



BERKALA PERIKANAN TERUBUK

Journal homepage: <https://terubuk.ejournal.unri.ac.id/index.php/JT>

ISSN Printed: 0126-4265

ISSN Online: 2654-2714

Utilization Of Alcalase Enzyme In The Production Of Malong Fish Protein Hydrolysate (Congresox Talabon) As An α -Glucosidase Enzyme Inhibitor

Pemanfaatan Enzim Alcalase Pada Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Malong (*Congresox talabon*) Sebagai Inhibitor Enzim α -Glukosidase

Sulastri^{1*}, Rahman Karnila¹, Bustari Hasan¹

¹Kekhususan Teknologi Hasil Perikanan Magister Ilmu Kelautan, Pascasarjana Universitas Riau, Jl. HR. Soebrantas km 12,5 Simpang Baru, Tampan, Kota Pekanbaru, Riau, 28293

1. PENDAHULUAN

INFORMASI ARTIKEL

Diterima: 16 Januari 2023

Keywords:
 α -glucosidase enzyme,
amino acids,
antioxidants

ABSTRACT

This study aims to determine the best protein hydrolyzate from the enzymatic hydrolysis process of malong fish (*Congresox talabon*) using different concentrations of the alcalase enzyme. The hydrolysis process was carried out at concentrations of 1.5, 2.0, and 2.5% (w/v protein) at 55°C, pH 7.5, and hydrolysis time of 2 hours. The parameters measured included the degree of hydrolysis, yield, protein analysis using the Lowry method, antioxidants, then protein hydrolyzate with the best concentration was analyzed for total amino acids, and α -glucosidase enzyme inhibitors. The results showed the use of alcalase enzymes with a concentration of 2.5% (w/v); temperature 55°C; pH 7.5; and hydrolysis time of 2 hours is the best treatment which has a yield value of 59.04%, the optimum degree of hydrolysis is 91.58% with an IC₅₀ value of <50 ppm which is 43.95 ppm. The dominant amino acid content is glutamate and leucine, and is able to inhibit the action of the α -glucosidase enzyme at a concentration of 10000 ppm (1.04%).

* Corresponding author.

E-mail address: sulast293@gmail.com

Ikan malong (*Congresox talabon*) merupakan salah satu jenis ikan demersal yang memiliki nilai ekonomis yang penting dan memberikan kontribusi besar dalam jumlah tangkapan ikan di Kabupaten Bengkalis. Ikan malong hasil tangkapan nelayan biasanya tidak dalam kondisi utuh, karena gelembung renang (*lupe*) sudah diambil untuk dijual dalam keadaan kering dengan harga yang cukup tinggi di pasaran, sehingga biasanya yang dimanfaatkan hanya gelembung renangnya saja, sehingga daging ikan malong kurang termanfaatkan.

Daging ikan malong memiliki nilai gizi yang cukup tinggi terutama kandungan protein. Menurut Laksono *et al.*, (2019) kadar protein ikan malong yaitu sebesar 12,27% dalam basis basah. Kadar protein yang cukup tinggi pada daging ikan malong tersebut dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku dalam pembuatan hidrolisat protein ikan.

Hidrolisat protein merupakan produk hasil hidrolisis protein yang prinsip pembuatannya adalah pemutusan ikatan peptida pada protein menggunakan enzim (Karnila, 2012). Hidrolisis protein dapat dilakukan secara kimia, termal, fermentasi, dan enzimatik (Samanarayaka *et al.*, 2011). Hidrolisis secara enzimatik lebih banyak digunakan karena lebih mudah dikontrol dan tidak merusak struktur asam amino serta aman untuk produk pangan (Kim, 2013). Enzim yang digunakan dapat berasal dari mikroba (*alcalase*), hewan (*pepsin*, *trypsin*), dan tumbuhan (*papain*, *bromelin*) (Onuh *et al.*, 2015).

Enzim yang bekerja sebagai katalis dalam hidrolisis protein disebut enzim proteolitik atau protease. *Alcalase* adalah enzim yang tersedia secara komersial yang telah banyak digunakan dalam produksi protein hidrolisat. Enzim *alcalase* bekerja aktif pada pH 6,5-8,5 dan pada suhu 45-65°C, dengan aktivitas maksimum pada suhu 50-60°C (National Centre for Biotechnology Education, 2016). Salwanee *et al.*, (2013) menyatakan bahwa *alcalase* merupakan enzim yang stabil pada suhu tinggi (50°C) dan mempunyai pH optimal (pH 8,5), sehingga dapat meminimalkan pertumbuhan mikroorganisme selama proses hidrolisis.

