

Aktivitas Enzim Protease dan Lipase Viscera Ikan Kembung (*Restrelliger sp*) pada pH Dan Konsentrasi Garam Berbeda

Bustari Hasan¹⁾, Desmelati¹⁾, Dian Iriani¹⁾, Titania Nugroho²⁾
M. Andesba Arifin³⁾, Andhra Syatapahana³⁾

Diterima : 5 Februari 2015 Disetujui: 28 Maret 2015

ABSTRACT

This research was conducted to measure the activity of visceral protease and lipase of mackerel (*Rastrelliger sp*) at different pH and salt concentration. Mackerel, weighing ± 150 g/each were obtained from a fish market in Pekanbaru. Fish were transported to the laboratory; and at the laboratory, the fish were eviscerated and their visceral organs (intestines, kidneys, liver, spleen, cord, pancreas and gonad) were blended in Tris-HCl buffer and filtered for their crude enzyme extract. The protease activity was measured at pH 6, 7, 8, 9, 10 and 11; and lipase activity was measured at pH 2, 3, 4, 5, 5.5, 6, 7, 8, 9, 10 and 11. The protease and lipase activity were also measured at salt concentration 0%, 3%, 6%, 9%, 12% and 15%. The results showed that the protease and lipase activity varies with pH value and salt concentration. Protease activity at pH 11 (1,610 $\mu\text{mol/ml}$) and salt concentration 6% (0,869 $\mu\text{mol/ml}$) showed the highest activity; and pH 10 (0,031 $\mu\text{mol/ml}$) and salt concentration 15% (0,073 $\mu\text{mol/ml}$) was the lowest activity. Lipase activity at pH 4 (2,428 $\mu\text{mol/ml}$) and salt concentration 3% (4,131 $\mu\text{mol/ml}$) was the highest activity; and pH 11 (0,042 $\mu\text{mol/ml}$) and salt concentration 15% (2,237 $\mu\text{mol/ml}$) was the lowest activity. The protease and lipase activity were decreased with the increasing of salt concentration.

Keywords: *protease, lipase, visceral enzyme, mackerel fish*

PENDAHULUAN

Produk perikanan memiliki peranan sangat penting, tidak hanya sebagai sumber protein hewani tetapi juga sebagai sumber enzim dan bioaktif yang memiliki karakteristik dan spesifikasi tertentu yang dapat digunakan dalam berbagai industri. Enzim yang berasal dari hasil perikanan telah banyak digunakan dalam industri, baik pangan maupun non pangan di Indonesia. Penggunaan

enzim tersebut dalam industri pangan misalnya adalah dalam pembuatan keju, dekstrin, gula cair, sari buah, susu, daging, bir dan minyak; dan dalam industri non pangan adalah dalam penyamakan kulit, pembuatan pasta gigi, pembuatan sabun, kosmetika dan farmasi (Nurhasanah, 2006).

Enzim yang berasal dari hasil perikanan telah menarik perhatian para peneliti karena potensi dan keanekaragaman sumber seperti, habitat dan lingkungan yang menghasilkan keragaman sifat dan karakteristik enzim tersebut yang dapat diaplikasikan dalam berbagai industri (Prasertan dan

¹⁾ Staf Pengajar di Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau
²⁾ Staf Pengajar di Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
³⁾ Alumni Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Riau

Prachumratan, 2008). Enzim chymotrypsin yang diisolasi dari ikan kod atlantik (*Gadus morhua*) dan pepsin dari ikan kod (*Breogadus saida*) misalnya telah digunakan dalam produksi keju (Brewer *et al.*, 1984). Enzim trypsin yang diisolasi dari ikan kod (*Gadus agar*) untuk menghasilkan asam amino yang berbeda (Simpson dan Haard, 1984). Aktivitas enzim protease dan lipase yang tinggi juga dilaporkan pada enzim yang diisolasi dari organ dalam ikan tuna oleh Prasertsan dan Prachumratana (2008).

