



## OPTIMASI HIDROLISIS ENZIMATIK PEPTON IKAN PELAGIS KECIL MENGGUNAKAN PEPSIN DARI LAMBUNG TUNA (*Thunnus albacares*)

Rolen Yaldivilmon Anabokay, Tati Nurhayati\*, Wini Trilaksani

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB University  
Jalan Agatis Kampus IPB Dramaga, Bogor, Jawa Barat Indonesia 16680

Diterima: 30 Januari 2025/Disetujui: 24 April 2025

\*Korespondensi: [tnurhayati@apps.ipb.ac.id](mailto:tnurhayati@apps.ipb.ac.id)

**Cara sitasi (APA Style 7<sup>th</sup>):** Anabokay, R. Y., Nurhayati, T., & Trilaksani, W. (2025). Optimasi hidrolisis enzimatis pepton ikan pelagis kecil menggunakan pepsin dari lambung tuna (*Thunnus albacares*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 28(4), 361-377. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v28i4.62326>

### Abstrak

Hasil tangkapan ikan pelagis kecil yang melimpah sering tidak dimanfaatkan dengan baik karena telah mengalami penurunan mutu akibat kesalahan penanganan. Hal ini dapat menyebabkan kerugian secara ekonomis maupun ekologis. Oleh karena itu perlu upaya untuk memberikan nilai tambah melalui pembuatan pepton sebagai media pertumbuhan mikroorganisme. Tujuan penelitian ini adalah menentukan aktivitas enzim terbaik dalam proses hidrolisis daging ikan serta mengarakterisasi pepton yang dienkapsulasi menggunakan gom arab dan maltodekstrin dengan rasio 1:3. Bahan baku pepton terdiri atas ikan kembung (*Rastrelliger* sp.), ikan selar (*Selaroides* sp.), dan ikan tembang (*Sardinella fimbriata*), serta pepsin yang diekstrak dari lambung ikan tuna (*Thunnus albacares*). Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan satu faktor yang memiliki tiga taraf nilai aktivitas enzim (3.000 U/mg, 6.000 U/mg, dan 9.000 U/mg) yang dilakukan dengan dua kali pengulangan. Hasil analisis menunjukkan bahwa nilai *total volatile base* (TVB) bahan baku ikan, yaitu 28,046 mg N/100 g, masih dalam ambang batas konsumsi. Aktivitas enzim terbaik untuk hidrolisis, yaitu 3.000 U/mg dengan nilai NTT/NTB 0,630±0,281; yang selanjutnya digunakan dalam pembuatan pepton cair. Pepton cair tersebut kemudian dienkapsulasi dengan maltodekstrin dan gom arab (1:3). Enkapsulasi dilakukan dengan rasio 1:3 (pepton cair dan bahan penyalut v/v). Pepton yang dihasilkan mengandung protein 35,86%, abu 1,5%, dan kelarutan dalam air 86,42%. Enkapsulasi pepton cair 1:3 menghasilkan pepton dengan kadar NaCl 0,2% serta nilai pH 4,06; sehingga dapat digunakan sebagai media pertumbuhan mikrob asidofilik moderat. Penelitian ini membuktikan bahwa rasio penyalut 1:3 efektif dalam menghasilkan pepton ikan yang stabil, berkualitas tinggi, dan potensial dikembangkan sebagai media kultur mikroorganisme.

Kata kunci: aktivitas enzim, enkapsulasi, ikan kembung, ikan selar, ikan tembang

### Optimization of Enzymatic Hydrolysis of Small Pelagic Fish Peptone Using Pepsin from Tuna (*Thunnus albacares*) Stomach

#### Abstract

The abundant catch of small pelagic fish is often underutilized due to quality deterioration caused by mishandling, leading to economic and ecological losses. This study aims to find the best enzyme activity for breaking down fish meat and to describe the peptone that is wrapped in gum arabic and maltodextrin mixed in a 1:3 ratio. The peptone raw materials consist of mackerel (*Rastrelliger* sp.), yellowstripe scad (*Selaroides* sp.), and sardine (*Sardinella fimbriata*), as well as pepsin extracted from the stomach of yellowfin tuna (*Thunnus albacares*). A completely randomized design (CRD) was used, with a single factor consisting of three enzyme activity levels (3,000 U/mg, 6,000 U/mg, and 9,000 U/mg), conducted in two replications. The analysis results indicated that the total volatile base (TVB) value of the fish raw material reached 28.046 mg

N/100 g, which remains within the acceptable consumption limit. The highest enzyme activity for breaking down substances was 3,000 U/mg, with an NTT/NTB value of  $0.630 \pm 0.281a$ , and this was then used to make liquid peptone. The liquid peptone was encapsulated at a 1:3 (v/v) ratio using maltodextrin and gum arabic (1:3) as encapsulating agents. The peptone contained 35.86% protein, 1.5% ash, and 86.42% water solubility. Mixing liquid peptone with a 1:3 ratio created peptone that has 0.2% NaCl and a pH of 4.06, which is good for growing moderately acid-loving microbes. This study demonstrates that a 1:3 encapsulation ratio effectively produces stable, high-quality fish peptone, which shows potential for application as a microbial culture medium.

**Keywords:** encapsulated, enzyme activity, mackerel, sardine, yellowstripe scad

## PENDAHULUAN

Perikanan tangkap di Indonesia bersifat multispesies dan berimplikasi pada variasi alat tangkap serta jenis ikan yang ditargetkan. Jenis ikan yang dominan ditangkap adalah ikan pelagis kecil karena keanekaragamannya yang tinggi dan ketersediaannya yang melimpah di Perairan Indonesia. Jenis ikan pelagis kecil yang sering tertangkap antara lain ikan layang (*Decapterus* spp.), ikan kembung (*Rastrelliger* sp.), ikan siro (*Amblygaster sirm*), ikan selar (*Selaroides* sp.), dan ikan tembang (*Sardinella fimbriata*), serta ikan teri (*Stolephorus* spp.) (Nelwan *et al.*, 2015).

Produksi ikan tangkap di Indonesia terus meningkat setiap tahun dan mencapai 7,7 juta ton pada tahun 2023 (KKP, 2023). Namun, dari jumlah tersebut hanya 60% total hasil tangkapan yang dimanfaatkan dengan baik. SEAFDEC (2018) melaporkan bahwa 40% dari hasil tangkapan hilang atau terbuang akibat penanganan dan pengelolaan yang kurang baik, sehingga mutu ikan tidak memenuhi standar konsumen. Kerugian ekonomi akibat masalah ini mencapai US\$ 7,28 miliar atau sekitar Rp. 104 triliun setiap tahun. Selain itu, ikan yang tidak dimanfaatkan dan dibuang ke laut dapat berdampak negatif pada ekosistem tersebut.

Bentuk pendekatan untuk memanfaatkan ikan pelagis kecil dan mengurangi kerugian ekonomis dan lingkungan salah satunya dengan optimalisasi hasil tangkapan sebagai bahan baku pepton. Pepton ikan berfungsi sebagai substrat atau media dalam kultivasi mikrob, dihasilkan dari hidrolisis protein yang bersifat larut dalam air dan tidak menggumpal pada suhu tinggi (Nurhayati *et al.*, 2013). Metode yang umum digunakan dalam pembuatan pepton dari

ikan pelagis kecil adalah hidrolisis enzimatis dengan menggunakan enzim protease. Pepsin yang diekstraksi dari lambung ikan tuna (*Thunnus albacares*) merupakan salah satu enzim protease (Bougatef *et al.*, 2008). Enzim pepsin hasil ekstraksi dan telah melalui proses pemisahan molekul berdasarkan ukuran menggunakan membran semipermeabel (dialisis). Enzim tersebut bekerja secara optimal pada suhu 20-60°C dan pH 2-3,5 (Pasaribu *et al.*, 2018). Ekstrak kasar enzim pepsin yang berasal dari lambung ikan tuna memiliki aktivitas spesifik 19.982,52 U/mg (Nurhayati *et al.*, 2022),  $28.012 \pm 7.115,713$  U/mg (Nurhayati *et al.*, 2024), dan 28.011,50 U/mg (Kurniawan *et al.*, 2024).

Pepton yang dihidrolisis dengan enzim atau bahan asam bersifat hidrofilik, yang dapat memengaruhi stabilitas penyimpanannya. Mikroenkapsulasi menjadi salah satu metode yang dapat menjaga stabilitas pepton. Teknologi mikroenkapsulasi bertujuan melindungi bahan utama dari degradasi atau kerusakan (Ariestya *et al.*, 2016), dan dapat meningkatkan karakteristik pepton dibandingkan yang tidak dienkapsulasi (Barokah *et al.*, 2017). Pepton hasil hidrolisis enzimatis yang dienkapsulasi memiliki sifat fisikokimia yang bervariasi, tergantung pada kualitas bahan baku, aktivitas enzim, dan rasio bahan penyalut yang digunakan. Bahan yang sering dipakai sebagai bahan mikroenkapsulasi yaitu maltodekstrin dan gom arab.

