

**Uji Hidrolisis Protein Dan Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Nila
(*Oreochromis niloticus*)**

*Protein Hydrolysis Test and Antioxidant Activity of Nile Tilapia Fish Protein Hydrolysate
(*Oreochromis Niloticus*)*

¹Maruba Pandiangan, ²Dewi Restuana Sihombing, ³Sanggam Dera Rosa Tampubolon,
⁴Yuni Enzelita Sidebang

^{1,2,3,4}Prodi Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Katolik Santo Thomas, Medan
email: maruba.pandiangan@gmail.com

ABSTRACT

*The purpose of this study was to obtain information about protein hydrolysis and antioxidant activity test of nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) using papain enzyme. Hydrolysis was carried out using variations in papain enzyme concentration (3%, 5%, 7%) and hydrolysis time (2 hours, 4 hours, and 6 hours). This study was conducted at the Food Processing Laboratory of Agricultural Product Technology Study Program, Santo Thomas Catholic University, Medan. From the results of the study, the highest protein content was obtained in the E₃L₃ treatment of 60.07%, water content of 12.13%, ash content of 5.33%, organoleptic value of aroma 6.73%, color 6.60%, texture 6.70%. The antioxidant activity of nile tilapia protein hydrolysate was 99.81% with a very good category where IC₅₀ was less than 0.05 mg/mL (50-100). The results of the amino acid composition analysis found the content of essential amino acids, namely threonine, methionine, valine, isoleucine, leucine and lysine. To obtain the best nile tilapia protein hydrolysate by hydrolysis using 5% papain enzyme and 6 hours of hydrolysis time where the highest protein content was obtained.*

Keywords: *hydrolysis, protein hydrolysate, antioxidant activity, nile tilapia, papain enzyme.*

ABSTRAK

Tujuan penelitian untuk memperoleh informasi tentang hidrolisis protein dan uji aktivitas antioksidan dari ikan nila (*Oreochromis niloticus*) menggunakan enzim papain. Hidrolisis dilakukan dengan menggunakan variasi konsentrasi enzim papain (3 %, 5%, 7%) dan lama hidrolisis (2 jam, 4 jam, dan 6 jam). Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Pengolahan Pangan Program Studi Teknologi Hasil Pertanian Universitas Katolik Santo Thomas Medan. Dari hasil penelitian kadar protein tertinggi diperoleh pada perlakuan E₃L₃ sebesar 60,07%, kadar air 12,13%, kadar abu 5,33%, nilai organoleptik aroma 6,73%, warna 6,60%, tekstur 6,70%. Aktivitas antioksidan hidrolisat protein ikan nila sebesar 99,81% dengan kategori sangat baik dimana IC₅₀ kurang dari 0,05 mg/mL (50-100). Hasil analisis komposisi asam amino ditemukan kandungan asam amino esensial yaitu threonin, methionin, valin, ileusin, leusin dan lisin. Untuk memperoleh hidrolisat protein ikan nila yang terbaik dengan hidrolisis menggunakan enzim papain 5% dan lama hidrolisis 6 jam dimana diperoleh kadar protein tertinggi.

Kata kunci: *hidrolisis, hidrolisat protein, aktivitas antioksidan, ikan nila, enzim papain.*

PENDAHULUAN

Ikan nila (*Oreochromis niloticus*) merupakan salah satu jenis ikan konsumsi air tawar yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Ikan nila digemari oleh masyarakat luas karena rasa dagingnya yang gurih dan lezat. Ikan nila memiliki kandungan gizi lebih baik dibandingkan dengan ikan air tawar yang lain. Kandungan gizi pada ikan nila yakni protein sebesar 43,76%, lemak 7,01%, kadar abu 6,80% dan air 4,28% dalam 100 g berat ikan (Ririhena and Palinussa, 2021; Simanullang *et al.*, 2023).

Secara umum protein terdiri dari berbagai macam asam amino yang berikatan secara kovalen satu dengan yang lainnya dan membentuk rantai polipeptida. Berdasarkan struktur protein digolongkan sebagai protein primer, sekunder, tersier dan kuantener yang digolongkan lebih lanjut dan disebut sebagai protein sederhana. Protein sederhana ialah yang terdiri dari molekul-molekul asam amino dan protein gabungan merupakan protein yang berkaitan dengan senyawa bukan protein yaitu mukoprotein, lipoprotein dan nucleoprotein (Sanvictores and Farci, 2022).

Protein dapat dibedakan dan dimurnikan berdasarkan berat molekul, muatan dan afinitas elektronnya. metode yang digunakan dalam pemisahannya disebut elektroforesis yang digunakan untuk menentukan berat molekul protein (BM). Kerusakan dan kemurnian dapat dideteksi dari protein atau asam nukleat serta penetapan titik isoelektrik protein (Stollar and Smith, 2021; Yuswadinata dan Wathoni, 2021; Sakuma *et al.*, 2021).

