontrol yaitu 0,02%, 0,08%, 0,41%, 0,20%, 0,26% dan 0,32% yang telah ditentukan pada proses konsentrasi enzim terpilih (Dede Saputra & Nurhayati, 2014). Pada dasarnya perlakuan konsentrasi bergantung pada ikan yang digunakan yang diujikan untuk mendapatkan hasil yang optimal. Proses inaktivasi dengan menaikkan suhu menjadi 85°C selama 15 menit. Hampir setara (Halim et al., 2016) dengan Hidrolisis secara enzimatis dimulai dengan homogenisasi dan pemanasan pada suhu 85°C - 90°C selama 20 menit untuk menonaktifkan enzim endogen sehingga



efek dari enzim ada hidrolisat dapat diselidiki. Selanjutnya proses sentrifugasi pada 5.000 rpm selama 20 menit untuk mendapatkan substrat berupa padatan dan cairan. Hasil dari padatan selanjutnya dilanjutkan dengan pengeringan. Selanjutnya proses pengeringan dilakukan dengan *freeze drying* atau *spray drying* dimaksudkan untuk melindungi nutrisi yang terkandung dalam pepton dengan sistem panas yang terkontrol. Hasil yang didapatkan berupa hidrolisat protein ikan bubuk.

Produksi pepton ikan secara hidrolisis enzimatis menggunakan enzim proteolitik. Enzim ini dapat mempercepat waktu hidrolisis dalam kondisi yang terkontrol. Pepton dapat dihasilkan dengan cara hidrolisis melalui proses asam, basa, enzim yang berasal bahan baku, atau menambahkan enzim dari luar (Dede Saputra & Nurhayati, 2014). Ikan dengan hasil dari hasil sampingan dilakukan penimbangan dan penambahan aquades 1:2 ikan dengan aquades dan diaduk. Selanjutnya pengukuran pH 7 dan suhu 60°C sebagai suhu optimal. Proses hidrolisis dengan penambahan enzim pada 6 perlakuan dengan kontrol yaitu 0,02%, 0,08%, 0,41%, 0,20%, 0,26% dan 0,32% yang telah ditentukan pada proses konsentrasi enzim terpilih (Dede Saputra & Nurhayati, 2014). Pada dasarnya perlakuan konsentrasi bergantung pada ikan yang digunakan yang diujikan untuk mendapatkan hasil yang optimal. Proses inaktivasi dengan menaikkan suhu menjadi 85°C selama 15 menit. Hampir setara (Halim et al., 2016) dengan Hidrolisis secara enzimatis dimulai dengan homogenisasi dan pemanasan pada suhu 85°C - 90°C selama 20 menit untuk menonaktifkan enzim endogen sehingga efek dari enzim ada hidrolisat dapat diselidiki. Selanjutnya proses sentrifugasi pada 5.000 rpm selama 20 menit untuk mendapatkan substrat berupa padatan dan cairan. Hasil dari padatan selanjutnya dilanjutkan dengan pengeringan. Selanjutnya peroses pengeringan dengan *freeze drying* atau *spray drying* sehingga didapatkan hidrolisat protein ikan berupa pepton bubuk. Prinsip pembuatan pepton dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 4. Prinsip pembuatan Hidrolisat Protein Pepton ikan

Pada prosesnya pepton ikan dengan proses enzimatik utamanya pada enzim papain dilalui dengan tiga tahapan yaitu tahap hidrolisis, tahap inaktivasi enzim dan tahap akhir pengeringan bubuk.

Tahap Hidrolisis

Tahap hidrolisis protein ikan kepala lele dilakukan pada suhu 60°C selama 3 jam . pada perlakuan dengan enzim papain yang telah dilakukan menggunakan suhu 60°C dengan lama inkubasi 1-5 jam. Perlakuan terhadap suhu pada waktu yang ditentukan. (Nurhayati & Suhandana, 2013) pada perlakuan dengan enzim papain yang telah dilakukan menggunakan suhu 60°C dengan lama inkubasi 1-5 jam. Pada suhu yang diberikan sama dengan (Barokah et al., 2017) namun, waktu yang diberikan berkisar antara 3, 5 dan 7 jam. Hal ini juga dilakukan (Srikandace et al., 2016) bahwa hidrolisis dilakukan pada suhu di antara 50-65°C selama proses 4-



8 jam dan didukung oleh (Priatni, 2016). Berbeda hal dengan (Kosasih et al., 2018) bahwa proses hidrolisis dilakukan lebih pasti pada 50°C selama 8 jam. (Abdulazeez et al., 2013) menyatakan bahwa penggunaan enzim papain 1% untuk mencerna protein ikan king pada suhu 37°C selama 6 jam.




Inaktivasi Enzim

Proses dilakukan inaktivasi enzim kepala ikan lele pada suhu 85°C selama 20 menit. Dilakukan. Inaktivasi enzim dilakukan untuk mendenaturasi protein sehingga terjadi perubahan konformasi protein enzim yang dapat menyebabkan enzim menjadi tidak aktif (Budijanto et al., 2010) hal ini sebanding dengan Inkubasi sampel pada suhu 85°C selama 15 menit yang dilakukan oleh (Nurhayati et al., 2013) hingga pada tahun ke-3 yaitu (Nurhayati & Sanapi, 2014) dan (Nurhayati, et al., 2015) serta yang terbaru pada (Saputra et al., 2020). Selanjutnya pengendapan 24 jam pada suhu 4°C untuk pemisahan lemak dengan fase cair. Hal yang sama dilakukan pada (Srikandace et al., 2016) dan (Priatni, 2016). Namun perbedaan pada (Kosasih et al., 2018) bahwasanya penghentian aktivasi bakteri dilakukan pada waktu selama 10 menit sudah mencukupi. Perlakuan suhu 85°C menggunakan oven dilakukan oleh (Barokah et al., 2017) sebagai proses inaktivasi bakteri. Tahap inaktivasi enzim suhu menentukan aktivitas dalam mengkatalisa suatu reaksi. Seluruh enzim memerlukan jumlah panas untuk dapat aktif. Peningkatan suhu semakin meningkat pula aktivitas enzim. Setiap peningkatan suhu 10°C diatas suhu diatas suhu minimum, aktivitas akan meningkat mencapai kondisi optimum. Peningkatan yang terjadi akan meningkatkan metabolisme organisme menjadi dua kali lipat, sedangkan penambahan suhu maksimal akan mematikan mikroorganisme (Yulma et al., 2017).