Kelebihan dari maltodekstrin sebagai bahan penyalut yaitu harganya yang relatif murah, mudah ditemukan dan diaplikasikan serta dapat terdispersi dalam waktu yang singkat (Laohasongkram *et al.*, 2011). Tetapi, salah satu kelemahan maltodekstrin



sebagai enkapsulan yaitu cepat mengalami penggumpalan (Hutasoit *et al.*, 2023), mempunyai dinding mikrokapsul yang rapuh dan tingkat emulsifikasi yang rendah sehingga perlu dikombinasikan dengan bahan lain misalnya gom arab untuk menghasilkan bahan penyalut yang lebih baik. Gom arab bersifat emulsi yang lebih baik karena mempunyai dua sisi yaitu hidrofilik dan hidrofobik. Hal ini sangat baik untuk dimanfaatkan sebagai enkapsulan.

Pemanfaatan kombinasi bahan penyalut gom arab dan maltodekstrin sudah banyak dilakukan di berbagai bidang yaitu mikroenkapsulasi probiotik *Lactobacillus plantarum* menggunakan kombinasi maltodekstrin, gom arab, dan CMC (Adawiyah, 2019). Penelitian Sid *et al.* (2023) menjelaskan bahwa kombinasi suspensi bubuk kulit jeruk Kinnow dengan maltodekstrin dan gom arab sebesar 85:0:15 menghasilkan efisiensi enkapsulasi tertinggi (87,83%), sedangkan kombinasi 85:15:0 menghasilkan kandungan total fenolik 12,12 mg GAE/g dan flavonoid 7,93 mg QE/g.

Kombinasi maltodekstrin dan gom arab (3:2) juga telah digunakan sebagai enkapsulan pada ekstrak antosianin bunga lamduan (Sakulnarmrat & Konczak, 2022). Selain itu, Ibrahim *et al.* (2024) menggunakan kombinasi antara maltodekstrin dan natrium kaseinat sebagai bahan mikroenkapsulasi pada pepton ikan. Oleh karena itu, penelitian ini perlu dilakukan dengan tujuan menentukan nilai aktivitas enzim pepsin terbaik dalam menghidrolisis daging ikan dan mengkarakterisasi pepton ikan yang dienkapsulasi menggunakan campuran gom arab dan maltodekstrin dengan rasio 1:3.

## BAHAN DAN METODE

### Ekstraksi Enzim Pepsin dari Lambung Ikan Tuna

Pembuatan enzim pepsin dimulai dengan memisahkan lambung tuna dari organ lainnya, kemudian dicuci dengan air mengalir dan disimpan pada suhu -20°C untuk mencegah atau mengurangi autolisis protease pada lambung sebelum digunakan. Ekstraksi enzim pepsin dari lambung tuna dilakukan mengikuti metode Bougateg *et al.*

(2008) dan diaktifkan berdasarkan metode Jurado *et al.* (2012). Sampel lambung tuna yang telah disimpan pada suhu dingin (-20°C) dikeluarkan, kemudian di-thaw, dan dipotong kasar berukuran sekitar 2-3 cm. Selanjutnya, sampel dihomogenisasi menggunakan buffer Tris-HCl dengan pH 7,5, dengan rasio lambung tuna dan bufer Tris-HCl 1:2 (w/v), kemudian sampel disentrifugasi selama 15 menit dengan suhu 4°C pada kecepatan 10.000 ×g.

## Penentuan Aktivitas Enzim Terbaik dalam Menghidrolisis Daging Ikan

Penentuan aktivitas enzim terbaik dalam proses hidrolisis bahan baku diawali dengan tahap pengenceran enzim. Enzim pepsin yang diekstraksi dari lambung ikan tuna dengan aktivitas spesifik awal sebesar 17.000 U/mg, diencerkan menjadi konsentrasi 3.000, 6.000, dan 9.000 U/mg. Penentuan aktivitas pepsin 3.000 U/mg (dalam volume 100 mL), menggunakan 17,65 mL pepsin (17.000 U/mg) dan 82,35 mL larutan Tris-HCl (pH 1,5). Aktivitas enzim pepsin terbaik yang digunakan dalam pembuatan pepton dapat diidentifikasi dengan menambahkan pepsin pada bahan baku kemudian dihidrolisis.

Proses hidrolisis dilakukan dengan penangas air pada 60°C selama 6 jam, kemudian dilanjutkan pada tahap inaktivasi enzim pepsin menggunakan oven pada 85°C selama 15 menit lalu disaring untuk mendapatkan pepton cair. Pepton cair dari setiap perlakuan yang menggunakan taraf nilai aktivitas enzim dianalisis rasio antara nitrogen total terlarut dan nitrogen total bahan (NTT/NTB) menurut AOAC (2005). Nilai NTT/NTB tertinggi yang dihasilkan dari suatu perlakuan dapat dianggap sebagai nilai aktivitas enzim pepsin terbaik, dan selanjutnya digunakan untuk hidrolisis pada proses pembuatan pepton dari ikan pelagis kecil.

## Mikroenkapsulasi Pepton dari Ikan Pelagis Kecil

Bahan untuk pembuatan dan mikroenkapsulasi pepton mencakup ikan kembung, ikan selar, dan ikan tembang yang dibeli dari Pasar Anyar Bogor. Bahan baku ikan

pelagis yang digunakan yaitu 1:1:1 (b/b/b). Setelah diketahui aktivitas enzim pepsin yang menghasilkan filtrat pepton ikan dengan nilai NTT/NTB yang paling tinggi maka dilanjutkan dengan tahap mikroenkapsulasi pepton menggunakan perbandingan antara filtrat pepton dan bahan penyalut (gom arab dan maltodekstrin) 1:3. Gom arab ditimbang 14,22 g dan maltodekstrin 42,66 g. Bahan tersebut dilarutkan dengan akuades yang bersuhu 60°C sebanyak 1.800 mL (konsentrasi bahan penyalut dalam larutan 3,16% atau kadar *bricks*-nya di bawah 4 agar tidak terjadi penyumbatan saat *spray dryer*). Larutan didiamkan hingga mencapai suhu kamar sebelum dicampurkan ke pepton cair.

Perbandingan antara filtrat pepton dan larutan bahan penyalut adalah 1:3 (v/v). Proses *spray dryer* dilakukan pada laju umpan 20 mL/menit dengan suhu *inlet* 160°C dan *outlet* 85°C. Perbandingan antara filtrat pepton dan bahan penyalut pada penelitian ini merupakan hasil modifikasi dari metode Calvo *et al.* (2010) yang melakukan mikroenkapsulasi pada pepton cair menggunakan bahan enkapsulan maltodekstrin yang dicampurkan pada pepton cair 1:3.

### Uji Aktivitas Enzim

Pengujian aktivitas enzim pepsin mengacu pada Bergmeyer (1983) dilakukan dengan metode *hemoglobin digestion*. Substrat disiapkan dengan konsentrasi 2%, pH-nya diturunkan menjadi 2 menggunakan HCl. Substrat (hemoglobin) 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 0,2 mL pepsin lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Setelah diinkubasi, ditambahkan 2 mL TCA (*Trichloroacetic Acid*) 5% ke dalam larutan enzim-substrat dibiarkan mengendap, disaring, dan diukur pada panjang gelombang 280 nm. Aktivitas enzim diukur dengan mengamati kadar oligopeptida dalam supernatan pada absorbansi 280 nm. Satu unit aktivitas didefinisikan sebagai peningkatan sebesar 0,001 pada laju 280 nm/menit. Nilai aktivitas enzim pepsin dihitung sebagai berikut:

$$U = (A_{280} - A_0) / (0,001 \cdot t \cdot V_E)$$

Keterangan:

U = unit aktivitas enzim

A = aktivitas enzim, dalam U per cm<sup>3</sup>

VE = volume larutan pepsin yang dipakai dalam uji aktivitas

A<sub>280</sub> = absorbansi pada 280 nm

T = lama inkubasi (menit)

A0 = absorbansi dari sampel tanpa enzim pepsin (blangko)

### Uji TVB

*Total volatile base nitrogen* (TVB-N) mengacu pada (Badan Standardisasi Nasional [BSN], 2009). TVB adalah salah parameter analisis yang hasilnya dapat dipakai untuk mengetahui tingkat kesegaran atau mutu dari ikan. Tahap analisis TVB dapat dilakukan dengan menyiapkan sampel ikan pelagis dengan rasio 1:1:1 (b/b/b), kemudian sampel diambil 15 g dan dicampur dengan 45 mL larutan TCA 7,5% (Merck). Campuran sampel dan TCA dihomogenisasi (selama 1 menit) menggunakan homogenizer (Nissei AM-3) dan disaring hingga menghasilkan filtrat yang jernih.

Pengujian TVB dilakukan dengan menambahkan 1 mL larutan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (Emsure) ke dalam *inner chamber* (bagian kiri) dari cawan Conway, kemudian tutup cawan diposisikan di atas wadah (tidak menutup wadah secara sempurna). Selanjutnya, 1 mL filtrat ditambahkan ke dalam (sebelah kiri) *outer chamber* dengan pipet, dan 1 mL larutan K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> yang jenuh (Merck) ditambahkan ke bagian sebelah kanan dari *outer chamber* agar kedua larutan tersebut tidak tercampur (filtrat dan larutan K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>).

