

# PEMBUATAN DAN KARAKTERISASI HIDROLISAT PROTEIN DARI IKAN LELE DUMBO (*Clarias gariepinus*) MENGGUNAKAN ENZIM PAPAIN

## *Production and Characterization of Protein Hydrolysates from African Catfish (*Clarias gariepinus*) using Papain*

Ella Salamah, Tati Nurhayati\*, Indah Rahayu Widadi

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB

Diterima 22 Agustus/Disetujui 26 Oktober 2011

### Abstract

African catfish (*Clarias gariepinus*) is important freshwater fish commodity in Indonesia. African catfish also has high protein content, which is potential to be used as protein hydrolysate. Fish protein hydrolysate offered many advantages in food, feed, agriculture, microbiology and medicinal's field. This research aimed to determine the optimal condition for hydrolysis of African catfish protein and to characterize protein hydrolysate from African catfish. The optimal concentration of papain used for hydrolysis of African catfish protein was 5% (w/v) for 6 hours hydrolysis time and degree of hydrolysis was 35.37%. Protein hydrolysate from African catfish revealed 21.16% of yield and water content of 5.46%; ash content of 5.71%; protein content of 53.29%; and fat content of 1.94%. Protein hydrolysate from African catfish contained 15 types of amino acids, with 9 types of essential amino acids and 6 types of non essential amino acids. The highest essential amino acid composition was lysin of 5.23%, while the highest non essential amino acid composition was glutamic acid of 7.77%. Protein hydrolysate from African catfish showed protein digestibility by in vitro enzymatic hydrolysis of 98.57%.

Key words: African catfish, amino acid, fish protein hydrolysate, papain

### Abstrak

Ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*) merupakan komoditas ikan air tawar yang penting di Indonesia. Ikan tersebut memiliki kandungan protein yang cukup tinggi sehingga potensial untuk dimanfaatkan menjadi hidrolisat protein ikan. Hidrolisat protein ikan dapat dimanfaatkan dalam bidang pangan, pakan, pertanian, mikrobiologi dan farmasi. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum proses hidrolisis protein ikan lele dumbo dan karakteristik hidrolisat protein yang dihasilkan dengan perlakuan konsentrasi enzim papain 0-6% (b/v) dan waktu hidrolisis 0-7 jam. Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi optimum enzim papain untuk pembuatan hidrolisat protein yaitu sebesar 5% (b/v) dengan waktu hidrolisis optimum selama 6 jam dan derajat hidrolisis sebesar 35,37%. Hidrolisat protein ikan lele dumbo memiliki rendemen sebesar 21,16% dan komposisi kimia sebagai berikut: kadar air 5,46%; abu 5,71%; protein 53,29%; dan lemak 1,94%. Hidrolisat protein ikan lele dumbo mengandung 15 asam amino, yaitu 9 asam amino esensial dan 6 asam amino non esensial. Komposisi asam amino esensial tertinggi adalah lisin, sebesar 5,23%; sedangkan komposisi asam amino non esensial tertinggi adalah asam glutamat, sebesar 7,77%. Hidrolisat protein ikan lele dumbo memiliki daya cerna protein *in vitro* sebesar 98,57%.

Kata kunci: asam amino, hidrolisat protein ikan, lele dumbo, papain.

### PENDAHULUAN

Hidrolisat protein ikan dihasilkan dari proses penguraian protein ikan menjadi

peptida sederhana maupun asam amino melalui proses hidrolisis oleh enzim, asam, atau basa. Hidrolisat protein ikan dapat dimanfaatkan sebagai penambah citarasa; sumber protein dan asam amino pada bahan pangan. Hidrolisat protein ikan dengan

\*Korespondensi: Jln. Lingkar Akademik, Kampus IPB Dramaga. Telp. +622518622915 Fax +622518622916 e-mail: [nurhayati7870@yahoo.com](mailto:nurhayati7870@yahoo.com)

kualitas di bawah kualitas pangan dapat dimanfaatkan sebagai sumber protein pada pakan, sumber nitrogen pada pupuk tanaman dan media tumbuh bakteri (Kristinsson 2007).

