



## PEMBUATAN HIDROLISAT PROTEIN DARI PARU KAMBING (*Capra aegagrus hircus L.*) DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDANNYA

Dedi Nofiandi, Epi Supri Wardi, Mutiara Dita Putri

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Yayasan Perintis Padang

Email : [epi.supriwardi@gmail.com](mailto:epi.supriwardi@gmail.com)

### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan membuat hidrolisat protein dari paru kambing (*Capra aegagrus hircus*) secara enzimatis menggunakan enzim papain dan menganalisis aktivitas antioksidan dari hidrolisat protein yang dihasilkan. Variasi konsentrasi enzim papain yang digunakan yaitu 0%, 2%, 4%, 6% dan 8%. Parameter yang diamati adalah sifat organoleptis, derajat hidrolisis, dan kandungan protein serta aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Hasil menunjukkan nilai persentase derajat hidrolisis yang didapat tertinggi pada perlakuan dengan konsentrasi enzim papain 4% yaitu sebesar 47,76%. Nilai protein berkisar antara 1,60 – 2,48%. Nilai aktivitas antioksidan tertinggi diberikan pada hidrolisat dari konsentrasi enzim 8% dengan nilai IC50 sebesar 981,2344 ppm.

**Kata Kunci :** Paru Kambing, Enzim Papain, Hidrolisat Protein, DPPH

### PENDAHULUAN

Kambing kacang adalah salah satu kambing lokal di Indonesia dengan populasi yang cukup tinggi dan tersebar luas. Kambing kacang memiliki ukuran tubuh yang relatif kecil, memiliki telinga yang kecil dan berdiri tegak (Mahmilia & Tarigan,

2003), berkembangbiak cepat karena umur 15-18 bulan sudah bisa menghasilkan keturunan, sehingga penyebaran kambing kacang cukup baik dari tahun ke tahun. Hal ini terlihat dari populasi kambing di Sumatera Barat pada tahun 2016 sebanyak 271.471 ekor dan pada tahun 2017 sebanyak

274.823 ekor (Anonim, 2017). Bagian yang sering dikonsumsi masyarakat pada kambing adalah daging dan susu. Sedangkan jeroan seperti paru – paru jarang dikonsumsi masyarakat.

Paru – paru kambing merupakan salah satu jeroan pada kambing yang jarang dikonsumsi masyarakat, tetapi hanya digunakan sebagai pangan ternak. Paru – paru kambing mengandung protein kasar 33% dan kadar lemak 4% (Yanti, 2018). Masyarakat tidak ingin mengkonsumsi paru – paru kambing karena masyarakat dari dahulunya telah beranggapan bahwa pada kambing, baik daging maupun jeroannya mengandung kolesterol yang tidak baik bagi kesehatan. Tapi dengan dibuat hidrolisat protein, maka kadar lemak yang ada paru – paru kambing akan dipisah.

Hidrolisat protein paru - paru merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein menjadi peptida sederhana dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh enzim, asam atau basa. Hidrolisis protein menggunakan enzim merupakan cara yang efisien karena dapat menghasilkan hidrolisat protein yang terhindar dari kerusakan asam amino tertentu, seperti triptofan dan glutamin (Kristinsson, 2007). Enzim protease yang digunakan dalam hidrolisis protein telah tersedia secara komersial, baik yang berasal

dari hewan, tanaman maupun mikroba, salah satunya adalah enzim papain. Enzim papain diisolasi dari getah tanaman pepaya (*Carica papaya*) dan telah banyak digunakan secara komersial, salah satunya sebagai pengempuk daging. Selain itu juga digunakan untuk penghidrolisis protein untuk menghasilkan asam amino yang mempunyai aktifitas sebagai antioksidan. Enzim papain digunakan karena enzim papain lebih tahan terhadap suhu tinggi sedangkan enzim bromelin optimal pada suhu 50<sup>o</sup>C – 80<sup>o</sup>C (Taqwdasbriliani et al., 2013).