Ikan kembang merupakan salah satu spesies yang tertangkap sepanjang tahun dalam jumlah yang relatif besar di sebagian besar perairan Indonesia. Ikan ini merupakan jenis yang cepat membusuk yang ditandai dengan viscera yang pecah (belly bursting) sehingga harganya relatif murah. Pecahnya viscera ikan ini setelah ditangkap diduga akibat aktivitas enzim viscera ikan tersebut yang tinggi setelah ikan mati (Hasan, 2008). Tingginya aktivitas enzim viscera ikan ini diduga juga sebagai penyebab kenapa jenis ikan tersebut menghasilkan mutu peda yang baik bila diolah menjadi fermentasi peda. Sepengetahuan penulis, belum ada informasi tentang aktivitas enzim protease dan lipase viscera ikan kembang. Berdasarkan alasan tersebut diatas, penulis tertarik meneliti aktivitas enzim protease dan lipase dari viscera ikan kembang untuk mendapatkan data dasar sebagai pemanfaatan enzim tersebut lebih lanjut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas enzim protease dan lipase (viscera) ikan kembang pada pH dan konsentrasi garam berbeda. Penelitian ini

merupakan penelitian awal untuk memperoleh data dasar dalam pemanfaatannya enzim tersebut dalam industri makanan, obat-obatan dan kosmetika.

BAHAN DAN METODE

Sumber Enzim

Seluruh viscera ikan kembang yang terdiri dari usus, hati, jantung, empedu, limpa, pankreas, ginjal dan gonad digunakan sebagai sumber enzim. Ikan kembang (*Rastrelliger* sp) dengan berat ± 150 g ini didapat dari salah satu pasar ikan di Pekanbaru. Kemudian ikan ditransportasikan ke laboratorium lalu disiangi. Seluruh organ viscera (usus, hati, jantung, empedu, limpa, pankreas, ginjal dan gonad) diblender dalam buffer Tris-HCl lalu disaring, sehingga didapatkan ekstrak enzim kasar (*Crude enzym*).

Pengujian Aktivitas Enzim

Aktivitas enzim protease diukur menurut metode modifikasi Hagihara *et al.*, (1958), dimana kasein digunakan sebagai substrat dan Optical Density diukur menggunakan UV-Visibel spectrophotometer pada panjang gelombang 280 nm setelah diinkubasi selama 20 menit pada suhu 37°C.

Aktivitas enzim lipase diukur menurut metode modifikasi Winkler dan Stuckmann (1979) dimana p-nitrophenyl palmitat digunakan sebagai substrat dan Optical Density diukur menggunakan UV-Visibel spectrophotometer pada panjang gelombang 410 nm setelah diinkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C.

Pengaruh Viscera Ikan Kembang pada pH berbeda terhadap Aktifitas Enzim Protease dan Lipase

Untuk pengujian protease, ekstrak enzim kasar ikan kembang yang telah didapat diambil masing-masingnya sebanyak 1 ml untuk pH(6, 7, 8, 9, 10 dan 11) dengan persiapan buffer sebagai berikut: 1 ml larutan casein 1% dimasukan masing-masing dalam larutan buffer citrate-phosphate (1% B/V, 1 gram casein dimasukan dalam 100 ml buffer citrate-phosphate) untuk pH 6; larutan buffer Tris-HCL (1% B/V, 1 gram casein dimasukan dalam 100 ml buffer Tris-HCl) untuk pH 7-9; larutan buffer carbonate-bicarbonate (1% B/V, 1 gram casein dimasukan dalam 100 ml buffer carbonate-bicarbonate) untuk pH 10-11. Lalu ditambahkan masing-masingnya 4 ml trichloroacetid acid 10% dan disaring. Absorban filtrat dibaca dengan menggunakan UV-Visibel spectrophotometer.

Untuk pengujian lipase, supernatan yang telah diambil dari ekstraksi kasar enzim kemudian digunakan dalam penentuan stabilitas pH. Adapun stabilitas pH dari ekstraksi kasar dari enzim lipase ditentukan dari pH 2 - pH 11 (2, 3, 4, 5, 5.5, 6, 7, 8, 9, 10 dan 11). 10 ml isopropanal yang mengandung 3 mg p-nitrophenyl palmitat(substrat) ditambahkan ke dalam 90 ml buffercitrate-phosphate 0,05 M untuk membuat pH 2 s/d 6; buffer Tris-HCL 0,05 M untuk membuat pH 7 s/d 9, dan buffer carbonate-bicarbonate 0,05 M untuk pH 10 s/d 11; dan larutan pada setiap pH ditambahkan 207 mg triton X-100

dan 100mg gum arab dan diaduk sampai homogen. Selanjutnya, untuk setiap tabung sampel ditambahkan 0,1 ml enzim. Absorban filtrat dibaca dengan menggunakan UV-Visibel spectrophotometer.