Setelah itu, cawan Conway ditutup rapat serta bagian tepinya diolesi dengan vaselin agar dapat tertutup secara sempurna, cawan kemudian digerakkan memutar agar cairan dalam *outer chamber* bisa bercampur dan dapat dilanjutkan dengan tahap inkubasi. Proses inkubasi berlangsung selama 2 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, asam borat yang telah dilarutkan dalam *inner chamber* dititrasi menggunakan larutan HCl 0,0111 N (Merck) sampai terjadi perubahan warna (merah muda). Nilai TVB dihitung dengan rumus:





$$\text{TVB} \left( \frac{\text{mgN}}{100 \text{ g}} \right) = \frac{(A-B) \times N \text{ HCl} \times 14,007 \times \text{fp}}{W} \times 100$$

Keterangan:

- A = volume (mL) titrasi sampel  
 B = volume (mL) titrasi blanko  
 fp = faktor pengencer  
 W = berat sampel (g) mgN

### Kelarutan dalam Air

Uji kelarutan dalam air pada mikroenkapsulat pepton pelagis kecil menggunakan metode gravimetri mengacu pada AOAC (2005). Kertas saring jenis Whatman no. 42 yang telah dikeringkan menggunakan oven (105°C selama 3 jam) ditimbang. Sampel 1 g ditambahkan ke dalam 150 mL air suling (akuades) dan disaring menggunakan kertas Whatman no. 42. Proses penyaringan dapat dipercepat dengan memakai vakum. Kelarutan dalam air dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\text{Kelarutan \%} = \frac{100 - (a - b)}{\left( \frac{100 - \%KA}{100} \right) \times c} \times 100$$

Keterangan:

- a = kertas saring + residu  
 b = kertas saring awal  
 c = berat sampel  
 KA = kadar air

### Uji pH

Pengujian pH mengacu pada Apriyanto (1989). Nilai pH dari pepton diperoleh dengan melarutkan 15 g sampel ke dalam gelas piala berisi 50 mL akuades. Derajat keasaman (pH) dari pepton dapat diukur di suhu kamar dengan memakai pH meter.

### Total Nitrogen

Pengukuran nitrogen total dilakukan menggunakan metode Kjeldahl mengacu pada AOAC (2005). Sampel 2 g dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl berkapasitas 50 mL, ditambahkan 7,0 g K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dan 0,8 g CuSO<sub>4</sub> sebagai katalis. Masing-masing tabung selanjutnya ditambahkan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Sampel didestruksi pada suhu 410 °C selama 2 jam (hingga cairan menjadi hijau jernih). Labu Kjeldahl dibilas dengan akuades hingga mencapai 80 mL, kemudian larutan ini

dimasukkan ke dalam alat destilasi. Hasil destilasi ditampung dalam labu Erlenmeyer 125 mL yang berisi 25 mL larutan asam borat (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) 4% yang mengandung indikator bromkresol hijau 0,1% dan metil merah 0,1% dengan perbandingan 2:1. Selama destilasi, 50 mL larutan NaOH 40% ditambahkan hingga dihasilkan 100-150 mL distilat (berwarna hijau) dalam labu Erlenmeyer. Distilat kemudian dititrasi dengan HCl 0,1000 M hingga terjadi perubahan pada warna pertama (menjadi merah muda). Volume titran dicatat, dan larutan blanko yang dipakai juga dianalisis seperti sampel. Kadar nitrogen total dalam pepton yang dihasilkan dengan variasi konsentrasi enzim dan mikroenkapsulasi menggunakan jenis serta konsentrasi bahan penyalut yang berbeda, dapat dihitung menggunakan rumus berikut:

$$A (\%) = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 14,008 \times f}{W} \times 100$$

Keterangan:

- A = total nitrogen  
 V<sub>1</sub> = volume NaOH 0.25 N pada titrasi blanko (mL)  
 V<sub>2</sub> = volume NaOH 0.25 N pada titrasi sampel (mL)  
 N = normalitas NaOH 0,25 N sebagai titran  
 W = berat sampel (g)  
 14,008 = berat atom (BA) nitrogen  
 f = faktor pengenceran

### α-amino Nitrogen

Prinsip dasar analisis kadar α-amino nitrogen pepton didasarkan pada proses menambahkan kuprifosfat yang telah dilarutkan ke dalam filtrat yang dihasilkan dari ekstrak sampel yang telah dicampur dengan larutan TCA 7%. Pengujian kadar α-amino nitrogen mengacu AOAC (2005). Tembaga (Cu) akan membentuk kompleks bersama dengan gugus asam amino, yang akan berbanding langsung dengan jumlah gugus amino. Prosedur analisis kadar α-amino nitrogen bebas dilakukan dengan menimbang 25 g sampel dan ditambahkan 75 mL TCA 7% kemudian dihomogenkan dan disaring. Filtrat 10 mL dipipet ke dalam labu takar 50 mL, ditambahkan 2 tetes indikator

fenolftalein, dan dinetralkan menggunakan NaOH 1 N hingga larutan berubah warna menjadi biru. Selanjutnya, 30 mL suspensi kuprifosfat ditambahkan dan volumenya disesuaikan menjadi 50 mL dengan akuades. Campuran diaduk hingga homogen dan disaring kembali. 10 mL filtrat diambil dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer 250 mL, lalu ditambahkan 0,50 mL asam asetat, glisina, dan 5 mL KI 20%. Filtrat ini dititrasi menggunakan natrium tiosulfat 0,01 N menggunakan 4 tetes indikator kanji 1%, sampai warna birunya menjadi hilang. Kadar  $\alpha$ -amino nitrogen pada pepton dapat dihitung menggunakan rumus berikut:

$$B (\%) = \frac{(\text{mL sampel} - \text{mL blanko}) N_{\text{thio}} \times 0,014 \times P}{\text{gram S}} \times 100$$

Keterangan:

B = %  $\alpha$  amino nitrogen

mL sampel = volume titran (natrium tiosulfat) untuk titrasi sampel

mL blanko = volume titran yang dipakai saat titrasi pada blanko (kontrol), dan berfungsi sebagai pembanding untuk mengoreksi jumlah titran yang seharusnya

$N_{\text{thio}}$  = normalitas larutan natrium tiosulfat yang digunakan untuk titrasi

0,014 = faktor konversi dari normalitas natrium tiosulfat untuk hitung nitrogen (N)

P = faktor pengenceran untuk perbandingan antara sampel dengan larutan

gram S = berat sampel yang digunakan dalam analisis

### Kadar Abu

Pengujian kadar abu mengacu pada AOAC (2005). Kadar abu dari pepton yang dimikroenkapsulasi dapat ditentukan melalui proses pembakaran 5 g sampel dalam tanur muffle pada suhu 500°C selama 3 jam hingga seluruh sampel berubah menjadi abu. Setelah itu, abu tersebut didinginkan dan kemudian ditimbang.

### Kadar Air

Pengujian kadar air mengacu pada AOAC (2005). Kadar air dari pepton bisa ditentukan menggunakan metode gravimetri,

yaitu pengeringan dengan oven. Perhitungan kadar air pada pepton ikan pelagis kecil dapat dilakukan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(W_1 - W_2)}{\text{Berat sampel}} \times 100$$

Keterangan:

$W_1$  = berat (sampel + cawan) sebelum pengeringan

$W_2$  = berat (sampel + cawan) setelah pengeringan

### Kadar NaCl

Pengujian kadar NaCl mengacu pada AOAC (2005). Analisis kadar garam NaCl dilakukan dengan prinsip mengendapkan seluruh ion  $\text{Cl}^-$  dengan kelebihan ion  $\text{Ag}^+$  untuk membentuk endapan  $\text{AgCl}$ . Ion  $\text{Ag}^+$  yang tersisa kemudian dititrasi dengan ion  $\text{CNS}^-$ . Sampel basah dimasukkan ke dalam erlenmeyer 300 mL sebanyak 1 g, lalu ditambahkan 25 mL larutan standar  $\text{AgNO}_3$  untuk mengendapkan seluruh klorida sebagai  $\text{AgCl}$ , disusul dengan penambahan 20 mL larutan  $\text{HNO}_3$ . Pipa pendingin kaca dipasang pada erlenmeyer, lalu dipanaskan perlahan-lahan di atas pemanas listrik hingga seluruh sampel larut kecuali  $\text{AgCl}$ . Setelah dingin, ditambahkan 50 mL akuades dan 5 mL indikator amonium ferisulfat jenuh ke dalam erlenmeyer. Larutan tersebut kemudian dititrasi menggunakan 0,1 N kalium tiosianat hingga muncul warna cokelat terang. Rumus menghitung kadar NaCl adalah:

$$\text{NaCl (\%)} = \frac{58,5 \times \text{mL AgNO}_3 \times N \text{ AgNO}_3}{\text{mg sampel}} \times 100$$

Keterangan:

NaCl = persentase kadar garam NaCl dalam sampel

58,5 = berat molekul (BM) dari NaCl

mL  $\text{AgNO}_3$  = volume larutan  $\text{AgNO}_3$  yang digunakan dalam titrasi

$N \text{ AgNO}_3$  = normalitas larutan  $\text{AgNO}_3$

mg sampel = berat sampel dalam miligram

### Produktivitas Pepton dalam Menumbuhkan Bakteri

Kualitas pepton yang dihasilkan diuji sebagai medium untuk pertumbuhan mikroorganisme. Pengujian ini mengacu pada penelitian Murray *et al.* (2007).