Pengeringan

Terdapat perbandingan dari hasil pengeringan dengan berbagai metode. Ditunjukkan pada tabel dibawah ini:

**Tabel 3.** Perbandingan Hasil Pengeringan Hidrolisat Protein

No	Hidrolisat protein	Metode pengeringan	Gambar	Referensi
1.	Kepala Ikan Lele	Oven		Data Primer
2.	Ikan Lele Dumbo	Freeze drying		(Nurhayati & Sanapi, 2014)
3.	Ikan Hasil tangkapan sampingan (HTS)	Spray dryer		(Kosasih et al., 2018)

Pada perlakuan yang saya lakukan tidak menerapkan hasil dengan *spray dryer* dan *freeze drier*. Penggunaan oven pada cairan hasil sentrifugasi dengan suhu 50°C hingga mengering sehingga didapatkan hasil pada **Tabel 3**, bahwa dalam (Muzaifa et al., 2011) menjelaskan pengeringan hasil hidrolisis tidak menggunakan cairan hasil sentrifugasi melainkan hasil padatan yang digunakan. Berbeda halnya dengan (Salamah et al., 2012) menggunakan supernatan hasil sentrifugasi. Serta sifat dari pepton yang bersifat higroskopis ketika terkena udara dan mudah berikatan dengan air. Tentunya dengan suhu tersebut dan perlakuan oven kurang efektif untuk menghasilkan bubuk pepton. Pepton bersifat higroskopis ketika terkena udara dan mudah berikatan dengan air. Hasil pada pepton dengan oven diperlihatkan terjadinya pengikatan kadar air berlebih karena proses pengeringan tidak maksimal. Hal ini mempermudah pepton mengalami kerusakan mutu secara fisik dan kimiawi. Perlakuan suhu dan waktu pengeringan menjadi penentu dalam kualitas pepton. Pada proses hidrolisis secara enzimatik dapat dipengaruhi oleh beberapa kondisi seperti suhu, waktu, pH substrat dan konsentrasin enzim (Priatni, 2016).



Perlakuan terbaik untuk tetap menjaga nutrisi dan karakteristik pepton menggunakan *spray dryer* dan *freeze dryer* seperti yang dilakukan oleh (Salamah et al., 2012) serta (Nurhayati et al., 2015) dan Saputra et al., 2020). Perlakuan pengeringan dengan *Freeze drying* mampu mencapai kadar air yang rendah dengan tingkat kerusakan protein yang kecil pada suhu rendah (Salamah et al., 2012). Perlakuan yang sama pada (Nurhayati et al., 2015) menggunakan *freeze dryer* hingga kadar air turun di kisaran 5-7%. Sehingga warna dari bubuk pepton yang dihasilkan dari hidrolisat protein ikan lele antara berwarna merah dan kuning. Kadar air yang rendah terjadinya proses penguapan ketika mengalami kontak dengan panas yang akan menurunkan kandungan air bahan suatu. Sedangkan pada (Priatni, 2016) perlakuan yang berbeda dilakukan dengan vakum dan penyimpanan pada 20°C.

Pengeringan dengan *spray dryer* pada (Kosasih et al., 2018) dilakukan pada suhu inlet 90°C dan outlet 80°C. Perlakuan berbeda pada (Annisa et al., 2017) untuk mendapatkan supernatan pada proses hidrolisat ikan lele dengan penggunaan *spray dryer* dilakukan pada suhu inlet 160°C dan suhu outlet 80°C. Namun, berbeda dengan (Saputra et al., 2020) penggunaan *spray dryer* suhu inlet 170°C dan outlet pada suhu 70°C pada ikan *yellow scad fish*. Menurut (Mardaningsih et al., 2012) bahwa semakin tingginya suhu proses *spray dryer* menghasilkan bubuk yang lebih kering dan rendemen yang didapatkan semakin tinggi. Pengeringan dimaksudkan untuk menghilangkan sebagian air dari suatu bahan dengan cara menguapkan dengan energi panas menyesuaikan karakteristik dari bahan. Pengeringan banyak dilakukan dengan alat *spray dryer* untuk melindungi dan tetap menjaga kandungan dari pepton yang dihasilkan serta untuk mendapatkan bentuk bubuk.



3.5.7 Pengujian Pepton Ikan

Bubuk pepton yang dihasilkan setelah proses pengeringan kemudian dilakukan pengujian uji proksimat untuk mengetahui karakteristik fungsionalnya meliputi (kadar air, abu, protein dan lemak), serta asam amino menggunakan metode (AOAC,2005).

Komposisi Kimia Hidrolisat Protein Ikan Lele

Komposisi kimia didapatkan melalui uji proksimat yang meliputi kadar air, kadar lemak, kadar abu, dan kadar protein. Komposisi dihasilkan dapat dilihat pada penjelasan dibawah ini dan hasil hidrolisat protein ikan lele pada.

Kadar Air

Tabel 4. Kadar Air Ikan Lele

Kadar Air Ikan Lele

No	Spesies	Kadar Air	Referensi
1.	Ikan lele	5,46%	(Salamah et al., 2012)
2.	Ikan lele	3,45±2,05	(Nurhayati & Sanapi, 2014)

Penggunaan metode pengeringan yang berbeda akan menyebabkan perbedaan terhadap kadar air. Proses penguapan yang berlangsung membuat kadar air yang ada pada bahan akan mengalami menurun. Kadar air hidrolisat protein ikan lele dari hasil *spray dryer* sebesar 5,46% hasil yang didapat pada (Salamah et al., 2012). Sedangkan perlakuan yang berbeda pada (Nurhayati & Sanapi, 2014) hasil hidrolisat ikan lele dikeringkan menggunakan *freeze dryer* didapatkan kadar air sebesar 3,45±2,05. Hasil tersebut bahwa perlakuan dengan pengeringan yang berbeda berpengaruh pada hasil dari kadar air yang dihasilkan. Menurut (Salamah et al., 2012) bahwa pengeringan dengan *freeze dryer* dapat menghasilkan kadar air lebih rendah dengan kerusakan protein lebih kecil karena pengeringan dengan suhu rendah. Semakin rendah kadar air yang didapatkan ketahanan penyimpanan menjadi lebih baik dan waktu lebih lama.

**Kadar Abu****Tabel 5.** Kadar Abu Ikan Lele

No	Spesies	Kadar Abu	Referensi
1.	Ikan lele	5,71%	(Salamah et al., 2012)
2.	Ikan lele	2,47±0,67	(Nurhayati & Sanapi, 2014)

Hidrolisat protein pada ikan lele memiliki kadar abu yang berbeda- beda dari setiap analisis. Hasil yang didapat pada kadar abu ikan lele dumbo dari (Salamah et al., 2012) sebesar 5,71%. Hasil yang berbeda didapatkan pada (Nurhayati & Sanapi, 2014) sebesar 2,47±0,67. Hasil yang berbeda meskipun menggunakan bahan baku sama didapatkan kadar abu yang tinggi. Pada proses penambahan alkali NaOH atau HCl dalam suatu proses hidrolisis mempunyai tujuan untuk mencapai pH yang optimum serta menjaga supaya tetap konstan dan menyebabkan pembentukan garam selama proses hidrolisis.