Antioksidan adalah senyawa kimia yang dapat menyumbangkan satu elektron kepada radikal bebas, sehingga radikal bebas tersebut dapat diredam. Konsumsi antioksidan dalam jumlah memadai dapat menurunkan resiko terkena penyakit degeneratif yaitu kardiovaskuler, kanker, aterosklerosis, dan lain-lain. Dalam tubuh sudah terdapat antioksidan endogen utama, salah satunya yaitu Glutation yang terdiri dari 3 asam amino (Cystein, Glutamin dan Glysin) (Yuan *et all* , 2009). Namun, karena banyaknya senyawa radikal yang masuk kedalam tubuh sehingga tubuh tidak bisa menanggulangnya dengan antioksidan alami yang ada, oleh sebab itu diperlukan asupan antioksidan dari luar. Thiansilakul (2007) melaporkan bahwa komposisi asam amino

dari protein hidrolisat sangat terkait dengan kapasitas antioksidannya. Asam amino seperti asam aspartat (Asp) dan asam glutamat (Glu), menunjukkan sifat antioksidan kuat (Saiga *et al*, 2003).

Berdasarkan uraian diatas peneliti ingin melakukan uji antioksidan dari paru kambing yang dilisis dengan enzim papain yang diambil dari Rumah Potong Ternak di daerah Limau Manis, Padang. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*).

## PROSEDUR PENELITIAN

### Hidrolisis Protein Paru Kambing dengan Enzim (Bhaskar *et al* 2007)

Bahan baku berupa paru kambing sebanyak 20 g dan aquades (1:1) dicampur menggunakan blender hingga homogen. Kemudian oven pada suhu 85°C selama 20 menit. Selanjutnya dicampur aquades dengan perbandingan 1:2 kemudian dihomogenkan. Nilai pH campuran diatur hingga mencapai pH 7 dengan menambahkan NaOH 4 M atau larutan HCl 0,1 N. Campuran tersebut ditambah enzim papain dengan konsentrasi tertentu (0%, 2%, 4%, 6% dan 8%) terhadap total volume substrat. Hidrolisis dilakukan pada suhu 55°C selama 6 jam menggunakan *waterbath shaker*. Setelah proses hidrolisis selesai, enzim papain diinaktivasi pada suhu

85°C selama 20 menit. Sampel didinginkan, diendapkan selama 24 jam pada suhu 4°C dan disentrifuse selama 30 menit pada suhu 10°C dengan kecepatan 3.500 rpm untuk memisahkan fraksi terlarut (supernatan) dan fraksi tidak terlarut (pellet). Supernatan yang kaya akan protein di saring dengan menggunakan kertas saring. Filtrat diambil untuk di analisis.

### Karakterisasi Hidrolisat Protein Paru Kambing

#### 1. Organoleptis

Pengamatan di lakukan secara visual dengan mengamati bentuk, bau, rasa dan warna.

#### 2. Derajat Hidrolisis (Hasnaliza *et al* , 2010)

Derajat hidrolisis dihitung berdasarkan persentase rasio *trichloroacetic acid* (TCA). Sebanyak 20 mL hidrolisat protein ditambahkan TCA 20% (b/v) sebanyak 20 mL. Campuran tersebut kemudian didiamkan selama 30 menit agar terjadi pengendapan, lalu disentrifugasi (kecepatan 7.800 x g, selama 15 menit). Supernatannya lalu dianalisis kadar nitrogennya menggunakan metode Kjeldahl. Derajat hidrolisis dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Hidrolisis} = \frac{\text{nitrogen terlarut dalam TCA } 10\%}{\text{Nitrogen total sampel}} \times 100\%$$

#### 3. Uji Kadar Protein (SNI, 1992)

Sebanyak 0,5 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung Kjeldahl. Ditambahkan 1 g selenium dan 15 ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Dididihkan selama 3 - 4 jam pada suhu 400°C sampai cairan menjadi jernih kemudian didinginkan. Larutan hasil destruksi masukkan ke dalam labu ukur 250 mL tambahkan *aquadest* hingga tanda batas. Aduk hingga homogen. Ambil 50 mL larutan masukkan ke dalam labu Kjeldahl tambahkan 50 mL *aquadest* dan 2 tetes indikator PP 1% serta NaOH 35%. Destilasi selama 2 menit 30 detik. Tampung cairan destilat dengan erlenmeyer yang berisi 25 mL H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2% dan 2 tetes indikator BCG-MR 0,1% hingga membentuk warna biru muda. Larutan biru muda ditambahkan indikator MM 0,1% dan titrasi dengan HCl 0,1 N hingga membentuk larutan berwarna merah muda. Catat volume HCl terpakai. Hal yang sama juga dilakukan terhadap blanko.

