

PERANAN INHIBITOR KATEPSIN DARI IKAN PATIN (*Pangasius hypophthalmus*) UNTUK MENGHAMBAT KEMUNDURAN MUTU IKAN BANDENG (*Chanos chanos* Forsk.)

*The Role of Cathepsin Inhibitor From Catfish (*Pangasius Hypophthalmus*) to Inhibit Quality Deterioration of Milkfish (*Chanos Chanos Forskal*)*

Tati Nurhayati*, Ella Salamah, Komariah Tampubolon, Ary Apriland

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

*Korespondensi: Jl. Lingkar Akademik, Kampus IPB Darmaga, Bogor, 16680 telp 0251 8622915
fax 0251 8622916 email: nurhayati7870@yahoo.com

Abstract

The process of deterioration of fresh fish quality begins with an enzymatic damage, one of them is cathepsin. To prevent deterioration of fish, an inhibitor can be obtained naturally from the body of fish. The purpose of this research was to use extract of cathepsin inhibitor from catfish for inhibit deterioration of milkfish. This research showed that temperature of 80 °C was the optimum temperature for extracting inhibitor complex with inhibitory activity of 92,88%. Cathepsin inhibitor gave the most effective to prevent deterioration (85,29% inhibitory activity) after diluted two fold on buffer solution. Soaking with inhibitors from catfish cathepsin capable to inhibit the deterioration of fish quality longer than 72 hours (3 days) compared with control fish, milkfish (soaking in buffer).

Keywords : catfish, cathepsin, inhibitor, milkfish

Abstrak

Proses kemunduran mutu ikan segar diawali dengan kerusakan secara enzimatik, salah satunya oleh katepsin. Kemunduran mutu ikan dihambat dengan inhibitor yang dapat diperoleh secara alami dari dalam tubuh ikan. Penelitian ini bertujuan untuk memanfaatkan ekstrak inhibitor katepsin dari ikan patin untuk menghambat kemunduran mutu ikan bandeng. Suhu ekstraksi 80 °C merupakan suhu optimum untuk ekstraksi inhibitor katepsin dengan aktivitas inhibisi sebesar 92,88%. Konsentrasi inhibitor katepsin yang efektif untuk aplikasi adalah setelah melalui pengenceran dalam larutan buffer dengan perbandingan 1:1 (aktivitas inhibisi sebesar 85,29 %). Perendaman dengan inhibitor katepsin dari ikan patin mampu menghambat kemunduran mutu ikan bandeng lebih lama 72 jam (3 hari) dibandingkan dengan ikan bandeng kontrol (perendaman dengan bufer).

Kata kunci : bandeng, inhibitor, katepsin, patin

PENDAHULUAN

Permintaan konsumen terhadap ikan segar terus mengalami peningkatan. Hanya saja ikan termasuk komoditi yang mudah mengalami kemunduran mutu. Kemunduran mutu ikan segar terutama diawali dengan proses perombakan oleh aktivitas enzim yang secara alami terdapat di dalam tubuh ikan. Katepsin merupakan salah satu enzim yang berperan dalam proses pelunakan tekstur daging ikan akibat degradasi protein miofibril sehingga mempercepat proses kemunduran mutu ikan (Jiang 2000).

Katepsin dihasilkan oleh organel di dalam sel yang disebut dengan lisosom. Katepsin lisosomal, seperti katepsin B, D, dan L mempunyai peran dalam pelunakan dan penguraian daging ikan selama *post mortem* ikan (Aoki *et al.* 2000). Kerusakan yang ditimbulkan oleh enzim proteolitik ini mengakibatkan timbulnya akumulasi metabolit, perubahan cita rasa, terbentuknya komponen volatil serta peningkatan jumlah bakteri yang pada akhirnya menimbulkan kerugian karena nilai jual ikan menjadi menurun dan ikan tidak sehat untuk dikonsumsi, sehingga diperlukan senyawa penghambat yang disebut dengan inhibitor.

Inhibitor dapat diperoleh secara kimiawi dan alami. Contoh inhibitor kimiawi adalah *ethylene diamine tetraacetic acid* (EDTA) dan *diisopropyl fluoro phosphate* (DFP), sedangkan contoh inhibitor alami adalah sistatin (putih telur), aprotinin (pankreas), dan hirudin (*Hirudo medicinalis*) (Carreno dan Cortes 2000). Inhibitor alami juga dapat diperoleh dari dalam tubuh ikan, seperti daging ikan (Cao *et al.* 2000), telur ikan (Ustadi *et al.* 2005), plasma ikan (Lie *et al.* 2008), dan kulit ikan (Ylonen 1999).

Aktivitas inhibitor alami di dalam tubuh ikan diduga dipengaruhi oleh jenis makanan yang dimakan ikan tersebut. Ikan pemakan tumbuhan dan hewan (omnivora) diduga memiliki aktivitas inhibitor enzim proteolitik yang lebih tinggi dibandingkan dengan ikan pemakan tumbuhan (herbivora). Ikan patin adalah komoditi yang termasuk ke dalam kelompok ikan omnivora. Inhibitor katepsin yang berasal dari ikan patin diduga memiliki aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan ikan bandeng yang termasuk tergolong ikan. Aktivitas inhibitor katepsin alami dari ikan patin yang tinggi diharapkan berpotensi untuk menghambat kemunduran mutu ikan bandeng. Tujuan penelitian ini adalah memperoleh inhibitor katepsin dari ikan patin dengan suhu ekstraksi yang tepat, serta mengaplikasikan inhibitor katepsin ikan patin dengan konsentrasi yang efektif guna menghambat kemunduran mutu ikan bandeng yang disimpan pada suhu *chilling* (0-4 °C).

MATERIAL DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari bahan utama berupa ikan patin hidup sebagai sumber inhibitor katepsin dan ikan bandeng ukuran konsumsi (1 kg = ± 5 ekor) hidup untuk pengamatan kemunduran mutu ikan. Alat-alat yang digunakan, yaitu inkubator (Thermolyne), sentrifuse suhu dingin (Sorvall), spektrofotometer UV-Vis (Yamato).

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap, meliputi penelitian tahap (1), yaitu penentuan

suhu optimum ekstraksi inhibitor katepsin, tahap (2) penentuan konsentrasi inhibitor katepsin yang efektif untuk aplikasi, dan tahap (3) aplikasi inhibitor katepsin dalam menghambat kemunduran mutu ikan bandeng pada penyimpanan suhu *chilling* (0-4 °C).

Penentuan Suhu Optimum Ekstraksi Inhibitor Katepsin (An *et al.* 1995)

Ekstraksi dilakukan masing-masing pada bagian kulit, jeroan, dan daging ikan. Preparasi ikan bandeng dan ikan patin dilakukan saat setelah ikan dimatikan. Sebanyak 100 g sampel dihomogenasi dengan 100 mL akuades dingin (dibawah 4 °C), selanjutnya disentrifugasi dingin pada kecepatan 5.000 x g selama 30 menit. Supernatnya diambil dan ditambahkan buffer McIlvaine's pH 5,5 (dibuat dari 0,2 M sodium fosfat dan 0,1 M asam sitrat) dengan jumlah yang sama dengan supernatan. Campuran diinkubasi selama 10 menit pada suhu 60, 70, dan 80 °C, selanjutnya disentrifugasi kembali pada kecepatan 7.000 x g selama 15 menit. Supernatnya diambil dan disimpan suhu dingin. Hasil ekstraksi berupa ekstrak kasar inhibitor katepsin kemudian dianalisis aktivitasnya (Dinu *et al.* 2002).

Penentuan Konsentrasi Inhibitor Katepsin Yang Efektif Untuk Aplikasi

Setelah didapatkan inhibitor dengan suhu ekstraksi yang terbaik maka selanjutnya dilakukan penentuan konsentrasi inhibitor yang efektif dengan cara pengenceran. Pengenceran dilakukan dengan cara mencampurkan larutan ekstrak inhibitor dengan McIlvaine's buffer pada perbandingan 1:1, 1:2, dan 1:3. Masing-masing pengenceran inhibitor diukur aktivitas penghambatan dan konsentrasi proteinnya melalui metode analisis menurut Dinu *et al.* (2002) dan Bradford (1976).

Aplikasi Inhibitor Katepsin

Aplikasi dilakukan dengan merendam ikan bandeng dalam larutan inhibitor pada suhu *chilling* selama 1 jam. Penentuan fase *post mortem* ikan dilakukan secara organoleptik (BSN 2006) dengan pengamatan setiap 24 jam. Uji TVB (Lopez-Caballero *et al.* 2006), TPC (Lopez-Caballero *et al.* 2006), dan pH (Lopez-Caballero *et al.* 2006)

dilakukan pada fase *pre rigor*, *rigor mortis*, *post rigor* dan busuk.

Analisis Aktivitas Inhibitor Katepsin (Dinu *et al.* 2002)

Uji ini ditentukan dengan mengukur derajat penghambatan dari aktivitas katepsin menggunakan substrat hemoglobin. Uji ini di mulai dengan mereaksikan ekstrak inhibitor 0,1 mL dengan katepsin 0,1 mL selama 30 menit pada suhu inkubasi 37 °C. Selanjutnya ditambahkan 0,5 mL dari larutan substrat hemoglobin 2% (w/v) dan diinkubasi kembali pada 37 °C selama 10 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 2 mL TCA 5% (w/v). Campuran disaring dan hasil reaksi yang dapat larut ditambah dengan 1 mL pereaksi folin, kemudian campuran diukur dengan spektrofotometer pada $\lambda=750$ nm.

Analisis data

Rancangan percobaan yang digunakan untuk tahap penelitian penentuan suhu optimum ekstraksi dan konsentrasi inhibitor yang efektif untuk menghambat aktivitas enzim katepsin masing-masing menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor dan dua kali ulangan. Analisis data yang digunakan untuk tahap penelitian aplikasi inhibitor katepsin dari ikan patin pada ikan bandeng adalah menggunakan analisis deskriptif dengan membandingkan antara ikan bandeng dengan perendaman inhibitor dan ikan bandeng tanpa perendaman dengan inhibitor (kontrol).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Suhu Optimum Ekstraksi Inhibitor Katepsin

Inhibitor katepsin yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari daging ikan patin dalam kondisi *prerigor* atau sangat segar. Inhibitor katepsin pada tersebut diduga belum mengalami kerusakan dibandingkan ketika ikan sudah memasuki fase *rigor mortis* dan *postrigor*. Hasil penelitian Salamah *et al.* (2010) menunjukkan bahwa aktivitas enzim katepsin terkecil pada fase *prerigor*, diduga karena pada fase *pre rigor* terdapat inhibitor katepsin di dalam tubuh ikan yang mempunyai aktivitas penghambatan terhadap aktivitas enzim katepsin. Katepsin sebagian

terikat pada otot ikan dalam keadaan tidak aktif sebagai kompleks enzim-inhibitor (Yamashita dan Konagaya 1992).

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh bahwa aktivitas inhibitor katepsin tertinggi diperoleh pada suhu ekstraksi 80 °C dengan nilai inhibisi sebesar 92,88% dan berbeda nyata dengan nilai inhibisi katepsin yang diekstrak pada suhu 60,70, dan 90 °C ($\alpha = 0,05$). Suhu 80 °C diduga merupakan suhu optimum untuk pemisahan antara kompleks inhibitor dengan enzim katepsin karena pada suhu tersebut enzim sudah terdenaturasi sehingga mudah untuk dipisahkan melalui sentrifugasi. Penggunaan suhu ekstraksi yang sama juga dilakukan oleh Ustadi *et al.* (2005) untuk pemurnian inhibitor enzim dari telur ikan *glassfish*.

