

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN HIDROLISAT PROTEIN TULANG IKAN SELAR BENTONG (*Selar crumenophthalmus*) HASIL HIDROLISIS ENZIM PAPAIN

Fitri Hadji^{1*}, Deasy N. Botutihe², Najmah Najmah³, Nurhayati Bialangi⁴, Wiwin Rewini Kunusa⁴

^{1,2,3,4,5}Jurusan Kimia, Universitas Negeri Gorontalo, Jl. Jend. Sudirman No. 6, Kota Gorontalo, 961281, Indonesia

*E-mail: fitrihadji843@gmail.com

Riwayat Article

Received: 05 September 2025; Received in Revision: 18 September 2025; Accepted: 27 September 2025

Abstract

Bentong scad (*Selar crumenophthalmus*) is a small pelagic fish abundantly found in the waters of Gorontalo and considered economically important. Fish bones as by-products of fisheries are still underutilized despite their high protein content and potential to be processed into functional products. This study aimed to characterize protein hydrolysates from bentong scad bones and evaluate their antioxidant activity. Hydrolysis was carried out using papain enzyme at concentrations of 2%, 4%, and 6% for 4 hours under optimal conditions. Analyses included protein content, degree of hydrolysis, qualitative amino acid tests, and antioxidant activity using the ABTS method. The results showed that protein content increased from 10.47% in raw bones to 33.19% at 2% enzyme concentration, 35.08% at 4%, and 37.35% at 6%. The degree of hydrolysis also increased with higher enzyme concentrations, with the highest value of 83.16% recorded at 6%. The strongest antioxidant activity was observed at 6% enzyme concentration, with an IC50 value of 0.98 mg/mL, which is relatively close to vitamin C (0.12 mg/mL). In conclusion, bentong scad bone protein hydrolysates represent a promising natural antioxidant source and have potential applications in the development of functional food products and health supplements.

Keywords: Bentong Scad, Protein Hydrolysate, Papain, Antioxidant, ABTS

Abstrak

Ikan selar bentong (*Selar crumenophthalmus*) merupakan salah satu ikan pelagis kecil yang banyak terdapat di perairan Gorontalo dan memiliki nilai ekonomis penting. Hasil samping perikanan berupa tulang ikan masih jarang dimanfaatkan, meskipun kandungan proteinnya cukup tinggi dan berpotensi menghasilkan produk bernilai fungsional. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi hidrolisat protein tulang ikan selar bentong serta mengevaluasi aktivitas antioksidannya. Hidrolisis dilakukan menggunakan enzim papain dengan konsentrasi 2%, 4%, dan 6% selama 4 jam pada kondisi optimal. Parameter yang dianalisis meliputi kadar protein, derajat hidrolisis, uji kualitatif asam amino, serta aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar protein tulang ikan meningkat dari 10,47% pada kondisi mentah menjadi 33,19% pada konsentrasi enzim 2%, 35,08% pada konsentrasi 4%, dan 37,35% pada konsentrasi 6%. Nilai derajat hidrolisis juga meningkat dengan penambahan enzim, dengan nilai tertinggi 83,16% pada konsentrasi 6%. Aktivitas antioksidan terbaik ditunjukkan pada konsentrasi enzim 6% dengan nilai IC50 sebesar 0,98 mg/mL, mendekati vitamin C (0,12 mg/mL). Simpulan dari penelitian ini adalah hidrolisat protein tulang ikan selar bentong berpotensi sebagai sumber antioksidan alami yang dapat diaplikasikan dalam pengembangan pangan fungsional maupun suplemen kesehatan.

Kata kunci : Ikan Selar Bentong, Hidrolisat Protein, Papain, Antioksidan, ABTS

1. Introduction

Provinsi Gorontalo memiliki potensi besar pada sektor perikanan, salah satunya ikan selar bentong (*Selar crumenophthalmus*) yang bernilai ekonomis penting (Husain & Musa, 2021). Jumlah tangkapan ikan yang tinggi berdampak pada peningkatan hasil samping perikanan, termasuk tulang ikan yang belum banyak dimanfaatkan secara optimal (Musyali et al., 2022). Tulang ikan

diketahui mengandung protein dalam jumlah tinggi, misalnya pada tulang ikan papuyu sebesar 50,26% (Sukma et al., (2022), tulang ikan sidat sebesar 34,08% (Ahmil et al., 2021), dan tulang ikan patin sebesar 20,39% (Afrinis et al., 2018). Oleh karena itu, tulang ikan dapat diolah menjadi produk bernilai tambah, salah satunya hidrolisat protein (Laboko et al., 2023).