Kadar Protein**Tabel 6.** Kadar Protein Ikan Lele

No	Spesies	Kadar Protein	Referensi
1.	Ikan lele	53,29%	(Salamah et al., 2012)
2.	Ikan lele	69,26 %	(Nurhayati & Sanapi, 2014)

Berdasarkan **Tabel 6** pengujian kadar protein menunjukkan hasil yang berbeda meskipun bahan yang digunakan sama. Kadar protein ikan lele pada (Nurhayati & Sanapi, 2014) lebih besar dibandingkan dengan (Salamah et al., 2012). Aktivitas enzim papain yang digunakan memberikan pengaruh pada jumlah ikatan peptida didalam protein daging sehingga senyawa nitrogen terlarut yang dihasilkan sedikit dan protein rendah. Kadar protein tinggi pada ikan dijelaskan (Nurhayati, et al., 2015) adanya proses hidrolisis yang mengkonversi protein tidak larut menjadi larut sehingga terjadinya pemecahan ikatan protein kompleks menjadi sederhana yang mengakibatkan nitrogen meningkat.



Kadar lemak

Tabel 7. Kadar Lemak Ikan Lele

No	Spesies	Kadar Lemak	Referensi
1.	Ikan lele	1,94%	(Salamah et al., 2012)
2.	Ikan lele	0,5 %	(Nurhayati & Sanapi, 2014)

Hasil yang didapat menunjukkan perbedaan oleh karena karakteristik pada bahan baku dan pemisahan lemak setelah proses hidrolisis. Lemak yang terkandung dalam proses hidrolisis sebagian akan terpisah bersamaan protein tidak larut saat sentrifugasi (Salamah et al., 2012). Kadar lemak yang rendah pada lebih stabil terhadap oksidasi lemak dibandingkan kadar lemak tinggi. Penggunaan kadar lemak rendah dapat digunakan pada makanan diet yang kandungan lemak <5% serta sebagai suplemen pada roti dan makanan bayi (Annisa et al., 2017)

3.6 Aplikasi Pepton Dengan Enzim Papain Sebagai Media Pertumbuhan Mikroba

Beberapa penelitian dengan enzim papain berikut mikroba sebagai media uji. Kemudahan bakteri dalam mengkonsumsi pepton dijelaskan pada beberapa jurnal bahwa semakin miring grafik pertumbuhan maka semakin mudah mikroba mengkonsumsi nitrogen. Dapat dikatakan pemakaian nitrogen setiap bakteri berbeda bergantung pada daya tahan hidup masing-masing bakteri. Karakteristik yang hampir sama dengan pertumbuhan yang didapatkan pada setiap jurnal. Tentunya dengan kenaikan setiap bakteri dalam mengkonsumsi nitrogen mampu menjadi pembanding pepton komersil. Hal ini setara dengan (Shirahigue et al., 2018) bahwa komponen utama pepton kaya akan senyawa nitrogen sebagai nutrisi yang penting dalam mendukung pertumbuhan mikroba. Hasil tersebut dapat dilihat pada **Tabel 8.**

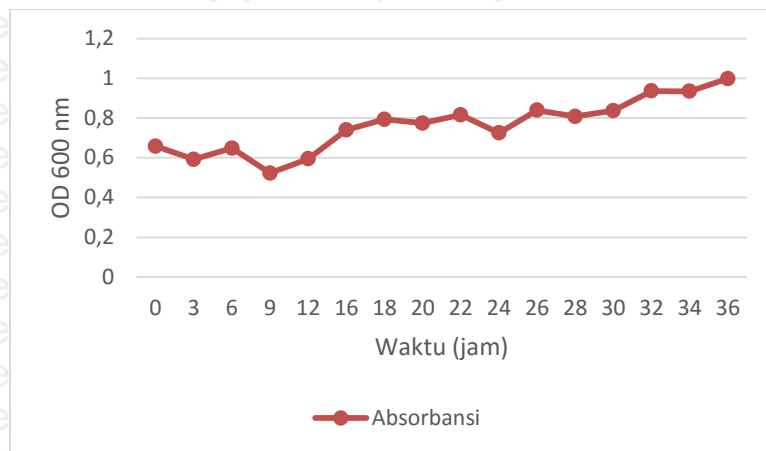
**Tabel 8.** Aplikasi Enzim Papain terhadap Pertumbuhan Mikroba

Pertumbuhan Mikroba	Enzim	Referensi
<i>Salmonella</i> sp dan <i>pseudomonas aeruginosa</i>	Papain	(Saputra & Nurhayati, 2014)
<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Sacharomyces cereviceae</i> dan <i>Escherichia coli</i>	Papain	(Nurhayati, et al, 2015)
<i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	Papain	(Srikandace et al, 2016)
<i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	Papain	(Priatni,2016)
<i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	Papain	(Barokah et al., 2017)
<i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i>	Papain	(Kosasih et al., 2018)
<i>Escherichia coli</i> , Basil sp, dan <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	Papain	(Saputra et al., 2020)

Pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dari kepala ikan lele dengan enzim papain yang telah saya lakukan. Terjadi peningkatan pada jam ke-4 sebagai hasil dari bakteri mampu memanfaatkan pepton kepala ikan lele. Penurunan terjadi pada jam ke -14. Dapat dilihat pada **Gambar 5**. Hasil ini hampir setara dengan (Saputra et al., 2020) bahwa fase eksponensial terjadi pada 4-16 jam. Serta kurva pertumbuhan pada *Optical Density* (OD) terhadap waktu inkubasi dimana semakin curam korelasi antara waktu dengan log OD linier, dianggap sebagai fase pertumbuhan eksponensial. (Srikandace et al., 2016) menunjukkan peningkatan yang tinggi pada bakteri *Escherichia coli* daripada pepton komersil. (Kosasih et al., 2018) menyatakan media yang mengandung pepton berbahan dasar ikan sampingan menunjukkan kepadatan sel yang lebih tinggi dibandingkan pepton komersil. Kecenderungan kurva pertumbuhan bakteri biasanya mirip dengan profil pertumbuhan disetiap media ikan lele (Setijawati et al., 2020). Pengaruh kandungan protein dari sampel pepton yang digunakan dimana protein akan memberikan pengaruh pada nitrogen, semakin tinggi protein maka kandungan nitrogen akan tinggi. Menandakan bahwa bakteri *Escherichia coli* dengan baik memanfaatkan



asam amino pada jeroan ikan tongkol dengan jumlah yang maksimal dapat mencukupi untuk pertumbuhan (Nurhayati et al., 2013)



Gambar 5. Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* Dengan Hemositometer Pepton Kepala Ikan Lele Dengan Enzim Papain

3.7 Perbandingan Dengan Pepton Komersil

Ikan merupakan bahan yang berpotensi untuk dikembangkan dan menggantikan pepton komersil. Hasil pengujian dari beberapa peneliti dapat dilihat pada **Tabel 9**.