Pengaruh Viscera Ikan Kembang pada konsentrasi Garam berbeda terhadap Aktifitas Enzim Protease dan Lipase

Ekstraksi kasar yang didapat dari isi perut ikan kembang masing-masing ditambahkan garam dengan konsenstrasi garam yang berbeda 0%, 3%, 6%, 9%, 12% dan 15%, dari berat supernatan yang digunakan; dan selanjutnya diukur aktivitas enzimnya pada pH optimum.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Viscera Ikan Kembang pada pH berbeda terhadap Aktifitas Enzim Protease dan Lipase

Aktivitas enzim protease isi perut ikan kembang pada berbagai pH (6-11) disajikan pada tabel 1, dan aktivitas enzim lipase (pH 2-11) disajikan pada tabel 2. Aktivitas enzim protease dan lipase sangat bervariasi terhadap pH. Uji statistik juga menunjukkan bahwa aktivitas enzim protease juga sangat dipengaruhi oleh pH ($p < 0.05$). Aktivitas enzim tertinggi berlangsung pada pH 11.0 dimana aktivitasnya adalah 1,610 $\mu\text{mol/ml}$; kemudian diikuti oleh pH 7.0, pH 6.0, pH 9.0, pH 8.0 dan pH 10.0, dengan aktivitas enzim berturut-turut adalah 1,388 $\mu\text{mol/ml}$, 0,644 $\mu\text{mol/ml}$, 0,285 $\mu\text{mol/ml}$, 0,176 $\mu\text{mol/ml}$ dan 0,031 $\mu\text{mol/ml}$.

Tabel 1. Aktivitas Enzim Protease pada pH Berbeda

No.	pH	Nilai Aktivitas Enzim Protease ($\mu\text{mol/ml}$)
1	6	0,644 ^d
2	7	1,388 ^e
3	8	0,176 ^b
4	9	0,285 ^c
5	10	0,031 ^a
6	11	1,610 ^f

Ket: Data yang ditandai dengan huruf kecil yang sama berarti tidak berbeda nyata

Enzim protease yang diekstrak dari isi perut ikan kembang memiliki aktivitas yang sangat tinggi, dimana aktivitasnya pada range pH 6-11 berkisar antara 1,610 $\mu\text{mol/ml}$ dan 0,031 $\mu\text{mol/ml}$. Aktivitas enzim protease isi perut ikan kembang ini pada range pH yang sama lebih tinggi dibandingkan dengan protease isi perut ikan tuna skipjack (*Katsuwonus pelamis*), tuna yellow fin (*Thunnus albacores*) dan tuna tonggol (*Thunnus tonggol*) yang aktivitasnya berturut-turut adalah antara 0,00018-0,00090 $\mu\text{mol/ml}$ (Prasertsan dan Prachumratana, 2008).

Aktivitas enzim protease isi perut ikan kembang sangat dipengaruhi oleh pH. Nilai pH optimum aktivitas enzim protease isi perut ikan kembang ini berbeda

dengan pH optimum aktivitas enzim protease yang diekstraksi dari isi perut ikan tuna skipjack, tuna yellow fin dan tuna tonggol yaitu berturut-turut pH 10, 10 dan 9,5 (Prasertsan dan Prachumratana, 2008). Enzim tiga spesies tuna menunjukkan aktivitas protease tertinggi pada pH basa (pH 9,0-10,0). Dalam penelitian sebelumnya ekstraksi protein dalam kondisi basa terutama pada pH 10,0 aktivitas enzim dari jeroan dan saluran pencernaan ikan meningkatkan (Kim *et al.*, 1994). Walau demikian, aktivitas enzim tertinggi dari gaster mukosa cod Polar (*Boreogadus saida*) adalah pada pH 7,3 (Meinke *et al.*, 1972). Hasil jelas menunjukkan bahwa enzim dari jeroan tuna serin protease yang berfungsi terbaik pada pH basa (Shin dan Zall, 1986).

Tabel 2. Aktivitas enzim lipase pada berbagai pH

No.	pH	Nilai Aktivitas enzim ($\mu\text{mol/ml}$)
1	2	2,119 ^e
2	3	2,310 ^f
3	4	2,428 ^g
4	5	1,777 ^d
5	5.5	0,607 ^c
6	6	0,287 ^b
7	7	0,049 ^a
8	8	0,059 ^a
9	9	0,075 ^a
10	10	0,057 ^a
11	11	0,042 ^a

Ket: Data yang ditandai dengan huruf kecil yang sama berarti tidak berbeda nyata

Aktivitas enzim lipase pada pH 2 adalah 2,119 $\mu\text{mol/ml}$. Aktivitas enzim selanjutnya meningkat dengan

peningkatan pH; dan pada pH 4, aktivitas enzim mencapai nilai tertinggi yaitu 2,428 $\mu\text{mol/ml}$.

Aktifitas enzim seterusnya menurun tajam dengan semakin tinggi pH dan nilainya mencapai 0,049 $\mu\text{mol/ml}$ pada pH 7. Aktifitas enzim pada pH 7 tidak berbeda nyata sampai pH 11. Analisis statistik menunjukkan bahwa aktifitas enzim berbeda nyata dari pH 2 sampai pH 7 ($p < 0.05$), akan tetapi aktifitas enzim tidak berbeda nyata dari pH 7 sampai sampai pH 11 ($p > 0.05$).

Enzim lipase yang diektrak dari viscera ikan kembang memiliki aktifitas yang sangat tinggi, dimana aktifitasnya pada range pH 2.0-11.0 berkisar antara 2,428 $\mu\text{mol/ml}$ dan 0,042 $\mu\text{mol/ml}$. Nilai pH optimum aktifitas enzim lipase viscera ikan kembang ini berbeda dengan pH optimum aktifitas enzim lipase yang diekstraksi dari viscera ikan tuna skipjack, tuna yellowfin dan tuna tonggol yaitu berturut-turut pH 10, 10 dan 9.5 (Prasertsan dan Prachumratana, 2008). Shahidi dan Kamil (2001) menyatakan bahwa pH optimum lipase pada ikan dan hasil perikanan pada umumnya berkisar antara pH 7,0 dan 9,0; walaupun demikian terdapat pengecualian pada ikan-ikan tertentu.

Enzim memiliki pH optimum atau rentangan pH untuk aktivitas maksimumnya, aktivitasnya akan menurun pada pH yang lebih rendah atau lebih tinggi. Hal ini disebabkan karena rantai samping beberapa asam amino berperan sebagai asam atau basa lemah yang melakukan fungsi kritis pada sisi aktif enzim (Lehninger, 1998). Garam merupakan senyawa yang mudah terionisasi dalam pelarut polar seperti air dan bersifat hidrofilik. Apabila ditambahkan ke dalam larutan enzim dapat menurunkan aktivitas air, dengan demikian interaksi hidrofobik antara residu asam amino non polar pada molekul protein enzim semakin kuat, sehingga struktur protein enzim menjadi lebih stabil (Scopes, 1987).

Kestabilan enzim berhubungan dengan ketahanan enzim dalam mempertahankan konformasinya terhadap kondisi lingkungan sehingga tidak merubah kedudukan sisi aktif (Lehninger, 1993). Scopes (1987), menyatakan bahwa semakin jauh pH optimum suatu enzim dari kondisi fisiologi suatu organisme, semakin kurang stabil enzim tersebut. Pada kondisi percobaan pendapat bahwa enzim lebih stabil pada pH optimumnya tidak selalu benar, karena aktivitas enzim pada kejenuhan substrat kondisi percobaan tidak sama dengan kondisi fisiologi alamiahnya. Lehninger (1998), menjelaskan turunya aktivitas enzim dengan penambahan NaCl dapat terjadi karena perubahan konformasi protein enzim akibat adanya ion Na^+ dan Cl^- yang berikatan dengan gugus fungsional asam amino sehingga mengubah muatan listriknya. Hal ini dapat mempengaruhi struktur sisi aktif protein sehingga aktivitas enzim menjadi berubah. Aktivitas enzim berhubungan langsung dengan perubahan struktur tersier dari molekul protein enzim.

Faktor lain yang berpengaruh terhadap menurunnya aktivitas enzim ialah tidak tersedianya substrat yang cukup untuk reaksi enzim, perubahan faktor lingkungan seperti pH, ataupun akibat tidak terjadinya sintesis enzim oleh sel (Pelczar *et al.*, 1993, Whitaker, 1994).

Pengaruh Viscera Ikan Kembang pada konsentrasi Garam berbeda terhadap Aktifitas Enzim Protease dan Lipase

Aktivitas enzim protease dan lipase pada konsentrasi garam berbeda (0%-15%) disajikan pada Tabel 3. Aktivitas enzim protease

yang tertinggi sampai yang terendah berturut-turut adalah konsentrasi garam 0%, 6%, 3%, 9%, 12% dan 15% dimana aktivitasnya pada konsentrasi garam tersebut berturut-turut adalah 1,609 $\mu\text{mol/ml}$, 0,869 $\mu\text{mol/ml}$, 0,495 $\mu\text{mol/ml}$, 0,204 $\mu\text{mol/ml}$, 0,134 $\mu\text{mol/ml}$ dan 0,073 $\mu\text{mol/ml}$. Aktivitas enzim protease yang diekstraksi dari isi perut ikan kembang juga dipengaruhi oleh konsentrasi garam. Aktivitas enzim protease maksimal dijumpai pada konsentrasi garam 6%, yaitu 0,869 $\mu\text{mol/ml}$, walaupun aktivitas enzim pada konsentrasi garam 3% juga cukup tinggi yaitu 0,495 $\mu\text{mol/ml}$. Aktivitas enzim protease selanjutnya

semakin turun dengan semakin tingginya konsentrasi garam.

Aktivitas enzim lipase maksimum pada kadar garam 3%, yaitu 4,131 μmol . Aktivitas enzim selanjutnya menurun pada kadar garam 6% namun naik kembali pada kadar garam 9% sebelum turun kembali sampai kadar garam 15%. Analisis statistik menunjukkan bahwa aktivitas enzim dipengaruhi oleh kadar garam ($p < 0.05$), dimana aktivitas enzim pada kadar garam 0% (kontrol) berbeda dengan 3%, 6%, 9% dan 12% ($p < 0.05$); akan tetapi aktivitas enzim pada kadar garam 0% tidak berbeda nyata dengan aktivitas enzim pada kadar garam 15% ($p > 0.05$).

Tabel 3. Aktivitas Enzim Protease Pada Konsentrasi Garam Berbeda

No.	Konsentrasi Garam (%)	Nilai Aktivitas enzim protease ($\mu\text{mol/ml}$)	Nilai Aktivitas enzim lipase ($\mu\text{mol/ml}$)
1	0	1,609 ^e	2,428 ^a
2	3	0,495 ^c	4,131 ^e
3	6	0,869 ^d	3,407 ^c
4	9	0,204 ^b	3,780 ^d
5	12	0,134	3,045 ^b
6	15	0,073 ^a	2,237 ^a

Ket: Data yang ditandai dengan huruf kecil yang sama berarti tidak berbeda nyata

Konsentrasi garam juga mempengaruhi aktivitas enzim. Itoh *et al.*, (1993), mendapatkan bahwa enzim ATPase yang berperan dalam kecap ikan (*fish sauce*) meningkat aktivitasnya sampai konsentrasi garam (NaCl) 1 mol; dan di atas konsentrasi tersebut aktivitasnya menurun.

Enzim pada kondisi paling aktif dalam bentuk larutan dan tidak menunjukkan aktivitasnya bila tidak ada air. Sebagian besar enzim tersebut rusak menjadi tidak aktif dalam larutan garam jenuh (Wheaton dan Lawson, 1985) hal ini mengindikasikan bahwa pada kadar garam 15% larutan sudah pada

kondisi jenuh yang mengakibatkan aktivitasnya menjadi lebih rendah dibandingkan dengan aktivitas dengan kadar garam 0%. Garam juga memiliki tendensi untuk melindungi enzim dan membuatnya lebih resisten terhadap panas. Dengan demikian, penggunaan garam pada konsentrasi serendah mungkin dan suhu setinggi mungkin secara nyata akan meningkatkan kecepatan fermentasi (Mackie *et al.*, 1971). Berdasarkan pengujian dengan menggunakan statistika dan uji lanjut duncan maka didapat hasil bahwa aktivitas enzim lipase pH 4 dan kadar garam 3% dengan aktivitas pH 4 kadar garam 9% berbeda nyata,

selanjutnya nilai aktivitas pH 4 kadar garam 9% dengan pH 4 kadar garam 6% juga menunjukkan perbedaan yang nyata, diikuti oleh pH 4 dan kadar garam 6% dengan pH 4 dan kadar garam 12% berbeda nyata, dan pH 4 kadar garam 12% dengan pH 4 kadar garam 0% berbeda nyata. Akan tetapi nilai aktivitas enzim lipase pada pH 4 dan kadar garam 15% dengan pH 4 kadar garam 0% menunjukkan hasil tidak berbeda nyata.

Selanjutnya, enzim-enzim yang diisolasi dari bakteri *Paracoccus halonidificans* juga memiliki toleransi terhadap atau membutuhkan konsentrasi garam tertentu untuk aktivitasnya, dimana enzim ini sangat aktif pada konsentrasi NaCl 20%; akan tetapi aktivitasnya menurun pada konsentrasi NaCl >20% (Itoh *et al.*, 1993).

Enzim pada kondisi paling aktif dalam bentuk larutan dan tidak menunjukkan aktivitasnya bila tidak ada air. Sebagian besar enzim tersebut rusak dan tidak aktif dalam larutan garam jenuh (Wheaton dan Lawson, 1985).

Kadar protein terlarut atau jumlah gugus amino bebas meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi NaCl hingga 15% b/b. Fenomena ini mengindikasikan bahwa NaCl sebagai suatu garam dapat menyebabkan atau merupakan induser protein-protein substrat maupun protein terlarut atau gugus amino bebas hasil proses hidrolisis untuk mengalami *salting-in* atau peningkatan kelarutan dalam suatu larutan garam. Protein substrat dan protein enzim akan mengalami reaksi enzimatik dengan kelarutan normal pada konsentrasi NaCl 0% b/b.

Halangan sterik (*steric hindrance*) tidak akan menghambat reaksi akibat semakin banyaknya produk yang dihasilkan, namun reaksi enzimatik ini berlangsung dalam kondisi spesifitas yang tinggi. Reaksi enzimatik yang melibatkan protein substrat dan protein enzim dengan konsentrasi NaCl 5 hingga 15% b/b berlangsung lebih intens seiring dengan meningkatnya kondisi kelarutan reaksi, sehingga dihasilkan produk protein terlarut lebih banyak. Peningkatan kelarutan awal ini berkaitan dengan adanya stabilisasi protein. Walaupun demikian, terjadinya *salting-in* hanya berlangsung hingga peningkatan konsentrasi 15% b/b NaCl, atau dengan kata lain konsentrasi garam optimum untuk kadar protein terlarut adalah sebesar 15,0%. Hadiwiyoto (2000), memperoleh konsentrasi garam optimum pada proses hidrolisis ikan kembung dan ikan merah sebesar 10% b/b.

Proses *salting-in* ditandai dengan terjadinya peningkatan kelarutan suatu protein dalam suatu larutan garam. Proses ini akan meningkatkan kekuatan ionik (*ionic strength, I*) pada larutan hingga tercapai suatu kondisi optimum dan dilanjutkan dengan terjadinya penurunan kelarutan protein atau yang disebut *salting-out*. Selama *salting-out* ini terjadi kompetisi antara protein dan garam untuk mendapatkan ketersediaan molekul air yang akan digunakan dalam proses solvasi, sehingga interaksi protein-protein akan meningkat (Plummer, 1971).

Penambahan garam menyebabkan larutan enzim mengalami peristiwa *salting out* yaitu daya larut protein berkurang sehingga enzim terpisah sebagai

endapan. Proses ini bertujuan untuk memekatkan konsentrasi enzim dan fraksinasi komponen protein berdasarkan sifat ioniknya (Sumarlin, 1998).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa isi perut (viscera) ikan kembang (*Restrelliger* sp) memiliki aktivitas enzim protease dan lipase. Aktivitas protease dan lipase isi perut ikan kembang (*Rastrelliger* sp) dipengaruhi oleh pH dan konsentrasi garam. Aktivitas protease dan lipase tertinggi berturut-turut adalah pada pH 11 (1,610 $\mu\text{mol/ml}$) dan pH 4 (2,428 $\mu\text{mol/ml}$). Aktifitas enzim protease dan lipase tertinggi berturut-turut adalah pada konsentrasi garam 6% (0,869 $\mu\text{mol/ml}$) dan 3% (4,131 $\mu\text{mol/ml}$). Aktivitas protease dan lipase menurun dengan meningkatnya konsentrasi garam.

DAFTAR PUSTAKA

- Brewer, P., Helbig, N., & Haard, N. F. 1984. Atlantic cod pepsin Characterization an use as a Rennet Substirute. Canadian International Food Science and Technology Journal, **17**, 38-43.
- Hadiwiyoto, S. 2000. Optimasi Aktivitas Proteolitik Daging Ikan Untuk Produksi Protein Hidrolisat. Laporan Penelitian. Jurusan Teknologi Pengolahan Hasil Pertanian Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Hagihara, B., Matsubara, H., Nakai, M. and Okunuki, K. 1958. Crystalline Bacterial Protease I. Preparation of Crystalline Protease of *B. Subtilis*. J. Biochem. (Tokyo) **45**, 185-194.
- Hasan, B. 2008. Pengaruh Penyiangan dan Suhu Fermentasi Terhadap Pematangan Peda Kembang (*Restrelliger neglectus*) Jurnal perikanan dan kelautan. **1**, 104-117.
- Itoh, H., Tachi, H. dan Nikkuni S. 1993. *Halophilic Mechanism of Isolated Bacteria From Fish Sauces*. National Food Research Institute, Tsukuba, Ibaraki-ken, Japan. Department of brewing and fermentation, Tokyo University of Agriculture, Tokyo, Japan.
- Kim, H.R., Mayers, S.P., Pyeun, J.H. and Godber, J.S. 1994. Enzymatic Properties of Anionic Trypsins From Hepaopancreas of Crayfish (*Procambarus clarkia*). *C omp. Biochem. Physiol.* **107B**, 197-203.
- Lehninger, A. L. 1998. Dasar-Dasar Biokimia Jilid 1 (Cetakan Kelima). Terjemahan: Thenawijaya, M. dari Principles Of Biochemistry (1982). Jakarta: Erlangga.

- Meinke, W. W ., Rahman, M. A. and Marttil, K. F . 1972. Autolysis as Factor in The Production of Protein Iso-Lates From Whole Fish. *Journal. Food Science.* **38**, 864-866.
- Nurhasanah, 2006. *Isolasi Enzim lipase Dari Bakteriisolat Lokal Yang Hidup di Air Laut Labuhan Panjang.* Prosiding Seminar Hasil Program Pengembangan Diri Bidang Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Pelczar, M.J., Chan, E.C.S., and Krieg, N.R. 1993. *Microbiology Concepts and Applications.* McGraw-Hill, Inc. New York. 454-470.
- Plummer. D. T. 1971. *An Introduction to Practical Biochemistry.* Ed.1. New Delhi: Tata McGraw-Hill Publishing Company Ltd.
- Prasertsan, P and Prachumratana, T. 2008. Comparison and Selection of Protease and Lipase Sources From Visceral Organs of Three Tuna Species. *Songklanakarinn Journal. Science. Technology.* **30** (Suppl.1), 73-76.
- Scopes R. K. 1987. *Protein Purification Principles and Practice.* Edisi ke-2. New York: Springer Verlag.
- Shahidi, F dan Kamil, J. 2001. Trends in Food Science & Technology, 12 435–464
- Shin, D. H. and Zall, R. R. 1986. Purification and Identification of Trypsin Like Enzyme From The Pyrolic Caeca of Cod. *Process Biochem.* **21**, 11-15.
- Simpson, B. K., & Haard, N. F. 1984. Trypsin From Greenland Cod asa Food Processing Aid. *Journal of Applied Biochemistry,* **6**,135–143.
- Sumarlin, L. O. 1998. Aktivitas Protease dari *Bacillus circulans* pada Berbagai Tahap Pemurnian. Laporan Penelitian Jurusan Kimia Fakultas MIPA IPB, Bogor.
- Wheaton, F.W. dan Lawson, W. 1985. *Processing Aquatic Food Product.* John Wiley & Sons, Inc. New York.
- Winkler, U.K. and Stuckman, M. 1979. Glycogen, hyaluronate and some other polysaccharides enhance the formation of exolipase by *Serratimarcensens.* *J. Bacteriol.* **138**: 663-670.
- Whintaker Jr. 1994. *Principle of Enzymology For The Food Science.* Ed ke-2. New York: Oxford University Pr.