Uji pertumbuhan bakteri dilakukan menggunakan isolat bakteri jenis *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, dengan pepton komersial (Bacto™ peptone) sebagai pembanding. Bakteri yang akan diuji diinkubasi pada medium *nutrient broth* selama 24 jam, kemudian dipindahkan ke media pepton. Media disiapkan dengan mencampur larutan *yeast extract* yang memiliki persentase 0,5% dan 1% NaCl. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam tabung ulir sebanyak 9 mL.

Pepton komersial dilarutkan secara terpisah dengan konsentrasi sebesar 10%, lalu sebanyak 1 mL larutan tersebut ditambahkan ke tabung ulir yang berisi campuran *yeast extract* (0,5%) dan NaCl (1%) sehingga menghasilkan konsentrasi akhir pepton dalam media sebesar 1%, kemudian ditambahkan 1,5% agar sebagai bahan pematat. Komposisi yang sama juga dilakukan untuk membuat media dari pepton ikan pelagis kecil yang dimikroenkapsulasi dengan rasio bahan penyalut yang berbeda. Inokulasi pada media padat dilakukan menggunakan metode tuang (*pour plate*). Larutan bakteri sebanyak 0,5-1 mL pada tingkat pengenceran tertentu dituang ke dalam cawan petri, diikuti dengan penambahan medium cair steril. Setelah media mengeras, cawan-cawan tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Jumlah koloni bakteri yang telah tumbuh kemudian dihitung menggunakan alat penghitung koloni (*Quebec colony counter*).

### Scanning Electron Microscope (SEM) Pepton

*Scanning Electron Microscope* (SEM) adalah mikroskop elektron yang bekerja dengan berkas elektron berenergi tinggi untuk memindai spesimen dalam pola raster, menghasilkan gambar dengan resolusi yang jauh lebih tinggi dibandingkan cahaya. Resolusi cahaya hanya sekitar 200 nm, sementara elektron bisa mencapai 0,1-0,2 nm. SEM bekerja dengan memproduksi sinar elektron melalui pistol elektron yang dipercepat oleh anoda, lalu fokus pada spesimen menggunakan lensa magnetik. Berkas elektron ini kemudian dipindai seluruh

permukaannya dengan bantuan koil pemindai. Ketika berinteraksi dengan spesimen, elektron akan menghasilkan sinyal yang diterima oleh detektor dan ditampilkan pada layar monitor, memberikan informasi mengenai topografi, komposisi, dan karakteristik lainnya.

Komponen utama SEM meliputi pistol elektron, lensa magnetik, dan sistem vakum untuk mencegah gangguan dari molekul udara. SEM menghasilkan beberapa sinyal penting, yaitu elektron sekunder dan sinar-X dari pantulan inelastis, serta *backscattered electron* dari pantulan elastis. SEM dapat memberikan wawasan mendalam mengenai struktur fisik dan morfologi pepton pada skala mikroskopis. Pepton ikan yang diperoleh dari proses hidrolisis memiliki struktur yang dapat terlihat lebih jelas melalui interaksi dengan berkas elektron. Topografi permukaan pepton ikan dapat dipelajari dengan menggunakan SEM serta dapat mendeteksi adanya partikel atau struktur mikro yang mungkin terbentuk selama proses pembuatan sehingga dapat diperoleh informasi mengenai distribusi bahan penyalut yang digunakan dan pengaruhnya terhadap bentuk partikel pepton yang dihasilkan.

### Analisis Data

Rancangan percobaan dan analisis data dalam penelitian ini dilakukan dengan rancangan acak lengkap (RAL) dengan satu faktor, yaitu aktivitas enzim pepsin yang memiliki tiga tingkatan taraf yaitu 3.000 U/mg, 6.000 U/mg, dan 9.000 U/mg. Data dianalisis menggunakan model ANOVA satu arah. Model ini digunakan untuk mengevaluasi pengaruh konsentrasi enzim pepsin terhadap rasio antara nitrogen total terlarut (NTT) dan nitrogen total bahan (NTB) pada filtrat pepton ikan. Metode ini digunakan karena hanya terdapat satu faktor yang diuji yaitu konsentrasi enzim pepsin dengan tiga tingkat perlakuan yang memungkinkan adanya perbedaan hasil antar perlakuan secara statistik. Perbedaan tersebut dapat digunakan untuk menentukan tingkat aktivitas enzim pepsin yang terbaik. Analisis data pada penelitian ini dilakukan menggunakan perangkat lunak komputer (Microsoft excel dan R versi 4.4.0).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Aktivitas Enzim Pepsin dari Lambung Tuna

Enzim pepsin yang diekstrak dari lambung ikan tuna memiliki aktivitas sebesar 4.406,25 U/mg, yang merepresentasikan kapasitas atau kemampuan katalitik enzim dalam menghidrolisis ikatan peptida pada substrat protein dalam kondisi reaksi optimum.

Aktivitas enzim 17.000 U/mg menunjukkan bahwa enzim pepsin yang diekstraksi dari lambung ikan tuna mempunyai kemampuan katalisis yang tinggi. Nilai tersebut berarti bahwa setiap miligram protein dalam fraksi enzim pepsin memiliki kemampuan untuk menghidrolisis 17.000  $\mu$ mol substrat per menit pada kondisi reaksi optimum. Nilai aktivitas spesifik yang tinggi juga menandakan bahwa sebagian besar protein dalam fraksi tersebut merupakan enzim aktif yang masih mempertahankan struktur dan fungsi proteolitiknya (Mainali *et al.*, 2011). McAuliffe *et al.* (2012) menyatakan bahwa kemampuan tersebut hanya dapat dicapai apabila enzim berada dalam konformasi tiga dimensi yang tepat, terutama pada tingkat struktur tersier yang mengatur lipatan protein dan struktur kuarterner yang melibatkan interaksi antarsubunit. Stabilitas struktur ini sangat penting untuk menjaga bentuk situs aktif, yaitu bagian enzim tempat substrat dikenali dan dikatalisis. Menurut penelitian Chandrasekhar (2022), situs aktif yang stabil memungkinkan enzim dapat berinteraksi dengan substrat secara spesifik dan efisien melalui ikatan non-kovalen sehingga laju reaksi dapat berlangsung dengan cepat dan tepat sasaran. Patil *et al.* (2022) menjelaskan bahwa tingkat efisiensi pada pepsin dapat digunakan untuk mengidentifikasi potensi aplikatif enzim pepsin dari lambung tuna tersebut sebagai biokatalis dalam proses-proses yang membutuhkan degradasi protein cepat dan selektif, misalnya pada formulasi pakan, industri pangan, dan sistem hidrolisis protein dalam skala laboratorium maupun industri.

Hasil penelitian Castañeda *et al.* (2022) menunjukkan nilai rata-rata aktivitas

ekstrak kasar enzim pepsin dari lambung ikan tuna sebesar 1.226,67 U/mL, dengan aktivitas spesifik mencapai  $28.012 \pm 7.115,713$  U/mg, yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan nilai aktivitas 17.000 U/mg yang menggunakan lambung dari spesies ikan tuna yang sama sebagai sumber enzim. Nurhayati *et al.* (2022) menunjukkan bahwa nilai aktivitas spesifik enzim pepsin dari lambung ikan tuna sebesar 22.173,36 U/mg.

### Aktivitas Enzim Terbaik dalam Menghidrolisis Daging Ikan

Penentuan aktivitas enzim terbaik dalam proses hidrolisis bahan baku diukur berdasarkan nilai NTT/NTB. Bahan baku yang digunakan pada tahap hidrolisis mencakup campuran dari tiga jenis ikan (1:1:1). Nilai TVB dari bahan baku yang dianalisis adalah 28,046 mg N/100 g. Hasil analisis rasio nitrogen total terlarut dan nitrogen total bahan (NTT/NTB) menunjukkan bahwa peningkatan aktivitas enzim pepsin berpengaruh terhadap tingkat hidrolisis protein (*Figure 1*).