Gambar 1. Ikan selar bentong (*Selar crumenophthalmus*)
<https://fishider.org/id/guide/osteichthyes/carangidae/selar/selar-crumenophthalmus>

Hidrolisat protein adalah hasil dari penguraian protein kompleks menjadi peptida dan asam amino yang lebih sederhana melalui proses hidrolisis. Proses ini dapat meningkatkan kelarutan, ketersediaan hayati, dan aktivitas biologis protein (Yuniarti et al., 2024). Reaksi hidrolisis protein menunjukkan bahwa protein bereaksi dengan molekul air (H_2O) dengan bantuan katalis (seperti enzim protease, asam, atau basa) untuk terurai menjadi molekul yang lebih kecil, yaitu peptida dan asam amino (Hou et al., 2017).

Pemecahan protein menggunakan enzim merupakan metode yang banyak digunakan karena bersifat aman dan ekonomis, serta lebih menguntungkan dibandingkan hidrolisis kimia karena dilakukan pada kondisi yang lebih ringan dan lebih tepat dalam pemutusan ikatan peptida (Botutihe et al., 2024b). Setiap enzim protease memiliki cara unik dalam memecah protein. Trypsin sangat spesifik, hanya memotong ikatan peptida di dekat lisin atau arginin. Pepsin lebih fleksibel, memecah ikatan yang melibatkan asam amino hidrofobik seperti fenilalanin dan triptofan. Sementara itu, papain adalah yang paling umum, mampu memecah berbagai jenis ikatan, terutama di dekat asam amino hidrofobik seperti leusin dan fenilalanin (Ismanto, 2017). Enzim protease yang umum dipakai antara lain dapat diperoleh dari berbagai sumber alami seperti hewan, tumbuhan, dan mikroba. Misalnya, enzim papain terdapat dalam getah pepaya (Nofiandi et al., 2020).

Salah satu sifat fungsional penting dari hidrolisat protein adalah aktivitas antioksidannya. Antioksidan melawan radikal bebas, yang membantu melindungi sel dari kerusakan yang memicu berbagai penyakit degeneratif. (Hidayah et al., 2021). Hidrolisat protein dapat menetralkan radikal bebas karena peptida bioaktif yang terkandung di dalamnya dapat menyumbangkan elektron dari kelompok fungsionalnya untuk menstabilkan radikal bebas (Witono et al., 2020). Berbagai studi telah melaporkan aktivitas antioksidan dari hidrolisat protein ikan, seperti dari hidrolisat protein kulit ikan nila (Prastyo et al., 2020), aktivitas antioksidan hidrolisat protein ikan kakap (Yuniarti et al., 2024), aktivitas antioksidan hidrolisat protein miofibril belut (Hidayati, 2019). Namun, penelitian tentang potensi antioksidan dari hidrolisat protein tulang ikan bentong masih terbatas.

Berdasarkan hal ini, penelitian ini dilakukan untuk mengkarakterisasi hidrolisat protein dari tulang ikan selar bentong dan menguji aktivitas antioksidannya. Penggunaan limbah tulang ikan sebagai sumber protein diharapkan dapat meningkatkan nilai tambah produk sampingan perikanan sekaligus menyediakan sumber antioksidan alami alternatif yang dapat diterapkan pada makanan fungsional dan produk kesehatan.

2. Methodology

Penelitian ini dilakukan dari Februari hingga Juli 2025 di Laboratorium Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Gorontalo.

2.1 Alat

Peralatan yang digunakan antara lain blender, sentrifuge, pH meter, waterbath, neraca analitik, magnetic stirrer, tabung reaksi, pipet mikro, dan spektrofotometer UV-Vis.

2.2 Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah tulang ikan selar bentong (*Selar crumenophthalmus*) yang diperoleh dari hasil samping perikanan di Pelabuhan Gorontalo. Bahan kimia yang digunakan meliputi enzim papain, ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonat)), kalium persulfat ($K_2S_2O_8$), asam trikloroasetat (TCA), reagen ninhidrin, reagen biuret, asam nitrat (HNO_3), reagen Millon, serta vitamin C sebagai kontrol positif.

2.3 Prosedur kerja

2.3.1 Persiapan Tulang Ikan Bentong

Ikan selar bentong segar dipotong fillet untuk memisahkan tulangnya, kemudian tulang-tulang tersebut dibersihkan dari sisa daging, dicuci, ditimbang (250 g), dan dihaluskan menggunakan blender. Sampel yang dihasilkan disimpan pada suhu $-20^\circ C$ hingga digunakan.

2.3.2 Pembuatan Hidrolisat Protein

Pembuatan hidrolisat protein dimulai dengan proses preparasi tulang ikan selar bentong. Tulang ikan yang telah di haluskan dicampur dengan air dengan perbandingan 1:5 sebelum dipanaskan pada suhu $60^\circ C$ selama 15 menit. Selanjutnya, pH campuran disesuaikan menjadi 7.0 menggunakan larutan NaOH 0.1 M atau HCl 0.1 M. Proses hidrolisis dilakukan dengan penambahan enzim papain pada konsentrasi 2%, 4%, dan 6% (b/b protein) pada suhu $55^\circ C$ selama 4 jam. Reaksi diselesaikan dengan memanaskan campuran pada suhu $85^\circ C$ selama 20 menit. Hidrolisat yang dihasilkan kemudian dipisahkan dengan sentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm pada suhu $10^\circ C$ selama 30 menit untuk memisahkan cairan (supernatant) dari endapan. (Idowu et al., 2019).