Pemanfaatan lain dari ikan nila yang memiliki nilai tambah salah satunya adalah hidrolisat protein ikan nila. Pembuatan hidrolisat protein ikan nila merupakan salah satu alternatif dalam pemanfaatan ikan nila dan diharapkan dapat meningkatkan nilai tambah dari daging ikan nila tersebut (Shamloo *et al.* 2022).

Hidrolisis protein menggunakan enzim merupakan cara yang efisien karena dapat menghasilkan hidrolisat protein yang terhindar dari kerusakan asam amino tertentu, seperti tryptophan dan glutamin. Hidrolisat menggunakan enzim berlangsung secara spesifik, maka proses hidrolisis secara ekstensif mampu mempengaruhi pembentukan peptida dan asam amino. Melalui proses hidrolisis diharapkan terjadi proses modifikasi karakteristik fungsional protein untuk meningkatkan kualitas protein (Sholahuddin and Prayoga, 2023; Pandiangan *et al.*, 2024; Ng *et al.*, 2024).

Aktivitas enzim papain cukup spesifik karena papain hanya dapat mengkatalisa proses hidrolisat dengan baik pada kondisi pH serta suhu dalam kisaran waktu tertentu. Daya memecahkan molekul protein yang dimiliki papain dapat ditingkatkan lebih jauh menjadi hidrolisis protein. Hal ini sering digunakan pada pembuatan pepton dan asam-asam amino (Veymar *et al.*, 2021; Yuanyuan *et al.*, 2023).

Hidrolisat protein ikan juga memiliki aktivitas antioksidan yang bermanfaat untuk mencegah ketengikan pada makanan. Aktivitas antioksidan sangat erat kaitannya dengan ikatan peptide yang terdapat pada protein serta asam amino yang terkandung di dalamnya. Enzim papain diketahui berperan dalam menghidrolisis protein ikan nila sehingga diperoleh aktivitas antioksidan hidrolisat protein ikan yang tinggi (Agustin *et al.*, 2023; Ng *et al.*, 2024). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terhadap perbedaan kombinasi konsentrasi enzim papain untuk menghasilkan hidrolisat protein ikan nila dan kemampuannya sebagai antioksidan

METODE PENELITIAN

Bahan penelitian adalah ikan nila yang diperoleh dari pajak melati Kota Medan. Reagensia yang digunakan aquades, aquabiades, HCl, NaOH, K₂SO₄, HgO, asam sulfat pekat, H₃BO₃, NaOH-Na₂S₂O₃, DPPH, metanol. Peralatan yang digunakan diantaranya chopper, sentrifugasi, homogenizer, timbangan digital, kjeldahl apparatus, saringan, oven pengering, muffle furnace (tanur pembakaran),

spektrofotometer UV-Visible, HPLC (high performance liquid chromatography) dan alat-alat gelas.

Metode hidrolisis protein ikan nila dengan rancangan acak lengkap (RAL), yang terdiri dari dua faktor. Faktor pertama adalah konsentrasi enzim papain (E) terdiri dari 3 taraf yaitu: $E_1 = 1\%$, $E_2 = 3\%$, $E_3 = 5\%$. Faktor kedua adalah lama hidrolisis (L) terdiri dari 3 taraf yaitu: $L_1 = 2$ jam, $L_2 = 4$ jam, $L_3 = 6$ jam.

Daging ikan nila yang sudah dihaluskan ditambahkan enzim papain sesuai konsentrasi perlakuan, dan dilakukan hidrolisis pada suhu 55°C dengan lama hidrolisis sesuai perlakuan. Selanjutnya hidrolisat protein ikan disaring hingga menghasilkan supernatant dan residu. Supernatant yang diperoleh dikeringkan dengan menggunakan oven sehingga didapatkan hidrolisat protein ikan nila berbentuk kering selanjutnya dilakukan analisa yaitu kadar protein (AOAC, 2016), kadar air (AOAC, 2016), kadar abu (AOAC, 2016), aktivitas antioksidan metode DPPH (Sayuti, 2015), komposisi asam amino (Jurgen, 2017), dan uji organoleptik (Garnida, 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian dapat diketahui bahwa perlakuan konsentrasi enzim papain pada hidrolisis protein ikan nila memberi pengaruh terhadap setiap parameter hidrolisat protein ikan nila yang dihasilkan seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain terhadap Parameter Konsentrat Protein Ikan Nila