Rasio NTT/NTB terendah tercatat sebesar  $0,303 \pm 0,053$  pada aktivitas pepsin 0 U/mg (kontrol), sedangkan pada aktivitas pepsin 3.000 U/mg terjadi peningkatan signifikan menjadi  $0,630 \pm 0,281$ , yang mengindikasikan adanya efektivitas optimum dalam proses degradasi protein. Namun, pada perlakuan dengan aktivitas enzim pepsin 6.000 U/mg dan 9.000 U/mg, rasio NTT/NTB menurun masing-masing menjadi  $0,504 \pm 0,002$  dan  $0,452 \pm 0,055$ , yang menunjukkan adanya kecenderungan jenuh pada enzim dan terjadi penurunan efisiensi pada tahap hidrolisis yang lebih lanjut. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa nilai pada 3.000 U/mg berbeda signifikan dibandingkan dengan 0 U/mg (kontrol), sedangkan perlakuan 6.000 U/mg dan 9.000 U/mg tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada kedua perlakuan tersebut.

Peningkatan awal nilai rasio NTT/NTB diamati pada perlakuan aktivitas enzim 3.000 U/mg, namun terjadi penurunan pada aktivitas enzim 6.000 dan 9.000 U/mg (*Figure 2*). Penurunan rasio NTT/NTB pada aktivitas enzim yang tinggi ini dapat disebabkan



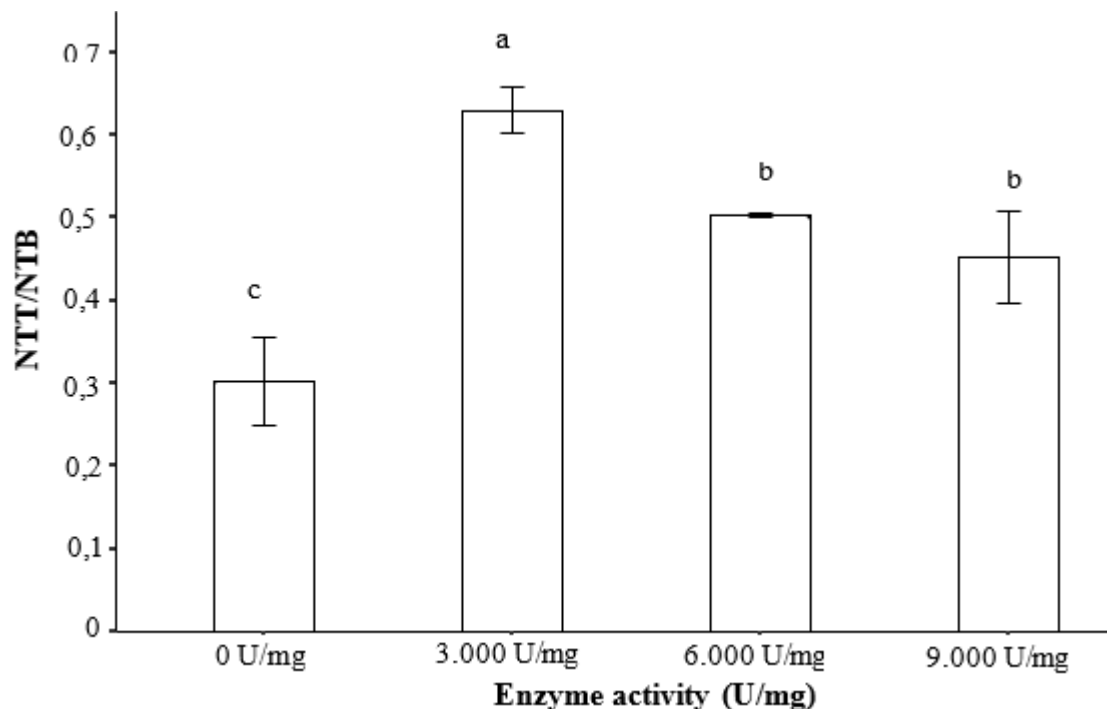


Figure 1 NTT/NTB values; Different superscript letters indicate significant differences ( $p < 0.05$ )

Gambar 1 Nilai NTT/NTB; Huruf superskrip yang berbeda menunjukkan beda nyata ( $p < 0,05$ )

oleh fenomena inhibisi produk. Inhibisi produk terjadi ketika hasil reaksi enzimatis menumpuk dan berikatan dengan enzim, mengurangi efisiensi dan memperlambat laju reaksi (Putri *et al.*, 2019). Hal ini menyebabkan penurunan rasio NTT/NTB pada perlakuan dengan aktivitas enzim yang tinggi.

Inhibisi produk merupakan suatu proses ketika produk dari reaksi enzimatis bertindak sebagai penghambat aktivitas enzim, suatu bentuk mekanisme umpan balik negatif yang mengontrol laju reaksi biokimia. Ketika produk reaksi terakumulasi, produk tersebut dapat berikatan dengan enzim yang berperan dalam katalisis, mengurangi aktivitas katalitik karena produk berperan sebagai inhibitor yang menurunkan efisiensi enzim dalam mengonversi substrat menjadi produk selanjutnya (Cornish & Bowden, 2012). Kitson dan Knowles (1971) menjelaskan bahwa mekanisme inhibisi produk dapat bervariasi. Salah satunya terjadi melalui pengikatan produk pada situs aktif enzim ketika produk bersaing dengan substrat untuk posisi tersebut, hal ini dikenal sebagai inhibisi kompetitif.

### Kelarutan dalam Air dan Karakteristik Kimia dari Pepton Ikan

Mikroenkapsulasi merupakan metode inovatif yang digunakan untuk meningkatkan stabilitas, bioavailabilitas, dan sifat fungsional bahan aktif, termasuk dalam pengolahan produk berbasis protein misalnya pepton. Mikroenkapsulasi tidak hanya berperan sebagai metode perlindungan terhadap faktor lingkungan yang merugikan, tetapi juga memengaruhi karakteristik kimia dan fisik bahan yang dihasilkan. Proses ini melibatkan penggunaan bahan enkapsulasi maltodekstrin dan gom arab yang memiliki sifat fungsional untuk meningkatkan umur simpan, mengurangi kandungan senyawa volatil, dan mengontrol pelepasan bahan aktif (Rodiyanti *et al.*, 2017).

Pepton ikan pelagis kecil yang telah mengalami mikroenkapsulasi dengan rasio bahan enkapsulan 1:3 menunjukkan perubahan pada karakteristik kimia pepton yang dipengaruhi oleh proses mikroenkapsulasi serta sifat intrinsik dari bahan enkapsulan yang digunakan. Nilai pH (Table 1) yang menjadi lebih asam

mengindikasikan interaksi kimia antara komponen enkapsulan seperti maltodekstrin dan gom arab dengan matriks protein yang dapat menghasilkan gugus ion asam dalam produk akhir. Nilai pH mikroenkapsulat pepton ikan pelagis kecil (4,6) lebih rendah dari mikroenkapsulat pepton ikan tidak layak konsumsi hasil penelitian Nurhayati *et al.* (2015) dan mikroenkapsulat pepton ikan HTS multispecies busuk penelitian Ibrahim *et al.* (2024) yang masing-masing 7,1 dan 5,66.

Kadar air pada mikroenkapsulat pepton ikan pelagis kecil menunjukkan adanya efisiensi dari proses pengeringan (*spray drying*) yang tidak hanya mengurangi aktivitas air dalam produk tetapi juga meningkatkan stabilitas mikrobiologis dan kimiawi. Nilai kadar abu (*Table 1*) menunjukkan adanya segregasi mineral selama proses enkapsulasi atau pelepasan komponen anorganik yang tidak terperangkap dalam matriks enkapsulan. Kadar abu mikroenkapsulat pepton ikan pelagis kecil (1,50%) juga lebih rendah dari mikroenkapsulat pepton ikan tidak layak konsumsi penelitian Nurhayati *et al.* (2015) dan mikroenkapsulat pepton ikan HTS multispecies busuk penelitian Ibrahim *et al.* (2024) yang nilainya 4,94% dan 9,01%.

Konsentrasi NaCl yang jauh lebih rendah dapat diatribusikan pada kemampuan bahan enkapsulan untuk menghalangi difusi garam larut ke dalam struktur mikroenkapsulasi sehingga mengurangi kandungan garam dalam produk akhir. Kadar NaCl pada pepton dapat disebabkan oleh ion-ion yang ikut terlarut ketika proses hidrolisis

berlangsung (Nurhayati *et al.*, 2013). Kadar NaCl 0,20% lebih rendah dari pepton HTS multispecies busuk penelitian Ibrahim *et al.* (2024) dan mikroenkapsulat pepton ikan tidak layak konsumsi penelitian Nurhayati *et al.* (2015) yaitu 0,40% dan 7,82%, sedangkan kadar lemak pepton ikan pelagis kecil yang lebih tinggi dari mikroenkapsulat pepton ikan tidak layak konsumsi penelitian Nurhayati *et al.* (2015) dapat disebabkan oleh sifat adsorptif bahan enkapsulan terhadap lipid yang mungkin terkandung dalam matriks protein ikan pelagis kecil.

Konsentrasi protein rendah terjadi karena efek pengenceran akibat penambahan massa dari bahan enkapsulan. Kelarutan air (*Table 1*) yang tetap tinggi menunjukkan bahwa walaupun telah terjadi perubahan kimia dan fisik, namun pepton hasil mikroenkapsulasi tetap memiliki kemampuan untuk larut secara signifikan, karakteristik ini penting untuk aplikasi pepton dalam industri pangan dan nonpangan.