Penggunaan suhu ekstraksi yang lebih rendah (60 dan 70 °C) menghasilkan nilai inhibisi yang lebih rendah, yaitu berturut-turut sebesar 68,46% dan 85,78%, disebabkan pada suhu tersebut belum semua enzim terdenaturasi (mengalami kerusakan), sehingga masih terikat dengan inhibitor enzim. Suhu ekstraksi 60 °C dan 70 °C diduga masih terdapat aktivitas katepsin pada larutan inhibitor. Menurut Jiang (2000), jenis katepsin B, H, dan L aktif pada suhu 50-70 °C (modori) yang dapat mengakibatkan kerusakan pada pembentukan gel surimi.

Inhibitor katepsin tetap menunjukkan aktivitas inhibisi yang tinggi pada suhu ekstraksi 90 °C, yaitu sebesar 81,73%. Aktivitas inhibisi pada suhu ekstraksi ini mengalami penurunan jika dibandingkan dengan suhu ekstraksi 80 °C yang mencapai 92,88%. Inhibitor enzim pada suhu tersebut sudah mulai mengalami denaturasi, sehingga kehilangan fungsinya sebagai inhibitor.

Beberapa jenis inhibitor memiliki stabilitas yang tinggi terhadap suhu yang tinggi. Asam-asam amino yang bersifat hidrofobik, mempunyai interaksi elektrostatik, dan jembatan sulfida yang terdapat pada struktur inhibitor protease menentukan stabilitas inhibitor tersebut terhadap perubahan kondisi lingkungan. Sistein protease inhibitor (sistatin) umumnya dapat stabil pada suhu tinggi (lebih dari 100 °C) dan pH ekstrim

(pH 2-12) (Otto dan Schirmeister 1997).

Konsentrasi Inhibitor Katepsin yang Efektif untuk Aplikasi

Pengenceran inhibitor enzim dilakukan untuk menentukan konsentrasi inhibitor yang efektif dalam menghambat aktivitas enzim katepsin. Nilai inhibisi inhibitor katepsin tanpa pengenceran (90,20%) relatif sama dengan yang diencerkan 1:1 (85,29%), namun nyata penurunan aktivitas inhibisinya ketika inhibitor tersebut diencerkan perbandingan 1:2 (70,59%) dan pengenceran 1:3 (55,88%) ($\alpha = 0,05$). Proses pengenceran mengakibatkan menurunnya aktivitas inhibisi dari inhibitor yang dihasilkan. Penurunan aktivitas inhibisi ini berkaitan dengan konsentrasi inhibitor yang terkandung di dalam larutan inhibitor.

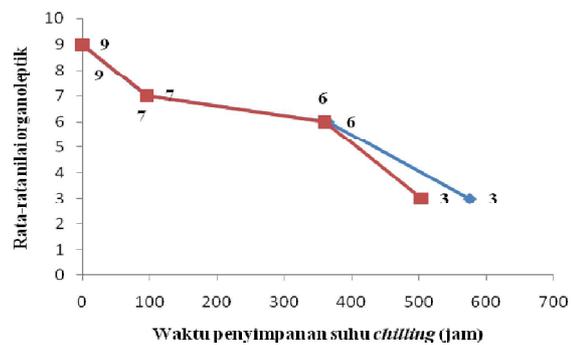
Konsentrasi protein inhibitor katepsin semakin menurun dengan meningkatnya pengenceran. Penambahan larutan buffer sebagai media pengencer menurunkan konsentrasi protein inhibitor katepsin. Konsentrasi protein inhibitor tanpa pengenceran (1,23 mg/mL) lebih tinggi dibandingkan dengan konsentrasi protein setelah pengenceran ($\alpha = 0,05$).

Aplikasi Inhibitor Katepsin dalam Menghambat Kemunduran Mutu Ikan Bandeng

Aplikasi ini dilakukan untuk mengetahui lamanya proses kemunduran mutu ikan yang telah direndam dalam larutan ekstrak inhibitor katepsin pada penyimpanan suhu *chilling* (0-4 °C). Penentuan fase *post mortem* ikan yaitu *prerigor*, *rigor mortis*, *postrigor*, dan busuk dilakukan secara organoleptik menggunakan *score sheet* yang telah ditetapkan oleh Badan Standardisasi Nasional dengan SNI 01-2346-2006 (BSN 2006). Pengamatan secara organoleptik ini meliputi beberapa parameter, yaitu keadaan mata, insang, lendir permukaan badan, daging, bau, dan tekstur.

Kondisi *prerigor* ikan bandeng dengan dan tanpa perendaman inhibitor (kontrol) terjadi pada penyimpanan selama 0 jam (0 hari). Fase *rigor mortis* pada ikan bandeng dengan perendaman inhibitor dan kontrol dicapai setelah penyimpanan selama 96 jam (4 hari). Fase *postrigor* ikan bandeng dengan perendaman inhibitor terjadi

setelah penyimpanan selama 365 jam (15 hari), sedangkan pada ikan bandeng kontrol terjadi setelah penyimpanan selama 360 jam (15 hari). Fase busuk ikan bandeng dengan perendaman inhibitor terjadi setelah penyimpanan selama 576 jam (24 hari), sedangkan pada ikan bandeng kontrol terjadi setelah penyimpanan selama 504 jam (21 hari) (Gambar 1).



Gambar 1 Nilai rata-rata organoleptik ikan bandeng dengan perendaman inhibitor (■) dan tanpa perendaman dengan inhibitor (kontrol) (◆) pada penyimpanan suhu *chilling*

Ikan bandeng dengan perendaman inhibitor dan kontrol sama-sama mengalami fase *prerigor* selama 96 jam (4 hari). Inhibitor pada fase ini belum bekerja dengan baik karena pada fase ini proses yang terjadi adalah pembentukan ATP dari ADP dan kreatin fosfat (CP). Pada kondisi *prerigor* terjadi penurunan CP secara cepat. Konsentrasi ATP dipertahankan untuk beberapa saat dengan proses resintesis dari ADP dan CP, namun pada konsentrasi CP sama dengan ATP terjadi proses penurunan ATP dan *rigor mortis* pun dimulai (Wang *et al.* 1998).

Ikan bandeng dengan perendaman inhibitor mengalami fase *rigor mortis* selama 269 jam (11 hari), sedangkan ikan bandeng kontrol selama 264 jam (11 hari). Ikan bandeng dengan perendaman inhibitor mengalami fase *rigor mortis* lebih lama 5 jam dibanding dengan ikan bandeng kontrol. Lama atau tidaknya fase *rigor mortis* ditentukan oleh kandungan glikogen ikan pada saat ikan itu mati. Lama atau proses *rigor mortis* dipengaruhi oleh tingkat stress ikan tersebut sebelum mati (Nurilmala *et al.* 2009).