2.3.3 Analisis Kandungan Protein

Kandungan protein dalam hidrolisat ditentukan menggunakan metode Kjeldahl. (AOAC, 2005). Pada tahap destruksi, sampel ditambahkan asam sulfat pekat bersama katalis selenium, kemudian dipanaskan hingga larutan menjadi jernih sehingga nitrogen organik terkonversi menjadi ion amonium. Larutan hasil destruksi selanjutnya didinginkan dan masuk ke tahap destilasi dengan penambahan NaOH berlebih untuk melepaskan amonia. Gas amonia yang terbentuk ditangkap dalam larutan asam borat yang telah diberi indikator campuran. Tahap akhir dilakukan dengan titrasi menggunakan larutan HCl standar untuk menentukan jumlah amonia yang terdestilasi. Nilai nitrogen total yang diperoleh selanjutnya dikalikan dengan faktor 6,25 untuk mendapatkan kadar protein menggunakan rumus dibawah ini (Al-Mentafji, 2016).

$$\% \text{Nitrogen} = \frac{(\text{mL HCl sampel} - \text{mL HCl blanko}) \times N \text{ HCL} \times 14.00}{\text{bobot sampel} \times 1000} \times 100 \quad (1)$$

Keterangan:

% Nitrogen = Persentase kandungan nitrogen dalam sampel

mL HCl sampel = Volume HCl (asam klorida) yang digunakan untuk titrasi sampel, dalam mililiter (mL)

mL HCl blanko = Volume HCl yang digunakan untuk titrasi blanko (larutan tanpa sampel), dalam mililiter (mL)

N HCl = Konsentrasi HCl (asam klorida) yang digunakan sebagai larutan titran, dalam satuan Normality (N).

14.00 = Berat atom nitrogen adalah 14,00 g/mol. Ini adalah konstanta yang digunakan untuk mengonversi mol nitrogen menjadi massa nitrogen.

Bobot sampel = Massa sampel yang dianalisis, dalam gram.

1000 = Konstanta untuk mengonversi mililiter ke liter.

100 = Konstanta untuk mengonversi hasil menjadi persentase.

2.3.4 Derajat Hidrolisis

Derajat hidrolisis (DH) dianalisis menggunakan metode TCA (asam trikloroasetat). Sebanyak 5 mL sampel hidrolisat dicampurkan menggunakan 5 mL larutan TCA 10% dan didiamkan selama 30 menit untuk mengendapkan protein yang belum terdegradasi sempurna. Campuran tersebut kemudian disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit. dan supernatant yang dihasilkan dianalisis kandungan nitrogen menggunakan metode Kjeldahl. Nilai DH diperoleh dari persentase perbandingan antara nitrogen terlarut pada fraksi TCA terhadap total nitrogen dalam sampel (Hermaya et al., 2021). Peningkatan nilai DH mencerminkan semakin banyaknya ikatan peptida yang terpecah menjadi peptida berukuran pendek serta asam amino bebas. Rumus umum untuk menghitung derajat hidrolisis adalah:

$$\%DH = \frac{\text{Protein terlarut TCA 10\%}}{\text{Protein total}} \times 100\% \quad (2)$$

Keterangan:

%DH = Mengukur efektivitas pemecahan protein.

Protein terlarut TCA 10% = Protein terhidrolisis yang dilarutkan dalam 10% TCA

Protein total = Protein total awal dari sampel

2.3.5 Uji Kualitatif Protein

1. Uji Ninhidrin

Campurkan 1–2 mL hidrolisat dengan 5 mL larutan ninhidrin, panaskan pada 100°C selama 15 menit. Warna biru-ungu menunjukkan hasil positif.

2. Uji Biuret

Tambahkan 2 mL larutan NaOH 10% dan 5–10 tetes larutan CuSO₄ 0,1% ke 1–2 mL hidrolisat, aduk perlahan. Warna merah keunguan menandakan reaksi positif.

3. Uji Xantoprotei

Tambahkan beberapa tetes HNO₃ ke 1–2 mL hidrolisat, panaskan 3–5 menit, dinginkan, lalu tambahkan NaOH 10%. Warna jingga menunjukkan hasil positif.

4. Uji Millon

Tambahkan beberapa tetes reagen Millon ke 1–2 mL hidrolisat, panaskan 3–5 menit, kemudian dinginkan. Warna merah menandakan reaksi positif.

2.3.6 Uji Aktivitas Antioksidan (Metode ABTS)

Persiapan larutan untuk pengujian aktivitas antioksidan meliputi pembuatan larutan kalium persulfat, ABTS, dan larutan stok ABTS. Larutan kalium persulfat dibuat dengan melarutkan 3,5 mg K₂S₂O₈ dalam 5 mL aquades. Larutan ABTS disiapkan dengan melarutkan 7,1015 mg ABTS dalam 10 mL aquades. Selanjutnya, 5 mL larutan ABTS dicampur dengan 5 mL larutan kalium persulfat, diinkubasi selama 12–16 jam pada suhu ruang (22–24°C) dalam kondisi gelap, kemudian volume ditambah aquades hingga mencapai 25 mL untuk mendapatkan larutan stok.

