

## AKTIVITAS ANTIOKSIDAN HIDROLISAT PROTEIN KEPALA DAN KULIT UDANG VANAME (*LITOPENAEUS VANNAMEI*)

Sindy Atteri Warda<sup>1\*</sup>, Deasy N. Botutihe<sup>2</sup>, Arviani Arviani<sup>3</sup>, Weny J.A. Musa<sup>4</sup>, Hendri Iyabu<sup>5</sup>

<sup>1,2,3,4,5</sup> Jurusan Kimia, Universitas Negeri Gorontalo, Jl. Jend. Sudirman No. 6, Kota Gorontalo, 96128I, Indonesia

\*E-mail: [sindyatteriwarda17@gmail.com](mailto:sindyatteriwarda17@gmail.com)

Riwayat Article

Received: 05 September 2025; Received in Revision: 19 September 2025; Accepted: 25 September 2025

### Abstract

Shrimp head and shell waste of vannamei (*Litopenaeus vannamei*) potentially causes environmental pollution due to its high protein content, but it can be utilized as raw material for protein hydrolysates containing bioactive peptides with antioxidant activity. This study aimed to produce protein hydrolysates from shrimp head and shell using bromelain enzyme and to evaluate their antioxidant activity. Hydrolysis was carried out with bromelain concentrations of 4%, 5%, and 6% at 55 °C for 4 hours, followed by analyses of protein content, degree of hydrolysis, qualitative protein tests, and antioxidant activity using the ABTS method. Results showed that protein content increased with higher enzyme concentrations, namely 45.16% (4%), 48.27% (5%), and 50.10% (6%). The degree of hydrolysis ranged from 80.74% to 84.21%, indicating a high level of hydrolysis. Qualitative tests gave positive reactions for protein, amino acids, aromatic compounds, and tyrosine. Antioxidant activity of the hydrolysates was indicated by IC<sub>50</sub> values of 4.85 mg/mL, 3.27 mg/mL, and 3.14 mg/mL, with the best activity at 6% enzyme concentration, although still lower than vitamin C (0.12 mg/mL). In conclusion, protein hydrolysates derived from shrimp head and shell show potential as a natural antioxidant source, although further improvement is needed for functional food applications.

Keywords: Protein Hydrolysate, Vannamei Shrimp, Bromelain, Antioxidant

### Abstrak

Limbah kepala dan kulit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) berpotensi mencemari lingkungan karena kandungan proteinnya yang tinggi, namun dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku hidrolisat protein yang mengandung peptida bioaktif dengan aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menghasilkan hidrolisat protein dari kepala dan kulit udang vaname menggunakan enzim bromelain serta mengevaluasi aktivitas antioksidannya. Proses hidrolisis dilakukan dengan variasi konsentrasi enzim bromelain 4%, 5%, dan 6% pada suhu 55 °C selama 4 jam, kemudian produk dianalisis kadar protein, derajat hidrolisis, uji kualitatif protein, serta aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS. Hasil menunjukkan kadar protein meningkat seiring peningkatan konsentrasi enzim, yaitu 45,16% (4%), 48,27% (5%), dan 50,10% (6%). Nilai derajat hidrolisis tercatat 80,74–84,21% yang menandakan tingkat hidrolisis tinggi. Uji kualitatif memberikan reaksi positif terhadap protein, asam amino, senyawa aromatik, dan tirosin. Aktivitas antioksidan hidrolisat terbaik pada konsentrasi enzim 6% dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 3,14 mg/mL, meskipun masih lebih rendah dibandingkan vitamin C (0,12 mg/mL). Simpulan penelitian ini adalah hidrolisat protein kepala dan kulit udang vaname berpotensi sebagai sumber antioksidan alami, meskipun efektivitasnya masih perlu ditingkatkan untuk aplikasi pangan fungsional.

Kata kunci: Hidrolisat Protein, Udang Vaname, Bromelain, Antioksidan

### 1. Introduction

Udang vaname atau udang kaki putih (*Litopenaeus vannamei*) adalah salah satu komoditas perikanan yang banyak dibudidayakan di Indonesia. Tingginya tingkat konsumsi serta pemanfaatannya untuk kebutuhan ekspor, usaha kuliner, hingga konsumsi rumah tangga berdampak pada meningkatnya jumlah limbah dari hasil samping. Limbah udang dapat mencapai 40–50% dari berat tubuh utuh yang berpotensi menimbulkan pencemaran karena mudah mengalami pembusukan. Hal ini disebabkan oleh kandungan nutrien yang masih cukup tinggi, terutama protein. Kandungan protein pada kepala udang

dilaporkan mencapai 43,12%, sedangkan pada kulit berkisar antara 25–40% (Riadi et al., 2021; Saman & Lapamona, 2023).