Ikan lele dumbo merupakan ikan air tawar yang memiliki beberapa keunggulan, yaitu teknologi pembenihan dan pembesarannya mudah diterapkan oleh masyarakat dan kandungan protein ikannya tinggi (Ersoy dan Ozeren 2009). Hidrolisat protein ikan merupakan salah satu bentuk pemanfaatan ikan lele dumbo yang potensial, namun informasi mengenai hidrolisat protein ikan lele dumbo masih terbatas, sehingga penelitian ini perlu dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kondisi optimum (konsentrasi enzim dan waktu hidrolisis) proses hidrolisis protein ikan dan karakteristik hidrolisat protein ikan lele dumbo yang dihasilkan.

## MATERIAL DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini terdiri atas bahan utama, yaitu ikan lele dumbo (1 kg = ± 5 ekor), enzim papain dan akuades. Bahan kimia yang digunakan adalah kasein 2% (b/v) (*assay* aktivitas enzim papain), *bovine serum albumin* (BSA), etanol 96% (v/v), *coomasie brilliant blue* G-250, asam fosfat 85% (b/v) dan akuades (konsentrasi protein enzim papain),  $K_2SO_4$ ,  $CuSO_4$ ,  $H_2SO_4$ , *bromocresol green*, *Methyl NaOH* 40% (b/v),  $H_3BO_3$  4% (v/v) dan HCl (analisis proksimat), ortoftalaldehida (OPA), bufer borat 1 M, HCl 6 N, gas  $N_2$  Na-asetat 0,025 N, Na-EDTA, metanol 95% v/v, THF, Merkuptoetanol, brij-30 larutan standar asam amino 0,5  $\mu$ mol/mL (analisis asam amino), TCA 20% (b/v) (analisis derajat hidrolisis), HCl, enzim pepsin, NaOH, enzim pankreatin, natrium azida, bufer fosfat pH 8,0 (analisis daya cerna protein *in vitro*).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *refrigerator* (LG), *homogenizer* (Nissei AM-3), *waterbath shaker* (Wiggen Hauser), *spray dryer* (Buchi), *sentrifuge* suhu dingin (Sorvall T-21), pH-meter (Orion), spektrofotometer (Yamato), HPLC

(Shimadzu), timbangan digital (Sartorius), inkubator (Termolina), oven (Yamato) dan mikropipet (Pipetman).

### Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri atas tiga tahapan, yaitu pembuatan hidrolisat protein ikan (Nurhayati *et al.* 2007), penentuan konsentrasi optimum enzim papain, penentuan waktu hidrolisis optimum, dan karakterisasi hidrolisat protein ikan lele dumbo yang dihasilkan. Ikan lele dumbo dibuat *fillet skinless*, dihomogenisasi dengan akuades (1:4), dihidrolisis dengan enzim papain pada konsentrasi tertentu, suhu 55 °C, pH 7,0 dan waktu tertentu, kemudian dinaktivasi pada suhu 80 °C selama 20 menit. Hidrolisat protein cair yang dihasilkan disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 20 menit, suhu 4 °C. Supernatan dikeringkan menggunakan pengering semprot (*spray dryer*) dengan suhu *inlet* sebesar 160 °C dan suhu *outlet* sebesar 80 °C sehingga dihasilkan serbuk hidrolisat protein ikan lele dumbo.

Konsentrasi enzim papain yang digunakan adalah 0-6% (b/v) dan waktu hidrolisis yang digunakan adalah 0-7 jam. Hidrolisat protein ikan lele dumbo yang dihasilkan kemudian dikarakterisasi, meliputi uji proksimat (kadar air, abu, protein dan lemak), asam amino dan daya cerna protein *in vitro*. Analisis statistik terhadap konsentrasi optimum enzim papain dan waktu hidrolisis optimum dilakukan dengan uji ragam (ANOVA) berupa rancangan acak lengkap dengan satu faktor perlakuan dan uji lanjut Duncan (Steel dan Torrie 1991).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas dan Konsentrasi Protein Enzim Papain

Enzim papain yang digunakan dalam reaksi hidrolisis protein ikan lele dumbo memiliki aktivitas enzim sebesar 0,595 U/mL, hal ini berarti 1 mL enzim papain 1,25% (b/v) dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis untuk mengkonversi 0,595  $\mu$ mol substrat protein per menit menjadi produk hidrolisat protein