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode ABTS dengan bantuan hidrolisat sebagai sampel dan vitamin C sebagai kontrol. Setiap sampel 0,5 mL dicampur dengan 1,5 mL larutan ABTS, kemudian diinkubasi selama 6 menit, lalu absorbansi diukur pada panjang gelombang 734 nm. Untuk vitamin C, larutan stok 100 ppm dibuat dari 2,5 mg vitamin C dalam 25 mL aquades, kemudian diencerkan menjadi 20, 40, 60, dan 80 ppm. Setiap larutan diambil 0,5 mL dan dicampur dengan 1,5 mL ABTS, homogenisasi dilakukan, diinkubasi 6 menit, dan absorbansi diukur.

$$\text{Aktivitas Antioksidan} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel}) \times 100}{\text{Abs blanko}} \quad (3)$$

Keterangan:

Abs Blanko = Absorbansi tanpa sampel

Abs Sampel = Absorbansi mengandung sampel

Perhitungan Nilai IC₅₀

Kapasitas antioksidan umumnya diukur menggunakan parameter IC₅₀, yaitu konsentrasi senyawa yang diperlukan untuk menghambat 50% dari aktivitas atau respons spesifik. Nilai IC₅₀ diperoleh melalui persamaan regresi linier $y = ax + b$, di mana variabel y sama dengan 50 dan variabel x sama dengan IC₅₀.

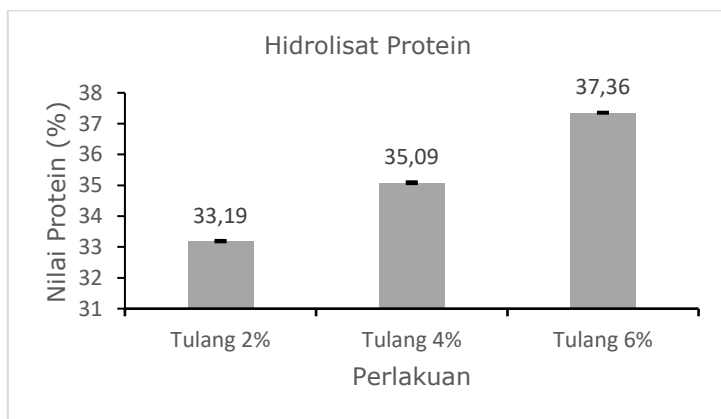
3. Result and Discussion

3.1 Preparasi Sampel

Ikan selar bentong (*Selar crumenophthalmus*) yang memiliki bentuk tubuh antara 19–20 cm dipilih dari pelelangan ikan segar di Kota Gorontalo, Provinsi Gorontalo. Daging dipisahkan dari tulang dan sisa jaringan dikerok, lalu tulang dicuci berulang hingga bersih dari darah, lipid, dan kotoran. Sebanyak 250 gram tulang dihaluskan hingga merata untuk meningkatkan luas permukaan sampel, kemudian simpan pada suhu beku (–20°C) untuk menjaga kestabilan protein dan senyawa bioaktif. Sebelum analisis, sampel dicairkan, dicuci, dan ditiriskan agar kadar air sesuai, sehingga hasil pengujian mencerminkan kondisi asli kandungan protein dan komponen bioaktif tulang ikan.

3.2 Hidrolisat Protein Ikan Selar Bentong (*Selar crumenophthalmus*)

Pada penelitian ini, kadar protein tulang ikan selar bentong sebelum dihidrolisis adalah 10,47% (basis basah). Nilai ini menggambarkan kandungan protein alami dalam jaringan tulang, terutama yang terikat pada struktur kolagen. Setelah dilakukan hidrolisis enzimatis menggunakan papain, kadar protein meningkat signifikan menjadi 33,19% pada konsentrasi enzim 2%, 35,08% pada 4%, dan 37,35% pada 6%. Peningkatan ini membuktikan bahwa enzim papain mampu memecah ikatan peptida sehingga protein kompleks berubah menjadi molekul yang lebih sederhana dan larut (Susanty, 2021).