Pada hasil **Tabel 9**. Bahwa pepton ikan hampir setara dengan pepton komersil. Dari tingkat kelarutan didapatkan pada ikan Hasil tangkapan sampingan hampir mendekati pepton komersil sebesar 99,96%. Kelarutan ini disebabkan oleh adanya gugus hidroksil dalam pepton yang berinteraksi dengan molekul air sehingga terjadi pemecahan protein menjadi peptida. Faktor lain dapat berkaitan dengan pemilihan bahan baku pepton ikan seperti spesies, kesegaran serta pada proses yang dilakukan dalam hidrolisis, perlakuan pH, dan periode waktu selama proses hidrolisis. Serta (Barokah et al., 2017) juga menjelaskan mengenai kenaikan kelarutan disebabkan adanya pemecahan protein menjadi peptida sederhana. Pada total nitrogen berkaitan dengan kandungan protein pada bahan baku, bahwa hasil pada ikan total nitrogen ikan hasil tangkapan sampingan dan ikan *Yellowstripe scadfish* memberikan nilai yang sama sebesar 11,86%. Pada asam amino yang terkandung tertinggi pada ikan *Yellowstripe scadfish* sebesar 1,76%. Tentunya



pada ikan hasil tangkapan sampingan mempunyai kadar protein dan asam amino yang tinggi dari penjelasan diatas.

Tabel 9. Perbandingan Pepton Ikan Dengan Komersil

Karakteristik	Pepton Komersil (<i>Bactopepton</i>)	(Nurhayati & Suhandana, 2013)	(Dede Saputra & Nurhayati, 2014)	(Nurhaya ti, et al, 2015)	(Saputra et al., 2020)
Kelarutan (%)	100	98,20	96,74	99,96	96.74
Total Nitrogen (%)	12-13	8,03	11,86	11,42	11,86
α -Amino nitrogen bebas(%)	1,2-2,5	1,12	1,07	1,76	1,07
AN/TN(%)	11-21	13,95	9,02	15,41	9,02
Kadar Garam(%)	≤ 17	0,79	0,41	7,82	0,41
Kadar Lemak(%)	0,40	0,47			
Kadar Abu(%)	3,80	2,34			
Rendemen(%)	-	3,92-5,54			
pH	6,7-7,4	6,02		7,10	

Pepton ikan dapat menjadikan alternatif pengganti dari pepton komersil dikarenakan kandungan dari protein yang cukup tinggi yang tentunya mengandung nitrogen yang mudah untuk diserap dengan baik oleh bakteri. Hasil yang telah dijelaskan pada **Tabel 9**. Jumlah sumber nitrogen mempengaruhi pertumbuhan bakteri dalam aspek positif maupun negatif (Klompong et al., 2012). Hal ini serupa dengan (Nurhayati & Suhandana, 2013) Serta hasil ini pepton dari ikan selar mempunyai potensi yang aman untuk dikembangkan bahkan mampu menjadi pengganti dari pepton komersil. Dari berbagai referensi banyak menjelaskan bahwa karakteristik pepton ikan hampir mendekati sempurna atau hampir menyamakan dengan pepton komersil. Hal ini setara dengan (Saputra *et al.*, 2020) pada ikan *yellowstripe Scadfish* tentunya pepton ikan hampir sebanding dan mendekati standar dengan pepton komersil (*Bactopepton*). Pepton yang diisolasi dari berbagai spesies ikan yang berbeda menunjukkan profil pertumbuhan yang baik daripada



pepeton komersial. Temuan ini dilaporkan dari (Saputra *et al.*, 2020), dan (Husin *et al.*, 2015) dapat disimpulkan bahwa ikan yang diekstraksi dari beberapa produk sampingan mampu mendukung kinerja pertumbuhan bakteri.

3.8 Enzym Alcalase

Alkalase sering dikenal sebagai enzim proteolitik yang sering digunakan secara komersial untuk menghasilkan hidrolisat protein dari limbah perikanan. (Muzaifa *et al.*, 2011) alkalase dihasilkan oleh *strain* selektif bakteri *Bacillus licheniformis*. Selain itu (Salwanee *et al.*, 2013) juga menyatakan bahwa komponen utama enzim alkalin ini berupa subtilisin A, yaitu endopeptidase yang dihasilkan dari *Bacillus licheniformis*. Keuntungan lain dari pemanfaatan alkalase sebagai enzim protease yang menghasilkan hidrolisat protein perikanan ialah memberikan efek hidrolisis yang lebih besar dengan sensasi pahit pada hidrolisat yang lebih sedikit (Salwanee *et al.*, 2013)