Perlakuan	Kadar Protein (%)	Kadar Air (%)	Kadar Abu (%)	Nilai Organoleptik		
				Aroma	Warna	Tekstur
E_1	39,73	11,50	4,63	3,37	3,27	3,30
E_2	50,43	11,80	5,00	3,55	3,43	3,50
E_3	60,07	12,13	5,33	3,73	3,60	3,70

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim papain pada hidrolisis protein ikan nila maka kadar protein, kadar air, kadar abu dan nilai organoleptik semakin meningkat. Kadar protein konsentrat

protein ikan nila tertinggi terdapat pada perlakuan E_3 sebesar 60,07% dan terendah pada perlakuan E_1 sebesar 39,73%. Protein merupakan makromolekul yang terbentuk dari asam-asam amino yang berikatan peptide (LaPelusa and Kaushik, 2022). Konsentrasi enzim papain yang semakin meningkat dalam proses hidrolisis akan menyebabkan peningkatan kandungan nitrogen terlarut dalam hidrolisat protein ikan (Fadilah *et al.*, 2021; Nasution and Laila, 2024).

Kadar air konsentrat protein ikan nila tertinggi terdapat pada perlakuan E_3 sebesar 12,13% dan terendah pada perlakuan E_1 sebesar 11,50%. Kadar air merupakan salah satu parameter yang penting untuk menentukan kualitas suatu bahan pangan. Mekanisme denaturasi protein terjadi ketika ikatan polipeptida suatu protein berubah, akhirnya air terikat di dalam protein menjadi terlepas. Terlepasnya air dari dalam bahan akan membuat kadar air bahan menjadi semakin rendah (Andiati *et al.*, 2022).

Kadar abu tertinggi terdapat pada perlakuan E_3 sebesar 5,33% dan terendah pada perlakuan E_1 sebesar 4,63%. Kadar abu suatu bahan pangan menunjukkan besarnya jumlah mineral yang terkandung dalam bahan tersebut. Penentuan kadar abu total sangat berguna sebagai parameter nilai gizi suatu bahan makanan. Banyaknya kadar abu dipengaruhi oleh ukuran ikan serta rasio daging dan tulang (Boronat *et al.*, 2023).

Nilai organoleptik aroma tertinggi terdapat pada perlakuan E_3 sebesar 3,73% dan terendah pada perlakuan E_1 sebesar 3,37%. Hal ini diduga semakin tinggi konsentrasi enzim maka semakin banyak substrat yang dapat berhubungan dengan bagian aktif enzim papain sehingga kecepatan reaksi semakin besar dan jumlah hasil reaksinya semakin bertambah (Simangunsong *et al.*, 2025). Nilai organoleptik warna tertinggi terdapat pada perlakuan E_3 sebesar 3,60% dan terendah pada perlakuan E_1 sebesar 3,27%. Semakin tinggi jumlah enzim papain mempengaruhi warna hidrolisat protein dimana reaksi oksidasi lemak yang mengakibatkan reaksi pencoklatan non

enzimatis semakin menurun (Knežević-Jugović *et al.*, 2023).

Nilai organoleptik tekstur tertinggi terdapat pada perlakuan E₃ sebesar 3,70% dan terendah pada perlakuan E₁ sebesar 3,30%. Bertambahnya konsentrasi enzim maka kecepatan reaksi hidrolisis pun semakin meningkat. Protein yang terkandung dalam otot ikan akan mengalami perubahan komposisi besar-besaran selama proses hidrolisis yang menyebabkan penurunan kemampuan menahan air. Keadaan ini menyebabkan volume daging ikan menyusut. Berkurangnya air akan menghasilkan tekstur hidrolisat yang semakin keras (Alviodynasari *et al.*, 2019; Ryu *et al.*, 2021; Kudryashov and Kudryashova, 2023).

Lama hidrolisis berpengaruh terhadap hidrolisat protein ikan nila yang dihasilkan. Pengaruh perlakuan lama hidrolisis terhadap setiap parameter hidrolisat protein ikan nila seperti terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Lama Hidrolisis terhadap Parameter Hidrolisat Protein Ikan Nila

Perlakuan	Kadar Protein (%)	Kadar Air (%)	Kadar Abu (%)	Nilai Organoleptik		
				Aroma	Warna	Tekstur
L ₁	19,87	5,75	2,32	3,18	3,13	3,15
L ₂	25,22	5,90	2,50	3,28	3,22	3,25
L ₃	30,03	6,07	2,67	3,39	3,30	3,35

Dari Tabel 2 menunjukkan bahwa semakin semakin lama hidrolisis maka kadar protein, kadar air, kadar abu dan nilai organoleptik semakin meningkat. Kadar Protein tertinggi terdapat pada perlakuan L₃ sebesar 30,03% dan terendah pada perlakuan L₁ sebesar 19,87%.

Semakin lama hidrolisis maka kadar protein hidrolisat semakin meningkat. Hal ini disebabkan selama hidrolisis akan semakin banyak protein yang terhidrolisis dari dalam daging ikan nila. Protein dapat larut air serta dapat terkoagulasi oleh panas, sehingga semakin banyak protein yang larut akan meningkatkan kadar protein hidrolisat (Berlian *et al.*, 2023; Kardinan *et al.*, 2024)

Kadar air tertinggi terdapat pada

perlakuan L₃ sebesar 6,07% dan terendah pada perlakuan L₁ sebesar 5,75%. Air berperan sebagai tempat terjadinya reaksi kimia dan merupakan pereaksi utama dalam reaksi hidrolisis. Sebagian besar air akan menguap ketika mengalami kontak dengan panas saat proses pengeringan berlangsung, sehingga kadar air yang terkandung dalam bahan pangan juga akan menurun (Nyabadza *et al.*, 2023).

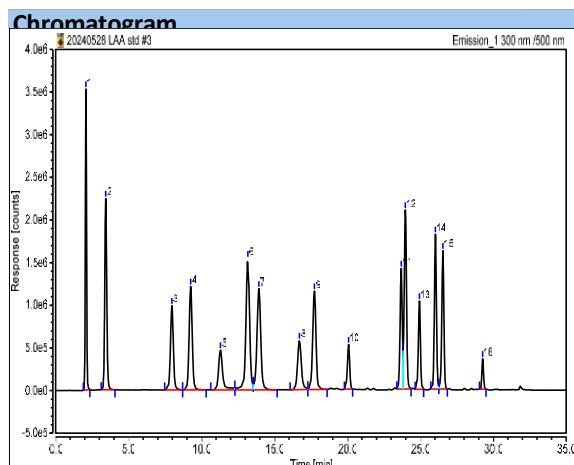
Kadar abu tertinggi terdapat pada perlakuan L₃ sebesar 2,67% dan terendah pada perlakuan L₁ sebesar 2,32%. Nilai organoleptik aroma ikan nila tertinggi terdapat pada perlakuan L₁ sebesar 3,39% dan terendah pada perlakuan L₃ sebesar 3,1%. Semakin tinggi konsentrasi enzim papain dan semakin lama waktu hidrolisis maka semakin meningkat nilai atau angka yang dominan terhadap aroma hidrolisat ikan (Putra *et al.* 2020; Agustin *et al.*, 2023).

Nilai organoleptik warna ikan nila tertinggi terdapat pada perlakuan L₂ sebesar 3,30% dan terendah pada perlakuan L₁ sebesar 3,13%. Berdasarkan warna hidrolisat dari ikan berwarna kuning kecoklatan. Semakin lama waktu hidrolisis maka warna hidrolisat protein akan menghasilkan warna keruh cenderung coklat kehitaman (Kiettiolarn *et al.*, 2022; Mponda and Kim, 2023).

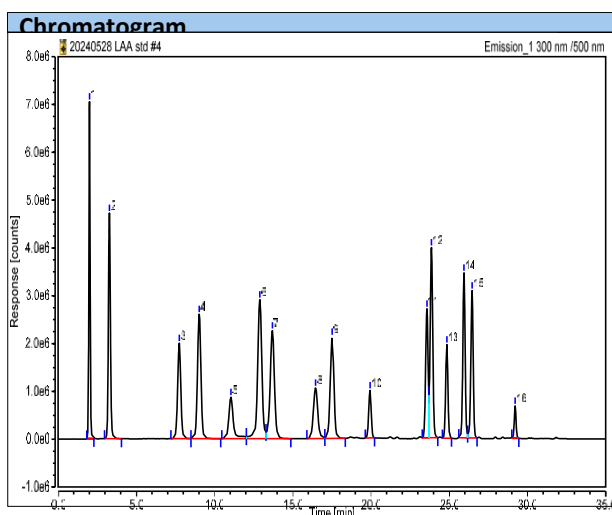
Nilai organoleptik tekstur ikan nila tertinggi terdapat pada perlakuan L₃ sebesar 3,35% dan terendah pada perlakuan L₁ sebesar 3,15%. Hidrolisat protein ikan nila memiliki tekstur agak sedikit halus atau tepung. Tektur pada produk dipengaruhi oleh perbedaan suhu dan lama waktu pengeringan serta ketebalan hidrolisat yang dikeringkan di dalam oven (Wang *et al.*, 2022).

Komposisi Asam Amino Hidrolisat Protein Ikan Nila

Dari hasil uji komposisi asam amino menggunakan alat HPLC (*high performance liquid chromatography*) diperoleh kromatogram asam amino hidrolisat protein ikan nila pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Ikan Nila 1



Gambar 2. Kromatogram Asam Amino Hidrolisat Protein Ikan Nila 2

Komposisi asam amino hasil hidrolisat protein ikan nila dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi Asam Amino Hidrolisat Protein Ikan Nila

Jenis Asam Amino	Ulangan 1	Ulangan 2	Rataan (%)
Asam Amino Semi Essensial			
Histidin	7,10	7,20	7,15
Arginin	7,00	7,10	7,05
Asparagin	6,10	6,20	6,15
Asam Amino Essensial			
Threonin	8,90	9,00	8,95

Methionin	6,10	6,30	6,20
Valin	9,30	9,50	9,40
Phenylalanin	4,30	4,50	4,40
Ileusin	7,70	7,60	7,65
Leusin	6,80	6,70	6,75
Lysin	1,30	1,50	1,40
Asam Amino Non Essensial			
Aspartat	12,20	12,30	12,25
Glutamat	9,70	9,50	9,60
Serin	6,40	6,50	6,45
Glisin	2,80	3,00	2,90
Alanin	6,30	6,50	6,40
Tyrosin	2,30	2,50	2,40

Hasil analisis asam amino menunjukkan bahwa hidrolisat protein ikan nila mengandung 16 jenis asam amino. Terdapat 7 asam amino esensial, 3 asam amino semi esensial, dan 6 asam amino non esensial. Kandungan asam amino tertinggi pada hidrolisat protein ikan nila ialah aspartat sebanyak 24,80% sedangkan asam amino terendah ialah tyrosin sebanyak 4,80%.

Asam amino yang perlu mendapat perhatian khusus bagi nutrisi protein adalah asam amino esensial. Suatu protein yang dapat menyediakan asam amino esensial dalam suatu komposisi yang hampir menyerupai kebutuhan manusia, pada dasarnya mempunyai mutu yang tinggi. Produk hidrolisat protein ikan nila yang dihasilkan mengandung asam amino esensial yaitu threonin, methionin, valin, phenylalanin, ileusin, leusin dan lisin serta asam amino non esensial yaitu aspartat, glutamat, serin, glisin, alanin dan tirosin.

Berat molekul dan komposisi asam amino pada peptide yang terbentuk selama hidrolisis sangat mempengaruhi aktivitas antioksidan pada hidrolisat protein ikan nila. Semua protein yang dihidrolisis akan menghasilkan asam-asam amino, tetapi beberapa protein menghasilkan molekul-molekul protein yang masih berikatan (Tadesse and Shimelis, 2020; Ng *et al.*, 2024)

Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein yang terdiri dari asam amino esensial dan non-esensial yang berfungsi dalam metabolisme tubuh. Ikan salah satu sumber protein hewani yang mengandung

asam amino esensial lisin dan leusin (Xing *et al.*, 2023; Lopez and Mohiuddin, 2024). Menurut Derawati *et al.*, (2021), penggunaan jenis bahan pangan lokal untuk diversifikasi menjadi produk yang baik untuk kesehatan dapat menggunakan golongan sereal, umbi-umbian, kacang-kacangan dan ikan akan saling mengkomplementasi komposisi kandungan asam amino esensial produk tersebut.

Arginin dan histidin merupakan jenis asam amino semi-esensial yang dibutuhkan oleh bayi dan balita tetapi tidak dibutuhkan oleh orang dewasa. Asam amino arginin dibutuhkan oleh bayi sedangkan asam amino histidin dibutuhkan oleh bayi dan anak-anak. Orang dewasa umumnya sudah mampu memproduksi asam amino histidin dan arginin dalam tubuh sehingga tergolong non-esensial untuk orang dewasa. Selain itu bayi dan balita belum dapat memproduksi asam amino histidin dan arginin sehingga perlu asupan dari luar (Moughan *et al.*, 2024).

Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Nila

Uji aktivitas antioksidan hidrolisat protein ikan nila dengan metode DPPH dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Nila

Nama Sampel	Aktivitas Antioksidan (%)	Absorbansi Sampel	Absorbansi Kontrol
E ₁ L ₃	99,58	0,30	73,03
E ₂ L ₃	99,66	0,26	76,72
E ₃ L ₃	99,81	0,16	85,50

Dari Tabel 4 dapat dilihat uji aktivitas antioksidan semakin tinggi jika konsentrasi enzim papain semakin besar pada hidrolisis protein ikan nila. Aktivitas antioksidan hidrolisat protein ikan tergantung pada jenis enzim penghidrolisis. Nurjannah *et al.* (2020), menyatakan bahwa ikan yang dihidrolisis enzim papain menunjukkan hasil aktivitas antioksidan yang baik. Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH dengan hasil

yang didapatkan berupa persen inhibisi dan nilai IC₅₀. Persen inhibisi merupakan kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi bahan. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat apabila IC₅₀ kurang dari 0,05 mg/mL (50-100), sedang apabila nilai IC₅₀ sebesar 0,10-0,15 mg/mL (100-150), dan lemah apabila nilai IC₅₀ sebesar 0,15-0,20 mg/mL (150-200 ppm). Enzim berperan penting dalam meningkatkan aktivitas antioksidan hidrolisat protein melalui proses pemecahan protein menjadi peptida yang lebih kecil, yang memiliki sifat bioaktif (Fadimu *et al.*, 2022; Czelej *et al.*, 2025).

KESIMPULAN

Semakin besar konsentrasi enzim papain pada hidrolisis protein ikan nila maka kadar protein, kadar air, kadar abu dan nilai organoleptik semakin meningkat. Semakin lama hidrolisis maka kadar protein, kadar air, kadar abu dan nilai organoleptik semakin meningkat. Hasil analisis komposisi asam amino ditemukan asam amino esensial yaitu threonin, methionin, valin, phenylalanin, ileusin, leusin dan lisin, sedangkan asam amino non esensial yaitu aspartat, glutamat, serin, glisin, alanin dan tirosin. Hidrolisat protein ikan nila memiliki aktivitas antioksidan sebesar 99,81%. Untuk mendapatkan hidrolisat protein ikan nila yang terbaik dengan hidrolisis menggunakan enzim papain 5% dan lama hidrolisis 6 jam dimana diperoleh kadar protein tertinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, V., Putra, M. M. P., and Husni, A. 2023. Impact of Enzymatic Hydrolysis on Antioxidant Activity of Snakehead Fish (*Channa striata*) Head Protein Hydrolysate. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 15(1):44–56. <http://doi.org/10.20473/jipk.v15i1.38391>
- Alviodinasyari R., Pribadi E. S. dan Soejoedono R. D., 2019. Kadar Protein Terlarut dalam Albumin Ikan Gabus

- (*Channa striata* dan *Channa micropeltes*) Asal Bogor. *Jurnal Veteriner Jurnal Veteriner* Vol. 20 No. 3: 436-444
- Andiati H. A., Putranto W. S. dan Gumilar J., 2022. Pengaruh Penggunaan Asam Klorida terhadap Rendemen, Kadar Air dan Kadar Abu Gelatin Ceker Itik (*Anas platyrhynchos javanica*). *Jurnal Teknologi Hasil Peternakan*, 3(2):83-91
- Association of Official Analytical Chemists, 2016. *Official Methods of Analysis of AOAC International 20th Edition*, Rockville, MD 20850-3250 USA
- Berlian G., Riani C., Kurniati N. F., and Rachmawati H., 2023. Peptide derived *C. striata* albumin as a natural angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Heliyon*, 9(5), e15958
- Boronat O, Pau S., Felipe C., Mikel D., Jordi O., Aguiló-Aguayo I., and Martin-Gómez H., 2023. Development of added-value culinary ingredients from fish waste: Fish bones and fish scales, *International Journal of Gastronomy and Food Science*, Volume 31, 2023, 100657, ISSN 1878-450X, <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100657>
- Czelej M., Garbacz K., Czernecki T., Rachwał K., Wawrzykowski J., and Waśko A., 2025. Whey Protein Enzymatic Breakdown: Synthesis, Analysis, and Discovery of New Biologically Active Peptides in Papain-Derived Hydrolysates. *Molecules*. 2025; 30(7):1451. <https://doi.org/10.3390/molecules30071451>
- Derawati M., Yunianto, A.E., Doloksaribu, T.H dan Chandradewi, A.A.S.P. 2021. Formulasi food bar berbasis pangan lokal tinggi asam amino esensial untuk anak balita stunting. *Aceh Nutrition Journal*, 6(2), 163-172
- Fadilah N., Eko N. D., Romadhon dan Lukita P., 2021. Characteristic of Blue Swim Crab Mustard (*Portunus pelagicus*) Protein Hydrolysate with Different Papain Enzyme Concentrations, Saintek Perikanan: *Indonesian Journal of Fisheries Science and Technology*, Vol. 17 No. 3: 180-187, October 2021
- Fadimu G. J., Le T. T., Gill H., Farahnaky A., Olatunde O. O., and Truong T., 2022. Enhancing the Biological Activities of Food Protein-Derived Peptides Using Non-Thermal Technologies: A Review. *Foods*. 2022;11(13):1823. Published 2022 Jun 21. doi:10.3390/foods11131823
- Garnida Y., 2020. Buku Uji Inderawi dan Uji Sensori pada produk pangan, Penerbit Manggu Makmur Tanjung Lestari, Bandung, ISBN/ISSN 9786237715498
- Jurgen H., 2017. *Gross, Mass Spectrometry A Testbook*, Third Edition, Springer, New York USA
- Kardinan S.A., Yasni S., Budijanto S., Kurniadi N. and Sitanggang A.B., 2024. Production of Antioxidant Peptides from Snakehead Fish Using Batch and Continuous Enzymatic Hydrolysis. *Squalen Bull. Mar. Fish. Postharvest Biotech.* (2024 19(1): 23-30
- Kiettiolarn M., Kitsanayanyong L., Maneerote J., Unajak S., and Tepwong P., 2022. Optimization and production of protein hydrolysate containing antioxidant activity from tuna cooking juice concentrate by response surface methodology. *Fish Aquat. Sci.* 2022;25(6):335-349. <https://doi.org/10.47853/FAS.2022.e31>
- Knežević-Jugović Z., Culetu A., Mijalković J., Duta D., Stefanović A., Šekuljica N., Đorđević V., and Antov M., 2023. Impact of Different Enzymatic Processes on Antioxidant, Nutritional and Functional Properties of Soy Protein Hydrolysates Incorporated into Novel Cookies. *Foods*. 2023; 12(1):24. <https://doi.org/10.3390/foods12010024>