Ikan bandeng dengan perendaman inhibitor

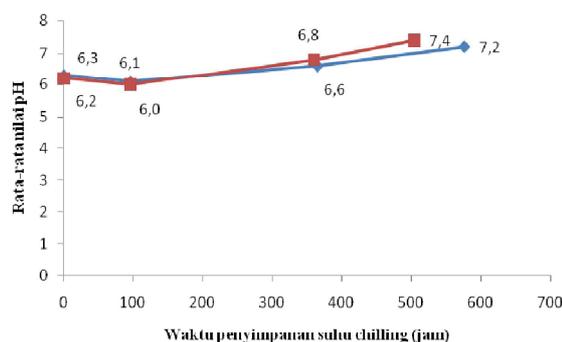
mengalami fase *postrigor* selama 211 jam (9 hari) dan ikan bandeng kontrol mengalami fase *postrigor* selama 144 jam (6 hari). Perendaman dengan inhibitor katepsin dapat memperpanjang fase *postrigor* ikan bandeng sebanyak 72 jam atau 3 hari lebih lama dibanding ikan bandeng kontrol. Inhibitor katepsin lebih berperan dalam menghambat kemunduran mutu pada saat ikan sudah memasuki fase *postrigor*. Salamah *et al.* (2010) melaporkan bahwa aktivitas tertinggi enzim katepsin pada ikan bandeng terjadi pada saat ikan memasuki fase *postrigor*. Inhibitor katepsin lebih terlihat perannya selama ikan memasuki fase *postrigor* atau pada saat aktivitas katepsin memiliki aktivitas tertinggi.

Hasil penelitian Zaenuri (2010) menunjukkan bahwa inhibitor katepsin dari ikan bandeng (aktivitas inhibisi 80,50%) mampu menghambat kemunduran mutu ikan bandeng pada penyimpanan suhu *chilling* (0-4 °C) sampai dengan 624 jam (26 hari). Hasil ini lebih lama 48 jam (2 hari) dibandingkan dengan ikan bandeng yang direndam dengan inhibitor katepsin dari ikan patin (aktivitas inhibisi 85,29%), diduga karena inhibitor katepsin dari ikan patin mengandung pigmen daging (mioglobin) dan hemoglobin yang lebih banyak dibandingkan inhibitor dari ikan bandeng. Proses kemunduran mutu ikan diantaranya disebabkan karena adanya aktivitas enzim, mikroba, dan oksidasi. Mioglobin dan hemoglobin yang masih terdapat pada larutan inhibitor ini diduga dapat mempercepat proses kemunduran mutu ikan melalui proses oksidasi.

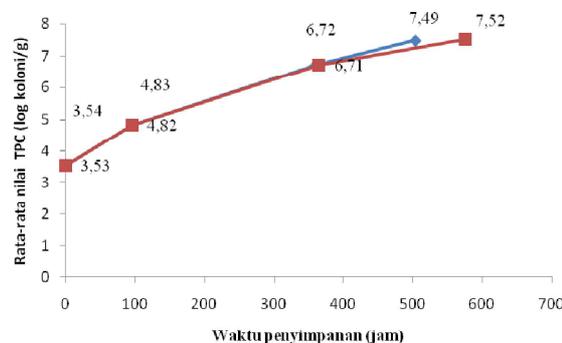
Nilai pH mengalami penurunan hingga fase *rigor mortis*. Akumulasi asam laktat terjadi, namun nilai pH mengalami kenaikan pada fase *postrigor* dan busuk karena terjadinya akumulasi basa-basa volatil. Nilai pH pada ikan bandeng yang direndam inhibitor cenderung mempunyai nilai yang lebih kecil dibandingkan ikan bandeng kontrol (Gambar 2). Peningkatan nilai pH tergantung pada lama penyimpanan ikan, selain itu juga dipengaruhi oleh komposisi garam, kondisi fisiologis, kandungan protein, dan aktivitas enzim (Taskaya *et al.* 2003).

Nilai TPC daging ikan bandeng dengan

perendaman inhibitor dan kontrol secara umum meningkat seiring dengan bertambahnya waktu penyimpanan (Gambar 3). Nilai TPC pada tiap fase terus meningkat mulai dari fase *prerigor* sampai akhirnya memasuki fase busuk. Nilai TPC ikan bandeng yang direndam dalam inhibitor lebih rendah dibandingkan dengan ikan bandeng kontrol. Penelitian yang dilakukan Azanza *et al.* (2001) melaporkan bahwa jenis mikroba yang ditemukan pada ikan bandeng adalah koliform, *Staphylococcus*, dan *Salmonella* spp.

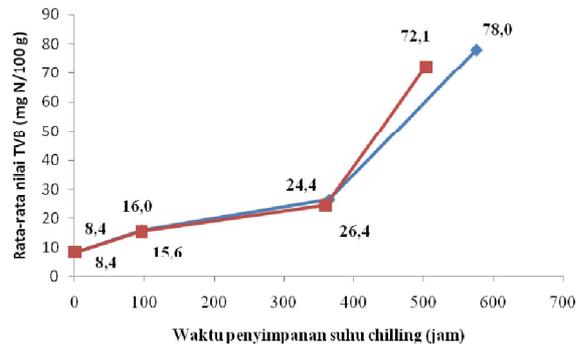


Gambar 2 Nilai rata-rata pH ikan bandeng dengan perendaman inhibitor (■) dan tanpa perendaman dengan inhibitor (◆) pada penyimpanan suhu *chilling*



Gambar 3 Nilai rata-rata TPC ikan bandeng dengan perendaman inhibitor (■) dan tanpa perendaman dengan inhibitor (◆) pada penyimpanan suhu *chilling*

Peningkatan nilai TPC diikuti dengan peningkatan nilai TVB karena aktivitas bakteri ikut berperan meningkatkan nilai TVB dengan memanfaatkan komponen hasil penguraian enzim sebagai media pertumbuhan (Gambar 4). Nilai TVB meliputi senyawa-senyawa volatil, yaitu ammonia, trimetilamin (TMA), dan dimetilamin (DMA) (Hossain *et al.* 2005).



Gambar 4 Nilai rata-rata TVB ikan bandeng dengan perendaman inhibitor (■) dan tanpa perendaman dengan inhibitor (◆) pada penyimpanan suhu chilling

KESIMPULAN

Suhu optimum ekstraksi inhibitor katepsin dari ikan patin adalah 80 °C dengan aktivitas inhibisi sebesar 92,88%. Pengenceran 1:1 merupakan konsentrasi larutan inhibitor yang digunakan untuk tahap aplikasi dengan aktivitas inhibisi sebesar 85,29%. Konsentrasi protein inhibitor semakin menurun dengan meningkatnya volume bufer yang digunakan untuk pengenceran. Perendaman dengan inhibitor katepsin dari ikan patin dapat memperpanjang fase *post mortem* ikan bandeng lebih lama 3 hari (72 jam) dibandingkan ikan bandeng kontrol pada penyimpanan suhu chilling (0-4 °C).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Direktorat Jenderal Dikti Depdiknas RI melalui Program Hibah Bersaing Tahun 2010.

DAFTAR PUSTAKA

An H, Margo Y, Peter, Thomas A, Seymour, Michael TM. 1995. Isolation and activation of cathepsin L-inhibitor complex from pacific whiting (*Merluccius productus*). *J Agric Food Chem* 43(2):327-330.

Aoki T, Yamashita T, Ueno R. 2000. Distribution of cathepsin in red and white muscle among fish species. *Fisheries Sci* 66:776-782.

Azanza MPV, Ortega MP, Valdezco RG. 2001. Microbial quality of rellonado milkfish (*Chanos chanos*, Forskal). *Food Control* 12:365-371.

[BSN] Badan Standarisasi Nasional. 2006. Standar Nasional Indonesia 01-2345-2006. *Uji Organoleptik Ikan Segar*. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional Indonesia.

Bradford, Marion M. 1976. A Rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilization the principles of protein-dye binding. *Analytical Biochem* 7(1):248-254.

Cao MJ, Osatomi K, Matsuda R, Ohkubo M. 2000. Purification of a novel serine proteinase inhibitor from skeletal muscle of white croaker (*Argyromus argentatus*). *J Bioch and Biophys Re Com* 272(2):485-489.

Carreno FLG, Cortes PH. 2000. Use of protease inhibitors in seafood products. Dalam: Haard NF, Simpson BK, editor. *Seafood Enzymes : Utilization and Influence on Postharvest Seafood Quality*. New York: Marcel Dekker, Inc.

Climaco-Pinto R, Barros AS, Locquet N, Schmidtke L, Rutledge DN. 2009. Improving the detection of significant factors using ANOVA-PCA by selecting reduction of residual variability. *J Anal Chimica Acta* 653:131-142.

Desmazeaud MJ, Zevaco C. 1976. General properties and substrate specificity of an intracellular neutral protease from *Streptococcus diacetilactis*. *Ann Biol Anim Bioch Biophys* 16(6):851-868.

Dinu D, Dumitru IF, Nichifor MT. 2002. Isolation and characterization of two chatepsins from muscle of *Carasiuss auratus gibelio*. *Roum Biotechnol Lett* 7(3):753-758.

Salamah E, Nurhayati T, Rustamaji. 2010. Aktivitas enzim katepsin dan kolagenase pada ikan bandeng (*Chanos chanos*) selama periode kemunduran mutu. *Logika* 7(2):73-79.

Hossain MI, Islam MS, Shikha FH, Kamal M, Islam MN. 2005. Physicochemical changes in thai pangas (*Pangasius sutchi*) muscle during ice-storage in an insulated box. *J of Biol Sci* 8(6):798-804.

Jiang ST. 2000. Enzymes and their effect on seafood texture. Di dalam: Haard NF, Simpson BK, editor. *Seafood Enzymes*. New York: Marcel Dekker, Inc.

Li DK, Lin H, Kim SM. 2001. Purification and characterization of a cysteine protease inhibitor from chum salmon (*Oncorhynchus keta*) plasma. *J Agric and Food Chem* 56(1):106-111.

Lopez-Caballero M., Martinez-Alvarez O, Gomez-Guillen MC, Montero P. 2006. Effect of natural compounds alternative to commercial antimelanosics on polyphenol oxidase activity and microbial growth in cultured prawns (*Marsupenaeus tiger*) during chilled storage. *Eur Food Res Technol* 223:7-15.

Nurilmala M, Nurjanah, Rahadian H. 2009. Kemunduran mutu ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) pada penyimpanan suhu chilling dengan perlakuan cara mati. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 7(1):1-16.

Olonen A. 2004. High molecular wight cysteine proteinase inhibitor in atlantic salmon and other fish species [dissertation]. Helsinki: Faculty of

- Bioscience, University of Helsinki.
- Otto HH, Schirmeister T. 1997. Cysteine protease and their inhibitor. *Chem Rev.* 97(1):133-172.
- Ustadi, KY Kim, SM Kim. 2005. Purification and identification of a protease inhibitor from glassfish (*Liparis tanakai*) eggs. *J Agric Food Chem* 53(20):7667-7672.
- Wang D, Tang J, Correia LR, Gill TA. 1998. Postmortem changes of cultivated atlantic salmon and their effects salt uptake. *J of Food Sci* 63(4):634-637.
- Yamashita M, Konagaya S. 1992. An enzyme-inhibitor complex of cathepsin L in the white muscle of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in spawning migration. *Comp Biochem physiol* 103B(4):1005-1010.
- Ylonen A, Rinne A, Herttuainen J, Bogwald J, Jarvinen M, Kalkkinen N. 1999. Atlantic salmon (*Salmon salar* L) skin contains a novel kinogen and another cysteine proteinase inhibitor. *Eur J Biochem* 266:1066-1072
- Zaenuri M. 2010. Peranan inhibitor katepsin dalam menghambat kemunduran mutu ikan bandeng (*Chanos chanos* Forskal) pada suhu *chilling* [skripsi]. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.