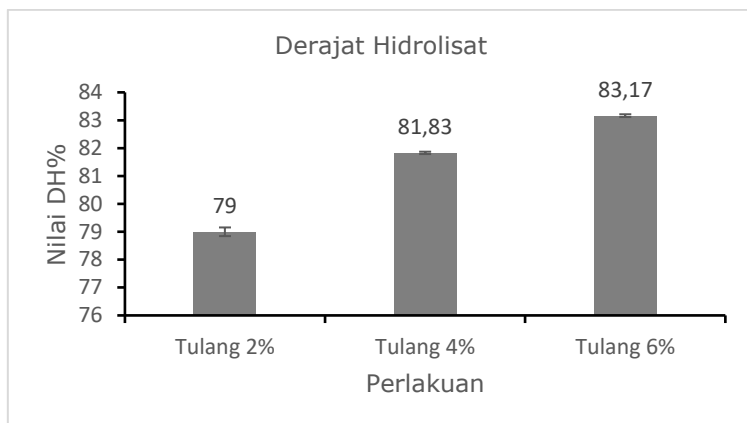
Gambar 2. Hasil analisis kandungan protein terlarut dari hidrolisat protein ikan selar bentong

Protein yang semula sulit larut dapat mengalami denaturasi selama hidrolisis, sehingga menjadi lebih mudah larut dan dapat terukur sebagai protein terhidrolisis. Menurut Yuswadinata & Wathoni, (2021), kelarutan protein sangat menentukan aktivitas biologisnya, karena semakin tinggi kelarutannya semakin mudah protein tersebut dimanfaatkan. Hal ini terlihat jelas pada hasil penelitian ini, bersamaan dengan peningkatan konsentrasi enzim papain yang ditambahkan, semakin tinggi kandungan protein terlarut yang dihasilkan.

Fenomena serupa telah dilaporkan oleh penelitian sebelumnya. Baehaki et al., (2015) menemukan bahwa hidrolisis daging ikan patin dengan papain 6% meningkatkan kadar protein larut hingga 54,47%. Nurjanah et al., (2021) melaporkan bahwa kadar protein jeroan kakap putih meningkat dari 31,20% menjadi 80,88% setelah hidrolisis. Mutamimah et al. (2018) menunjukkan hasil lebih tinggi pada mata ikan tuna, yakni rendemen protein larut sebesar 94,90% dengan papain. Perbedaan nilai ini kemungkinan besar disebabkan oleh jenis bahan baku, kandungan protein awal, serta kondisi hidrolisis yang digunakan. Sehingga dapat dikatakan bahwa kadar protein tidak hanya berfungsi sebagai parameter kuantitatif, tetapi juga sebagai indikator sejauh mana hidrolisis berhasil meningkatkan ketersediaan protein larut

3.3 Derajat Hidrolisat

Derajat hidrolisis (DH) adalah parameter yang menunjukkan sejauh mana ikatan peptida pada protein dipecah menjadi peptida pendek dan asam amino bebas (Mutamimah et al., 2018). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai DH hidrolisat tulang ikan selar bentong adalah 79,00% pada konsentrasi enzim 2%, meningkat menjadi 81,83% pada 4%, dan 83,16% pada 6%. Nilai ini memperlihatkan hubungan positif antara peningkatan konsentrasi enzim dengan besarnya protein yang terurai.



Gambar 2. Derajat hidrolisat protein ikan selar bentong

Nilai DH yang tinggi menunjukkan bahwa papain bekerja optimal dalam memecah protein tulang ikan selar bentong. Hasil ini mendekati laporan Fitra et al., (2024) pada kepala ikan gabus (82,13%), serta Sholahuddin & Prayoga, (2023) pada jeroan ikan nila (82,25%). Sementara itu, Baehaki et al., (2015) mendapatkan nilai lebih rendah, yaitu 71,98% pada daging ikan patin. Hal ini menandakan bahwa bahan baku berbeda memiliki tingkat kerentanan berbeda terhadap hidrolisis enzimatis. Secara umum, semakin tinggi nilai DH, semakin besar potensi terbentuknya peptida bioaktif yang berperan penting dalam aktivitas biologis.

3.4 Uji Kualitatif

Penelitian ini dilakukan dengan menganalisis hidrolisat protein dari tulang ikan selar bentong menggunakan empat metode uji, yakni biuret, ninhidrin, xantoprotein, dan Millon. Proses pengujian dilakukan dengan enzim papain pada variasi konsentrasi 2%, 4%, dan 6% selama 4 jam hidrolisis. Hasil analisis menunjukkan bahwa seluruh sampel, tanpa memandang perbedaan konsentrasi enzim, memberikan respons positif pada keempat metode uji tersebut. Data kualitatif dari hasil pengujian ditampilkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Uji kualitatif hidrolisat protein tulang ikan selar bentong

Sampel Tulang Ikan	Uji Biuret	Uji Ninhidrin	Uji Xantoprotein	Uji Millon
2%	+	+	+	+
4%	+	+	+	+
6%	+	+	+	+