Sifat Enzim

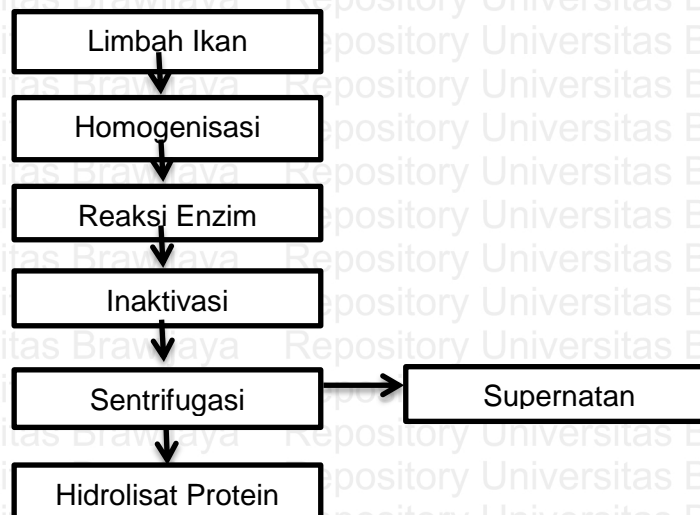
Alkalase merupakan enzim proteolitik yang mempunyai kemampuan bertahan atau bahkan lebih optimal beroperasi pada pH basa. Hal ini setara (Muzaifa *et al.*, 2011) bahwa pada limbah ikan perlakuan secara enzimatik ada pH 8. Berdasarkan penelitian (Salwanee *et al.*, 2013) menyebutkan alkalase termasuk enzim yang bersifat termostabil (50°C) dan memiliki pH optimal yang tinggi (8,5) sehingga mampu menurunkan aktivitas mikroba selama proses hidrolisis. Di sisi lain proses hidrolisis dapat terhambat dengan eksistensi mikroba yang terdapat pada sampel, apalagi sampel yang berasal dari limbah perikanan seperti isi perut atau jeroan yang menjadi sumber bakteri. Oleh karena itu proses hidrolisis biasanya dilakukan pada pH dan temperature yang cukup tinggi. Adapun penelitian (Yuniati *et al.*, 2015) juga menyebutkan bahwa alkalase termasuk protease yang bersifat halotoleran. Dengan sifat tersebut tentunya menjadikan alkalase lebih efektif jika dibandingkan dengan protease lainnya untuk menghasilkan hidrolisat protein ikan yang lebih berkualitas.



Salah satu alternatif dalam menghasilkan hidrolisat protein ikan yang dapat digunakan sebagai sumber karbon dan /atau nitrogen dalam pertumbuhan mikroba.

Tidak hanya ramah lingkungan tetapi dapat menghasilkan bahan baku yang lebih murah untuk formulasi media. Sehingga mengubah sumber daya menjadi bentuk yang dapat dijual dan dapat diterima. Salah satunya hidrolisat pepton. Hingga saat ini hidrolisis pepton terutama pada limbah ikan untuk pertumbuhan mikroba masih belum luas. (Klompong et al., 2012) juga menjelaskan bahwa hidrolisis protein ikan terdiri dari asam amino bebas dan peptida dengan berat molekul yang rendah sehingga menjadi sumber nitrogen yang baik untuk pertumbuhan mikroba berupa pepton ikan. Derajat hidrolisis dapat mempengaruhi panjang rantai peptida yang berdampak pada pemanfaatan oleh mikroorganismenya.

Dalam (Muzaifa et al., 2011) bahwa proses hidrolisat protein ikan umumnya sama seperti proses hidrolisat yang lain dimana dimulai dari persiapan bahan baku, penentuan pH, konsentrasi enzim, proses hidrolisis, inaktivasi enzim, sentrifugasi yang selanjutnya didapatkan padatan untuk dilakukan proses pengeringan. Hasil dari pengeringan ini dilakukan proses lanjutan. Alur hidrolisis enzim alcalase dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 6. Alur Hidrolisis Enzim Alcalase

Produksi hidrolisis enzimatis dari produk sampingan menimbulkan kendala yang berkenaan dengan efisiensi biaya. Produk sampingan yang terbuang saat ini



semakin meningkat sehingga membutuhkan manajemen yang tepat. Di sisi lain, produk sampingan ini dianggap bernilai pasar rendah pada dasarnya mempunyai kandungan protein tinggi guna proses hidrolisat. (Fallah et al., 2015) bahwa efisiensi hidrolisat sebagai sumber nitrogen pada bakteri *Staphylococcus aureus* dapat dibandingkan dengan komersil. Kandungan protein yang tinggi pada ikan mas perak 92,92 % dapat menjadi sumber yang efisien untuk produksi pepton sebagai sumber nitrogen media *Staphylococcus aureus*. Hasil yang didapat bahwa menunjukkan OD pada tiga medium berbeda dapat sebagai sumber nitrogen yang dapat menginduksi pertumbuhan bakteri yang secara signifikan meningkat dibandingkan komersil. (Safari et al., 2012) menjelaskan bahwa kaitannya pada enzim alcalase mengarah ada pengambilan optimal dari sumber asam amino karena aktivitas endoprotease. Hasil ini menyatakan produksi alcalase memiliki kinerja lebih baik dari pepton komersial sebagai media pertumbuhan bakteri.

Jenis enzim proteolitik berpengaruh pada kinerja pepton yang dihasilkan. Pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada limbah kepala dan jeroan ikan sarden (*sardina pilchardus*) dan makarel (*Rastrelliger kanagurta*) secara signifikan lebih tinggi dengan produksi pepton dengan enzim alcalase dibanding pepton lainnya. Sedangkan pada pertumbuhan *Staphylococcus cerevisiae* menunjukkan kinerja yang unggul dibanding pepton komersil. kinerja yang lebih baik dari pepton dibandingkan dengan komersil juga dilaporkan dalam penelitian (Safari et al., 2012) serta penyerapan tingkat hidrolisis yang tinggi pada pepton dari enzim alcalase akan mempercepat penyerapan pepton dari medium.

Sedangkan bakteri *Staphylococcus aureus* dapat tumbuh pada nilai absorbansi tertinggi dan tentunya mampu dijadikan sebagai nutrisi pada medium pertumbuhan bakteri. Menunjukkan kinerja yang unggul dalam pemanfaatan pepton dari berbagai produk sampingan perikanan. Disisi lain (Safari et al., 2012) tingkat hidrolisis yang tinggi pada pepton dari enzim alcalase akan mempercepat penyerapan pepton dari medium. Namun, dalam pembuatan pepton pada ikan mas



perak bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan tingkat pertumbuhan yang rendah. Kemungkinan terikat dengan perbedaan antara panjang rantai peptida dengan pepton yang diproduksi oleh enzim (Fallah et al., 2015)

3.9 Perbandingan Terbaik Enzim

Perlakuan hidrolisis berbeda didapatkan dari ke dua enzim papain dan alcalase. Dapat dilihat pada **Tabel 10**.

Tabel 10. Perbandingan Enzim Papain dan Alcalase

Enzim	pH	Hidrolisis	Inaktivasi Enzim	Pertumbuhan Mikrba	Referensi
Papain	pH 6-8	1-5 jam	85°C Selama 15 menit	<i>Staphylococcus aureus</i> setelah diamati dengan <i>Optical Density</i> (OD) Pepton komersil lebih tinggi daripada jeroan ikan tongkol	Srikandace et al., 2016 Nurhayati et al., 2013).
Alcalase	8-8,5	4 jam	90°C Selama 15 menit	<i>Staphylococcus aureus</i> setelah diamati dengan <i>Optical Density</i> (OD) secara signifikan lebih tinggi	(Muzaifa et al., 2011) dan (Fallah et al., 2015).