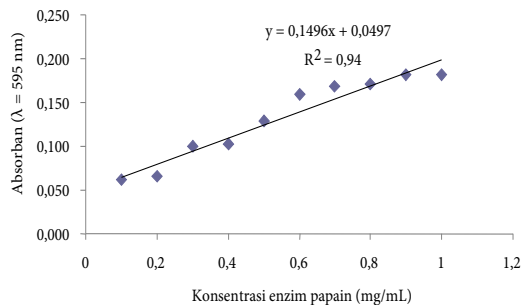
ikan lele dumbo. Kurva standar penentuan konsentrasi protein enzim papain disajikan pada Gambar 1. Enzim papain yang digunakan dalam reaksi hidrolisis memiliki konsentrasi protein sebesar 0,456 mg/mL, hal ini berarti 1 mL enzim papain 1,25% (b/v) mengandung protein dengan konsentrasi sebesar 0,456 mg.

Enzim papain yang digunakan dalam proses hidrolisis memiliki aktivitas spesifik sebesar 1,305 U/mg protein. Hal ini berarti setiap 1 mg protein enzim papain dapat mengkatalisis reaksi hidrolisis untuk mengkonversi 1,305  $\mu$ mol substrat protein ikan lele dumbo per menit sehingga dihasilkan produk hidrolisat protein ikan. Enzim papain yang digunakan dalam penelitian ini memiliki nilai aktivitas spesifik lebih rendah dibandingkan dengan enzim papain komersial yang diproduksi oleh SIGMA, yaitu 10 U/mg protein.

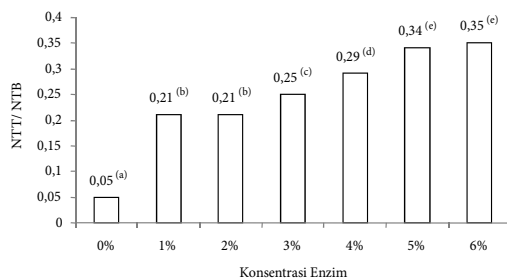
Enzim papain yang telah disimpan dalam waktu cukup lama akan mengalami penurunan aktivitas spesifik. Enzim papain dapat mengalami penurunan aktivitas sebesar

50% setelah 60 hari penyimpanan pada suhu 4 °C dan menurun sebesar 95% setelah 24 hari penyimpanan pada suhu ruang. Aktivitas autolisis maupun gangguan stabilitas struktur protein enzim papain dapat menjadi penyebab terjadinya penurunan aktivitas enzim papain (Wang *et al.* 2008).

Enzim papain dalam bentuk ekstrak kasar dan tidak diimobilisasi memiliki aktivitas spesifik yang lebih rendah dibandingkan enzim papain murni maupun yang diimobilisasi. Metode pemurnian enzim papain yang telah banyak digunakan adalah metode pengendapan dan kromatografi. Teknik imobilisasi enzim dapat meningkatkan stabilitas enzim papain baik terhadap suhu maupun waktu penyimpanan. Enzim papain dapat diimobilisasi menggunakan partikel silika dan nanopartikel perak (Wang *et al.* 2008). Pelarut organik seperti MeOH, EtOH, MeCN dan (MeO)<sub>2</sub> yang dicampur dengan substrat flourogenik dapat menurunkan aktivitas enzim papain dalam reaksi hidrolisis (Szabelski *et al.* 2001).



Gambar 1 Kurva standar penentuan konsentrasi protein enzim papain.



Gambar 2 Nilai rata-rata NTT/NTB hidrolisis protein ikan lele dumbo dengan konsentrasi enzim papain yang berbeda (Superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ( $p < 0,05$ )).

### Konsentrasi Optimum Enzim Papain

Nilai rata-rata Nitrogen Total Terlarut/ Nitrogen Total Bahan (NTT/NTB) hidrolisis protein ikan lele dumbo dengan konsentrasi enzim papain yang berbeda disajikan pada Gambar 2. Hasil uji menunjukkan bahwa konsentrasi enzim papain sebesar 5% (b/v) merupakan konsentrasi optimum enzim papain yang digunakan dalam hidrolisis protein ikan lele dumbo. Enzim papain yang ditambahkan di atas konsentrasi 5% (b/v) menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata.

Rasio antara konsentrasi enzim papain terhadap substrat yang semakin tinggi dapat memperbesar peluang terjadinya reaksi hidrolisis protein hingga mencapai titik dimana peningkatan konsentrasi enzim tidak berpengaruh nyata terhadap nilai NTT/NTB. Konsentrasi enzim proteolitik yang semakin meningkat dalam proses hidrolisis menyebabkan peningkatan kadar nitrogen terlarut (Hasnaliza *et al.* 2010).

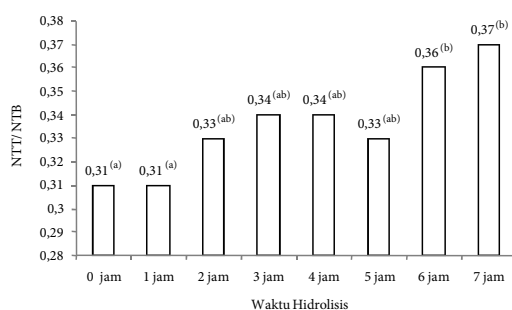
### Waktu Hidrolisis Optimum

Nilai rata-rata NTT/NTB hidrolisis protein ikan lele dumbo dengan waktu hidrolisis yang berbeda disajikan pada Gambar 3. Hasil uji menunjukkan bahwa waktu hidrolisis sebesar 6 jam merupakan waktu hidrolisis optimum yang digunakan dalam hidrolisis protein ikan lele dumbo. Waktu hidrolisis di atas 6 jam menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata.

Penelitian Ovissipur *et al.* (2010) mengenai hidrolisis enzimatis protein *Thunnus albacares* menunjukkan derajat hidrolisis meningkat cepat pada waktu hidrolisis selama 2 jam pertama, setelah itu menjadi semakin lambat. Kecepatan peningkatan derajat hidrolisis yang semakin menurun dapat disebabkan oleh adanya penghambatan proses hidrolisis substrat oleh produk yang dihasilkan selama proses hidrolisis.

### Derajat Hidrolisis dari Hidrolisat Protein Ikan Lele Dumbo

Derajat hidrolisis yang dihasilkan dari proses hidrolisis protein ikan lele dumbo pada kondisi optimum sebesar 35,37%, lebih tinggi dibandingkan dengan hidrolisat protein ikan nila dalam penelitian Foh *et al.* (2011) sebesar 23,40%. Derajat hidrolisis pada hidrolisat protein ikan lele dumbo ditentukan dengan metode *soluble nitrogen after trichloro acid precipitation* (SN-TCA). Metode SN-TCA memiliki keuntungan, yaitu proses analisis relatif cepat dan praktis (Rutherford 2010).



Gambar 3 Nilai rata-rata NTT/NTB hidrolisis protein ikan lele dumbo dengan waktu hidrolisis yang berbeda (Superskrip yang berbeda menunjukkan berbeda nyata ( $p < 0,05$ )).

Derajat hidrolisis meningkat disebabkan oleh peningkatan peptida dan asam amino yang terlarut dalam TCA akibat dari pemutusan ikatan peptida selama hidrolisis protein. Konsentrasi enzim dan substrat yang berbeda serta waktu hidrolisis yang berbeda menyebabkan perbedaan derajat hidrolisis (Hasnaliza *et al.* 2010). Ovissipur *et al.* (2010) menyebutkan bahwa perbedaan jenis enzim yang digunakan dapat menyebabkan perbedaan nilai derajat hidrolisis pada proses hidrolisis protein kepala *Thunnus albacares*.

### Komposisi Kimia Hidrolisat Protein Ikan Lele Dumbo

Komposisi kimia hidrolisat protein ikan lele dumbo disajikan pada Tabel 1. Hidrolisat protein ikan lele dumbo memiliki kadar air sebesar 5,46% tidak jauh berbeda dengan kadar air pada hidrolisat protein ikan komersial sebesar 5,00% (International Quality Ingredients 2005) namun lebih tinggi dibandingkan hidrolisat protein ikan nila sebesar 1,22% (Foh *et al.* 2011). Metode pengeringan yang berbeda menyebabkan perbedaan kadar air. Hidrolisat protein ikan lele dumbo dan hidrolisat protein ikan komersial dikeringkan dengan metode *spray drying*, sedangkan hidrolisat protein ikan nila dikeringkan dengan metode *freeze drying*. Air akan menguap ketika mengalami kontak dengan panas saat proses pengeringan berlangsung sehingga kadar air yang terkandung dalam bahan pangan akan menurun. Protein yang dikeringkan menggunakan *freeze drying* memiliki kadar air yang lebih rendah dan resiko kerusakan protein yang lebih kecil dibandingkan dengan *spray drying* (Berk 2009).

Tabel 1 Komposisi kimia hidrolisat protein ikan lele dumbo

| Parameter     | Jumlah (% bb) |
|---------------|---------------|
| Kadar air     | 5,46          |
| Kadar abu     | 5,71          |
| Kadar protein | 53,29         |
| Kadar lemak   | 1,94          |

Hidrolisat protein ikan lele dumbo memiliki kadar abu sebesar 5,71%, lebih tinggi dibandingkan kadar abu pada hidrolisat protein ikan komersial sebesar 0,30% (International Quality Ingredients 2005) dan hidrolisat protein ikan nila sebesar 1,22% (Foh *et al.* 2011). Senyawa alkali dan atau senyawa asam yang ditambahkan selama proses hidrolisis protein bertujuan untuk mencapai pH optimum enzim, pencampuran kedua senyawa tersebut akan menyebabkan terbentuknya senyawa garam yang dapat meningkatkan kadar abu pada hidrolisat protein ikan (Dong *et al.* 2005).

Hidrolisat protein ikan lele dumbo memiliki kadar protein sebesar 53,29%, lebih rendah dibandingkan kadar protein pada hidrolisat protein ikan komersial sebesar 84,00% (International Quality Ingredients 2005) dan hidrolisat protein ikan nila sebesar 97,57% (Foh *et al.* 2011). Enzim papain tergolong dalam kelompok sistein peptidase yang merupakan enzim endopeptidase yang menghidrolisis gugus thiol pada sistein (Gul *et al.* 2006). Enzim papain yang digunakan dalam proses hidrolisis protein ikan lele dumbo memiliki aktivitas spesifik yang rendah, yaitu sebesar 1,305 U/mg, hal ini mengakibatkan jumlah ikatan peptida dalam protein daging ikan lele dumbo yang dihidrolisis oleh enzim papain hanya sedikit sehingga senyawa nitrogen terlarut yang dihasilkan sedikit dan kadar protein yang terukur juga rendah. Kadar protein yang terukur pada hidrolisat protein ikan merupakan molekul protein terlarut (Nurhayati *et al.* 2007).

Hidrolisat protein ikan lele dumbo memiliki kadar lemak sebesar 1,94%, lebih rendah dibandingkan kadar lemak hidrolisat protein ikan komersial sebesar 11,00% (International Quality Ingredients 2005), namun lebih tinggi dibandingkan hidrolisat protein ikan nila sebesar 0,67% (Foh *et al.* 2011). Lemak yang terkandung dalam hidrolisat protein sebagian ikut terpisah bersama protein yang tidak terlarut, yaitu ketika sentrifugasi. Hidrolisat protein yang

mempunyai kadar lemak rendah umumnya lebih stabil terhadap reaksi oksidasi lemak dibandingkan hidrolisat protein ikan yang mempunyai kadar lemak tinggi (Nilsang *et al.* 2005).

### Komposisi Asam Amino Hidrolisat Protein Ikan Lele Dumbo

Komposisi asam amino produk hidrolisat protein ikan lele dumbo disajikan pada Tabel 2. Hidrolisat protein ikan lele dumbo mengandung 9 jenis asam amino esensial antara lain valin, leusin, isoleusin, metionin, treonin, histidin, lisin, arginin, dan fenilalanin. Asam amino non esensial yang terkandung dalam hidrolisat protein ikan lele dumbo terdiri atas 6 jenis, yaitu asam aspartat, asam glutamat, serin, glisin, alanin dan tirosin. Asam amino yang tidak dianalisis dalam penelitian ini adalah triptofan, prolin, sistein, asparagin dan glutamin.

Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein. Asam amino dapat diklasifikasikan berdasarkan kemampuan sintesis dalam tubuh, yaitu asam amino

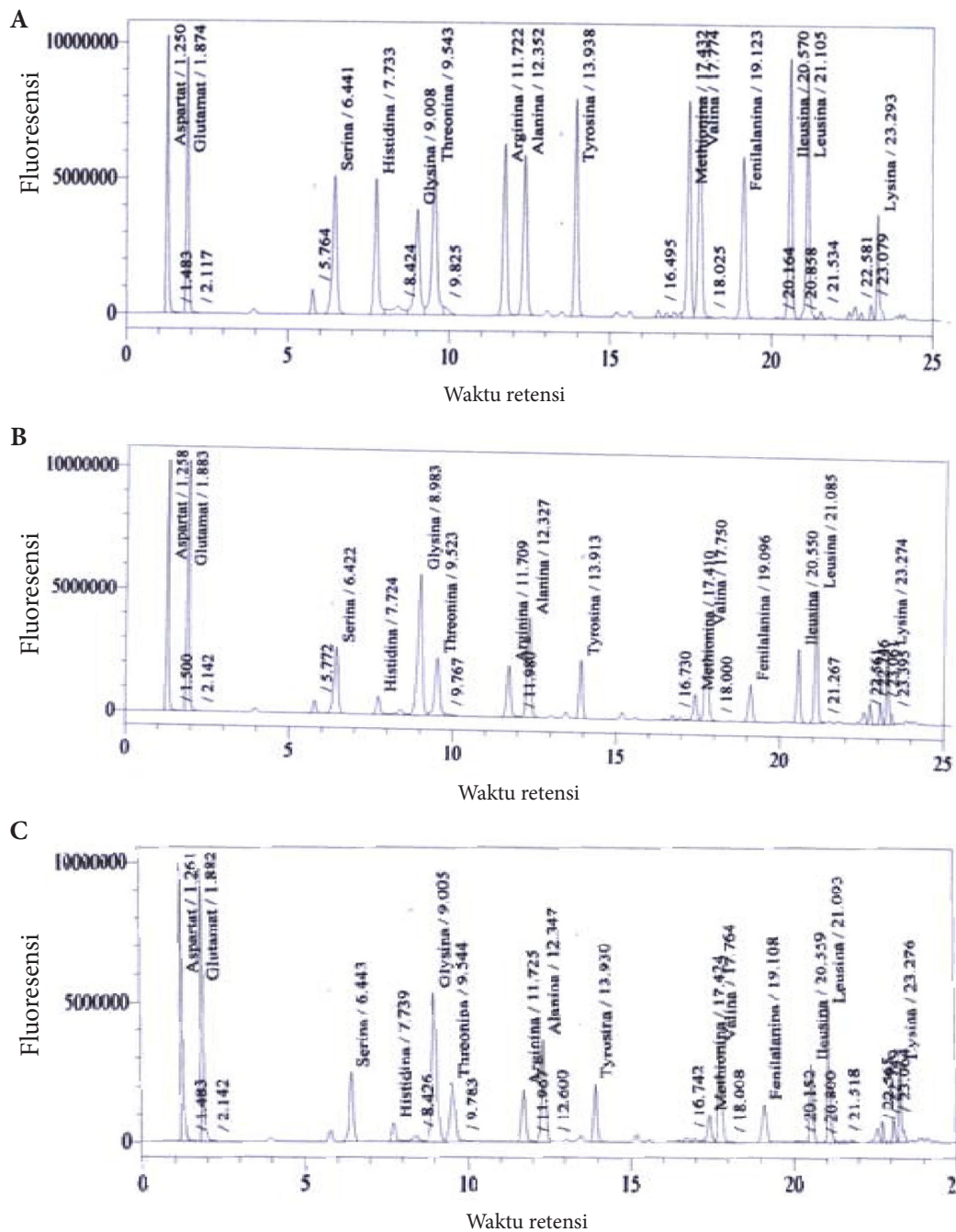
Tabel 2 Komposisi asam amino hidrolisat protein ikan lele dumbo

| Asam amino    | Jumlah (% b/b) |
|---------------|----------------|
| Valin         | 2,57           |
| Leusin        | 3,55           |
| Isoleusin     | 1,97           |
| Metionin      | 0,98           |
| Treonin       | 2,22           |
| Histidin      | 1,68           |
| Lisin         | 5,23           |
| Arginin       | 2,77           |
| Fenilalanin   | 2,02           |
| Asam aspartat | 5,98           |
| Asam glutamat | 7,77           |
| Serin         | 2,61           |
| Glisin        | 4,85           |
| Alanin        | 2,93           |
| Tirosin       | 2,56           |

esensial dan non esensial. Asam amino esensial tidak dapat diproduksi oleh tubuh sehingga harus disuplai melalui makanan, sedangkan asam amino non-esensial dapat diproduksi dalam tubuh (Sitompul 2004). Kualitas protein dapat ditentukan berdasarkan asam amino esensial penyusunnya (Wu *et al.* 2010). Protein yang dapat menyediakan asam amino esensial dalam komposisi yang hampir

sama dengan kebutuhan manusia, merupakan protein yang bermutu tinggi.

Kadar asam amino hidrolisat protein ikan lele dumbo lebih rendah dibandingkan kadar asam amino hidrolisat protein ikan nila (Foh *et al.* 2011) dan hidrolisat protein ikan komersial (International Quality Ingredients 2005). Protein yang terlarut pada hidrolisat protein ikan lele dumbo sebagian masih dalam



Gambar 4 Kromatogram HPLC (a) standar; (b) hidrolisat protein ikan lele dumbo ulangan 1; (c) hidrolisat protein ikan lele dumbo ulangan 2.

bentuk peptida-peptida. Jenis enzim yang berbeda apabila digunakan dalam reaksi hidrolisis dapat menghasilkan komposisi asam amino yang berbeda. Hidrolisis protein ikan lele dumbo menggunakan enzim papain, sedangkan hidrolisis protein ikan nila menggunakan enzim alkalase. Protein terlarut yang sebagian masih dalam bentuk peptida akan menyebabkan rendahnya kadar asam amino pada hidrolisat protein ikan (Nurhayati *et al.* 2007).

Kandungan asam amino esensial tertinggi adalah lisin sebesar 5,23%, sedangkan asam amino non esensial yang tertinggi adalah asam glutamat sebesar 7,77%. Asam glutamat dan asam aspartat memberikan cita rasa pada *seafood* (Uju *et al.* 2009). Hidrolisat protein ikan lele dumbo mengandung beberapa jenis asam amino yang berperan dalam menghambat oksidasi lemak antara lain tirosin, metionin, histidin, lisin dan triptofan (Dong *et al.* 2008). Kromatogram HPLC asam amino standar dan hidrolisat protein ikan lele dumbo disajikan pada Gambar 4.

#### **Daya Cerna Protein *In Vitro* Hidrolisat Protein Ikan Lele Dumbo**

Hidrolisat protein ikan lele dumbo memiliki daya cerna protein *in vitro* sebesar 98,57%, lebih tinggi dibandingkan daya cerna protein pada hidrolisat protein ikan nila sebesar 92,73% (Foh *et al.* 2011) dan hidrolisat protein ikan komersial sebesar 97,00% (International Quality Ingredients 2005). Hidrolisat protein ikan nila hanya dihidrolisis oleh tripsin dan hidrolisat protein ikan komersial hanya dihidrolisis oleh pepsin, sedangkan hidrolisat protein ikan lele dumbo dihidrolisis oleh dua enzim sekaligus, yaitu pepsin dan pankreatin.

Jenis enzim pencernaan yang digunakan untuk menghidrolisis protein pada sampel dalam analisis daya cerna protein *in vitro* akan mempengaruhi nilai yang dihasilkan. Metode analisis multienzim (menggunakan lebih dari satu jenis enzim) akan menghasilkan daya cerna protein *in vitro* yang lebih tinggi

dibandingkan penggunaan satu jenis enzim saja (Denadai *et al.* 2007).

#### **KESIMPULAN**

Kondisi optimum proses hidrolisis daging ikan lele dumbo yaitu menggunakan enzim papain dengan konsentrasi 5% (b/v) dan waktu hidrolisis 6 jam. Hidrolisat protein ikan lele dumbo yang dihasilkan berupa serbuk berwarna putih kekuningan dengan kadar protein 53,29%. Hidrolisat tersebut mengandung 15 jenis asam amino yang terdiri atas 9 asam amino esensial dan 6 asam amino non esensial. Kandungan asam amino esensial tertinggi adalah lisin sedangkan asam amino non esensial yang tertinggi adalah asam glutamat. Hidrolisat protein ikan lele dumbo memiliki daya cerna protein *in vitro* 98,57%.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Berk Z. 2009. *Food Proces Engineering and Technology*. New York: Academic Press.
- Denadai SM, Hiane PA, Marangoni S, Baldasso PA, Miguel AM, Macedo ML. 2007. In vitro digestibility of globulins from sapucala (*Lecythis pisonis*) nuts by mamalian digestive proteinases. *Ciencias Tecnologia Alimentos Campinas* 27(3):535-543.
- Dong Y, Sheng G, Fu J, Wen K. 2005. Chemical characterization and anti-anaemia activity of fish protein hydrolysate from *Saurida elongata*. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85:2033-2039.
- Dong S, Zeng M, Wang D, Liu Z, Zhao Y, Yang H. 2008. Antioxidant and biochemical properties of protein hydrolysates prepared from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Food Chemistry* 107:1485-1493.
- Ersoy B, Ozeren A. 2009. The effect of cooking methods on mineral and vitamin contents of African catfish. *Food Chemistry* 115:419-422.
- Foh MBK, Tamara MT, Amadou I, Foh BM, Wenshui X. 2011. Chemical and physicochemical properties of tilapia

- (*Oreochromis niloticus*) fish protein hydrolysate and concentrate. *International Journal Biological Chemistry* 10:1-15.
- Gul S, Mellor GW, Thomas EW, Brocklehurst K. 2006. Temperature-dependences of the kinetics of reactions of papain and actinidin with a series of reactivity probes differing in key molecular recognition features. *Biochemical Journal* 396:17-21.
- Hasnaliza H, Maskat MY, Wan AWM, Mamot 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. *International Food Research Journal* 17:147-152.
- International Quality Ingredients. 2005. Product specification: fish protein hydrolysate HP. <http://www.IQI.com> [16 Juni 2011].
- Kristinsson HG. 2007. Aquatic food protein hydrolysates. Di dalam: Shahidi F, editor. *Maximising the Value of Marine By-Product*. Boca Raton: CRC Press.
- Nilsang S, Lertsiri S, Suphantharika M, Assavanig A. 2005. Optimization of enzymatic hydrolysis of fish soluble concentrate by commercial proteases. *Journal of Food Engineering* 70:571-578.
- Nurhayati T, Salamah E, Hidayat T. 2007. Karakteristik hidrolisat protein ikan selar (*Caranx leptolepis*) yang diproses secara enzimatis. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 10(1):23-34.
- Ovissipour M, Benjakul S, Safari R, Motamedzadegan A. 2010. Fish protein hydrolysates production from yellowfin tuna *Thunnus albacares* head using alcalase and protamex. *International Aquatic Research* 2: 87-95.
- Rutherford SM. 2010. Methodology for determining degree of hydrolysis of protein hydrolysates: a review. *Journal AOAC International* 93(5):1515-1522.
- Sitompul S. 2004. Analisis asam amino dalam tepung ikan dan bungkil kedelai. *Buletin Teknik Pertanian* 9(1):33-37.
- Steel RGD, Torrie JH. 1991. *Prinsip dan Prosedur Statistika, Suatu Pendekatan Biometrik*. Ed ke-2. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Szabelski M, Stachowiak K, Wiczak W. 2001. Influence of organic solvents on papain kinetics. *Acta Biochimica Polonica* 48(4):1197-1201.
- Uju, Nurhayati T, Ibrahim B, Trilaksani W, Siburian M. 2009. Karakterisasi dan recovery protein dari air cucian *minced fish* dengan membran reverse osmosis. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 12(2):115-127.
- Wang A, Hua W, Zhou C, Du Z, Zhu S, Shen S. 2008. Ag-induced efficient immobilization of papain on silica spheres. *Chinese Journal of Chemical Engineering* 16(4):612-619.
- Wu X, Zhou B, Cheng Y, Zeng C, Wang C, Feng L. 2010. Comparison of gender differences in biochemical composition and nutritional value of various edible parts of the blue swimmer crab. *Journal Food Composition Analysis* 23:154-159.