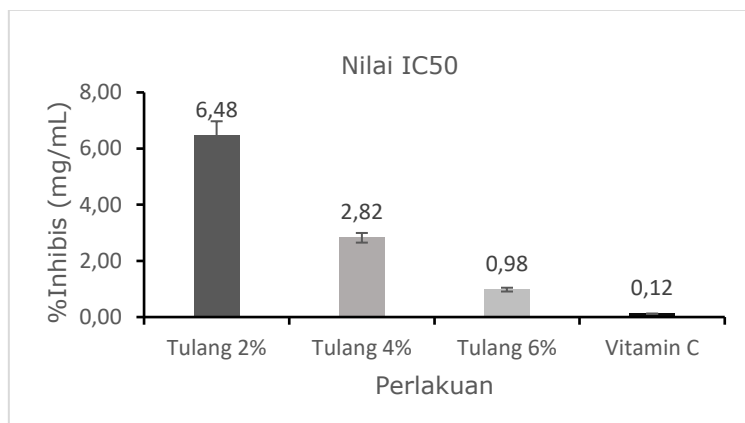
Keterangan:

- Uji biuret : (+) menandakan adanya protein
- Uji ninhidrin : (+) menandakan adanya asam amino
- Uji xantoprotein : (+) menandakan adanya senyawa aromatik
- Uji millon : (+) menandakan adanya tirosin

3.5 Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan diukur menggunakan spektrofotometri UV-Vis, dengan pembacaan pada panjang gelombang 734 nm menggunakan metode ABTS, karena panjang gelombang tersebut merupakan serapan maksimum dari radikal ABTS (Prastyo et al., 2020). Prinsip pengujian ini didasarkan pada perubahan warna radikal ABTS dari biru-hijau menjadi tidak berwarna setelah bereaksi dengan donor hidrogen atau elektron dari senyawa antioksidan dalam sampel. Tingkat pemudaran warna yang terjadi sebanding dengan kemampuan sampel dalam meredam radikal bebas, sehingga semakin tinggi perubahan warna menunjukkan semakin kuat aktivitas antioksidan yang dimilikinya (Yuli Kurniasari et al., 2023).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC_{50} hidrolisat protein tulang ikan selar bentong semakin menurun dengan bertambahnya konsentrasi enzim papain, yaitu 6,48 mg/mL pada konsentrasi 2%, 2,82 mg/mL pada 4%, dan 0,98 mg/mL pada 6%. Nilai IC_{50} yang semakin rendah menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan semakin tinggi karena jumlah sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas lebih sedikit (Ningsih et al., 2023).



Gambar 2. Aktivitas antioksidan (ABTS) hidrolisat protein dan vitamin C

Vitamin C digunakan sebagai pembanding dan nilai IC_{50} -nya adalah 0,12 mg/mL, sehingga aktivitas antioksidannya lebih tinggi dibandingkan hidrolisat protein tulang ikan selar bentong (Gęgotek & Skrzydlewska, 2022). Namun, pada konsentrasi enzim 6%, aktivitas antioksidan hidrolisat protein sudah mendekati vitamin C. Peningkatan aktivitas ini disebabkan oleh terbentuknya peptida berukuran kecil selama proses hidrolisis. Molekul peptida diketahui mengandung asam amino bioaktif seperti tirosin ($C_9H_{11}NO_3$), histidin ($C_6H_9N_3O_2$), dan sistein ($C_3H_7NO_2S$), yang umumnya terdapat pada ikan, sehingga dapat berperan sebagai donor elektron atau hidrogen untuk menetralkan radikal bebas (Mutamimah et al., 2018).

Hasil ini konsisten dengan penelitian sebelumnya, yaitu hidrolisat kerangka ikan salmon dengan konsentrasi enzim papain 5% selama 4 jam mampu memberikan persen inhibisi ABTS sebesar 55–70% pada konsentrasi 10 mg/mL (Idowu et al. 2019). Dibandingkan dengan studi ini, hidrolisat protein tulang ikan selar bentong yang diproduksi pada konsentrasi enzim papain 6% dengan waktu hidrolisis 4 jam memiliki nilai IC_{50} sebesar 0,98 mg/mL. Perbedaan nilai IC_{50} yang diperoleh dipengaruhi oleh jenis enzim yang digunakan dalam proses hidrolisis, sehingga aktivitas antioksidan yang dihasilkan juga dapat berbeda.

Hidrolisat protein tulang ikan berpotensi sebagai antioksidan karena mengandung asam amino aromatik yang teridentifikasi melalui uji kualitatif, yaitu tirosin, triptofan, dan fenilalanin. Menurut penelitian Korczyk et al, (2018) asam amino ini mampu menetralkan radikal bebas melalui stabilisasi elektron tak berpasangan pada cincin aromatiknya. Tirosin dan triptofan berperan dalam menetralkan radikal bebas melalui gugus hidroksifenil dan indol yang mampu mendonorkan atom hidrogen sehingga membentuk radikal fenoksi atau indol, sedangkan fenilalanin menunjukkan aktivitas yang lebih lemah karena hanya bekerja melalui mekanisme pemadaman radikal non-kovalen (Botutihe et al., 2024).

Selain itu, Adham Prayudi1, (2022) melaporkan bahwa lisin dan leusin merupakan asam amino dominan pada hidrolisat protein ikan yang berfungsi sebagai antioksidan melalui kemampuan mendonorkan atau menerima elektron untuk menstabilkan radikal bebas. Peptida berantai pendek dan bermassa molekul rendah yang tersusun dari lisin dan leusin terbukti memiliki aktivitas tinggi dalam menghambat proses oksidatif sejak tahap inisiasi hingga terminasi. Lisin bekerja melalui gugus amino reaktif, sedangkan leusin berkontribusi melalui posisinya pada terminal peptida. Temuan ini didukung oleh Iduantoro et al. (2024) yang melaporkan bahwa kombinasi lisin dan leusin efektif menangkalkan radikal bebas dengan mendukung donasi elektron, meningkatkan aktivitas enzim antioksidan, serta mencegah oksidasi lipid.

4. Conclusion

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hidrolisis enzimatis menggunakan papain mampu meningkatkan kadar protein, dan derajat hidrolisis tulang ikan selar bentong (*Selar crumenophthalmus*). Kadar protein meningkat dari 10,47% pada tulang mentah, menjadi 37,35% pada konsentrasi enzim 6%, dengan derajat hidrolisis tertinggi mencapai 83,16%. Nilai IC50 terbaik diperoleh pada konsentrasi enzim 6%, sebesar 0,98 mg/mL, mendekati vitamin C (0,12 mg/mL). Temuan ini menunjukkan bahwa hidrolisat protein tulang ikan selar bentong berpotensi sebagai sumber antioksidan alami, yang dapat dimanfaatkan dalam pengembangan pangan fungsional dan suplemen kesehatan.

References

- Afrinis, N., Besti, V., & Anggraini, H. D. (2018). Formulasi dan Karakteristik Bihun Tinggi Protein dan Kalsium dengan Penambahan Tepung Tulang Ikan Patin (*Pangasius Hypophthalmus*) Untuk Balita Stunting. *Media Kesehatan Masyarakat Indonesia*, 14(2), 157. <https://doi.org/10.30597/mkmi.v14i2.3984>
- Ahmil, A., Muliati, H., & Mananta, O. (2021). Analisis Kandungan Zat Gizi Tepung Tulang Ikan Sidat (*Anguila* sp). *Ghidza: Jurnal Gizi Dan Kesehatan*, 5(1), 36–44. <https://doi.org/10.22487/ghidza.v5i1.138>
- Al-Mentafji, H. N. (2016). Official Methods of Analysis of AOAC INTERNATIONAL. *Aoac*, February.
- Baehaki, A., Lestari, S. D., & Romadhoni, A. R. (2015). Hidrolisis protein ikan patin menggunakan enzim papain dan aktivitas antioksidan hidrolisatnya. *Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 18(3), 230–239. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.3.230>
- Botutihe, D. N., Hudiyono, S., & Saepudin, E. (2024a). Evaluation of Antioxidant, Antihypercholesterolemic and Cytotoxic Activity of Peptide Fractions from Melon (*Cucumis melo*) Seed. *International Journal of Agriculture and Biology*, 32(5), 440–446. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.2221>
- Botutihe, D. N., Hudiyono, S., & Saepudin, E. (2024b). In Vitro Antioxidant and Hypocholesterolemic Potency of Melon (*Cucumis Melo* L.) Seed Protein Hydrolysate. *Current Research in Nutrition and Food Science*, 12(2), 789–801. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.12.2.24>
- Fitra Mulia Jaya, Lia Perwita Sari, Rih Laksmi Utpalasari, Riya Liuhartana, Reshi Wahyuni, Y. F. S. (2024). *Produksi Hidrolisat Protein Kepala Ikan Gabus Secara Enzimatis Dengan Waktu Hidrolisis* (Vol. 38, Issue 6).
- Gęgotek, A., & Skrzydlewska, E. (2022). Antioxidative and Anti-Inflammatory Activity of Ascorbic Acid. *Antioxidants*, 11(10). <https://doi.org/10.3390/antiox11101993>
- Hermaya, A. A., Edison, E., & Diharmi, A. (2021). Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Cunang (*Congresox talabon*). *Jurnal Agroindustri Halal*, 7(1), 079–086. <https://doi.org/10.30997/jah.v7i1.3593>
- Hidayah, H., Kusumawati, A. H., Sahevtiyani, S., & Amal, S. (2021). Literature Review Article: Aktivitas Antioksidan Formulasi Serum Wajah Dari Berbagai Tanaman. *Journal of Pharmacopolium*, 4(2), 75–80. <https://doi.org/10.36465/jop.v4i2.739>
- Hidayati, A. (2019). Aaktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein Miofibril Belut (*Synbranchus bengalensis*) Yang Dihidrolisis Dengan Enzim Papain. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 29(3), 247–259. <https://doi.org/10.24961/j.tek.ind.pert.2019.29.3.247>
- Hou, Y., Wu, Z., Dai, Z., Wang, G., & Wu, G. (2017). Protein hydrolysates in animal nutrition: Industrial production, bioactive peptides, and functional significance. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 8(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0153-9>
- Husain, R., & Musa, F. (2021). Larutan Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Sebagai Pengawet Alami Pada Ikan Selar Kuning (*Selaroides leptolepis*). *Jambura Fish Processing Journal*, 3(1), 9–15. <https://doi.org/10.37905/jfpj.v3i1.7070>
- Idowu, A. T., Benjakul, S., Sinthusamran, S., Sookchoo, P., & Kishimura, H. (2019). Protein hydrolysate from salmon frames: Production, characteristics and antioxidative activity. *Journal of Food Biochemistry*, 43(2), 1–12. <https://doi.org/10.1111/jfbc.12734>