- Kudryashov L.S., and Kudryashova O.A., 2023. Water-holding and water-holding capacity of meat and methods of its determination. *Theory and Practice of Meat Processing*, 8(1), 62-70. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2023-8-1-62-70>
- LaPelusa A., and Kaushik R., 2022. *Physiology, Proteins*. [Updated 2022 Nov 14]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555990/>
- Lopez M.J., and Mohiuddin S.S., 2024. *Biochemistry, Essential Amino Acids*, [Updated 2024 Apr 30]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557845/>
- Moughan P.J., Deglaire A., Yan Y., Wescombe P., Lim W.X.J., Stroebling N., Duan S., Szeto I.M-Y. and Hodgkinson S., 2024. Amino acid requirements of the infant: the amino acid composition of human breast milk. *Front. Nutr.* 11:1446565. doi: 10.3389/fnut.2024.1446565
- Mponda S. Y. and Kim J. K., 2023. Sustainable, quality biofertilizer produced from Nile perch (*Lates niloticus*) wastewater using three *Bacillus* species: Demonstration in barley hydroponics, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2023; 11(3): 110037 doi: <http://doi.org/10.1016/j.jece.2023.110037>
- Nasution E. Z. dan Laila M. N., 2024. Enzymatization of Nila Fish (*Oreochromis Niloticus*) Protein Hydolysate by Combination of Bromelin and Pepsin Enzymes, *Journal of Chemical Natural Resources*, 2024, 6(2):122-130.
- Ng W.-J., Wong F.-C., Abd Manan F., Chow Y.-L., Ooi A.-L., Ong M.-K., Zhang X., & Chai T.-T., 2024. Antioxidant Peptides and Protein Hydrolysates from Tilapia: Cellular and In Vivo Evidences for Human Health Benefits, *Foods*, 13(18), 2945. <https://doi.org/10.3390/foods13182945>
- Nurjannah, Suwandi, R., Hidayat, T., and Oktorina, V., 2020. Chemical composition and amino acid profile of fresh and steamed cobia (*Rachycentron canadum* L.). *Foodscientechn Journal*, 2 (1):12-19
- Nyabadza A., McCarthy E., Mayur M., Saeid H., Anouk P., Mercedes V., and Dermot B., 2023. A review of physical, chemical and biological synthesis methods of bimetallic nanoparticles and applications in sensing, water treatment, biomedicine, catalysis and hydrogen storage, *Advances in Colloid and Interface Science*, Volume 321, 2023, 103010, ISSN 0001-8686, <https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.103010>
- Pandiangan M, Sihombing D.R., Simbolon C.D., Tampubolon S.D.R., Sitohang A., Silalahi J., Kaban J., and Simanullang W.F., 2024. Optimization of Essential Fatty Acids Via Esterification of the Native North Sumatera's Freshwater Fish. *International Journal of Design & Nature and Ecodynamics*, Vol. 19, No. 4, August, 2024, pp. 1363-1369
- Putra A., Rosida D. and Priyanto, A., 2020. Effect of Hydrolysis time and Papain Concentration on Some Properties of Apple Snail (*Pilla ampullacea*) Hydrolysate. *International Journal of Eco-Innovation in Science and Engineering*, 1. 1-5.
- Ririhena, J., and Palinussa, E. 2021. Growth and Survival of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) in the UPTD of Freshwater Cultivation. *Agrikan Jurnal Agribisnis Perikanan*, 14 (2), 482-487.

- <https://doi.org/10.52046/agrikan.v14i2.863>
- Ryu B., Shin K. H., and Kim S. K., 2021. Muscle Protein Hydrolysates and Amino Acid Composition in Fish. *Marine drugs*, 19(7), 377
- Sakuma C., Tomioka Y., Li C., Shibata T., Nakagawa M., Kurosawa Y., Arakawa T. and Akuta T., 2021. Analysis of protein denaturation, aggregation and post-translational modification by agarose native gel electrophoresis, *International Journal of Biological Macromolecules*, 172. 10.1016/j.ijbiomac.2021.01.075.).
- Sanvictores T., and Farci F., 2022. *Biochemistry Primary Protein Structure*, [Updated 2022 Oct 31]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564343/>
- Sayuti K.dan Rina Y., 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*, Andalas University Press, Padang
- Shamloo M., Bakar J., Mat H. and Khatib A., 2022. Biochemical properties of red tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein hydrolysates. *International Food Research Journal*. 19(1): 183- 188
- Sholahuddin, M. A., and Prayoga, A. 2023. The Development of antioxidant products from Tilapia offal protein hydrolysate with different enzyme concentrations and a review in fulfillment of the halal product assurance criteria. *Journal of Halal Product and Research (JHPR)*, 6(2), 138–146. <https://doi.org/10.20473/jhpr.vol.6-issue.2.138-146>
- Simangunsong M.P., Jeffrie F. M., Hariyani S., Henneke P., Novie P. L. P., Deiske A. S., 2025. Optimasi Penggunaan Enzim Papain Sebagai Upaya Peningkatan Derajat Penetasan Telur Ikan Lele Mutiara (*Clarias gariepinus*), *Jurnal Ilmiah PLATAX*, Vol. 13:(1), January-June2025
- Simanullang D. R., Patang and Indrayani, 2023. Cultivation of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) In Aquaponic System with Different Plants Species, *Journal of Agrosience Indonesia*, Volume 1 Number 2 November 2023 page 53 – 60, <https://doi.org/10.26858/jai.v1i2.56151>
- Stollar E.J., and Smith D.P., 2021. Uncovering protein structure, [published correction appears in *Essays Biochem.* 2021 Jul 26;65(2):407. doi: 10.1042/EBC-2019-0042C_COR.]. *Essays Biochem.* 2020; 64(4): 649-680. doi:10.1042/EBC20190042
- Tadesse S. A., and Shimelis A. E., 2020. Production and processing of antioxidant bioactive peptides: A driving force for the functional food market, *Heliyon*, Volume 6, Issue 8, 2020, e04765, ISSN 2405-8440, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04765>.
- Veymar G., Tacias-Pascacio, Castañeda-Valbuena D., Morellon-Sterling R., Tavano O., Berenguer-Murcia A., Vela-Gutiérrez G., Irfan A. R., and Fernandez-Lafuente R., 2021. Bioactive peptides from fisheries residues: A review of use of papain in proteolysis reactions, *International Journal of Biological Macromolecules*, Volume 184, 2021, Pages 415-428, ISSN 0141-8130, <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.06.076>
- Wang J., Yang P., Han D., Huang F., Li X., Song Y., Wang H., Liu J., Zheng J., and Zhang C., 2022. Role of Intramuscular Connective Tissue in Water Holding Capacity of Porcine Muscles. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(23), 3835. <https://doi.org/10.3390/foods11233835>
- Xing S., Liang X., Zhang X., Oliva-Teles A., Peres H., Li M., Hao W., Mai K., Kaushik S., Kaushik J. and Xue M., 2023. Review. Essential amino acid requirements of fish and crustaceans, a

meta-analysis. Reviews in *Aquaculture*.
16. 10.1111/raq.12886.

Yuanyuan Liu, Keshan Wang, Haonan Zheng, Meihu Ma, Shugang Li, Lulu Ma, 2023. Papain immobilization on interconnected-porous chitosan macroparticles: Application in controllable hydrolysis of egg white for foamability improvement, *Food Hydrocolloids*, Volume 139, 2023, 108551, ISSN 0268-005X, <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108551>.

Yuswadinata N.S. dan Wathoni N., 2021. Tinjauan Bentuk Sediaan Farmasi Mengandung Peptida, *Majalah Farmasetika*, Volume 6 No 1 (2021) <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v6i1.31990>