Pada umumnya enzim papain dalam peruntukannya lebih tahan terhadap proses suhu dan kisaran pH yang dilakukan luas serta kemurniannya lebih murni daripada enzim bromelin. Papain dalam hidrolisisnya memiliki stabilitas terhadap panas pada pH netral dan beberapa pelarut organik (Utomo et al., 2014). Hal ini setara dengan (Dede Saputra & Nurhayati, 2014) bahwa dalam hidrolisis ikan selar menggunakan pH 7. Perlakuan ini sebanding dengan (Srikandace et al., 2016) menjelaskan penggunaan pH pada ikan kerong anatar pH 6-8. Sedangkan enzim alkalase termasuk enzim proteolitik yang mampu bertahan pada pH basa. Kemampuan ini dalam proses hidrolisis tentunya menggunakan pH 8-8,5. Perlakuan ini sebanding dengan (Muzaifa et al., 2011) dan (Fallah et al., 2015).



Enzim papain lebih aktif bekerja pada protein nabati dan relatif tahan terhadap suhu (Irawati et al., 2015). Inkubasi pada sampel jeroan ikan tongkol pada suhu hidrolisis 60°C selama 1-5 jam yang dilakukan oleh (Nurhayati et al., 2013). D (Muzaifa et al., 2011) dalam proses hidrolisis pada limbah ikan dengan enzim *alcalase* dilakukan pada suhu 55°C selama 4 jam. namun berbeda halnya dengan (Safari et al., 2011) bahwa tingkat hidrolisis yang tinggi akan mempercepat penyerapan pepton dari media. Berikut berdasarkan (Husin et al., 2015) perlakuan hidrolisis enzim *alcalase* pada suhu 85°C dan dilakukan juga oleh (Safari et al., 2011) dengan perlakuan suhu yang sama.

Proses hidrolisis enzimatis papain dihentikan untuk proses inaktivasi enzim umum pada suhu 85°C selama 15 menit dan umum digunakan pada penelitian (Nurhayati et al., 2013) pada tahun berikutnya dan penggunaan suhu dan waktu proses ini banyak diterapkan oleh dan menjadi acuan para peneliti untuk aktivasi enzim papain. Tahap inaktivasi enzim menggunakan pada suhu 90°C selama 15 menit pada enzim *alcalase* (Muzaifa et al., 2011). Namun pada (Fallah et al., 2015) dan (Husin et al., 2015) penggunaan suhu lebih tinggi dan waktu yang lebih lama sebesar 95°C selama 20 menit.

Bakteri secara signifikan lebih tinggi dari beberapa enzim *Alcalase* yang diujikan pada *Staphylococcus aureus* setelah diamati dengan *Optical Density* (OD) (Fallah et al., 2015). Bahwa *alcalase* menghasilkan peptida pendek yang tinggi. Sehingga tingkat pertumbuhan bakteri menjadi lebih baik daripada pepton komersil. Hal ini sependapat dengan (Safari et al., 2011) dalam sebuah pertumbuhan dengan tiga medium yang berbeda *L. plantarum*, *L. Bulgaricus* dan *L. sakei* dan jumlah pepton yang sama dimana medium yang mengandung pepton *alcalase* sebagai sumber nitrogen dapat menginduksi pertumbuhan bakteri yang secara signifikan lebih tinggi dan perbedaan yang jelas dalam kinerja pertumbuhan bakteri dibandingkan dengan media standar.



BAB 4 PENUTUP

4.1 Kesimpulan

Review artikel ini membahas tentang hidrolisat pepton berbahan dasar ikan lele dan beberapa jurnal sebagai pembandingan dan penguat. Berdasarkan pada literatur bahwa ikan memiliki asam amino nitrogen yang penting sebagai pertumbuhan bakteri. Faktor penentu dalam prosesnya yaitu hidrolisat protein pepton ikan secara enzimatik yaitu temperatur, derajat keasaman (pH), konsentrasi enzim dan substrat. Namun, pemanfaatan hidrolisat pepton ikan belum meluas dilakukan sehingga, penelitian tentang pepton di Indonesia masih sebatas pengujian. Sedangkan pepton ikan memiliki karakteristik yang dapat menggantikan pepton komersil. Penelitian lebih lanjut tentang pepton ikan dari hasil tangkapan sampingan (HTS) dan limbah ikan sebagai bahan baku pepton yang aman dan halal perlu dilakukan lebih luas.



DAFTAR PUSTAKA

- Abdulazeez, S. S., Ramamoorthy, B., & Ponnusamy, P. (2013). Proximate Analysis and Production of Protein Hydrolysate from King Fish of Arabian Gulf Coast-Saudi Arabia. *International Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 3(1), 138–144.
- Alpay, P., & Uygun, D. A. (2015). Usage of immobilized papain for enzymatic hydrolysis of proteins. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 111, 56–63. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2014.11.001>
- Andualem, B., & Gessesse, A. (2013). Production of microbial medium from defatted brebra (*Milletia ferruginea*) seed flour to substitute commercial peptone agar. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(10), 790–797. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60157-4](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60157-4)
- Annisa, S., Darmanto, Y. S., & Amalia, U. (2017). PENGARUH PERBEDAAN SPESIES IKAN TERHADAP HIDROLISAT PROTEIN IKAN DENGAN PENAMBAHAN ENZIM PAPAN (The Effect of Various Fish Species On Fish Protein Hydrolysate With The Addition of Papain Enzyme). *SAINTEK PERIKANAN: Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, 13(1), 24. <https://doi.org/10.14710/ijfst.13.1.24-30>
- Atma, Y. (2016). *Pemanfaatan Limbah Ikan Sebagai Sumber Alternatif Produksi Gelatin Dan Peptida Bioaktif: Review*. November 2016, 1–6.
- Barokah, G. R., Ibrahim, B., & Nurhayati, T. (2017). Characterization Microencapsul Pepton from Spoiled By Catch Fish Using Spray Drying Methods. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 401. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i2.18108>
- Budijanto, S., Sukarno, S., Kusbiantoro, B., & Sitanggang, A. B. (2010). *Inaktivasi*



Enzim Lipase Untuk Stabilisasi bekatul Sebagai Bahan Ingredient Pangan Fungsional. November.

Chalamaiah, M., Hemalatha, R., Jyothirmayi, T., Diwan, P. V., Uday Kumar, P., Nimgulkar, C., & Dinesh Kumar, B. (2014). Immunomodulatory effects of protein hydrolysates from rohu (*Labeo rohita*) egg (roe) in BALB/c mice. *Food Research International*, 62, 1054–1061. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.05.050>

Fallah, M., Bahram, S., & Javadian, S. R. (2015). Fish peptone development using enzymatic hydrolysis of silver carp by-products as a nitrogen source in staphylococcus aureus media. *Food Science and Nutrition*, 3(2), 153–157. <https://doi.org/10.1002/fsn3.198>

Fausiah, A., & Al Buqori, I. P. (2019). Karakteristik Kualitas Kimia Daging Sapi Bali Di Pasar Tradisional. *AGROVITAL: Jurnal Ilmu Pertanian*, 3(1), 8. <https://doi.org/10.35329/agrovital.v3i1.213>

Halim, N. R. A., Yusof, H. M., & Sarbon, N. M. (2016). Functional and bioactive properties of fish protein hydrolysates and peptides: A comprehensive review. *Trends in Food Science and Technology*, 51, 24–33. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.02.007>

Harahap, F. (2012). Fisiologi Tumbuhan: Suatu Pengantar. *Universitas Stuttgart*, 1–54.

Haslaniza, H., Maskat, M. Y., Wan Aida, W. M., & Mamot, S. (2010). The effects of enzyme concentration, temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water. *International Food Research Journal*, 17(1), 147–152.

Husin, N., Mazlina, S., Kamal, M., Chuan, L. T., Muhammad, N. F., & Jusoh, B. (2015). *Comparison of Microbial Growth on Fish Waste Peptones from*



Different Hydrolysis Methods. 81(Icбет), 54–57.

Irawati, Diana Rachmawati*, P., & Program. (2015). *PERFORMA PERTUMBUHAN BENIH IKAN NILA HITAM (Oreochromis niloticus Bleeker) MELALUI PENAMBAHAN ENZIM PAPAN DALAM PAKAN BUATAN*. 4(1), 1–9.

Juariyah, S., & Sari, W. P. (2018). Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan Bacillus sp. *Jurnal Analisis Kesehatan Klinikal Sains*, 6(1), 24–29. <http://jurnal.univrab.ac.id/index.php/klinikal/article/view/527>

Khalil. (2012). *Protein characterization of the aqueous soluble phase of acidified and autolyzed boliti fish (Tilapia nilotica) viscera*. (pp. 1–12). <https://doi.org/DOI:10.3923/ajbkr.2012>.

Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D., & Shahidi, F. (2012). Use of Protein Hydrolysate from Yellow Stripe Trevally (*Selaroides leptolepis*) as Microbial Media. *Food and Bioprocess Technology*, 5(4), 1317–1327. <https://doi.org/10.1007/s11947-010-0402-9>

Kosasih, W., Ratnaningrum, D., Endah, E. S., Pudjiraharti, S., & Priatni, S. (2018). Scaling up process for fish peptone production. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 160(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/160/1/012007>

Laoli B, Sukirno, E. (2015). *EKSTRAKSI PEPTON DARI LIMBAH PENGOLAHAN IKAN CUNANG (CONGRESOX TALABON) SEBAGAI NUTRISI PADA MEDIUM PERTUMBUHAN MIKROORGANISME*. 1–12.

Listyarini. (2016). PERBANDINGAN KANDUNGAN ZAT GIZI IKAN MUJAIR *Oreochormis mossambica* DANAU UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASASAR DAN IKAN DANAU MAWANG GOWA COMPARISON OF NUTRIEN SUBSTANCES OF TILAPIA FISH *Fish Oreochromis mossambicus* FROM HASANUDDIN LAKE, MAK. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, 1(1), 1–7.



Listyarini, S., Asriani, A., & Santoso, J. (2018). KONSENTRAT PROTEIN IKAN LELE DUMBO (*Clarias Gariepenus*) AFKIR DALAM KERUPUK MELARAT UNTUK MENCAPAI SUSTAINABLE DEVELOPMENT GOALS. *Jurnal Matematika Sains Dan Teknologi*, 19(2), 106–113.
<https://doi.org/10.33830/jmst.v19i2.113.2018>

Mardaningsih, M.A.M. Andriani, K. (2012). PENGARUH KONSENTRASI ETANOL DAN SUHU SPRAY DRYER TERHADAP KARAKTERISTIK BUBUK KLOROFIL DAUN ALFALFA (*Medicago sativa* L.) DENGAN MENGGUNAKAN BINDER MALTODEKSTRIN. *Jurnal Teknosains Pangan*, 1(1).

Muzaifa Murna, Fahrizal, N. S. (2011). PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF FISH PROTEIN HYDROLYSATES PREPARED FROM FISH BY-PRODUCT USING ALCALASE AND FLAVOURZYME ENZYME. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi*, 3(2), 5–8. <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>

Nay, F., & Agustini, R. (2013). *the Addition Effect of the Metal Ion K + on the*. 2(2), 29–34.

Nemati, M., Javadian, S. R., Ovissipour, M., & Keshavarz, M. (2012). A study on the properties of *Alosa (Alosa caspia)* by-products protein hydrolysates using commercial enzymes. *World Applied Sciences Journal*, 18(7), 950–956.
<https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2012.18.07.1092>

Nurhayati, T., Ibrahim, B., Suptijah, P., Salamah, E., & Fitra, RN dan Astuti, E. (2015). KARAKTERISASI PEPTON IKAN HASIL TANGKAP SAMPINGAN TIDAK LAYAK KONSUMSI SEBAGAI SUMBER NUTRIEN PERTUMBUHAN MIKROORGANISME. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 25(1), 68–77.

Nurhayati, T., Desniar, & Suhandana, M. (2013). Enzymatically Produced Peptone using Little Tuna Viscera. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan*, 16(1), 1–11.

Nurhayati, T., & Sanapi, C. H. (2014). KARAKTERISASI HIDROLISAT PROTEIN



IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(3). <https://doi.org/10.17844/jphpi.v16i3.8058>

Nurhayati, T., & Suhandana, M. (2013). *MENGGUNAKAN BAHAN BAKU JEROAN IKAN Enzymatically Produced Peptone using Little Tuna Viscera*. 16.

Pantaya, D., Pamungkas, D., DU, M. M., Wulandari, S., & Febri, A. (2018). *Optimasi Produksi Pepton Dari Bungkil Kedelai Untuk Media Produksi Yeast. Jurusan Pertenakan, Politeknik Negeri Jember*, 85–88.

Priatni, S. (2016). Production of peptone from boso fish (*Oxyeleotris marmorata*) for bacterial growth medium. *Journal of Physics: Conference Series*, 755(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/755/1/011001>

Risnawati, M. (2013). PENGARUH PENAMBAHAN ION LOGAM Ca²⁺ TERHADAP AKTIVITAS ENZIM PAPAN (THE ADDITION EFFECT OF THE METAL IONS Ca²⁺ ON THE PAPAN ACTIVITIES). *UNESA Journal of Chemistry*, 2(1), 76–83.