- Ismanto, A. (2017). Evaluasi Proses Hidrolisis Enzimatis Protein Daging Rusa Sambar (Rusa unicolor) Menggunakan Enzim Pepsin dan Tripsin. *Jurnal Pertanian Terpadu*, 5(2), 1–8. <https://doi.org/10.36084/jpt.v5i2.122>
- Korczek, K., Tkaczewska, J., & Migdał, W. (2018). Antioxidant and antihypertensive protein hydrolysates in fish products - A Review. *Czech Journal of Food Sciences*, 36(3), 195–207. <https://doi.org/10.17221/283/2017-CJFS>
- Laboko, A. I., Nurhafsa, N., Zainuddin, A., Anto, A., & Handayani, T. (2023). Penerimaan Panelis Terhadap Stik Tulang Ikan Selar Kuning. *Gorontalo Agriculture Technology Journal*, 6(2), 95. <https://doi.org/10.32662/gatj.v0i0.3237>
- Musyali, A., Tuli, M., & Pasingi, N. (2022). Faktor kondisi dan fekunditas ikan selar kuning yang didaratkan di Pangkalan Pendaratan Ikan Kota Gorontalo. *Jurnal Ilmiah Perikanan Dan Kelautan*, 10(1), 23–30. <https://ejurnal.ung.ac.id/index.php/nike/article/view/9247>
- Mutamimah, D., Ibrahim, B., & Trilaksani, W. (2018). Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein Mata Ikan Tuna (Thunnus sp.) dengan Hidrolisis Enzimatis. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(3), 522.
- Nofiandi, D., Wardi, E. S., & Putri, M. D. (2020). Pembuatan Hidrolisat Protein dari Paru Kambing (*Capra aegagrus hircus* L.) dan Uji Aktivitas Antioksidannya. *Jurnal Akademi Farmasi Prayoga*, 5(1), 11–20.
- Nurjanah, N., Nurhayati, T., Latifah, A., & Hidayat, T. (2021). Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Hidrolisat Protein Jeroan Ikan Kakap Putih (*Lates calcalifer*). *Warta Industri Hasil Pertanian*, 38(1), 70. <https://doi.org/10.32765/wartaihp.v38i1.6444>
- Prastyo, D. T., Trilaksani, W., & Nurjanah. (2020). Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Kolagen Kulit Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(3), 423–433. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v23i3.31732>
- Sholahuddin, M. A., & Prayoga, A. (2023). 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*, 6(2), 138–146. <https://doi.org/10.20473/jhpr.vol.6-issue.2.138-146>
- Sukma, Andi Mismawati, Bagus Fajar Pamungkas, Seftylia Diachanty, & Ita Zuraida. (2022). Komposisi Proksimat dan Profil Mineral Tulang dan Sisik Ikan Papuyu (*Anabas testudineus*). *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 10(3), 185–191.
- Susanty, A. (2021). Pengaruh Waktu Hidrolisis terhadap Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan Toman (*Channa micropeltes*) Asal DAS Kalimantan Timur. *Jurnal Riset Teknologi Industri*, 15(2), 463. <https://doi.org/10.26578/jrti.v15i2.7462>
- Witono, Y., Maryanto, M., Taruna, I., Masahid, A. D., & Cahyaningati, K. (2020). Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein ikan Wader (*Rasbora jacobsoni*) Dari Hidrolisis Oleh Enzim Calotropin Dan Papin. *Jurnal Agroteknologi*, 14(01), 44. <https://doi.org/10.19184/j-agt.v14i01.14817>
- Yuli Kurniasari, Kharismatul Khasanah, Vera Yunita, Labibah Alawiyah, & Puji Wijayanti. (2023). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Serbuk Bekatul Menggunakan Metode Dpph, Abts, Dan Frap. *CERATA Jurnal Ilmu Farmasi*, 13(2), 82–90. <https://doi.org/10.61902/cerata.v13i2.612>
- Yuniarti, T., Arrahmi, N. Y., Dharmayanti, N., Sugiwati, S., Mulyono, M., Hidayat, T., Martosuyono, P., Maulani, A., & Alghany, A. (2024). Karakteristik Fisikokimia dan Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Kakap (*Lutjanus sp.*) Skala Pilot. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 19(1), 61. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v19i1.985>
- Yuswadinata, N. S., & Wathoni, N. (2021). Tinjauan Bentuk Sediaan Farmasi Mengandung Peptida. *Majalah Farmasetika*, 6(1), 121. <https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v6i1.31990>