Kelarutan dalam air dari pepton enkapsulasi ikan pelagis kecil (86,42%) lebih tinggi dari mikroenkapsulat pepton ikan HTS multispecies busuk penelitian Ibrahim *et al.* (2024) yang hanya sebesar 44,70%. Transformasi kimia yang terjadi pada mikroenkapsulat pepton menunjukkan bahwa metode ini dapat melindungi senyawa bioaktif, memodifikasi sifat fisikokimia pepton, meningkatkan stabilitas sehingga penggunaannya lebih fleksibel dalam berbagai aplikasi.

Table 1 Solubility in water and chemical characteristics of peptone

Tabel 1 Kelarutan dalam air dan karakteristik kimia dari pepton

Parameter	Decomposed encapsulated fish peptone*	Microencapsulated small pelagic fish peptone
pH	7.10	4.06±0.01
Moisture (%)	6.68	5.17±0.02
Ash (%)	4.94	1.50±0.02
NaCl (%)	7.82	0.20±0.02
Fat (%)	0.29	0.71±0.06
Protein (%)	71.39	35.86±0.11
Water solubility (%)	99.96	86.42±0.04

\*Nurhayati *et al.* (2015)



## Kandungan Asam Amino pada Pepton Ikan

Asam amino merupakan senyawa organik yang memiliki gugus amino ( $-\text{NH}_2$ ) dan karboksil ( $-\text{COOH}$ ) yang berfungsi sebagai blok penyusun utama protein serta berperan penting dalam berbagai fungsi biologis, termasuk sintesis protein, metabolisme, dan aktivitas enzim. Menurut penelitian Rocha *et al.* (2012), mikroenkapsulasi mampu meningkatkan stabilitas komponen lipopen. Penelitian Alfren *et al.* (2012) menunjukkan bahwa suhu pengeringan serta konsentrasi bahan penyalut berdampak pada sifat fisikokimia produk akhir. Menurut penelitian Yarlina *et al.* (2023), penggunaan rasio bahan penyalut yang terlalu tinggi dapat merubah sifat fisik dan kimia dari hidrolisat protein yang berpotensi memengaruhi kandungan nutrisinya.

Nilai kadar asam amino yang rendah pada pepton ikan pelagis kecil dapat disebabkan oleh jumlah bahan penyalut yang berlebih, yang mengakibatkan pengenceran komponen bioaktif atau ketidakstabilan matriks pelindung. Hal ini disebabkan oleh pembentukan aglomerasi yang kurang efektif sehingga kemampuan perlindungan bahan penyalut menurun, menyebabkan struktur kapsul menjadi lebih rapuh, tidak stabil, dan lebih rentan terhadap kerusakan serta kehilangan asam amino. Hal ini dapat disimpulkan bahwa mikroenkapsulasi pepton cair dan bahan penyalut (1:3) dapat memengaruhi kandungan asam amino pada pepton. Profil lengkap asam amino menggambarkan bahwa mikroenkapsulasi menggunakan matriks maltodekstrin dan gom arab berperan dalam menjaga keberadaan berbagai jenis asam amino walaupun kandungan asam amino pepton 1:3 lebih rendah dari pepton komersial dan mikroenkapsulat pepton ikan tidak layak konsumsi penelitian Nurhayati *et al.* (2015) dan pepton komersial (Bactopeptone).

Formulasi mikroenkapsulasi pepton dari ikan pelagis kecil dengan rasio 1:3 menunjukkan distribusi konsentrasi asam amino yang bervariasi serta mencerminkan karakteristik protein hasil hidrolisis (Table 2). Asam glutamat dan aspartat merupakan asam

amino dengan konsentrasi relatif lebih tinggi dibandingkan jenis lainnya. Konsentrasi asam amino yaitu serina, histidina, arginina, dan alanina yang terdeteksi dalam jumlah moderat menunjukkan keberagaman jenis asam amino esensial dan non-esensial yang ada dalam pepton (Manik *et al.*, 2024). Keberadaan sistein dalam pepton memberikan indikasi adanya komponen sulfur yang dapat mendukung stabilitas protein (Ramadhini, 2022). Asam amino yaitu glisina dan prolina, ditemukan dalam konsentrasi yang lebih rendah. Hasil ini memberikan dasar ilmiah untuk pengembangan aplikasi lebih lanjut dalam bidang industri pangan, farmasi, atau bioteknologi, yang membutuhkan pepton dengan kandungan asam amino spesifik.

## Produktivitas Pepton dalam Menumbuhkan Bakteri

Produktivitas bakteri dapat dijelaskan berdasarkan peran asam amino sebagai sumber utama nitrogen dan prekursor metabolisme yang esensial untuk pertumbuhan mikroorganisme. Asam amino dari mikroenkapsulat pepton ikan pelagis kecil misalnya asam glutamat, asam aspartat, dan serin ditemukan dalam konsentrasi yang cukup tinggi. Komponen-komponen tersebut berperan penting dalam pertumbuhan bakteri uji (*Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*). Hasil penelitian dari Selvarasu *et al.* (2009) menjelaskan bahwa beberapa jenis asam amino misalnya serina, asam aspartat, dan asam glutamat sangat dibutuhkan oleh pertumbuhan bakteri.

Produktivitas *E. coli* pada pepton ikan pelagis kecil mencapai 84,63% dan melampaui nilai baktopepton atau pepton komersial yang hanya sebesar 81,06%. Hal ini mengindikasikan bahwa mikroenkapsulasi tidak hanya mampu mempertahankan, tetapi juga meningkatkan efisiensi pelepasan senyawa nitrogen dan asam amino esensial yang dibutuhkan untuk mendukung pertumbuhan bakteri (Gupta *et al.*, 2023).

Produktivitas pepton ikan pelagis kecil pada bakteri uji *S. aureus* mencapai 74,20%, yang hampir setara dengan produktivitas baktopepton sebesar 74,70%. Hal ini menunjukkan bahwa walaupun pepton yang

Table 2 Amino acid content in microencapsulated peptone from small pelagic fish  
Tabel 2 Kandungan asam amino pada pepton ikan pelagis yang di-mikroenkapsulasi

Amino acid type	Bactopeptone <sup>1</sup>	Rotten bycatch fish peptone <sup>2</sup> (%)	Microencapsulated small pelagic fish peptone (%)
Aspartic Acid	5.0	4.90	1.58
Glutamic Acid	8.1	8.25	2.09
Serine	1.5	2.01	0.74
Glycine	15.9	3.49	0.94
Histidine	0.8	1.73	0.63
Arginine	3.8	3.27	0.76
Threonine	1.1	2.41	0.58
Alanine	9.2	3.34	0.82
Proline	8.8	-	0.90
Tyrosine	0.6	1.39	0.59
Valine	2.8	2.41	0.69
Methionine	0.4	1.38	0.46
Cysteine	-	-	0.59
Isoleucine	2.1	2.05	0.74
Leucine	3.8	3.69	1.14
Phenylalanine	2.8	1.77	0.60
Lysine	3.4	4.68	1.01

<sup>1</sup>Bionutrient Technical Manual (2006); <sup>2</sup>Nurhayati *et al.* (2015)

dimikroenkapsulasi memiliki perbedaan yang tidak signifikan dalam efisiensi dibandingkan bacto-pepton tetapi formulasi ini tetap mampu menyediakan sumber nitrogen yang memadai untuk pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif (Table 3).

Asam glutamat dengan konsentrasi tinggi dalam pepton yang dimikroenkapsulasi merupakan salah satu asam amino kunci yang berperan sebagai sumber nitrogen serta prekursor untuk sintesis protein dan metabolit lain dalam sel bakteri. Lisina merupakan asam amino esensial yang tidak dapat disintesis oleh mikroorganisme tertentu, sehingga keberadaannya dalam media pertumbuhan sangat mendukung efisiensi metabolisme bakteri. Arginina berkontribusi pada metabolisme energi dan biosintesis poliamina, senyawa yang penting untuk stabilitas membran dan pertumbuhan sel. Selain itu, alanina berperan dalam metabolisme karbon

dan nitrogen yang mendukung pembentukan struktur sel bakteri (Schmitt *et al.*, 2020).

Produktivitas tersebut mencerminkan keberhasilan formulasi mikroenkapsulasi dalam mempertahankan komponen bioaktif, seperti asam amino esensial dan non-esensial, serta senyawa nitrogen yang penting dalam media pertumbuhan mikroorganisme sama dengan pepton komersial. Hal ini mendukung aplikasi produk hasil mikroenkapsulasi dalam berbagai industri bioteknologi dan mikrobiologi.