Pembuatan hidrolisat protein dapat dilakukan melalui pemanfaatan limbah udang menjadi produk bernilai tambah. Hidrolisat protein diperoleh dari proses pemecahan rantai polipeptida menjadi peptida dengan berat molekul rendah. Proses hidrolisis diawali dengan pengikatan substrat pada sisi aktif enzim di lokasi spesifik rantai polipeptida. Setelah pengikatan terjadi, residu katalitik pada sisi aktif enzim, seperti serin, sistein, atau aspartat, bertindak sebagai nukleofil yang menyerang atom karbon pada gugus karbonil ikatan peptida sehingga terbentuk intermediat tetrahedral yang bersifat tidak stabil. Keruntuhan intermediat ini menyebabkan ikatan peptida terputus dan menghasilkan fragmen peptida berukuran lebih pendek. Mekanisme tersebut dapat berlangsung berulang hingga terbentuk peptida dengan berat molekul rendah yang tidak hanya lebih mudah dicerna, tetapi juga berpotensi menunjukkan aktivitas biologis (Tadesse & Emire, 2020; Zhu et al., 2022; Qian et al., 2023). Produk ini telah dimanfaatkan sebagai sumber nutrisi, penambah cita rasa, serta meningkat mutu pangan, sekaligus diketahui mengandung peptida bioaktif yang memiliki berbagai aktivitas biologis (Hidayati, 2019).

Hidrolisis protein dapat dilakukan secara enzimatis menggunakan enzim protease. Hidrolisis enzimatis memiliki keunggulan, yaitu menghasilkan peptida dengan urutan asam amino yang spesifik sesuai karakter enzim, serta berlangsung pada kondisi yang relatif ringan sehingga tidak merusak struktur asam amino (Ratnayani et al., 2023). Setiap enzim protease memiliki cara unik dalam memecah protein. Trypsin dikenal sangat spesifik karena hanya memutus ikatan peptida pada sisi karboksil residu basa, yaitu lisin (Lys) dan arginin (Arg), sehingga sering digunakan dalam analisis proteomik untuk menghasilkan fragmen peptida yang terprediksi dengan baik (Dau et al., 2020). Sebaliknya, pepsin memiliki spesifisitas yang lebih luas dengan preferensi terhadap residu hidrofobik dan aromatik, terutama fenilalanin (Phe), tirosin (Tyr), dan triptofan (Trp), di mana aktivitasnya juga sangat dipengaruhi oleh kondisi pH serta jenis substrat (Dau et al., 2020). Sementara itu, bromelain, protease dari nanas, memiliki spesifisitas yang lebih fleksibel dibandingkan trypsin maupun pepsin. Bromelain dilaporkan mampu memutus ikatan pada sisi karboksil beberapa residu seperti alanin (Ala), glisin (Gly), lisin (Lys), dan tirosin (Tyr), sehingga menghasilkan peptida dengan keragaman lebih tinggi (Venetikidou et al., 2025; Venetikidou et al., 2025). Enzim bromelain sering digunakan dan telah banyak diaplikasikan dalam bidang pangan, kesehatan, maupun industri hidrolisat protein (Rozali & Lubis, 2023).

Salah satu potensi bioaktivitas hidrolisat protein adalah sebagai antioksidan, yaitu Senyawa yang berfungsi menghambat atau menonaktifkan radikal bebas sehingga mencegah kerusakan oksidatif pada sel (Rahman et al., 2023). Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai berperan dalam pencegahan penyakit degeneratif sekaligus mendukung sistem imun tubuh (Permatasari et al., 2020). Penelitian terdahulu melaporkan aktivitas antioksidan pada hidrolisat protein kepala udang vaname (Dinh et al., 2019), namun kajian terkait pemanfaatan kepala dan kulit udang vaname secara bersamaan masih terbatas.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini difokuskan pada pemanfaatan protein dari kepala dan kulit udang vaname sebagai bahan baku dalam pembuatan hidrolisat protein menggunakan enzim bromelain, dengan tujuan mengevaluasi aktivitas antioksidannya. Penelitian ini bermanfaat sebagai sumber antioksidan alami, dasar pengembangan pangan fungsional, aplikasi di bidang farmasi dan kesehatan, serta mendukung aspek keberlanjutan (sustainability).

## 2. Methodology

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Februari hingga Juli 2025 bertempat di Laboratorium Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Gorontalo.

### 2.1 Alat

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas tabung reaksi, gelas kimia, Erlenmeyer, labu ukur, batang pengaduk, pipet tetes, mikropipet, pH meter, termometer, magnetic stirrer, neraca analitik (KERN), sentrifuge (Hettich), waterbath (Memmert), serta spektrofotometer UV-Vis (HACH).

## 2.2 Bahan

Bahan baku utama yang digunakan adalah kepala dan kulit udang vaname segar yang diperoleh dari Tempat Pelelangan Ikan di Kota Gorontalo, Provinsi Gorontalo. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini meliputi enzim bromelain, ABTS (2,2'-azino-bis(3-etylbenzotiazolin-6-sulfonat)) (Sigma-Aldrich), kalium persulfat ( $K_2S_2O_8$ ) (Sigma-Aldrich), asam trikloroasetat (TCA) (Merck KGaA), reagen ninhidrin (Merck KGaA), larutan NaOH 10% (Merck KGaA), larutan  $CuSO_4$  0,1% (Merck KGaA), asam nitrat ( $HNO_3$ ), reagen Millon (Merck KGaA), serta vitamin C (EMSURE®) yang digunakan sebagai kontrol positif.

## 2.3 Prosedur Kerja

### 2.3.1. Persiapan Kepala dan Kulit Udang Vaname

Sebanyak 1 kg udang vaname segar dibersihkan untuk dipisahkan bagian kepala dan kulitnya. Bagian tersebut kemudian dihaluskan menggunakan meat bone separator hingga. Sampel yang telah dihaluskan selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin pada suhu  $-20^{\circ}C$  hingga digunakan pada tahap berikutnya (Yuniarti et al., 2021).

### 2.3.2. Pembuatan Hidrolisat Protein

Pembuatan hidrolisat protein dilakukan dengan enzim bromelain menggunakan tiga variasi konsentrasi enzim, yaitu 4%, 5%, dan 6%. Sampel kepala dan kulit udang yang telah dihaluskan ditambahkan akuades perbandingan 1:2 (b/v) kemudian dihomogenkan. Selanjutnya pH campuran diatur pada pH 7 menggunakan larutan NaOH 1 M dan HCl 1 M, lalu ditambahkan enzim bromelain sesuai variasi konsentrasi. Proses pembuatan hidrolisat protein berlangsung pada suhu  $55^{\circ}C$  selama 4 jam dengan pH dijaga tetap pada 7. Enzim diaktifkan setelah hidrolisis selesai melalui pemanasan pada suhu  $90^{\circ}C$  selama 20 menit. Hidrolisat yang dihasilkan disaring, kemudian filtrat diambil dan disimpan pada suhu  $-20^{\circ}C$  hingga digunakan untuk analisis selanjutnya (Yuniarti et al., 2021).

### 2.3.3. Analisis Kadar protein

Kadar protein hidrolisat dianalisis dengan metode Kjeldahl (AOAC, 2005) melalui tiga tahap: destruksi, destilasi, dan titrasi. Sebanyak 1 g sampel didestrui menggunakan selenium dan 20 mL  $H_2SO_4$  pada suhu  $410^{\circ}C$  hingga jernih, kemudian didinginkan, ditambahkan akuades (50 mL) dan NaOH 40% (20 mL), lalu didestilasi. Destilat ditampung dalam 25 mL larutan  $H_3BO_3$  2% yang mengandung indikator bromokresol green 0,1% dan metil merah 0,1%. Selanjutnya dilakukan titrasi dengan HCl hingga larutan berubah warna menjadi biru-hijau. Hasil titrasi digunakan untuk menentukan kadar protein kasar sampel (Al-Mentafji, 2016).

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

$$\% \text{Kadar protein} = \% \text{N total} \times \text{faktor konversi}$$

### 2.3.4. Derajat Hidrolisis

Sebanyak 5 mL sampel hidrolisat diambil kemudian ditambahkan 5 mL larutan TCA 10% dan dibiarkan selama 30 menit. Campuran tersebut selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 5.000 rpm selama 20 menit. Supernata yang diperoleh dianalisis menggunakan metode Kjeldahl (Hermaya et al., 2021). Derajat hidrolisis (%DH) dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

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

### 2.3.5. Uji Kualitatif Protein

#### 2.3.5.1 Uji Ninhidrin

Hidrolisat 1 mL tambahkan 5 mL larutan ninhidrin, kemudian dipanaskan pada suhu  $100^{\circ}C$  selama 15 menit. Perubahan warna menjadi biru-ungu menunjukkan hasil positif (Laksmiati et al., 2019).

#### 2.3.5.2 Uji Biuret

Hidrolisat 1–2 mL tambahkan 1 mL NaOH 10% dan 1 mL  $CuSO_4$  0,1%; perubahan warna menjadi merah violet atau biru violet menunjukkan reaksi positif (Taniyo et al., 2021).

### 2.3.5.3 Uji Xantoprotein

Tambahkan  $\text{HNO}_3$  pada 1–2 mL sampel, dipanaskan 3–5 menit hingga larutan berwarna kuning, kemudian setelah penambahan  $\text{NaOH}$  berubah menjadi jingga sebagai indikasi positif (Taniyo et al., 2021).

### 2.3.5.4 Uji Millon

Tambahkan beberapa tetes reagen Millon pada 1–2 mL sampel, dipanaskan 3–5 menit, lalu didinginkan. Hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah (Dwiningrum et al., 2023).

## 2.3.6. Uji Aktivitas Antioksidan

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  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$  dalam 5 mL akuades, sedangkan larutan ABTS dibuat dengan melarutkan 7 mg ABTS dalam 10 mL akuades. Untuk pembuatan larutan stok ABTS, 5 mL larutan ABTS dicampur dengan 5 mL larutan kalium persulfat, kemudian diinkubasi dalam kondisi gelap pada suhu 22–24 °C selama 12–16 jam. Setelah itu, larutan diencerkan dengan akuades hingga volume akhir 25 mL. Sebanyak 0,5 mL sampel hidrolisat dicampur dengan 1,5 mL larutan ABTS, diinkubasi selama 6 menit, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang 734 nm. Sebagai kontrol positif, digunakan larutan vitamin C pada konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm yang diperlakukan dengan prosedur yang sama. Aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus:

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

Keterangan:

Abs Blanko: Absorbansi larutan tanpa sampel

Abs Sampel: Absorbansi larutan dengan sampel

### Perhitungan Nilai $\text{IC}_{50}$

$\text{IC}_{50}$  ditentukan sebagai konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% radikal bebas. Nilai ini diperoleh dari persamaan regresi linier ( $y = ax + b$ ) dengan mensubstitusikan  $y = 50$ ; nilai  $x$  yang dihasilkan ditetapkan sebagai  $\text{IC}_{50}$  (Sari et al., 2024).

## 3. Result and Discussion

### 3. 1. Preparasi sampel

Sampel udang yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Tempat Pelelangan Ikan di Kota Gorontalo, Provinsi Gorontalo. Bagian kepala dan kulit udang dipisahkan dari tubuh, kemudian dicuci dengan air bersih dan ditiriskan untuk mengurangi kadar air. Selanjutnya, sampel dihaluskan menggunakan meat bone separator guna memperkecil ukuran partikel sehingga proses ekstraksi dan analisis berikutnya dapat berlangsung lebih optimal (Martiningsih et al., 2023).

### 3. 2. Hidrolisat Protein Kepala dan Kulit Udang Vaname

Kadar protein kepala dan kulit udang vaname pada penelitian ini (18,70%) lebih tinggi dibandingkan laporan Liu et al., (2021) sebesar 6,56–7,98% maupun Ramadhan et al., (2024) sebesar 14,67%, yang kemungkinan dipengaruhi oleh perbedaan bagian tubuh yang dianalisis serta kondisi budidaya (Liu et al., 2021).

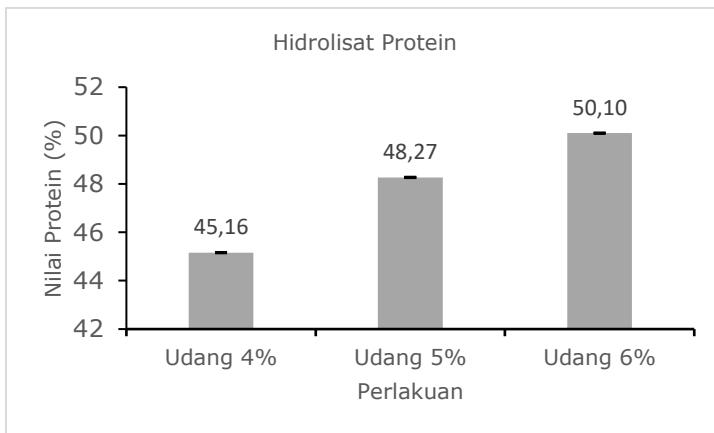
Hasil kadar protein 18,70% tersebut digunakan sebagai dasar penentuan rasio enzim-substrat dalam proses hidrolisis, yang menggambarkan jumlah enzim relatif terhadap protein sebagai substrat (Ratnayani et al., 2023). Substrat yang digunakan berupa konsentrasi protein dari kepala dan kulit udang vaname. Enzim bromelain dipilih karena aktivitas proteolitiknya tinggi dan bekerja optimal pada pH 7 serta suhu 55 °C. Kondisi ini dijaga untuk memastikan aktivitas enzim tetap stabil, karena perubahan pH atau suhu di luar kisaran optimum dapat menyebabkan denaturasi dan penurunan aktivitas katalitik (Taniyo et al., 2021). Setelah hidrolisis, sampel dipanaskan pada suhu 90 °C selama 20 menit untuk menginaktivasi enzim, sehingga reaksi hidrolisis berhenti. Pemanasan berlebih menyebabkan perubahan struktur enzim, termasuk kerusakan ikatan peptida maupun disulfida, yang menjadikan enzim tidak aktif (Nathania & Bratadiredja, 2018). Tahap berikutnya adalah penyaringan untuk

memisahkan filtrat dari residu, di mana filtrat jernih yang diperoleh merupakan hidrolisat protein kepala dan kulit udang vaname yang siap dianalisis lebih lanjut seperti pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Hidrolisat protein

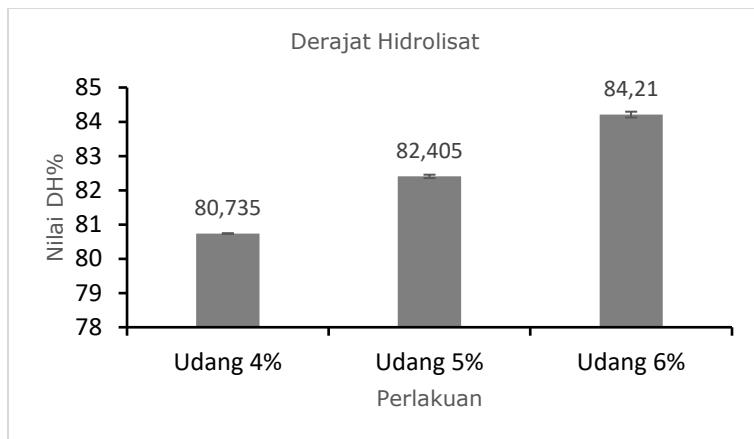
Analisis kadar protein hidrolisat menggunakan metode Kjeldahl menunjukkan peningkatan seiring dengan bertambahnya konsentrasi enzim bromelain. Pada konsentrasi 4%, kadar protein tercatat sebesar 45,16%, meningkat menjadi 48,27% pada konsentrasi 5%, dan mencapai 50,10% pada konsentrasi 6%. Hasil ini ditampilkan pada Gambar 2. Peningkatan ini berkaitan dengan kemampuan enzim bromelain dalam memecah protein kompleks menjadi peptida dan asam amino berukuran lebih kecil yang lebih mudah larut serta lebih mudah terdeteksi (Islam et al., 2021).



**Gambar 2.** Kadar protein hidrolisat protein

### 3. 3. Derajat Hidrolisis

Derajat hidrolisis (DH) merupakan parameter penting yang menggambarkan sejauh mana ikatan peptida dalam protein terputus akibat proses hidrolisis enzimatis. Nilai DH dinyatakan dalam bentuk persentase ikatan peptida yang berhasil diuraikan menjadi peptida atau asam amino berukuran lebih kecil (Laksminiati et al., 2019; Ratnayani et al., 2024). Hasil pengukuran derajat hidrolisis protein kepala dan kulit udang vaname disajikan pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Pengukuran derajat hidrolisis (DH)

Berdasarkan data pada Gambar 3. Nilai DH pada konsentrasi enzim bromelain 4% tercatat sebesar 80,74%, meningkat menjadi 82,40% pada konsentrasi 5%, dan mencapai 84,21% pada konsentrasi 6%. Peningkatan nilai DH sejalan dengan peningkatan konsentrasi enzim yang digunakan, menunjukkan bahwa semakin besar jumlah enzim, semakin banyak ikatan peptida yang terdegradasi. Hal ini disebabkan meningkatnya jumlah situs aktif enzim yang berinteraksi dengan substrat, sehingga menghasilkan lebih banyak nitrogen terlarut dalam hidrolisat protein (Puspawati et al., 2020; Nurilmala et al., 2018).

Nilai DH sebesar 80,74–84,21% yang diperoleh pada penelitian ini tergolong tinggi dan konsisten dengan hasil penelitian sebelumnya. Pala et al., (2022) melaporkan derajat hidrolisis 70,19–84,39% pada limbah visera ikan kakap yang dihidrolisis dengan enzim bromelain, sementara Muhammad Athoillah Sholahuddin et al., (2024) memperoleh DH sebesar 82,25% pada limbah ikan tilapia (*Oreochromis* sp.). Perbandingan ini menegaskan bahwa enzim bromelain mampu menghasilkan hidrolisat protein dengan tingkat hidrolisis yang tinggi, meskipun variasi jenis substrat dapat memengaruhi nilai akhirnya.

### 3. 4. Uji Kualitatif

Pada penelitian ini, hidrolisat protein dari kepala dan kulit udang diuji secara kualitatif menggunakan empat metode, yaitu uji Biuret, Ninhidrin, Xantoprotein, dan Millon. Proses hidrolisis dilakukan dengan enzim bromelain pada variasi konsentrasi 4%, 5%, dan 6% selama 4 jam. Hasil pengujian menunjukkan bahwa seluruh sampel pada setiap konsentrasi enzim memberikan reaksi positif terhadap keempat uji tersebut, yang menandakan keberadaan senyawa protein dan peptida pada hidrolisat yang disajikan pada Gambar 4. Ringkasan hasil pengujian kualitatif ditampilkan pada Tabel 1.



**Gambar 4.** Uji kualitatif hidrolisat protein

**Table 1.** Uji kualitatif hidrolisat protein kepala dan kulit udang vaname

Sampel Hidrolisat Protein	Uji Biuret	Uji Ninhidrin	Uji Xantoprotein	Uji Millon
4%	+	+	+	+
5%	+	+	+	+
6%	+	+	+	+

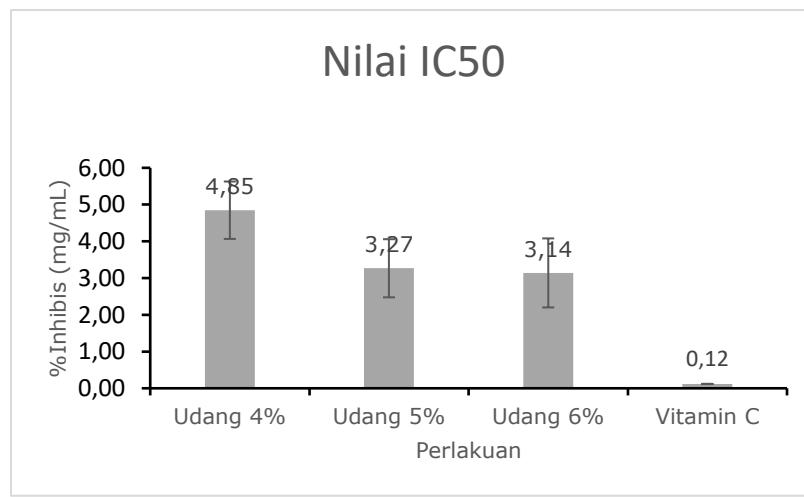
Keterangan:

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

### 3. 5. Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan hidrolisat protein kepala dan kulit udang dilakukan menggunakan metode ABTS (*2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid)*). Prinsip metode ini didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan dalam mereduksi radikal ABTS, yang ditandai dengan penurunan intensitas warna hijau kebiruan dan penurunan nilai absorbansi pada panjang gelombang 734 nm (Theafelicia & Narsito Wulan, 2023). Keunggulan metode ABTS adalah kecepatan reaksi, sensitivitas tinggi, serta mampu mendeteksi senyawa bersifat hidrofilik maupun lipofilik (Herlina Nasir et al., 2021)

Aktivitas antioksidan dalam penelitian ini diuji pada hidrolisat protein dengan setiap konsentrasi enzim bromelain (4%, 5%, dan 6%) serta vitamin C sebagai kontrol pembanding. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC<sub>50</sub>, yaitu konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% radikal ABTS; semakin rendah nilai IC<sub>50</sub>, semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dimiliki. Hasil pengujian seperti pada Gambar 5. menunjukkan bahwa nilai IC<sub>50</sub> hidrolisat protein udang pada konsentrasi enzim 4%, 5%, dan 6% berturut-turut adalah 4,85 mg/mL, 3,27 mg/mL, dan 3,14 mg/mL. Nilai terendah terdapat pada konsentrasi 6%, yang menandakan aktivitas antioksidan tertinggi. Namun, jika dibandingkan dengan vitamin C (IC<sub>50</sub> = 0,12 mg/mL), aktivitas antioksidan hidrolisat protein masih lebih rendah, meskipun tetap menunjukkan potensi sebagai agen penangkap radikal bebas.

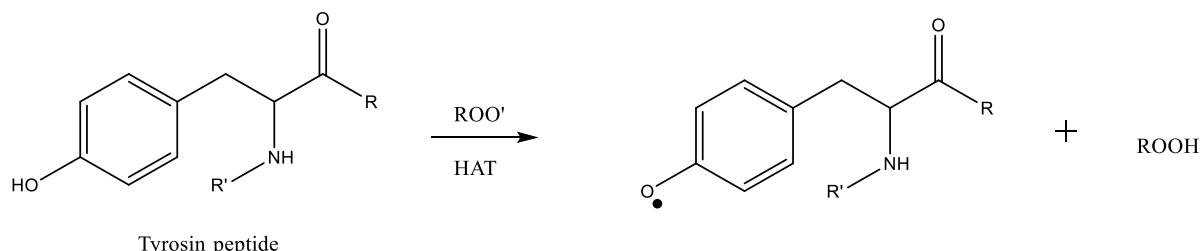


**Gambar 5.** Aktivitas antioksidan (ABTS) hidrolisat protein dan vitamin C

Hasil ini sejalan dengan penelitian (Noman et al., 2022) yang melaporkan bahwa hidrolisat protein ikan sturgeon hibrida dengan enzim bromelain melalui uji ABTS memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 3,81 mg/mL. Perbedaan ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dapat dipengaruhi oleh jenis substrat, kondisi hidrolisis, serta profil asam amino yang dihasilkan.

Bioaktivitas antioksidan hidrolisat protein udang berkaitan erat dengan keberadaan asam amino aromatik seperti fenilalanin, tirozin, dan triptofan. Menurut Zou et al., (2016), asam amino aromatik

mampu mendonorkan atom hidrogen atau elektron untuk menetralkan radikal bebas. Tirosin dinilai paling efektif karena gugus hidroksil (-OH) pada cincin fenolnya dapat mendonorkan atom hidrogen sehingga terbentuk radikal tirosil yang stabil seperti pada Gambar 6. Triptofan juga berperan penting berkat cincin indol yang kaya elektron dan mampu menstabilkan radikal melalui resonansi. Sebaliknya, fenilalanin dengan cincin benzena sederhana memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah, meskipun tetap berkontribusi melalui mekanisme transfer elektron non-kovalen (Korcze et al., 2018). Dengan demikian berdasarkan penelitian ini, hidrolisat protein kepala dan kulit udang vaname dapat menjadi sumber antioksidan alami yang potensial.



**Gambar 6.** Mekanisme antioksidan tirosin-peptida (Esfandi et al., 2019)

Keterangan:

HAT: Hydrogen atom transfer

• : Radikal

ROO<sup>•</sup>: Radikal peroksil

ROOH: hidroperoksida

#### 4. Conclusion

Penelitian ini menunjukkan bahwa kepala dan kulit udang vaname dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku hidrolisat protein melalui proses hidrolisis enzimatis menggunakan bromelain. Peningkatan konsentrasi enzim dari 4% hingga 6% berbanding lurus dengan kenaikan kadar protein (45,16–50,10%) dan derajat hidrolisis (80,74–84,21%). Uji kualitatif mengonfirmasi keberadaan protein, asam amino, senyawa aromatik, dan tirosin pada seluruh sampel. Aktivitas antioksidan hidrolisat ditunjukkan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 4,85 mg/mL (4%), 3,27 mg/mL (5%), dan 3,14 mg/mL (6%), dengan aktivitas terbaik pada konsentrasi 6%, meskipun masih lebih rendah dibandingkan vitamin C (0,12 mg/mL).

#### References

- Al-Mentafji, H. N. (2016) Official methods of analysis of AOAC international, AOAC, February.
- Dau, T., Bartolomucci, G., & Rappaport, J. (2020). Proteomics Using Protease Alternatives to Trypsin Benefits from Sequential Digestion with Trypsin. *Analytical Chemistry*, 92(14), 9523–9527. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c00478>
- Dinh, T., Vo, L., Nguyen, A., Bui, N., Nguyen, T. V. Van, Ngoc, N., Nguyen, P., & Dang, H. V. (2019) Investigation into antioxidant activity of protein hydrolysate derived from white leg shrimp head (*Litopenaeus vannamei*), *Vietnam Journal of Marine Science and Technology*. 17(1), 75–79.
- Dwiningrum, R., Pisacha, I. M., Nursoleha, E. (2023) Review: analisis kualitatif dan kuantitatif kandungan protein pada olahan bahan pangan, *Jurnal Pharmacy Aisyah*, 2(2), 60–67.
- Esfandi, R., Walters, M. E., & Tsopmo, A. (2019). Antioxidant properties and potential mechanisms of hydrolyzed proteins and peptides from cereals. *Helios*, 5(4), e01538. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01538>
- Herlina Nasir, N., & Pusmarani, J. (2021) Uji aktivitas antioksidan ekstrak metanolik daging buah semangka (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai) dengan metode ABTS dan FRAP, *Jurnal Mandala Pharmacon Indonesia*, 7(2), 223–235. [www.jurnal-pharmaconmw.com/jmpi](http://www.jurnal-pharmaconmw.com/jmpi)
- 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>

- Hidayati, A. (2019) Aktivitas 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>
- Islam, M. S., Hongxin, W., Admassu, H., Noman, A., Ma, C., & An wei, F. (2021) Degree of hydrolysis, functional and antioxidant properties of protein hydrolysates from grass turtle (*Chinemys reevesii*) as influenced by enzymatic hydrolysis conditions. *Food Science and Nutrition*, 9(8), 4031–4047. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1903>
- 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>
- Laksmiwati, A. A. I. A. M., Prastika, H. H., Ratnayani, K., Puspawati, N. M. (2019) Penggunaan enzim pepsin untuk produksi hidrolisat protein kacang gude (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) yang aktif antioksidan, *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*, 7(2), 180–188.
- Liu, Z., Liu, Q., Zhang, D., Wei, S., Sun, Q., Xia, Q., Shi, W., Ji, H., & Liu, S. (2021) Comparison of the proximate composition and nutritional profile of byproducts and edible parts of five species of shrimp, *Foods*, 10(11), 1–16. <https://doi.org/10.3390/foods10112603>
- Martiningsih, S. H., Suproborini, A., Kusumawati, D., Puri, M., & Kartini, P. R. (2023) Uji Skrining fitokimia pada ekstrak etanol 96% dan ekstrak air daun salam (*Syzygium polyantum* (Wight) Walp.), *Seminar Nasional Prodi Farmasi UNIPMA (SNAPFARMA)*, Madiun, 154–161. <http://prosiding.unipma.ac.id/index.php/SNAPFARMA>
- Sholahuddin, M. A., Lastuti, N. D. R., Amin, M. (2024) Effect of differences bromelain enzyme concentration on protein hydrolysate from waste of tilapia viscera (*Oreochromis* sp.) on antioxidant activity, *Jurnal Biosains Pascasarjana*, 26(1), 15–22. <https://doi.org/10.20473/jbp.v26i1.2024.15-22>
- Nathania, D. S., Bratadireja, M. A. (2018) Isolasi dan Uji Stabilitas Enzim Bromelin dari Nanas (*Ananas comosus* L.), *Jurnal Farmaka*, 16(1), 374–379. <https://jurnal.unpad.ac.id/farmaka/article/view/17508/pdf>
- Norman, A., Wang, Y., Zhang, C., Abed, S. M. (2022) Antioxidant activity of hybrid sturgeon (*Huso dauricus* × *Acipenser schrenckii*) protein hydrolysate prepared using bromelain, its fractions and purified peptides, *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 72(1), 79–89. <https://doi.org/10.31883/pjfn.v146317>
- Nurilmala, M., Nurhayati, T., Roskananda, R. (2018) Limbah industri filet ikan patin untuk hidrolisat protein, *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(2), 288. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v21i2.23083>
- Pala, A. N. F., Metusalach, Amir, N. (2022) Protein hydrolyzate of grouper viscera: effects of crude bromelain extract concentration and hydrolysis time on yield and degree of hydrolysis, *International Journal of Applied Biology*, 6(2), 222–229.
- Puspawati, N. M., Dewi, P. P., Bogoriani, N. W., Ariati, N. K. (2020) Produksi hidrolisat protein melalui hidrolisis enzimatik protein kulit ayam broiler dengan enzim papain, *Jurnal Kimia*, 14(2), 206. <https://doi.org/10.24843/jchem.2020.v14.i02.p16>
- Qian, J., Chen, D., Zhang, Y., Gao, X., Xu, L., Guan, G., & Wang, F. (2023). Ultrasound-Assisted Enzymatic Protein Hydrolysis in Food Processing: Mechanism and Parameters. *Foods*, 12(21), 1–27. <https://doi.org/10.3390/foods12214027>
- Rahman, R. D. N., Supomo, S., Warnida, H. (2023) Uji aktivitas antioksidan ekstrak *Baccaurea Lanceolata* fructus dengan metode ABTS dan DPPH, *JI-KES (Jurnal Ilmu Kesehatan)*, 6(2), 155–161. <https://doi.org/10.33006/jikes.v6i2.546>
- Ramadhan, D. H., Dewi, E. N., Purnamayati, L. (2024) Characteristics of shrimp head protein hydrolysate flour (*Litopenaeus vannamei*) with addition of different papain enzym concentrations, *International Journal of Research Publication and Reviews*, 5(8), 3315–3320. <https://doi.org/10.55248/gengpi.5.0824.2204>

- Ratnayani, K., Listiyanti, N. K. L., Ariati, N. K., Laksmiwati, A. A. I. A. M. (2024) Monitoring hidrolisis protein kecambah kacang tunggak (*Vigna unguiculata* L.) oleh enzim alkalase pada variasi waktu dan rasio enzim-substrat, *Jurnal Kimia*, 18(2), 145. <https://doi.org/10.24843/jchem.2024.v18.i02.p07>
- Ratnayani, O., Ririn, M., Rahayu, D., Ratnayani, K., Ariati, N. K. (2023) Hidrolisis protein kecambah kacang merah menggunakan enzim papain dengan variasi rasio enzim-substrat, *Cakra Kimia (Indonesian E-Journal of Applied Chemistry)*, 11(1), 1–7.
- Riadi, M. S., Asni, A., Kasmawati, K. (2021) Fortifikasi kulit udang vaname (*Litopenaeus vannamei*) pada ekado, *Seminar Ilmiah Nasional Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan UMI*, Makassar, 48–60.
- Rozali, Z. F., Lubis, Y. M. (2023) Hidrolisis protein beras oleh ekstrak kasar enzim bromelin, *Jurnal Bioleuser*, 7(1), 11–14.
- Saman, W. R., Lapamona, O. (2023) Pemanfaatan limbah udang (*Litopenaeus vannamei*) dengan penambahan ekstrak kunyit (*Curcuma domestica*) dalam pembuatan kaldu bubuk, *Jambura Fish Processing Journal*, 6(1), 42–51. <https://doi.org/10.37905/jfpj.v6i1.22722>
- Sari, K., Rahmadi, A., Rohmah, M., Saragih, B., Salam, I. (2024) Antioxidant activities (DPPH and ABTS method) from extract of Bangle rhizome (*Zingiber cassumunar*) using different method of extraction, *ActAction: Aceh Nutrition Journal*, 9(1), 110. <https://doi.org/10.30867/action.v9i1.1531>
- Tadesse, S. A., & Emire, S. A. (2020). Production and processing of antioxidant bioactive peptides: A driving force for the functional food market. *Heliyon*, 6(8), e04765. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04765>
- Taniyo, W., Salimi, Y. K., Iyabu, H. (2021) Karateristik dan antioksidan hidrolisat protein ikan nile (*Awaous melanolecephalus*), *Dalton: Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*, 4(2), 52–63. <https://doi.org/10.31602/dl.v4i2.5935>
- Theafelicia, Z., Narsito Wulan, S. (2023) Perabandingan berbagai metode pengujian aktivitas antioksidan (DPPH, ABTS dan FRAP) pada teh hitam (*Camellia sinensis*), *Jurnal Teknologi Pertanian*, 24(1), 35–44. <https://doi.org/10.21776/ub.jtp.2023.024.01.4>
- Venetikidou, M., Lykartsi, E., Adamantidi, T., Prokopiou, V., Ofrydopoulou, A., Letsiou, S., & Tsoupras, A. (2025). Proteolytic Enzyme Activities of Bromelain, Ficin, and Papain from Fruit By-Products and Potential Applications in Sustainable and Functional Cosmetics for Skincare. *Applied Sciences (Switzerland)*, 15(5), 1–39. <https://doi.org/10.3390/app15052637>
- Yuniarti, T., Prayudi, A., Supenti, L., Suhrawardan, H., Martosuyono, P. (2021) Produksi dan profil kimia hidrolisat protein dari hasil samping pengolahan udang segar, *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*, 23(1), 63. <https://doi.org/10.22146/jfs.59906>
- Zhu, Y., Lao, F., Pan, X., & Wu, J. (2022). Food Protein-Derived Antioxidant Peptides: Molecular Mechanism, Stability and Bioavailability. *Biomolecules*, 12(11). <https://doi.org/10.3390/biom12111622>
- Zou, T. Bin, He, T. P., Li, H. Bin, Tang, H. W., & Xia, E. Q. (2016) The structure-activity relationship of the antioxidant peptides from natural proteins, *Molecules*, 21(1), 72.