Rosmawati, T. (2013). Lama perebusan terhadap kandungan protein pada kerang darah (*Anadara granosa*). *Jurnal Biology Science & Education*, 2(2), 103–109.

Safari, R., Motamedzadegan, A., Ovissipour, M., Regenstein, J. M., Gildberg, A., & Rasco, B. (2012). Use of Hydrolysates from Yellowfin Tuna (*Thunnus albacares*) Heads as a Complex Nitrogen Source for Lactic Acid Bacteria. *Food and Bioprocess Technology*, 5(1), 73–79. <https://doi.org/10.1007/s11947-009-0225-8>

Safari, R., Nasrollahzadeh Saravi, H., Pourgholam, R., Motalebi, A. A., & Ghoroghi, A. (2011). Use of hydrolysates from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) head as peptone for vibrio anguillarum and optimization using response surface method (RSM). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 20(2), 247–257. <https://doi.org/10.1080/10498850.2011.562064>



Salamah, E., Nurhayati, T., & Widadi, I. R. (2012). *PEMBUATAN DAN KARAKTERISASI HIDROLISAT PROTEIN DARI IKAN LELE DUMBO (Clarias gariepinus) MENGGUNAKAN ENZIM PAPAN.* 15(1).
<https://doi.org/10.17844/jphpi.v15i1.5328>

Salwane, S., Wan Aida, M., Mamot, S., Maskat, M. Y., & Ibrahim, S. (2013). Effects of Enzyme Concentration, Temperature, pH and Time on the Degree of Hydrolysis of Protein Extract from Viscera of Tuna (*Euthynnus affinis*) by Using Alcalase (Kesan Kepekatan Enzim, Suhu, pH dan Masa ke atas Darjah Hidrolisis Ekstrak Protein daripad. *Sains Malaysiana*, 42(3), 279–287.
http://www.ukm.my/jsm/pdf_files/SM-PDF-42-3-2013/03 S. Salwane.pdf

Saputra, D., Nurhayati, T., & Purwaningsih, S. (2020). End post-rigour phase yellowstripe scad fish (*Caranx leptolepis*) peptones and its application for bacteria's growth media. *Food Research*, 4(2), 413–420.
[https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(2\).210](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(2).210)

Saputra, Dede, & Nurhayati, T. (2014). Produksi Dan Aplikasi Pepton Ikan Selar Untuk Media Pertumbuhan Bakteri. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(3), 215–223. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v16i3.8059>

Seniman, Yusop, S. M. &, & Babji, A. S. (2014). Biochemical Properties and Proximate Composition of Catfish Enzymatic Protein Hydrolysates Made Using Subtilisin. *International Journal of Technical Research and Applications*, 2(2), 15–19. www.ijtra.com

Setijawati, D., Jaziri, A. A., Yufidasari, H. S., Pratomo, M. D., Wardani, D. W., Eryah, D., & Huda, N. (2020). Characteristics and Use of Peptones from Catfish (*Clarias gariepinus*) and Pangas Catfish (*Pangasius pangasius*) Heads as Bacterial Growth Media. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 15(1), 19.



<https://doi.org/10.15578/squalen.v15i1.437>

Shirahigue, L. D., Ribeiro, I. S., Sucasas, L. F. de A., Anbe, L., Vaz-Pires, P., & Oetterer, M. (2018). Peptones in Silage from Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Cobia (*Rachycentron canadum*) Waste as a Culture Medium for Bioprocesses. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 27(6), 712–721. <https://doi.org/10.1080/10498850.2018.1484830>

Simanjorang, E., Kurniawati, N., & Hasan, Z. (2012). PENGARUH PENGGUNAAN ENZIM PAPAIN DENGAN KONSENTRASI YANG BERBEDA TERHADAP KARAKTERISTIK KIMIA KECAP TUTUT Eviyanti. *Jurnal Perikanan Dan Kelautan*, 3(4), 209–220.

Srikandace, S Priatni,; S Pudjiraharti, W Kosasih, L. I. . (2016). Kerong fish (Terapon jarbua) peptone production using papain enzyme as nitrogen source in bacterial media. *Journal of Physics: Conference Series*, 755(1). <https://doi.org/10.1088/1742-6596/755/1/011001>

Sumarlin, L. O., Nurbayti, S., & Fauziah, S. (2012). Penghambatan Enzim Pemecah Protein (Enzim Papain) Oleh Ekstrak Rokok, Minuman Beralkohol Dan Kopi Secara In Vitro. *Jurnal Kimia VALENSI*, 2(3). <https://doi.org/10.15408/jkv.v2i3.116>

Utomo, B. S. B., Suryanigrum, T. D., & Harianto, H. R. (2014). Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Fish Protein Hydrolysate (Fph) Processing From Waste of Catfish Fillet Production. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 9(3), 115. <https://doi.org/10.15578/squalen.v9i3.79>

Widiyanto. (2018). ANALISISS KOMPOSISI KIMIA TEPUNG KEPALA IKAN LELE DUMBO (Clarias. *Mathematics Education Journal*, 1(1), 75. <https://doi.org/10.29333/aje.2019.423a>



Witono, Y., Windrati, W. S., Taruna, I., Masahid, A. D., & Dardiri, A. B. (2017). Profil Flavor Enhancer Hasil Hidrolisis Enzimatis Ikan Bernilai Ekonomi Rendah Dalam Penggunaannya Sebagai Ingredien Pada Makanan. *Jurnal Agroteknologi*, 11(1), 69. <https://doi.org/10.19184/j-agt.v11i1.5449>

Yulma, Y., Ihsan, B., Sunarti, S., Malasari, E., Wahyuni, N., & Mursyban, M. (2017). Identifikasi Bakteri Pada Serasah Daun Mangrove yang Terdekomposisi di Kawasan Konservasi Mangrove dan Bekantan (KKMB) Kota Tarakan. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 2(1), 28. <https://doi.org/10.22146/jtbb.27173>

Yuniati R, Titania T, Nugroho, F. P. (2015). Uji AKTIVITAS ENZIM PROTEASE DARI ISOLAT *Bacillus* sp. GALUR LOKAL RIAU. *JOM FMIPA*, 1(2). <http://repositorio.unan.edu.ni/2986/1/5624.pdf>

Zusfahair, Dian Riana Ningsih, F. N. H. (2014). KARAKTERISASI PAPAIN DARI DAUN PEPAYA (*Carica Papaya* L.). 9(1), 44–55.