Menurut Amalia (2007), bahwa semakin besar penambahan enzim akan menunjukkan penurunan pada presipitat. Hal ini menunjukkan bahwa semakin meningkat konsentrasi enzim maka semakin sedikit sisa padatan yang dihasilkan. Berdasarkan penjelasan diatas, penulis tertarik untuk meneliti penggunaan konsentrasi enzim *alcalase* berbeda dalam pembuatan hidrolisat protein ikan malong (*Muraenesox cinereus*) sehingga menghasilkan hidrolisat protein terbaik.

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan gejala hiperglikemia sebagai akibat gangguan sekresi insulin atau meningkatnya resistensi sel terhadap insulin. Aktivitas antidiabetes suatu bahan dapat diukur dengan in vivo dan in vitro. Pengukuran secara in vivo dapat menggunakan manusia (Bajorek and Morello, 2010; Setiawan *et al.* 2011) atau hewan coba (Lee *et al.* 2010; Lee and Jeon, 2013; Roy *et al.*, 2011; Ortiz-Andrade *et al.* 2008), sedangkan secara in vitro dapat menggunakan enzim pencernaan karbohidrat seperti α -amilase atau α -glukosidase (Andrade-Cetto *et al.* 2008; Nagarani dan Kumaraguru, 2013; Kim *et al.* 2014; Lakshmanasenthil *et al.* 2014).

Enzim α -glukosidase adalah enzim yang berperan pada konversi karbohidrat (oligosakarida) menjadi glukosa. Karbohidrat akan dicerna oleh enzim di dalam mulut dan usus menjadi gula yang lebih sederhana kemudian akan diserap ke dalam tubuh dan meningkatkan kadar gula darah. Proses pencernaan karbohidrat tersebut menyebabkan pankreas melepaskan enzim α -glukosidase ke dalam usus yang akan mencerna karbohidrat menjadi oligosakarida yang kemudian akan diubah lagi menjadi glukosa oleh enzim α -glukosidase yang dikeluarkan oleh sel-sel usus halus yang kemudian akan diserap ke dalam tubuh. Dengan dihambatnya kerja enzim α -glukosidase, kadar glukosa dalam darah dapat dikembalikan dalam batas normal (Bosenberg, 2008). Penelitian ini dilakukan untuk mengkaji susunan asam amino dan potensi hidrolisat protein ikan malong yang mampu berperan dalam menghambat enzim α -glukosidase sebagai pemecah karbohidrat menjadi glukosa.

2. METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah ikan malong (*Congresox talabon*) yang diperoleh dari nelayan Bengkalis dan enzim *alcalase*. Bahan kimia yang digunakan adalah buffer fosfat, aquades, H_2SO_4 , NaOH, nessler, $CuSO_4$, methyl red, dan larutan chloroform. Bahan kimia untuk pengujian aktivitas antioksidan antara lain: larutan buffer asetat, larutan TPTZ, $FeCl_3$, $6H_2O$. Bahan kimia untuk pengujian inhibitor α -glukosidase antara lain: DMSO, larutan buffer fosfat p-NPG, Na_2CO_3 , α -glukosidase. Bahan habis pakai antara lain kertas label, tisu, dan sarung tangan.

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik, pH meter, mortar, *spectrofotometer*, waterbath, sentrifuse, inkubator, erlenmeyer, pipet tetes, cawan porselen, desikator,

labu Kjedahl, hot plate, dan freeze drayer.

Preparasi dan Pembuatan Tepung

Ikan malong yang digunakan diperoleh dari Kabupaten Bengkalis. Ikan malong segar yang digunakan dibersihkan dan dipisahkan antara daging dan bagian tubuh lainnya (tulang, kulit, dan jeroan), kemudian daging ikan ditimbang dan dipotong-potong kecil. Daging ikan yang sudah dipotong kecil kemudian dimasukkan dalam Beaker glass lalu dikukus menggunakan waterbath dengan suhu 55-60°C selama 20 menit, kemudian dimasukkan kedalam inkubator dengan suhu 50°C sampai ikan kering. Daging ikan yang sudah kering dihaluskan menggunakan blender dan kemudian diayak.

Pembuatan Hidrolisat Protein Ikan Malong

Pembuatan hidrolisat protein dilakukan dengan menggunakan metode Liu dan Chiang (2008). Tepung ikan malong ditimbang sebanyak 1 gram ditambahkan larutan buffer fosfat dengan pH 7,5 sebanyak 3 ml dengan perbandingan 1:3 (b/v) dan dilakukan homogenisasi selama 10 menit, kemudian penambahan enzim *alcalase* yang di homogenisasi selama 5 menit. Setelah homogen dilakukan proses hidrolisis dengan konsentrasi enzim *alcalase* A₁ (1,5%), A₂ (2,0%), A₃ (2,5%), selama 2 jam pada suhu 55°C. Selanjutnya dilakukan penginaktivasian enzim pada suhu 85°C selama 15 menit. Setelah proses hidrolisis selesai, dilanjutkan dengan pemisahan supernatan (fasa cair) dari presipitat (residu) menggunakan sentrifugasi (10.000 rpm selama 15 menit). Hidrolisat cair dilakukan pengeringan menggunakan *freeze drying*, hidrolisat padat yang diperoleh dilakukan analisis kadar protein Lowry, rendemen, derajat hidrolisis, dan antioksidan.

Analisis Derajat Hidrolisis

Derajat hidrolisis dihitung menggunakan metode Amiza *et al.*, (2012). Derajat hidrolisis dihitung berdasarkan persentase rasio Trichloroacetic acid (TCA). Sampel hidrolisat sebanyak 20 mL dan ditambahkan TCA 20% (b/v) sebanyak 20 mL. Campuran tersebut didiamkan selama kurang lebih 30 menit agar terjadi endapan, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10000 ppm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh dianalisis kadar nitrogennya menggunakan metode Kjeldahl (AOAC, 2005). Derajat hidrolisis dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ hidrolisis} = \frac{\text{Nitrogen yang terlarut dalam TCA 20\%}}{\text{nitrogen total sampel}} \times 100\%$$

Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dari hasil fraksi dapat dilakukan dengan metode DPPH (1, 1-difenil-2-pikrilhidrazil). Aktivitas antioksidan dapat ditentukan oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Hambatan (inhibisi)} = \frac{(A \text{ kontrol} - A \text{ sampel})}{A \text{ kontrol}} \times 100\%$$

Uji Inhibitor Enzim α -glukosidase

Analisis penghambatan enzim α -glukosidase dilakukan dengan metode Mayur *et al.*, (2010). Campuran pereaksi yang digunakan dalam uji ini mengandung 50 μ L fosfat buffer 0.1 M (pH 7.0), 25 μ L 4-nitrophenyl α -D-glukopyranoside 0.5 mM, 10 μ L sampel uji pada berbagai konsentrasi (50-1000 ppm) dan 25 μ L larutan α -glukosidase (0.2 unit/mL). Campuran reaksi ini diinkubasi pada 37°C selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan menambahkan 100 μ L larutan sodium carbonate 0.2 M. Hidrolisis enzimatik substrat dimonitor oleh jumlah p-nitrophenol yang dilepas di dalam campuran reaksi pada 410 nm menggunakan spektrofotometer Shimadzu UV-160. Blanko individu dipersiapkan untuk mengoreksi absorbansi background dimana enzim digantikan dengan buffer. Kontrol menggunakan pelarut (air atau etanol) menggunakan sampel. Acarbose digunakan sebagai kontrol positif. Seluruh eksperimen dilakukan dalam triplo. Persentase inhibisi dari α -glukosidase didapatkan dengan formula berikut :

$$\% \text{ inhibisi} = [1 - (\text{Abs sampel} / \text{Abs kontrol})] \times 100$$

Analisis Data

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan grafik, dan dianalisis secara statistik

dengan analisis variansi (anava). Berdasarkan analisis variansi, jika $F\text{-hitung} < F\text{-tabel}$ pada tingkat kepercayaan 99% maka hipotesis diterima. Jika $F\text{-hitung} > F\text{-tabel}$ pada tingkat kepercayaan 99% maka hipotesis ditolak, kemudian dilakukan uji lanjut BNJ dan BNT.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik dan Rendemen Tepung Ikan Malong

Tepung daging ikan malong yang dihasilkan yaitu berwarna kuning kecoklatan dikarenakan adanya proses *browning* pada saat pemasakan menggunakan suhu tinggi (45°C). Warna tepung ikan yang baik yaitu memiliki warna terang dan cokelat muda (Assaad *et al.*, 2015). *Browning reaction* (reaksi pencokelatan) dapat terjadi pada bahan baku yang mengandung kadar protein tinggi yang dipanaskan pada suhu lebih dari 35°C dan warna cokelat tersebut berasal dari kandungan proteinnya (Haryati *et al.*, 2006). Tekstur dari tepung ikan dapat dipengaruhi oleh adanya proses pemanasan sehingga akan menghasilkan tepung ikan yang bertekstur kering, partikel seragam dan halus (Mardiana dan Fatmawati, 2014). Wirawan *et al.*, (2018) menyatakan bahwa tekstur tepung ikan yang baik yaitu bertekstur kering, halus dan tidak menggumpal.

Rendemen tepung yang diperoleh adalah sebesar 93,51%, rendemen tepung pada penelitian ini tergolong tinggi disebabkan oleh suhu dan waktu pengeringan yang tepat sehingga air pada daging dapat menguap dengan baik. Selain itu, daging kering tidak terlalu banyak meninggalkan daging yang tidak lolos penyaringan pada proses pengayakan. Hal ini sesuai dengan pernyataan Fatmawati dan Mardiana (2014) bahwa tinggi atau rendahnya rendemen pada produk tepung ikan dapat dipengaruhi oleh penanganan pada saat penggilingan, pengayakan, dan tingkat kesegaran ikan yang diolah. Sehingga semakin tinggi rendemen yang dihasilkan semakin menguntungkan dari segi ekonomi (Karnila, 2012).

Komposisi Kimia Daging dan Tepung Ikan Malong

Daging ikan yang sudah dibersihkan dan dipotong kecil dilakukan proses pengeringan untuk dijadikan tepung. Hasil analisis kimia daging dan tepung ikan malong disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis kimia daging dan tepung ikan malong

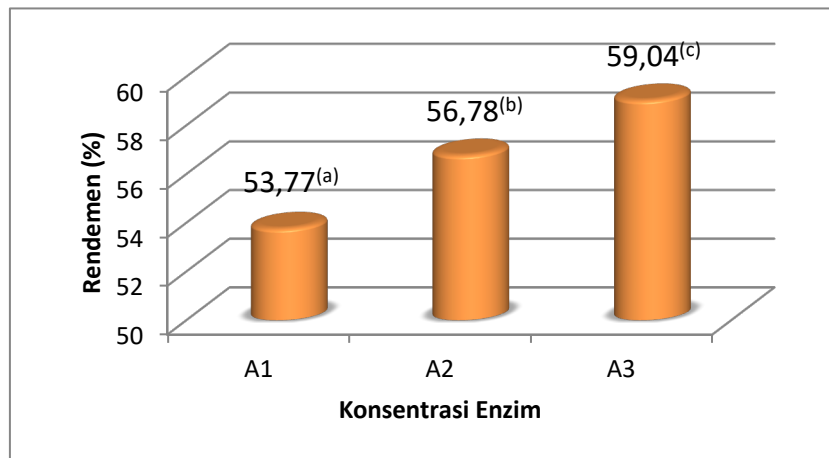
Komposisi kimia	Daging	Tepung
Air (bb)	72,98 ± 0,02	8,16 ± 0,14
Abu (bk)	0,87 ± 0,06	4,62 ± 0,07
Protein (bk)	60,05 ± 0,04	54,78 ± 0,10
Lemak (bk)	0,12 ± 0,06	1,76 ± 0,19
Karbohidrat (<i>by different</i>)	38,96 ± 0,59	38,84 ± 0,49

Tabel 1 menunjukkan kadar protein pada daging ikan malong adalah sebesar 60,05% yang tergolong cukup tinggi dan berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai bahan pangan, antioksidan, dan antidiabetes. Pengolahan dengan suhu yang rendah mampu mengurangi kerusakan pada protein, setelah proses pengeringan menjadi tepung kadar protein yang dihasilkan yaitu sebesar 54,78%.

Daging yang sudah diolah menjadi tepung jumlah proteinnya sedikit menurun disebabkan karena pada saat proses pengeringan kandungan protein pada bahan mengalami denaturasi. Denaturasi yang diinduksi panas disebabkan pembentukan atau perubahan sifat fungsional protein (Estiasih dan Ahmad, 2011). Hal ini didukung oleh Winarno (2008), bahwa denaturasi protein dapat dilakukan dengan berbagai cara yaitu panas, pH, bahan kimia, mekanik dan sebagainya. Jumlah protein pada tepung ikan malong ini termasuk tinggi dan cukup baik untuk dijadikan produk hidrolisat protein ikan.

Rendemen Hidrolisat Protein Ikan Malong

Hasil perhitungan rendemen hidrolisat protein ikan malong dapat dilihat pada Gambar 1.



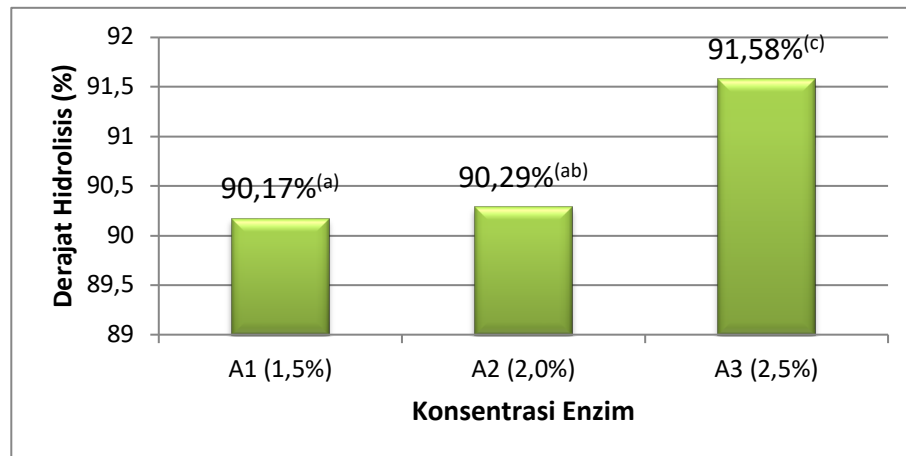
Gambar 1. Nilai rata-rata rendemen hidrolisat protein ikan malon

Gambar 1 menunjukkan perbedaan nilai rata-rata rendemen yang dihasilkan, nilai tertinggi yaitu pada perlakuan A₃ sebesar 59,04%. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa konsentrasi enzim alcalase berpengaruh sangat nyata terhadap nilai rendemen hidrolisat protein ikan malong yang dihasilkan. Hasil uji lanjut duncan menunjukkan bahwa A₁ berbeda sangat nyata dengan A₂ dan A₃.

Konsentrasi enzim, pH, suhu, dan waktu hidrolisis dapat mempengaruhi jumlah rendemen yang dihasilkan. Karnila (2012) menyatakan bahwa penggunaan enzim pada proses hidrolisis dapat menghasilkan nilai rendemen yang cukup tinggi.

Derajat Hidrolisis

Nilai rata-rata derajat hidrolisis hidrolisat protein ikan malong menggunakan enzim alcalase berbeda dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Nilai rata-rata derajat hidrolisis hidrolisat protein ikan malong dengan konsentrasi enzim alcalase berbeda.

Gambar 2 menunjukkan bahwa perbedaan nilai derajat hidrolisis pada setiap konsentrasi enzim alcalase yang digunakan. Konsentrasi enzim alcalase pada perlakuan 3 yaitu 2,5% merupakan nilai yang optimum pada hidrolisis protein ikan malong dengan nilai sebesar 91,58%. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa konsentrasi enzim alcalase yang digunakan berpengaruh sangat nyata terhadap derajat hidrolisis yang dihasilkan. Hasil uji lanjut duncan menunjukkan bahwa A₁ berbeda sangat nyata dengan A₃, tetapi tidak berbeda nyata dengan A₂.

Persentase derajat hidrolisis pada penelitian ini semakin tinggi dengan meningkatnya konsentrasi enzim yang digunakan yang menunjukkan bahwa proses hidrolisis protein yang berlangsung semakin baik. Hasnaliza *et al*, (2010) menyatakan bahwa meningkatnya derajat hidrolisis

disebabkan oleh peningkatan peptida dan asam amino yang terlarut dalam TCA akibat dari pemutusan ikatan peptida selama proses hidrolisis. Menurut Nurhayati *et al.* (2013) semakin tinggi konsentrasi enzim yang digunakan maka nilai derajat hidrolisis pada hidrolisat protein akan semakin meningkat. Namun nilai tersebut akan cenderung tetap atau tidak mengalami perubahan pada konsentrasi tertentu.

Protein Metode Lowry

Protein merupakan senyawa yang terbentuk dari asam-asam amino yang berikatan peptida, yang berfungsi sebagai zat pembangungan pengatur dalam tubuh. Hasil perhitungan kadar protein lowry dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai kadar protein lowry hidrolisat protein ikan malong

Perlakuan	Ulangan			Rata-rata
	1	2	3	
A ₁	83,7769	83,7821	83,7921	83.7837 ^a
A ₂	83,9226	84,0719	84,1797	84,0581 ^b
A ₃	84,7678	84,9433	85,0882	84,9331 ^c

Tabel 2 menunjukkan perbedaan nilai kadar protein metode lowry pada setiap konsentrasi enzim alcalase yang digunakan. Hasil analisis variansi menunjukkan bahwa konsentrasi enzim alcalase berbeda sangat nyata terhadap nilai protein lowry ($p < 0,01$). Hasil uji lanjut duncan menunjukkan nilai A₁ berbeda sangat nyata dengan A₂ dan A₃.

Selama proses hidrolisis terjadi konversi protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut. Protein yang terkandung pada produk hidrolisat ini adalah protein terlarut, sedangkan protein tidak terlarut sudah terbuang pada saat sentrifuse. Menurut Purbasari (2008), peningkatan kandungan protein dalam produk hidrolisat disebabkan selama proses hidrolisis terjadi konversi protein yang bersifat tidak larut menjadi senyawa nitrogen yang bersifat larut, selanjutnya terurai menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana seperti peptida dan asam amino sehingga mudah diserap oleh tubuh.

Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein ikan Malong

Aktivitas antioksidan pada hidrolisat protein ikan malong dilakukan pengujian menggunakan metode DDPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) dengan konsentrasi 1000, 500, 250, 125, dan 65.5 ppm. Hasil pengujian aktivitas antioksidan pada asam askorbat dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata aktivitas antioksidan pada hidrolisat protein ikan malong

Kode Sampel	IC ₅₀	Hasil	Kategori (asumsi)
A ₁	211,0288	209,91 ± 1,014 ^c	Sedang
	209,0490		
	209,6609		
A ₂	59,9032	59,73 ± 0,599 ^b	Kuat
	59,0687		
	60,2310		
A ₃	43,2298	43,95 ± 0,828 ^a	Sangat kuat
	44,8555		
	43,7691		
Asam askorbat (Standart)		19,3241	Sangat kuat

Tabel 3 menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ tertinggi dihasilkan oleh perlakuan A₁ yaitu sebesar 209,9129 ppm, dan nilai IC₅₀ terendah terdapat pada perlakuan A₃ sebesar 43,9515 ppm. Berdasarkan analisis variansi menunjukkan bahwa konsentrasi enzim alcalase berbeda berpengaruh sangat nyata terhadap aktivitas antioksidan dimana F hitung (36441,54) > F tabel (10,92), maka H₀ ditolak pada tingkat kepercayaan 99%, untuk mengetahui perlakuan mana yang berbeda maka dilanjutkan dengan

uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ).

Antioksidan dapat dikatakan sangat kuat apabila nilai $IC_{50} < 50$ ppm. Kuat apabila apabila nilai IC_{50} 50-100 ppm. Memiliki nilai sedang apabila nilai IC_{50} 101-250 ppm. Lemah apabila memiliki nilai IC_{50} sebesar 251- 500 ppm, dan sangat lemah/tidak aktif apabila memiliki nilai $IC_{50} > 500$ ppm (Jacoeb *et al.*, 2011).

Jenis dan Kadar Asam Amino Total

Hasil analisis komposisi asam amino dengan aktivitas antioksidan tertinggi yang diproduksi dengan menggunakan enzim 2,5% dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Asam amino hidrolisat protein ikan malong

Asam Amino Esensial	Persentase%	Asam Amino Non Esensial	Persentase%
Arginin	1,55	Alanin	1,53
Fenilalanin	1,52	Asam Aspartat	5,29
Histidin	2,25	Asam Glutamat	7,54
Isoleusin	1,72	Glisin	1,65
Leusin	3,85	Prolin	2,44
Lisin	2,72	Serin	1,28
Metionin	2,27	Sistein	1,41
Treonin	2,42	Tirosin	1,64
Valin	1,31		

Tabel 4 menunjukkan kandungan asam amino esensial tertinggi pada hidrolisat protein ikan malong yaitu leusin (3,85%), Karnila (2012) menyatakan jenis asam amino leusin, arginin, lisin, alanin, fenilalanin, isoleusin dan metionin mampu mengontrol kadar glukosa dalam darah dengan cara penghambatan terhadap enzim α -glukosidase.

Kadar asam amino non esensial tertinggi adalah asam glutamat (7,54%). Asam amino non esensial seperti glutamat dan aspartat mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat karena kemampuannya untuk mendonorkan kelebihan elektronnya dalam reaksi radikal bebas (He *et al.*, 2013). Asam glutamat merupakan asam yang paling banyak terdapat dalam produk perikanan, asam glutamat dan aspaertat dapat memberikan cita rasa pada *seafood* (Uju *et al.*, 2009).

Aktivitas Penghambatan Enzim α -Glukosidase

Hasil pengujian aktivitas penghambatan enzim α -glukosidase pada hidrolisat protein ikan malong disajikan pada Tabel 5.

Konsentrasi (ppm)	%inhibisi HPI	%inhibisi Acarbose
1000	-0.61	37.91
2500	-0.68	55.56
5000	-0.50	69.16
7500	0.65	88.77
10000	1.04	96.38

Tabel 5 menunjukkan hidrolisat protein ikan malong mempunyai daya hambat tertinggi 1.04% pada konsentrasi 10000 ppm, pada konsentrasi 1000 ppm (-0.61%), konsentrasi 2500 ppm (-0.68%), konsentrasi 5000 ppm (-0.50%), dan pada konsentrasi 7500 ppm (0.65%). Meskipun persen penghambatan tidak tinggi, akan tetapi ada peningkatan daya hambat dimulai pada konsentrasi 7500 ppm dan 10000 ppm. Sehingga adanya kemungkinan apabila semakin tinggi konsentrasi akan semakin besar persen penghambatan terhadap aktivitas enzim α -glukosidase.

Acarbose sebagai kontrol positif memiliki kemampuan penghambatan yang lebih besar dibandingkan hidrolisat protein ikan malong yaitu 96,38% pada konsentrasi 10000 ppm, 88,77% (7500 ppm), 69.16% (5000 ppm), 55.56% (2500 ppm), dan 37.91% (1000 ppm). Acarbose sebagai inhibitor enzim α -glukosidase memiliki nilai penghambatan yang tinggi karena merupakan inhibitor enzim α -glukosidase yang bekerja secara khusus terhadap pemasukan glukosa.

Li *et al.*, (2004) menyatakan bahwa beberapa asam amino penyusun protein maupun peptida seperti triptopan, fenilalanin, tirosin atau prolin pada C-terminal, dan asam amino alifatik bercabang seperti alanin, valin, isoleusin dan leusin memiliki kemampuan sebagai inhibitor suatu enzim, seperti

yang telah dicobakan pada enzim *Angiotensin I-Converting Enzyme*. Hasil penelitian uji daya hambat enzim α -glukosidase pada hidrolisat protein ikan malong menunjukkan adanya daya hambat terhadap enzim α -glukosidase.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Penggunaan enzim alcalse dengan konsentrasi 2,5% (b/v); suhu 55°C; pH 7,5; dan waktu hidrolisis selama 2 jam merupakan perlakuan terbaik yang memiliki nilai rendemen sebesar 59,04%, nilai derajat hidrolisis yang optimum yaitu sebesar 91,58% dengan nilai $IC_{50} < 50$ ppm yaitu 43,95 ppm yang menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Memiliki kandungan asam amino yang dominan yaitu glutamat sebesar 7,54% yang merupakan asam amino non esensial, sedangkan asam amino esensial tertinggi yaitu leusin sebesar 3,85% yang mampu mengontrol kadar glukosa dalam darah. Hidrolisat protein ikan malong mulai menghambat kerja enzim α -glukosidase pada konsentrasi 7500 ppm (0,65%) meskipun persen penghambatan tidak cukup tinggi, akan tetapi ada peningkatan daya hambat dimulai pada konsentrasi 10000 ppm (1,04%).

Saran

Perlu dilakukan kajian lebih lanjut mengenai pengemasan dan toksisitas hidrolisat protein ikan malong sehingga mampu dijadikan produk berkualitas yang dapat dikonsumsi penderita diabetes mellitus untuk menurunkan kadar gula darah, selain itu perlu dilakukan pengujian lebih lanjut daya hipoglikemik hidrolisat protein ikan malong pada tikus percobaan.

5. DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. Official methods of analysis of the association of official analytical chemist. Arlington, Virginia USA : AOAC Inc.
- Amalia, E. 2007. Pemanfaatan Kerang Hijau (*Mytilus Viridis*) dalam Pembuatan Hidrolisat Protein Menggunakan Enzim Papain. Sripsi. Program studi teknologi hasil perikanan. Fakultas perikanan dan ilmu kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Amiza, M. A., Kong, Y. L., and Faazaz. 2012. Effect of hydrolysis on physicochemical properties of cobia (*Rachycentron canadum*) frame hydrolysate. *Journal International Food Research*, 19 (1): 199-206.
- Andrade-Cetto, A. Bicerria-Jimenez, J. Cardenaz-Vazquez, R. 2008. Alfa-glucosidase Inhibiting activity of some Mexican Plants used in the treatment of type 2 diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. 116. 27-32.
- Bajorek, S. A., Morello, C. M., 2010. Effects of dietary fiber and low glycemic index diet on glucose control in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Annals of Pharmacother* 44 (11):1786-1792.
- Bosenberg, L. H., 2008. The Mechanism of Action of Oral Antidiabetic Drugs: a Review of Recent Literature, *The Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South Africa*, 13(3): 80-88.
- Fatmawati dan Mardiana. 2014. Tepung ikan gabus sebagai sumber protein (Food Supplement). *Jurnal Bionature* 15(1):54-60.
- Hasnaliza H. 2010. The effects of enzyme concentration, temperature, and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water. *International Food Research Journal*. 17: 147-152.
- Haryati, S dan Agustini, T.W. 2006. The Effect of Different Substitution Meals to Physical and Chemical Quality of Instant Noodles. *Journal of Control Development*, 11 (1):20-30
- He, R., Girgih, A.T., Malomo, S. A, Ju, X. R, Aluko, R.E. 2013. Antioxidant activities of enzymatic rapeseed protein hydrolysates and the membrane ultrafiltration fraction. *Journal of Functional Food*. 5(1): 219-227.

- Jacob M, Purwaningsih S, dan Rinto. 2011. Anatomi, komponen bioaktif dan aktivitas antioksidan daun mangrove api-api (*Avicenia marina*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 14(2): 141- 150.
- Karnila, R. 2012. Daya Hipoglikemik Hidrolisat, Konsentrat, dan Isolat Protein Teripang Pasir (*Holothuria scabra* j.) pada Tikus Percobaan. [Disertasi]. Bogor : Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Kim, E. K. 2013. *Marine Protein and Peptides, Biological Activities*, Oxford (UK):John Wiley and Sons.
- Laksono, U. T., Nurhayati, T., Suptijah, P., Nur'aenah, N., dan Nugroho, T. S. 2019. Karakteristik Ikan Malong (*Muraenesox cinerus*) sebagai Bahan Baku Pengembangan Produk Diversifikasi. *JPHPI*, 22(1): 60- 70.
- Lakshmanasenthil, S., Vinothkumar, T., Geetharamani, D., Marudhupandi, T., Suja, G., Sindhu, N. S. 2014. Fucoidan—a novel α -amylase inhibitor from *Turbinaria ornata* with relevance to NIDDM therapy. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 3(3):66–70.
- Lee, S. H., Park, M., Heo, S. J., Kang, S. M., Han, J. S., Jeon, Y. J. 2010. Dieckol isolated from *Ecklonia cava* inhibits α -glucosidase and α -amylase in vitro and alleviates postprandial hyperglycemia in streptozotocininduced diabetic mice. *Food and Chemical Toxicology* 48(10):2633– 2637.
- Lee, S. H., Jeon, Y. J. 2013. Anti-diabetic effects of brown algae derived phlorotannins, marine polyphenols through diverse mechanisms. *Fitoterapia* 86:129–136.
- Li G, Le G, Shi Y, Shrestha S. 2004. Angiotensin i-converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins and their physiological and pharmacological effects. *Nutr Res* 24:469-486.
- Liu Z, Jeppesen PB, Gregersen S, Chen X, Hermansen K. 2008. Dose and glucose dependent effects of amino acids on insulin secretion from isolated mouse islets and clonal INS-1E beta-cells. *Rev Diab Studies* 5(4): 232-244.
- Mayur, B., Sandesh, S., Shruti, S., Sung-Yum, S. 2010. Antioxidant and Alfa-glucosidase inhibitory properties of *Carpesium Abrotanoides* L. *J Med Plants Res* 4: 1547-1553. DOI: 10.5897/JMPR10.210.
- Nagarani, N., Kumaraguru, A. K. 2013. Evaluation of imflamatory, antidiabetic, cytotoxic activity of *Kappahycus alvarezii*. *International Journal Pharmacy Biology Science* 4(1): 921 – 929.
- Nurhayati T, Nurjanah, Sanapi CH. 2013. Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*). *J. Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. Vol. 16, No. 3 Tahun 2013.
- Onuh, J. O. 2015. Antihypertensive and Antioxidant Properties of Chikcen Skin Protein Hydrolysates: In vivo, in vitro, and metabolomic studies. Thesis. Faculty Of Grdauate Studies, The University of Manitoba.
- Ortiz-Andrade, R. R., Sa´nchez-Salgado, J. C., Navarrete-Va´zquez, G., Webster, S. P., Binnie, M., Garcý´a-Jime´nez, S., Leo´n-Rivera, I., Cigarroa-Va´zquez, P., Villalobos-Molina, R., Estrada-Soto, S. 2008. Antidiabetic and toxicological evaluations of naringenin in normoglycaemic and NIDDM rat models and its implications on extra-pancreatic glucose regulation. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 1(1) :1-8.
- Purbasari, D. 2008. Produksi dan Karakterisasi Hidrolisat Protein Dari Kerang Mas Ngur (*Atactodea striata*).[Skripsi]. Program Studi Teknologi Hasil Perikanan,Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, InstitutPertanian Bogor, Bogor.
- Roy, M. C., Anguenot, R., Fillion, C., Beaulieu, M., Bérubé, J., Richard, D. 2011. Effect of a commercially-available algal phlorotannins extract on digestive enzymes and carbohydrate absorption in vivo. *Food Research International* 44 (9):3026–3029.
- Salweenee, S., Wan, A. W. M., Mamot, S., maskat, M. Y., dan Ibrahim, S. 2013. Effect of enzyme concentration, temprature, pH, and Time on the degree of hidrolysis of protein extract from

- fishcera tuna (*Euthynnus affinis*) by using alcalase. *Sains Malaysiana* 42(3): 279-287.
- Samanarayaka, E. G. P., and Li-Chan, E. C. Y. 2011. Food-derived peptidic antioxidant: a review of their production, assesment and potential applications. *Journal of Functional Food*. 3:229-254.
- Uju, T., Nurhayati, B. Ibrahim, W. Trilaksani & M. Siburian. 2009. Karakterisasi dan recovery protein dari air cucian minced fish dengan membran reverse osmosis. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 12 (2) :115-127.
- Winarno, F. G. 2008. Kimia pangan dan gizi. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta. 112 hlm.