### Scanning Electron Microscopy (SEM) pada Pepton Ikan

Scanning Electron Microscopy digunakan untuk memperbesar spesimen dengan tingkat presisi yang jauh lebih tinggi dibandingkan mikroskop cahaya, memungkinkan untuk mengamati dan mengidentifikasi karakteristik spesifik suatu





Table 3 Fish peptone productivity in bacterial growth  
Tabel 3 Produktivitas pepton dalam menumbuhkan bakteri

Treatment	% Productivity	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Pepton ikan pelagis kecil	84.63±8.94 <sup>a</sup>	74.20±11.26 <sup>a</sup>
Bactopepton	81.06±12.87 <sup>a</sup>	74.69±10.19 <sup>a</sup>

Same superscript letter indicates non-significant difference ( $p>0.05$ )

spesies secara lebih akurat. Teknologi ini sangat bermanfaat terutama dalam analisis spesimen yang telah mengalami perubahan morfologi akibat pengaruh proses fisik atau kimia (Khatulistiani *et al.*, 2022).

Partikel hasil mikroenkapsulasi memiliki bentuk yang bervariasi dengan dominasi struktur bulat hingga tidak beraturan, partikel-partikel pepton cenderung mengalami aglomerasi, yaitu penggumpalan antar partikel, yang dapat terjadi akibat interaksi antar partikel selama proses pengeringan. Tampilan tekstur pada permukaan partikel pepton tampak tidak sepenuhnya halus, ada beberapa indikasi adanya retakan dan porositas. Retakan ini terjadi akibat tegangan yang muncul selama proses pembentukan kapsul atau pengeringan, yang dapat memengaruhi efektivitas mikroenkapsulasi dalam melindungi pepton (Lima *et al.*, 2021). Retakan yang terlihat pada partikel-partikel mikroenkapsulasi dapat disebabkan oleh penumpukan bahan penyalut yang berlebihan. Hal ini menciptakan stres mekanik pada lapisan luar selama proses pengeringan.

Hasil dari SEM yang ditampilkan menunjukkan mikrostruktur pepton ikan

pelagis kecil yang telah dimikroenkapsulasi menggunakan bahan penyalut dengan rasio 1:3 (Figure 2). Secara teoritis, lapisan penyalut yang lebih tebal seharusnya memberikan perlindungan tambahan, namun penambahan bahan penyalut dalam jumlah berlebih dapat menyebabkan pembentukan lapisan yang tidak homogen (Annamalai *et al.*, 2020).

Ketidakhomogenan dapat terjadi karena saat pengeringan (*spray drying*), penyalut mengalami penguapan pada bahan pelarut dengan cepat, menyebabkan penurunan volume yang signifikan dan pembentukan tegangan internal. Tegangan internal yang tidak seimbang tersebut dapat menciptakan retakan mikro pada permukaan partikel pepton. Retakan pada mikroenkapsulasi dapat dikaitkan dengan fenomena *case hardening*, yaitu lapisan luar kapsul mengering lebih cepat dibanding bagian dalam sehingga menghasilkan gradien tekanan yang tinggi (Cui *et al.*, 2021). Ketika penyalutnya berlebih maka lapisan yang lebih tebal akan memperburuk efek tersebut karena lebih sulit untuk mengeluarkan kelembaban atau pelarut dari inti partikel, sehingga memperkuat tegangan kapiler yang mengarah pada pembentukan retakan. Retakan ini

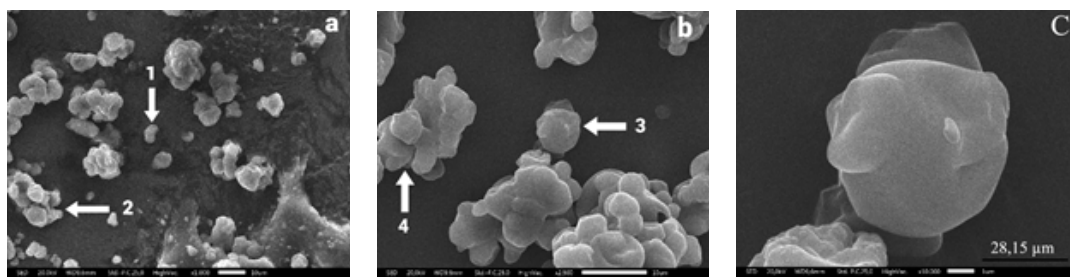


Figure 2 SEM-micrograph of encapsulated peptone; (a) and (b) variations in the morphology of encapsulated peptone, (c) surface condition of encapsulated peptone

Gambar 2 SEM-micrograph pepton terenkapsulasi; (a) dan (b) variasi bentuk pepton terenkapsulasi, (c) keadaan permukaan pepton terenkapsulasi

dapat menjadi jalur bagi penetrasi oksigen atau kelembapan, sehingga menyebabkan pelepasan senyawa pepton secara prematur dan menurunkan stabilitas mikroenkapsulasi pepton.

Retakan juga dapat dihasilkan dari interaksi sifat bahan penyalut yang berbeda. Gom arab memiliki sifat pembentukan film yang fleksibel, sedangkan maltodekstrin bersifat lebih rapuh dan mudah membentuk struktur yang kaku ketika mengering. Ketika bahan ini digunakan dalam rasio tinggi, ketidakcocokan dalam sifat mekanis antara kedua komponen dapat menciptakan tegangan internal selama proses pengeringan (Annamalai *et al.*, 2020). *Scanning Electron Microscopy* (SEM) pada pepton hasil mikroenkapsulasi ikan pelagis kecil menunjukkan adanya perlindungan terhadap bahan inti (pepton ikan), tetapi proses ini tetap memiliki beberapa keterbatasan, terutama terkait dengan kestabilan mikroenkapsulasi akibat tegangan internal, ketidakhomogenan lapisan penyalut, dan interaksi antara bahan penyalut yang berbeda.

## KESIMPULAN

Enzim pepsin terbaik dalam menghidrolisis daging ikan untuk menghasilkan pepton cair adalah yang memiliki aktivitas 3.000 U/mg.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, N.S. (2019). Mikroenkapsulasi probiotik *Lactobacillus plantarum* menggunakan enkapsulan maltodekstrin yang dikombinasikan dengan gom arab dan CMC. [Skripsi]. Universitas Brawijaya.
- Alftren, J., Penarrieta, J., Bergenstahl, B., & Nilsson, L. (2012). Comparison of molecular and emulsifying properties of gom arabic and mesquite gum using asymmetrical flow field-flow fractionation. *Food Hydrocolloids*, 26(1), 54–62.
- Annamalai, J., Abubacker, Z., Lakshmi, N., & Unnikrishnan, P. (2020). Microencapsulation of fish oil using fish protein hydrolysate, maltodextrin, and gom arabic: Effect on structural and oxidative stability. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 29, 293–306. <https://doi.org/10.1080/10498850.2020.1723765>
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemists. (2005). Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical of Chemists Arlington, Virginia, USA: Published by the Association of Official Analytical Chemists, Inc.
- Apriyantono, A., Fardiaz, D., Puspitasari, N.L., Sedarnawati, Y., & Budianto, S. (1989). Petunjuk laboratorium analisis pangan. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Ariestya, D.I., Swastawati, F., & Susanto, E. (2016). Antimicrobial activity of microencapsulation liquid smoke on Tilapia [*Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758)] meat for preservatives in cold storage ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ). *Aquatic Procedia*, (7), 19–27.
- Barokah, G.R., Ibrahim, B., & Nurhayati, T. (2017). Karakteristik mikroenkapsulat pepton ikan hasil tangkapan sampingan (HTS) multispecies busuk dengan metode *Spray Drying*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(2), 401–412.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2009). SNI 2354.8:2009. Cara uji kimia-bagian 8: penentuan kadar *total volatile base* nitrogen (TVB-N) dan *trimethylamine* nitrogen (TMA-N) pada produk perikanan. Jakarta: Badan Standardisasi Nasional.
- Bergmeyer, H.U., Bergmeyer, J., & Graßl, M. 1983. *Methods of Enzymatic Analysis*, Vol. 2. Weinheim: Verlag Chemie.
- Bionutrient Technical Manual. (2006). Bionutrient Technical Manual. <http://bd.com>. [10 Mei 2024].
- Bougatef, A., Balti, R., Zaied, S.B., Souissi, N., & Nasri, M. (2008). Pepsinogen pepsin from the stomach of smooth mound (*Mustelus mustelus*); purification characterization and amino acid terminal sequences. *Food Chemistry*, 10(7), 777–784.
- Bowden, A., & Cornish. (2012). *Fundamentals*