Nitrogen (%)

$$= \frac{(mL\ HCl - mL\ blanko) \times N\ HCl \times 0,014}{mL\ Sampel} \times f.p \times 100\%$$

dimana *f.p* merupakan faktor pengenceran hasil destruksi. Volume destruksi pada labu 250 mL dipipet 50 mL.

$$\% \text{ kadar protein} = \%N \times \text{faktor konversi (6,25)}$$

**Uji Aktivitas Antioksidan** (Baehaki, Lestari, & Romadhoni, 2015)

#### a. Uji aktivitas antioksidan hidrolisat protein

Produk yang diuji aktivitas antioksidannya merupakan hidrolisat protein dengan persen inhibisi yang paling tinggi. Hidrolisat protein dilarutkan dalam pelarut etanol 96% dengan konsentrasi 500, 1000, 1500, 2000 dan 2500 ppm.

Larutan sampel yang telah dibuat masing-masing diambil sebanyak 2 ml dan direaksikan dengan 2 ml larutan DPPH 0,1 mM dalam tabung reaksi. Campuran kemudian di *vortex* selama 30 detik dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm.

Hasil pengukuran absorbansi dan untuk menentukan aktivitas antioksidan dinyatakan dalam rumus

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorban blanko} - \text{absorban sampel}}{\text{absorban blanko}} \times 100\%$$

#### b. Penentuan kadar antioksidan (IC<sub>50</sub>)

Nilai konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan regresi linear yang diperoleh dalam bentuk  $y = a + bx$ , digunakan untuk mencari nilai IC<sub>50</sub> (*Inhibitor Concentration* 50%) dari masing-masing sampel dengan

menyatakan nilai  $y$  sebesar 50 dan nilai  $x$  yang akan diperoleh sebagai nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan hidrolisat protein yang dilakukan secara enzimatis karena lebih efektif pada target protein yang di pecah dan aman untuk pemanfaatan produknya pada bidang pangan, kosmetik maupun farmasi (Susanto et al., 2018). Pembuatannya dilakukan dengan menggunakan enzim papain karena enzim ini mudah didapatkan dan lebih stabil pada penyimpanan serta enzim papain dapat memecah ikatan peptida pada molekul protein (Baehaki et al., 2015).

Papain merupakan salah satu enzim hidrolase yang bersifat proteolitik hasil isolasi dari penyadapan getah buah pepaya (*Carica papaya, L.*). Enzim papain dapat menghidrolisis amida pada residu asam amino arginin, lisin, glutamin, histidin, glisin, dan tirosin. Enzim papain tergolong endopeptidase yaitu memutus ikatan peptida yang spesifik pada bagian tengah rantai protein. Beveridge (1996) memaparkan bahwa selama proses katalisis hidrolisis gugus-gugus amida, mula-mula gugus sistein (Cys-25) yang bersifat sangat reaktif berikatan dengan substrat pada sisi aktif

papain sehingga dihasilkan ikatan kovalen substrat dengan enzim yang berbentuk tetrahedral. Kemudian gugus histidin (His-159) terprotonasi sehingga berikatan dengan nitrogen yang terdapat di dalam substrat. Akibatnya gugus amin pada substrat terdifusi dan kedudukannya digantikan oleh molekul-molekul air yang pada akhirnya menghidrolisis hasil intermediet sehingga mengembalikan enzim ke dalam bentuk dan fungsinya seperti semula (Rosdianti, 2008).

Paru kambing yang digunakan merupakan paru segar. Proses pembuatan hidrolisatnya, paru kambing yang telah ditambahkan air diblender hingga homogen dan di oven pada suhu  $85^{\circ}C$  selama 20 menit untuk menginaktifkan enzim endogen yang terdapat pada paru kambing karena jika masih terdapat enzim endogen, ditakutkan hasil hidrolisat yang didapat bukan dari enzim papain. Setelah di oven ditambahkan aquadest hingga membentuk suspensi. Atur hingga mencapai pH 7 sesuai dengan pernyataan (EDC,1999) bahwa papain biasanya aktif pada nilai pH antara 5,0 hingga 8,0 dengan titik isoelektrik 8,75 dan suhu  $50^{\circ}C$  hingga  $60^{\circ}C$ . Campuran tersebut ditambah enzim papain dengan konsentrasi tertentu (0%, 2%, 4%, 6% dan 8%) terhadap total volume substrat dan di aduk menggunakan *watherbath shaker* pada suhu

55<sup>0</sup>C selama 6 jam. Tujuan menggunakan alat ini agar enzim dan suspensi dapat melebur dan mengaduk campuran hingga menghasilkan larutan yang homogen. Selanjutnya di oven kembali untuk menginaktifkan enzim papain. Selanjutnya didinginkan selama 24 jam dan dilakukan sentrifuge pada kecepatan 3.500 rpm selama 20 menit pada suhu 10<sup>0</sup>C yang bertujuan untuk memisahkan antara lemak dan larutan protein dan saring (Hidayat, 2005).

Karakterisasi dilakukan untuk melihat organoleptis, kadar protein dan derajat hidrolisis dari hidrolisat yang didapatkan. Uji organoleptis dilakukan untuk melihat menggunakan alat indera. Pada penggunaan enzim 0%, 2%, 4%, 6% dan 8% hidrolisat yang didapatkan berbentuk larutan bening dengan bau yang spesifik. Pada konsentrasi enzim 0 dan 2% didapatkan larutan berwarna coklat kemerahan sedangkan pada konsentrasi enzim 4, 6 dan 8% menghasilkan warna larutan cenderung coklat. Menurut Barzana dan Garcia-Garibay (1994) warna HPI ditentukan oleh pigmen/zat warna yang terdapat pada ikan yang digunakan sebagai bahan bakunya dan dipengaruhi oleh reaksi pencoklatan non-enzimatis selama proses (Ariyani & Saleh, 2003).

Selama proses hidrolisis, bau amis dan bau tengik terdeteksi lemah. Hal ini disebabkan

karena kadar lemak pada bahan baku tidak terlalu tinggi sehingga proses oksidasi lemak selama hidrolisis juga tidak mengakibatkan bau tengik yang terlalu tajam. Adapun bau amis yang terdeteksi lemah selama proses hidrolisis, kemungkinan disebabkan terjadinya perubahan lipid karena aktivitas enzim lipoksigenase, yang mengakibatkan terbentuknya hidroperoksida yang sangat labil. Hidroperoksida tersebut akan bereaksi dengan oksigen sehingga menimbulkan bau amis. Proses degradasi lipid yang menimbulkan bau amis ini merupakan proses awal oksidasi yang tidak sampai mengakibatkan bau tengik. Rasa dari hidrolisat protein paru kambing yang dihasilkan bervariasi, seperti ada rasa pahit, asin dan juga manis dalam satu konsentrasi. Pada umumnya, rasa pahit merupakan ciri khas produk hidrolisat protein yang disebabkan oleh peptida berantai pendek sebagai produk hasil pemecahan protein. Meskipun demikian mekanisme terjadinya komponen penyebab rasa pahit tersebut tidak dapat diprediksi karena berbagai faktor yang sangat kompleks berperan dalam pembentukan komponen penyebab rasa pahit tersebut. Pada penelitian ini, rasa pahit mulai terdeteksi walaupun lemah. Lemahnya deteksi rasa pahit ini karena adanya rasa asin yang cukup kuat yang ditimbulkan oleh



penggunaan papain lokal yang mengandung garam cukup tinggi. Menurut Noguchi et al., rasa manis kemungkinan disebabkan oleh terbentuknya asam amino glisin selama proses hidrolisis (Ariyani & Saleh, 2003).

Selama proses hidrolisis terjadi pemutusan ikatan peptida pada protein oleh enzim proteolitik. Persentase ikatan peptida yang terlepas akibat proses hidrolisis dinyatakan dengan derajat hidrolisis. Derajat hidrolisis dalam proses hidrolisis protein paru kambing ditentukan dengan metode soluble SN-TCA. Menurut Rutherford (2010), prinsip pengukuran derajat hidrolisis dengan metode SN-TCA adalah pengukuran kadar nitrogen yang terlarut dalam larutan trichloroacetic acid (TCA), setelah komponen yang tidak terlarut mengalami pengendapan akibat proses sentrifuge. Keuntungan dari penggunaan metode SN-TCA adalah proses analisisnya yang relatif lebih cepat dan praktis dibandingkan metode lainnya. Dari hasil penentuan derajat hidrolisis yang telah dilakukan didapatkan hasil pada konsentrasi enzim 0% sebesar 36,1%, konsentrasi enzim 2% sebesar 37,76%, konsentrasi 4% sebesar 47,76%, konsentrasi 6% sebesar 43,3% dan konsentrasi 8% sebesar 37,76%. Nurhayati *et al.* (2013) menyatakan bahwa semakin besar konsentrasi enzim papain yang ditambahkan,

nilai derajat hidrolisis protein juga semakin besar. Dan menurut Hasnaliza *et al.* (2010), peningkatan derajat hidrolisis disebabkan oleh peningkatan peptida dan asam amino yang terlarut dalam TCA akibat dari pemutusan ikatan peptida selama hidrolisis protein (Baehaki et al., 2015), namun pada hasil uji yang dilakukan, pada konsentrasi enzim 6 dan 8% mengalami penurunan. Hal ini kemungkinan terjadi karena asam amino yang berantai pendek yang terbentuk selama proses hidrolisis hanya sedikit sehingga nitrogen yang terlarut dalam TCA hanya sedikit, serta kerja enzim papain dalam memutuskan ikatan peptida sudah optimal pada konsentrasi enzim 4% sehingga pada konsentrasi enzim 6% mengalami penurunan (Baehaki et al., 2015).

Metode penetapan protein dengan metode Kjeldahl dapat digunakan untuk analisis protein semua jenis bahan pangan. Prinsip dari metode ini adalah penetapan protein berdasarkan oksidasi bahan-bahan berkarbon dan konversi nitrogen menjadi amonia. Selanjutnya ammonia bereaksi dengan kelebihan asam membentuk amonium sulfat. Larutan dibuat menjadi basa, dan ammonia diuapkan untuk kemudian diserap dalam larutan asam borat. Nitrogen yang terkandung dalam larutan dapat ditentukan jumlahnya dengan titrasi menggunakan HCl.

Salah satu kelemahan metode ini mengukur bukan hanya nitrogen pada protein, tetapi juga nitrogen dari non-protein, dengan demikian informasi kadar protein dalam nitrogen dalam protein menjadi sangat penting untuk digunakan sebagai faktor konversi dalam perhitungan (Yenrina, 2015). Dari hasil pengujian kadar protein yang dilakukan didapatkan pada konsentrasi enzim 0% sebesar 1,60%, konsentrasi enzim 2% sebesar 2,33%, konsentrasi enzim 4% sebesar 2,48%, konsentrasi enzim 6% sebesar 2,33% dan konsentrasi enzim 8% sebesar 2,33%. Hal ini karena proses oksidasi yang dapat memutus nitrogen dan nitrogen yang terlarut lebih banyak pada konsentrasi enzim 4% (Yenrina, 2015).

Uji aktivitas antioksidan yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH dengan hasil yang didapatkan berupa persen inhibisi dan nilai IC50. Persen inhibisi merupakan kemampuan suatu bahan untuk menghambat aktivitas radikal bebas yang berhubungan dengan konsentrasi bahan. Nilai IC50 didefinisikan sebagai besarnya konsentrasi yang dapat menghambat aktivitas radikal bebas, yaitu menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC50 berarti aktivitas antioksidannya semakin tinggi (Baehaki et al., 2015). Penentuan nilai IC50 dilakukan dengan

melaikan penentuan persen inhibisi dari masing – masing konsentrasi enzim dan untuk melihat nilai persen inhibisi tertinggi dilakukan uji ANOVA satu arah menggunakan SPSS 16.0.

Penentuan persen inhibisi yang dilakukan dengan uji ANOVA (lampiran 12) terlihat konsentrasi enzim 8% memiliki nilai persen inhibisi tertinggi yang terdapat pada subset 5 dan digunakan untuk penentuan IC50. Setelah itu dilanjutkan uji aktivitas antioksidan pada konsentrasi enzim tersebut, didapatkan hasil uji aktivitas antioksidan yang dilakukan, nilai IC50 pada hidrolisat paru kambing sebesar 981,2344 ppm berdasarkan persamaan regresi linier dengan nilai  $r = 0,9987$ , dari hasil yang didapatkan dinyatakan bahwa aktivitas antioksidan pada paru kambing sangat lemah karena nilai IC50 sebesar 150-200 ppm (0,15-0,20 mg/mL) (Andriyanti, 2009). Hal ini disebabkan akibat pemutusan ikatan peptida oleh enzim papain tidak bekerja efektif, sehingga pembentukan asam amino yang bersifat sebagai antioksidan seperti metionin dan sistein sedikit. Winarno (1995) menyatakan enzim papain bekerja lebih aktif pada protein nabati sedangkan bromelin bekerja lebih aktif pada protein hewani (Taqwdasbriliani et al., 2013). Terlihat pada persen penghambatan (persen inhibisi) radikal bebas pada



penentuan IC50 (tabel 9) bahwa DPPH hanya dapat menangkal radikal bebas tertinggi sebesar 52,25% yang kemungkinan hanya sedikit asam amino yang bersifat sebagai antioksidan yang terputus oleh enzim papain.

## KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa sifat organoleptis pada hidrolisat protein paru kambing berbau amis namun lemah, memiliki rasa pahit, manis dan asin, serta berbentuk larutan bening berwarna coklat. Hidrolisat protein memiliki nilai derajat hidrolisis tertinggi pada konsentrasi enzim papain 4% sebesar 47,76% dan kadar protein sebesar 2,48%. Hidrolisat paru kambing tidak memiliki aktivitas antioksidan karena didapatkan nilai IC50 besar dari 200 ppm yaitu sebesar 981,2344 ppm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andriyanti, R. (2009). Ekstraksi Senyawa Aktif Antioksidan Dari Lintah Laut (*Discodoris Sp.*) Asal Perairan.
- Anonim. (2017). *Statistik Peternakan Dan Kesehatan Hewan 2017*. Direktorat Jendral Peternakan Dan Kesehatan Hewan.
- Ariyani, F., & Saleh, M. (2003). Optimasi Proses Produksi Hidrolisat Protein Ikan (HPI) Dari Mujair (*Oreochromis mossambicus*), 9(1989), 11–21.
- Baehaki, A., Lestari, S. D., & Romadhoni, A. R. (2015). Hidrolisis Protein Ikan Patin Menggunakan Enzim Papain Dan Aktivitas Antioksidan Hidrolisatnya, 18, 230–239. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2015.18.3.230>
- Bhaskar N, Sathista AD, Sachindra NM, Sakhare PZ, M. N. (2007). *Effect Of Acid Ensiling On The Stability Of Visceral Waste Proteases Of Indian Major Carp Labeo Rohita*. Journal Aquatic Food Product Technology. 16 (1).
- Hasnaliza H, Maskat MY, Wan AWM, M. S. (2010). *The Effect Of Enzyme Concentration, Temperature And Incubation Time On Nitrogen Content And Degree Of Hydrolysis Of Protein Precipitate From Cockle (Anadara Granosa) Meat Wash Water*. Int Food Res J 17: 147-152.
- Hidayat, T. (2005). *Pembuatan Hidrolisat Protein Dari Ikan Selar Kuning (Caranx Leptolepis) Dengan Menggunakan Enzim Papain*. Institut Pertanian Bogor.
- Kristinsson HG. (2007). *Aquatic Food Protein Hydrolysates. Di Dalam: Shahidi F, Editor. Maximising The Value Of Marine By-Product*. Boca Raton: CRC Pr.
- Mahmilia, F., & Tarigan, A. (2003). Karakteristik Morfologi Dan Performans Kambing Kacang, Kambing Boer Dan Persilangannya. *Lokakarya Nasional*, 209–212.
- Rosdianti, I. (2008). *Pemanfaatan Enzim Papain Dalam Produksi Hidrolisat Protein Dari Limbah Industri Minyak Kelapa*. Institut Pertanian Bogor.
- Saiga, A., Tanabe, S. & Nishimura, T. (2003). *Antioxidant Activity Of Peptides Obtained From Porcine Myofibrillar Proteins By Protease Treatment*.

- Journal Of Agricultural And Food Chemistry.
- SNI. (1992). *Cara Uji Makanan Dan Minuman*. Pusat Standarisasi Industri Departemen Perindustrian.
- Susanto, E., Rosyidi, D., & Radiati, L. E. (2018). Optimasi Aktivitas Antioksidan Peptida Aktif Dari Ceker Ayam Melalui Hidrolisis Enzim Papain. *Ilmu Dan Teknologi Hasil Ternak*, 13(1), 14–26.
- Taqwadasbriliani, E. B., Hutabarat, J., & Arini, E. (2013). Pengaruh Kombinasi Enzim Papain Dan Enzim Bromelin Terhadap Pemanfaatan Pakan Dan Pertumbuhan Ikan Kerapu Macan (*Epinephelus Fuscoguttatus*). *Journal Of Aquaculture Management And Technology*, 2(3), 76–85.
- Thiansilakul, Y., Benjakul, S. & Shahidi, F. (2007). *Compositions, Functional Properties And Antioxidative Activity Of Protein Hydrolysates Prepared From Round Scad (Decapterus Maruadsi)*. Food Chemistry.
- Yanti. (2018). Riset, Teknologi Dan Pendidikan Tinggi Universitas Andalas.
- Yenrina, R. (2015). *Metode Analisis Bahan Pangan Dan Komponen Bioaktif*. Andalas University Press. Padang.
- Yuan, L. & Kaplpwitz, N. (2009). *Glutathione In Liver Diseases And Hepatotoxicity*. Molecular Aspects Of Medicine.