- of Enzyme Kinetics (4th ed.). Wiley-Blackwell. ISBN: 978-3-527-33074-4.
- Calvo, P., Hernández, T., Lozano, M., & González-Gómez, D. (2010). Microencapsulation of extra-virgin olive oil by spray-drying: Influence of wall material and olive quality. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 112, 852-858.
- Castañeda, V.D., Berenguer, M.Á., Fernandez, L.R., Morellon, S.R., & Tacias, P.V. (2022). Biological activities of peptides obtained by pepsin hydrolysis of fishery products. *Process Biochemistry*, 120, 53–63. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.05.029>
- Chandrasekhar, S. (2022). Form and function in biological macromolecules: kinetic stability is key, with oblique roles for intramolecularity and hydrophobicity in enzyme catalysis. *International Journal of Biochemistry Research and Review*, 17–26. <https://doi.org/10.9734/ijbcrr/2022/v31i9778>
- Cui, T., Chen, C., Jia, A., Li, D., Yaping, S., Zhang, M., Xinfeng, B., Xue, L., & Liu, C. (2021). Characterization and human microfold cell assay of fish oil microcapsules: Effect of spray drying and freeze-drying using konjac glucomannan (KGM)-soybean protein isolate (SPI) as wall materials. *Journal of Functional Foods*, 83, 104-542. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2021.104-542>
- Gupta, R.K., Tikariha, H., Purohit, H.J., & Khardenavis, A.A. (2023). Pangenome-driven insights into nitrogen metabolic characteristics of *Citrobacter portucalensis* strain AAK\_AS5 associated with wastewater nitrogen removal. *Archives of Microbiology*, 205(7), pp.1-15. <https://doi.org/10.1007/s00203-023-03597-7>
- Hutasoit, L.R.R., Puspawati, G.A.K.D., & Permana, I.D.G.M. (2023). Pengaruh rasio maltodekstrin dan gom arab terhadap aktivitas antioksidan dan warna serbuk terung belanda (*Solanum betaceum* Cav.) yang terkopigmentasi. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*, 12(2), 278-292.
- Ibrahim, B., Nurhayati, T., & Swastikawati, A.S. (2024). Kombinasi bahan penyalut mikroenkapsulasi pepton dari ikan busuk multispecies hasil tangkapan sampingan (HTS). *Jurnal Teknologi Perikanan dan Kelautan*, 15(1), 103-114. <https://doi.org/10.24319/jtpk.15.103-114>
- Jurado, E., Vicaria, J.M., Lechuga, M., & Moya-Ramirez, I. (2012). Pepsin extraction process from swine wastes. *Procedia Engineering*, 42, 1346-1350.
- Khatulistiani, T.S., Dewi, A.S., & Yasman. (2022). Detailed description of scanning electromagnetic microscope (SEM) of the *Holothuria scabra*'s ossicles (Holothuroidea: *Echinodermata*) collected from Pesawaran Waters, Lampung, Indonesia. *Biodiversitas*, 23(7), 3697-3704.
- Kitson, T.M., & Knowles, J.R. (1971). The inhibition of pepsin-catalysed reactions by structural and stereochemical product analogues. *Biochemical Journal*, 122(2), 321–327.
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan. (2023). Statistik Kelautan dan Perikanan 2023. Jakarta: Kementerian Kelautan dan Perikanan.
- Kurniawan, R., Izzati, S.N.A., Nurhayati, T., and Jacob, A.M. (2024). Application of pepsin enzyme from yellowfin tuna gastrics on the physical and histological characteristics of beef. *BIO Web of Conferences*, 147, 01026. <https://doi.org/10.1051/bioconf/202414701026>
- Laohasongkram, K., Mahamaktudsanee, T., & Chaiwanichsiri, S. (2011). Microencapsulation of macadamia oil by spray drying. *Procedia Food Science*, 1, 1660-1665.
- Lima, K., Alemán, A., López-Caballero, M., Gómez-Guillén, M., Montero, M., Prentice, C., Huisa, A., & Monserrat, J. (2021). Characterization, stability, and in vivo effects in *Caenorhabditis elegans* of microencapsulated protein hydrolysates from stripped weakfish (*Cynoscion guatucupa*) industrial byproducts. *Food chemistry*, 364, 130380. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130380>
- Mainali, S., Khadka, N.M., Maharjan, B.L.,

- & Lekhak, B. (2011). Study of protease activity of bacteria isolated from solid waste. *Scientific World*, 9(9), 93–96. <https://doi.org/10.3126/SW.V9I9.5527>
- Manik, B.S.S., Diapari, D., Nurhayati, T., & Wijayanti, I. (2024). Karakteristik pepton ikan kembung (*Rastrelliger* sp.) tidak layak konsumsi dan aplikasi pada pertumbuhan *Wickerhamomyces anomalus*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(10), 964–974. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v27i10.54017>
- Mcauliffe, J.C., Aehle, W., Whited, G.M., & Ward, D.E. (2012). *Industrial Enzymes and Biocatalysis* (pp. 1375–1420). Springer, Boston, MA. [https://doi.org/10.1007/978-0-387-27843-8\\_31](https://doi.org/10.1007/978-0-387-27843-8_31)
- Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H., Landry, M. L., & Pfaller, M. A. (2007). *Manual of Clinical Microbiology* (ed. 9). *American Society for Microbiology*.
- Nelwan, A.F., Sudirman, M.N., & Yunus, M.A. (2015). Produktivitas penangkapan ikan pelagis di Perairan Kabupaten Sinjai pada musim peralihan barat-timur. *Journal of Fisheries Sciences*, 17(1), 18–26.
- Nurhayati, T., Desniar, & Suhandana, M. (2013). Pembuatan pepton secara enzimatis menggunakan bahan baku jeroan ikan tongkol. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 16(1).
- Nurhayati, T., Ibrahim, B., Suptijah, P., Salamah, E., Fitra R.N., & Astuti, E.R.W. (2015). Karakterisasi pepton ikan hasil tangkap sampingan tidak layak konsumsi sebagai sumber nutrisi pertumbuhan mikroorganisme. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(1), 68–77.
- Nurhayati, T., Ibrahim, B., & Arumsari, T.P. (2023). Microencapsulation technique for multispecies fish peptone spoiled using homogenization speed difference. *Journal of Fisheries Sciences*, 14(1), 45–54.
- Nurhayati, T., Nugraha, R., & Kurniawan, R. (2024). Aplikasi enzim pepsin lambung tuna terhadap karakteristik protein daging sapi. *JPB Kelautan dan Perikanan*, 19(1), 27–36. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v19i1.981>
- Nurhayati, T., Uju, U., & Simangunsong, J.S.U. (2022). Karakterisasi pepsin lambung ikan tuna sirip kuning (*Thunnus albacares*) yang dikeringkan dengan metode berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(1), 163–175. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v25i1.38427>
- Pasaribu, E., Nurhayati, T., & Nurilmala, M. (2018). Ekstraksi dan karakterisasi enzim pepsin dari lambung ikan tuna (*Thunnus albacares*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(3), 486–496.
- Patil, U., Saetang, J., Zhang, B., & Benjakul, S. (2022). Use of Tuna Visceral Pepsin in Combination with Trypsin as Digestion Aid: Enhanced Protein Hydrolysis and Bioavailability. *Foods*, 12(1), 125. <https://doi.org/10.3390/foods12010125>
- Ramadhini, D.A. (2022). Isolasi sistein bulu domba (*Ovis aries*) dengan hidrolisis asam dan pemisahan menurut pH isoelektrik. [Skripsi]. Departemen Biokimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Rocha, G.A., Lopes, R.M., & Grosso, C.R.F. (2012). Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization, stability and application of microcapsules. *Food and Bioprocess Technology*, 90(1), 32–42.
- Rodiyanti, Ginting, S., & Yusraini, E. (2017). Pengaruh perbandingan bubur mentimun dengan bubur brokoli dan persentase gom arab terhadap mutu vegetable leather. *Jurnal Rekayasa dan Teknologi Pangan*, 5(4), 660–664.
- Sakulnarmrat, K., & Konczak, I. (2022). Encapsulation of *Melodorum fruticosum* Lour. anthocyanin-rich extract and its incorporation into model food. *Food Science and Technology*, 15(3), 1–9.
- Schmitt, T.L., & Stabler, W.R. (2020). Arginine metabolism in bacterial pathogens. *Journal of Bacteriology*, 202(5), 1–12.
- SEAFDEC. (2018). Report of the Fortieth Meeting of the Program Committee of the Southeast Asian Fisheries Development Center. *Southeast Asian*





- Fisheries Development Center*, Thailand. 353 hlm.
- Selvarasu, S., O.w. D.S., Lee, S.Y., Lee, M.M., Oh, S.K., Karimi, I.A., & Lee, D.Y. (2009). Characterizing *Escherichia coli* DH5α growth and metabolism in a complex medium using genome scale flux analysis. *Biotechnology and Bioengineering*, 10(2), 923-934.
- Sid, S., Alam, M., Islam, M., Kumar, Y., Mor, R. S., Kishore, A., & Kumar, N. (2023). Characterization and quality attributes of spray-dried Kinnow peel powder using maltodextrin and gom arabic. *Journal of Food Process Engineering*. <https://doi.org/10.1111/jfpe.14488>
- Yarlina, V.P., Diva, A., Zaida, Z., Andoyo, R., Djali, M., & Lani, M.N. (2023). Ratio variation of maltodextrin and gom arabic as encapsulant on white jack bean tempe protein concentrate. *Current Research in Nutrition and Food Science Journal*, 11(3), 848-857. <https://doi.org/10.12944/CRNFSJ.11.3.14>
- Yunizal, Murtini, T.J., Dolaria, N., Purdiwoto, B., Abdulokhim, & Carkipan. (1998). Prosedur analisa kimiawi ikan dan produk olahan hasil-hasil perikanan. Jakarta: Instalasi Penelitian Perikanan Laut Slipi, Balai Penelitian Perikanan Laut, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan.