

KARAKTERISTIK PROTEIN IKAN GABUS YANG BERPOTENSI SEBAGAI ANTIHIPERGLIKEMIK

Cindyti Prastari^{1*}, Sedarnawati Yasni¹, Mala Nurilmala²

¹Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor

²Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor

Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Dramaga, Jalan Raya Dramaga, Bogor 16680 Jawa Barat

Telepon (0251) 8622909-8622906, Faks (0251) 8622915

*Korespondensi: cindytiaprastari@gmail.com

Diterima: 16 Juni 2017/ Disetujui: 10 Agustus 2017

Cara sitasi: Prastari C, Yasni S, Nurilmala M. 2017. Karakteristik protein ikan gabus yang berpotensi sebagai antihiperqlikemik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(2): 413-423.

Abstrak

Ikan gabus memiliki kandungan protein yang tinggi dan dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan dan antidiabetes. Cara untuk meningkatkan kadar protein dan kandungan asam amino pada ikan gabus, maka teknik pengolahan dengan hidrolisis dan fermentasi dipilih dalam penelitian ini. Tujuan penelitian ini mengkaji susunan asam amino dan potensi protein ikan gabus yang mampu berperan dalam menghambat enzim α -glukosidase pemecahan karbohidrat menjadi glukosa. Penelitian ini menggunakan 3 sampel yaitu: hidrolisat, isolat fermentasi dan isolat non fermentasi protein ikan gabus. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisis dengan *analysis of variance* (ANOVA, kemudian dilanjutkan dengan uji beda Duncan pada taraf 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan. Penelitian ini menghasilkan hidrolisat yang memiliki kadar protein lebih tinggi yaitu sebesar 90,43%bk, dibandingkan isolat fermentasi dan isolat non fermentasi yaitu 84,43 dan 78,69%bk. Konsentrasi 10.000 ppm, pada hidrolisat memiliki daya hambat terhadap enzim α -glukosidase yaitu sebesar 74%, sedangkan isolat fermentasi menghambat 59% dan isolat non fermentasi menghambat 56%. Hidrolisat memiliki kandungan asam amino sebesar 51,15%b/b, lebih tinggi dibandingkan isolat fermentasi dan isolat non fermentasi yaitu 44,34 dan 32,00%b/b. Hidrolisat juga memiliki fraksi dengan berat molekul terendah yaitu <10 kDa, dari hasil tersebut hidrolisat hasil hidrolisis menggunakan *crude* enzim bromelin mampu memecah fraksi peptida dari protein ikan gabus, sehingga mampu meningkatkan daya hambat terhadap enzim α -glukosidase. Hidrolisat memiliki potensi antihiperqlikemik lebih tinggi dibandingkan isolat fermentasi maupun non-fermentasi.

Kata kunci: asam amino, *Channa striata*, hidrolisat, isolat fermentasi dan non fermentasi, protein

Characterization of snakehead fish protein that's potential as antihyperqlikemik

Abstract

Snakehead fish has been sources that have high protein content and can be used as antioxidant and anti-diabetes. To increase the level of protein content and amino acid in snakehead fish, the treatment of hydrolysis and fermentation were chosen in this study. Therefore, the purpose of this study was to evaluate the characteristics of snakehead fish protein and its potential as antihyperglycemic. Three samples were used in this study, i.e., hydrolysate, fermented and non-fermented isolates. The experimental design used was completely randomized design. Data were analyzed by analysis of variance (ANOVA) and continued by Duncan multiple range test (DMRT) ($\alpha = 5\%$). The current study reported that the hydrolysate had higher protein content 90.43%, as compared to the fermented and non-fermented isolates were 84.43% and 78.69%, respectively. At a concentration of 10.000 ppm, hydrolysate showed highest inhibition activity (74%), as compared to fermented isolate inhibited 59% and none-fermentation isolate inhibited 56%. Hydrolysate also had higher amino acid content than fermented and non-fermented isolates of 51.15, 44.34, and 32.00 %w/w, respectively. Hydrolysate had the lowest molecular weight (<10 kDa), while fermented and non-fermented isolates were <10 kDa. This probably due to the hydrolysis process using an enzyme was capable to break the

peptide fractions of snakehead fish protein. Hence, it increased the levels of protein, amino acids, there by protein hydrolysate had high inhibitory potential than fermented and non-fermented isolates.

Keywords: amino acid, *Channa striata*, hidrolisates, isolates fermented and non fermented protein

PENDAHULUAN

Diabetes mellitus (DM) merupakan penyakit metabolik yang berada pada peringkat ketiga sebagai penyebab kematian setelah kanker dan kardiovaskular (Guo *et al.* 2010). Jumlah penderita DM di dunia dari tahun ke tahun terus mengalami peningkatan. Jumlah penderita DM sebanyak 366 juta jiwa di tahun 2011 meningkat menjadi 387 juta jiwa di tahun 2014 dan diperkirakan akan bertambah menjadi 592 juta jiwa pada tahun 2035 (IDF 2014). Jumlah kematian pada penderita DM yang terjadi pada tahun 2014 sebanyak 4,9 juta jiwa dan dilaporkan setiap tujuh detik terdapat satu kematian dari penderita DM di dunia. Penderita DM di dunia sebanyak 80% berasal dari negara berkembang salah satunya adalah Indonesia (WHO 2013).

Prevalensi penderita DM juga mengalami peningkatan setiap tahunnya, yaitu pada tahun 2013 (2,1%) mengalami peningkatan dibandingkan pada tahun 2007 (1,1%) (Kemenkes RI 2013). Prevalensi DM tertinggi terdapat di provinsi D.I Yogyakarta dengan nilai prevalensi 2,6%, yang kemudian diikuti oleh D.K.I Jakarta dengan 2,5% dan Sulawesi Utara 2,4%. Jenis DM yang paling banyak diderita dan prevalensinya terus meningkat adalah DM tipe II dengan jumlah kasus terbanyak yaitu, 90% dari seluruh kasus DM di dunia (WHO 2013).

Penyakit DM merupakan penyakit metabolik yang ditandai dengan gejala hiperglikemia sebagai akibat gangguan sekresi insulin atau meningkatnya resistensi sel terhadap insulin. Penyakit ini terbagi menjadi 2 tipe yaitu, tipe 1 atau IDDM (*Insulin Dependent Diabetes mellitus*) terjadi karena rusaknya sel β pankreas yang mengakibatkan jumlah sekresi hormon insulin berkurang, sehingga tidak mampu mengambil glukosa dari sirkulasi darah dan tidak mampu mengontrol kadar glukosa dalam darah. Diabetes mellitus tipe 2 NIDDM (*Non Insulin Dependent Diabetes mellitus*) terjadi karena

resistensi insulin, jumlah insulin cukup tetapi insulin tersebut tidak sensitif lagi sehingga tidak mampu bekerja secara optimal dan glukosa sebagai energi menjadi terhambat sehingga menyebabkan sel kekurangan energi (Jeevita *et al.* 2014; Ali *et al.* 2016).

Beberapa penelitian telah mengkaji tentang bahan-bahan alami sebagai sumber antioksidan untuk mengobati penyakit metabolik DM. Ikan gabus (*Channa striata*) merupakan salah satu bahan pangan potensial yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber antioksidan karena memiliki kandungan gizi yang tinggi yaitu kadar protein dalam 100 gram daging ikan gabus 25,2 gram (Santoso 2009). Ikan gabus sering dikaji dalam beberapa penelitian karena memiliki kandungan protein yang sangat tinggi dibandingkan dengan ikan air tawar jenis lainnya. Penelitian lainnya melaporkan bahwa konsumsi ekstrak ikan gabus dalam diet secara nyata dapat meningkatkan kadar albumin serum dan mempercepat proses penyembuhan luka setelah operasi (Aisyatusoffi dan Abdulgani 2013).

Beberapa laporan hasil penelitian menunjukkan bahwa pengolahan yang tepat dapat meningkatkan kadar protein pada olahan daging ikan gabus. Prastari *et al.* (2015) melaporkan bahwa penambahan *crude* enzim papain dengan konsentrasi 11,5% pada pembuatan hidrolisat ikan gabus mampu meningkatkan kadar protein tertinggi sebesar 66,80%bb, akan tetapi penggunaan *crude* enzim papain tersebut menurunkan nilai sensori produk. Pembuatan hidrolisat menggunakan *crude* enzim bromelin serta perlakuan fermentasi untuk membuat isolat daging ikan gabus juga digunakan dalam penelitian ini. Perlakuan fermentasi dipilih untuk meningkatkan keberadaan peptida dan asam amino yang kemudian dapat bertindak sebagai antioksidan. Karnila (2012) menyatakan bahwa jenis asam amino leusin, arginin, lisin, alanin, fenilalanin, isoleusin dan metionin mampu mengontrol kadar glukosa

dalam darah dengan cara penghambatan terhadap enzim α -glukosidase.

Pembuatan hidrolisat, isolat fermentasi dan isolat non fermentasi ini diharapkan mampu meningkatkan kadar protein dan keberadaan asam amino pada ikan gabus. Penelitian ini mengkaji susunan asam amino dan potensi protein ikan gabus yang mampu berperan dalam menghambat enzim α -glukosidase pemecahan karbohidrat menjadi glukosa.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu bahan utama penelitian adalah ikan gabus (*Channa striata*) yang didapat dari kolam utara bagian selatan (KUBAS) Ciawi-Bogor. Ikan gabus yang digunakan dalam penelitian ini memiliki bobot badan 300-400 g/ekor. Bahan kimia yang digunakan pada pembuatan hidrolisat, isolat fermentasi dan non fermentasi, antara lain: buah nanas (*Ananas comosus* L. Merr), alkohol (Methanol for analysis EMSURE[®] ACS, ISO, Reag. Ph Eur. CAS 67-56-1 85%), HCL (for analysis EMSURE[®] ISO. CAS 7664-93-9, EC Number 231-639-5), NaCl, buffer fosfat (Certipur[®] certified pH Buffer Solutions acc. to EP) dan NaOH, ortoftalaldehida (Sigma, Austria), natrium hidroksida (Sigma, Austria) asam borat (Sigma Austria), larutan brij-30 30% (1 ml) (Sigma, Austria), 2-merkaptotanol (Sigma, CAS 60-24-2, chemical formula HSCH₂CH₂OH), larutan standar asam amino 0,5 μ mol/mL, g 5 g, metanol, tetrahidrofuran (THF) (CAS 109-99-9, pH 7 - 8 (200 g/L, H₂O, 20°C), Na-asetat, air HP, natrium hidroksida (Merck, CAS No. 1310-73-2, EC Number 215-185-5). SDS-Page: 7,5% separating gel (gel pemisah) (Merck, Darmstadt, Germany) dan 3% *stacking gel* (gel pengumpul) (Merck, Darmstadt, Germany). Gel tersebut mengandung air deionisasi, akrilamida (Merck, Darmstadt, Germany), buffer stacking, buffer separating (Merck, Darmstadt, Germany), sodium dodesil sulfat (SDS) (Merck, Darmstadt, Germany), ammonium persulfat (APS) (Merck, Darmstadt, Germany), dan tetramethylethylenediamine (TEMED) (Merck, Darmstadt, Germany).

Alat yang digunakan yaitu spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 120-01), centrifuge (Beckman tipe 7B-6), *freeze dryer*, pH meter (HM-205), waterbath (GFL 1083), SDS-PAGE elektroforesis (Bio Rad Mini-Sub[®] Cell GT Cell, BIO-RAD, California, USA).

Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 3 tahapan: Tahap 1 yaitu ekstraksi *crude* enzim bromelin menggunakan alkohol 85%, Tahap 2 pembuatan hidrolisat protein menggunakan *crude* enzim bromelin, isolat fermentasi dan isolat non fermentasi menggunakan metode isolasi protein dengan pengaturan pH yaitu menggunakan pH 11 untuk melarutkan protein ikan gabus, kemudian dilakukan pengendapan pada pH isoelektriknya sekitar pH 4,5. Tahap 3 analisis dan karakterisasi sampel hidrolisat, isolat fermentasi dan isolat non fermentasi, meliputi perhitungan rendemen, analisis kandungan gizi (AOAC 2005), jenis dan kadar asam amino total (HPLC-MS), profil asam amino SDS page (Leammli 1970), dan uji daya hambat terhadap enzim α -Glukosidase (*in vitro*) (Mayur *et al.* 2010).

Crude enzim bromelin

Pembuatan hidrolisat protein menggunakan *crude* enzim bromelin yang diperoleh dari bahan baku alami yaitu buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr) menggunakan metode Dewi *et al.* (2015). Buah nanas dibersihkan dari kulit, dipotong dan diblender untuk mendapatkan sari buah nanas dilakukan penyaringan. Sari nanas tersebut diendapkan selama 24 jam dalam refrigerator pada suhu 18 °C, penambahan alkohol 85% 1:4 (v/v) untuk mengendapkan *crude* enzim. Endapan yang diperoleh disentrifugasi dengan kecepatan 15.000 g selama 15 menit yang bertujuan untuk memisahkan endapan dan larutan sehingga diperoleh presipitat dan supernatan. Presipitat yang diperoleh dioles tipis pada cawan petri, dan dikeringkan dengan oven suhu 37 °C selama 24 jam..

Hidrolisat protein ikan gabus

Pembuatan hidrolisat daging ikan gabus dilakukan proses pengeringan dan

penepungan terlebih dahulu mengacu pada Prastari *et al.* 2015. Daging ikan dipisahkan dari bagian tubuh yang lain (kepala, tulang dan kulit) dengan cara *difillet*, kemudian dilakukan pengeringan menggunakan suhu 45 °C selama 10 jam, penggilingan menggunakan blender dan pengayakan 60 mesh. Tepung daging ikan ditambahkan *crude* enzim bromelin 11,5% dan air sebanyak 100 mL kemudian diinkubasi pada suhu 50°C selama 6 hari. Cairan hidrolisat dipisahkan dengan sisa padatan menggunakan saringan dan dikeringkan menggunakan *freeze drying* selama 24 jam, sehingga diperoleh sampel dalam bentuk hidrolisat protein ikan gabus.

Isolat protein fermentasi ikan gabus

Proses pembuatan ikan fermentasi berdasarkan metode Sharah *et al.* (2015) yang dimodifikasi. Tahap awal dilakukan preparasi bahan baku yang meliputi pemisahan daging dari bagian lain yang tidak digunakan. Ikan gabus yang telah dibuang isi perut dan insangnya kemudian dicuci, selanjutnya diberi garam dengan konsentrasi garam 15% disusun di dalam wadah selapis demi selapis. Pemberian garam bertujuan untuk mengontrol pertumbuhan mikroorganismenya, membentuk tekstur, dan meningkatkan cita rasa. Ikan diinkubasi pada suhu 40 °C selama 7 hari. Tahap selanjutnya daging ikan hasil fermentasi *difillet*, dikeringkan menggunakan oven suhu 40 °C selama 10 jam, digiling menggunakan blender dan dengan pengayak berukuran 60 mesh sehingga diperoleh tepung ikan gabus fermentasi.

Prosedur pembuatan isolat protein ikan gabus berdasarkan metode Mahendradatta (2012). Penimbangan masing-masing sebanyak 100 g tepung daging ikan gabus dilarutkan menggunakan larutan *buffer* pH 7 sebanyak 400 mL dan diatur pH-nya mencapai 11 dengan penambahan NaOH sebanyak 21 mL. Isolat disentrifugasi pada kecepatan 15.000 g suhu 27 °C selama 15 menit. Supernatan dipisahkan dan pH diatur hingga mencapai 4,5 dengan cara penambahan HCl 1 N 9 mL dan NaCl 0,9% 4 mL kemudian di sentrifugasi pada kecepatan

15.000 g suhu 27°C selama 15 menit. Endapan yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan *freeze dryer*, sehingga diperoleh sampel dalam bentuk isolat protein fermentasi ikan gabus.

Isolat protein non fermentasi ikan gabus

Prosedur pembuatan isolat protein ikan gabus berdasarkan metode Mahendradatta (2012), pada tahap awal daging ikan gabus dipisahkan dari bagian tubuh lainnya (kepala, tulang dan kulit) dengan cara *difillet*. Sampel dikeringkan menggunakan oven pada suhu 40 °C selama 10 jam dan penggilingan menggunakan blender dan pengayakan ukuran 60 mesh sehingga diperoleh tepung daging ikan gabus. Sampel ditimbang sebanyak 100 g tepung daging ikan gabus dan dilarutkan menggunakan larutan *buffer* pH 7 sebanyak 400 mL dan pH diatur hingga mencapai 11 dengan penambahan NaOH sebanyak 21 mL. Isolat kemudian disentrifugasi pada kecepatan 15.000 g suhu 27 °C selama 15 menit. Supernatan dipisahkan dan pH diatur hingga mencapai 4,5 dengan cara penambahan HCl 1N 9 mL dan NaCl 0,9% 4 mL selanjutnya disentrifugasi pada kecepatan 15.000 g suhu 27 °C selama 15 menit. Endapan yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan *freeze dryer* sehingga diperoleh sampel dalam bentuk isolat protein non fermentasi ikan gabus. Masing-masing sampel dilakukan perhitungan rendemen, analisis kandungan gizi (AOAC 2005), jenis dan kadar asam amino total (HPLC-MS), profil asam amino SDS page (Leammler 1970), dan uji daya hambat terhadap enzim α -Glukosidase (*in vitro*) (Mayur *et al.* 2010).

Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Data yang diperoleh dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA) yang diolah menggunakan *software* SPSS. Jika perlakuan memberikan pengaruh sangat nyata, maka pengujian dilanjutkan dengan uji beda Duncan pada taraf 5% (Steel & Torrie 1993) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

$$Y_j = \mu + \tau_i + \varepsilon_j \text{ atau } Y_j = \mu_i + \varepsilon$$

keterangan: $i = 1, 2, \dots, t$ dan $j = 1, 2, \dots, r$

Y_{ij} = Pengamatan pada perlakuan ke- i dan ulangan ke- j

μ = Rataan umum

τ_i = Pengaruh perlakuan ke- i
= $\mu_i - \mu$

ε_{ij} = Pengaruh acak pada perlakuan ke- i ulangan ke- j

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan Gizi Daging dan Tepung Ikan Gabus

Ikan gabus yang digunakan sebagai bahan baku pada penelitian ini adalah ikan gabus (*Channa striata*) dengan umur berkisar 3-4 bulan, berukuran 20-25 cm, dengan berat rata-rata 300-400 g/ekor. Bagian ikan gabus yang digunakan sebagai bahan baku pembuatan hidrolisat dan isolat pada penelitian ini adalah bagian daging, sedangkan bagian lain seperti kulit, kepala, isi perut, sisik dan tulang tidak digunakan. Foline *et al.* (2011) menyatakan bahwa kandungan protein paling tinggi terdapat pada bagian daging yang mengandung asam amino lengkap, baik esensial maupun non esensial. Dua perlakuan daging ikan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu: daging non fermentasi dan fermentasi, pada tahapan selanjutnya, daging ikan diproses menjadi tepung. Hasil analisis kandungan gizi daging dan tepung ikan gabus disajikan pada Tabel 1.

Kadar protein daging fermentasi lebih tinggi dibandingkan dengan non fermentasi yaitu 67,91 dan 66,08%bk. Wijayanti (2016) menyatakan bahwa selama fermentasi terjadi proses protein menjadi senyawa

yang lebih sederhana, sehingga mampu meningkatkan kadar protein pada produk hasil fermentasi.

Hasil analisis kandungan gizi menunjukkan bahwa kadar protein daging ikan fermentasi dan non fermentasi setelah dilakukan penepungan. Tujuan dari pembuatan tepung adalah untuk meningkatkan luas permukaan, memperpanjang umur simpan dan memudahkan penanganan. Sampel dalam bentuk tepung juga diharapkan dapat lebih homogen.

Rendemen dan Kandungan Gizi Hidrolisat, Isolat Fermentasi dan Non Fermentasi Ikan Gabus

Hasil perhitungan rendemen hidrolisat, isolat fermentasi dan non fermentasi protein dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil analisis sidik ragam (ANOVA) menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan ($p < 0,05$) dan rendemen tertinggi dihasilkan oleh perlakuan hidrolisat, karena pembuatan hidrolisat menggunakan *crude* enzim bromelin pada proses hidrolisisnya sehingga kerja enzim lebih spesifik dan tingkat kerusakan protein lebih kecil. Perbedaan rendemen yang dihasilkan dapat disebabkan oleh perbedaan metode yang digunakan. Isolat protein dari daging yang telah difermentasi menghasilkan rendemen lebih tinggi dibandingkan isolat non fermentasi, hal ini karena proses fermentasi mampu meningkatkan keberadaan peptida dan asam amino yang terlarut sehingga menghasilkan isolat protein dengan rendemen yang lebih tinggi. Novianti (2013) melaporkan bahwa bakteri asam laktat yang terdapat pada produk akhir fermentasi ikan gabus mampu meningkatkan kadar dari senyawa-senyawa

Tabel 1 Hasil analisis kandungan gizi daging dan tepung ikan gabus

Komponen	Daging		Tepung	
	Non fermentasi	Fermentasi	Non fermentasi	Fementasi
Air (%bb)	75,52±0,03	75,05±0,05	11,12±0,02	10,78±0,05
Protein(%bk)	66,67±0,58	69,74±0,05	66,08±0,03	67,91±0,01
Abu(%bk)	15,40±0,03	15,08±0,07	14,28±0,01	15,13±0,01
Lemak(%bk)	6,06±0,04	5,01±0,04	6,93±0,03	6,10±0,04
Karbohidrat(%bk) (<i>by difference</i>)	11,75±0,56	10,17±0,08	12,69±0,08	10,84±0,01

Tabel 2 Hasil analisis kandungan gizi daging dan tepung ikan gabus

Jenis Sampel	Rendemen (%)
Hidrolisat	50,01±0,07 ^c
Isolat fermentasi	20,15±0,08 ^b
Isolat non fermentasi	19,15±0,10 ^a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,05$)

sederhana, misalnya asam amino sehingga menyebabkan peningkatan nilai gizi dan nilai cerna pada produk fermentasi bekasam.

Hasil analisis kandungan gizi hidrolisat, isolat fermentasi dan isolat non fermentasi menunjukkan bahwa masing-masing perlakuan mampu meningkatkan kadar protein yaitu: 90,43, 84,43 dan 78,69% bk dibandingkan dengan bahan baku daging ikan gabus sebesar: 66,08 dan 67,91% bk (Tabel 3). Karnila (2012) melaporkan bahwa hidrolisis protein pada produk perikanan secara enzimatis berupa suatu hidrolisat yang mengandung peptida dengan berat molekul lebih rendah dan asam amino bebas lebih tinggi dibandingkan dengan bahan bakunya.

Hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan ($p < 0,05$). Kadar protein tertinggi terdapat pada hidrolisat dan berbeda nyata dengan isolat fermentasi dan isolat non fermentasi. Hasnaliza *et al.* (2010) menyatakan bahwa peningkatan kadar protein pada produk akhir hidrolisat protein produk perikanan disebabkan oleh peningkatan peptida dan asam amino yang terlarut dalam tricarboxylic acid (TCA) akibat dari pemutusan ikatan

peptida selama proses hidrolisis protein. Penelitian ini sejalan dengan penelitian yang sudah dilakukan Wisuthiphaet dan kongruang (2015) yang menyatakan bahwa hidrolisis protein ikan menggunakan enzim proteolitik mampu meningkatkan kadar protein 40-50%.

Jenis dan Kadar Asam Amino Total

Pengujian asam amino dilakukan untuk mengetahui dan menentukan komposisi asam amino pada protein ikan gabus. Kanetro (2009) menyatakan bahwa mutu protein dari suatu bahan pangan ditentukan oleh jenis dan proporsi asam amino yang dikandungnya. Protein bermutu tinggi adalah protein yang mengandung semua jenis asam amino dalam proporsi yang sesuai untuk pertumbuhan. Terdapat 15 jenis asam amino yang ditemukan pada protein ikan gabus, yang meliputi 9 jenis asam amino esensial yaitu histidin, treonin, arginin, metionin, valin, fenilalanin, isoleusin, leusin, dan lisin.

Karnila (2012) melaporkan bahwa asam amino dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu asam amino penstimulasi insulin dan non penstimulasi insulin. Kelompok asam amino penstimulasi

Tabel 3 Hasil analisis kandungan gizi hidrolisat, isolat fermentasi dan isolat non fermentasi ikan gabus

Komponen	Hidrolisat	Isolat fermentasi	Isolat non fermentasi
Air (%bb)	10,75±0,19 ^b	10,56±0,14 ^b	10,08±0,06 ^a
Protein(%bk)	90,43±0,43 ^c	84,43±0,09 ^b	78,69±0,17 ^a
Abu(%bk)	6,96±0,14 ^a	9,85±0,12 ^c	8,98±0,06 ^b
Lemak(%bk)	1,48±0,42 ^a	2,47±0,19 ^c	1,98±0,07 ^b
Karbohidrat(%bk) (<i>by difference</i>)	1,10±0,98 ^a	3,22±0,19 ^b	10,33±0,22 ^c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,05$)

insulin terdiri dari leusin, arginin, lisin, alanin, fenilalanin, isoleusin, dan metionin. Mekanisme sekresi insulin oleh leusin secara spesifik melalui berbagai jalur, yaitu (1) jalur katabolisme leusin menjadi produk akhir asetil-CoA dan asetoasetil-CoA, sehingga dapat terlibat dalam pembentukan energi melalui siklus TCA, (2) leusin mampu mengaktifasi glukokinase, sehingga mampu meningkatkan energi melalui glikolisis, sedangkan asam amino fenilalanin, isoleusin, dan metionin menstimulasi sekresi insulin hanya melalui jalur peningkatan energi pada siklus TCA (Newsholme *et al.* 2007, Liu *et al.* 2008, dan Kanetro 2009).

Asam amino alanin juga mampu menstimulasi sekresi insulin melalui dua jalur, yaitu melalui sistem co-transport Natrium dan jalur siklus TCA. Asam amino fenilalanin, isoleusin dan metionin menstimulasi sekresi insulin hanya melalui jalur peningkatan energi pada siklus TCA (Newsholme *et al.* 2007, Liu *et al.* 2008, dan Kanetro 2009). Hasil analisis

jenis dan kadar asam amino menunjukkan bahwa yang mendominasi kandungan asam amino pada hidrolisat, isolat fermentasi dan non fermentasi ikan gabus adalah asam glutamat, asam aspartat, leusin dan arginin (Tabel 4).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hidrolisat memiliki kandungan asam amino yang lebih tinggi dibanding isolat fermentasi dan isolat non fermentasi yaitu: 51,15, 44,34 dan 32,00% b/b. Hal ini berkaitan dengan adanya perbedaan metode perlakuan pada masing-masing sampel. *Crude* enzim bromelin yang digunakan pada pembuatan hidrolisat protein ikan gabus menyebabkan terjadi degradasi protein dari bagian rantai-rantai peptida menjadi asam amino, sehingga kadar asam amino pada hidrolisat lebih tinggi dibandingkan dengan isolat. Karnila (2012) yang menyatakan bahwa pembuatan hidrolisat protein teripang menggunakan enzim tripsin menghasilkan kadar asam amino yang lebih tinggi 48,6 dibandingkan isolat 47,77 dan konsentrat protein teripang 48,61%b/b.

Tabel 4 Profil asam amino total hidrolisat, isolat fermentasi dan isolat non fermentasi

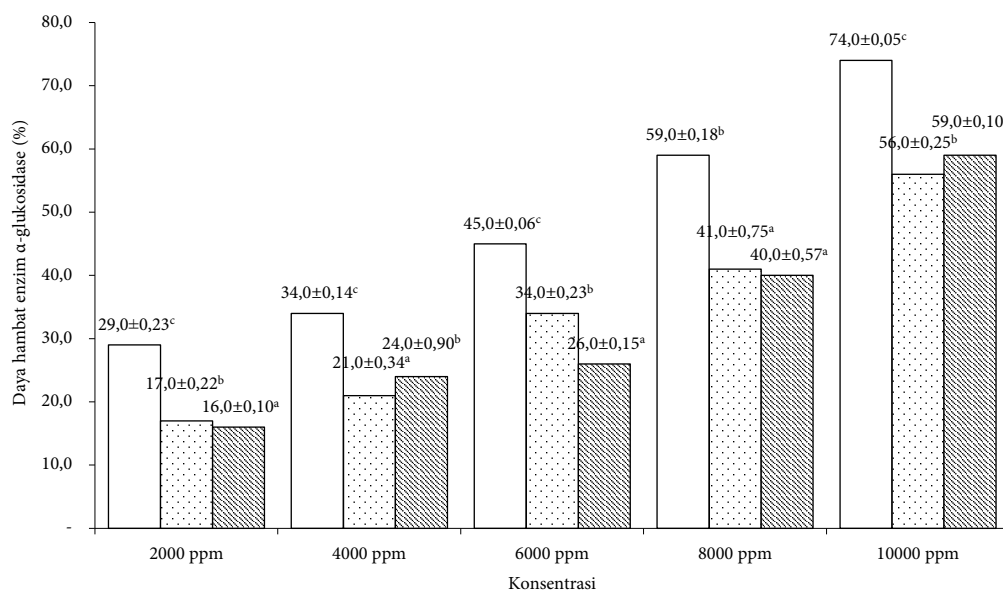
Kelompok asam amino	Asam amino	Profil asam amino total (%b/b)		
		HD	IF	INF
Penstimulasi insulin	Leusin	4,49	4,08	3,08
	Arginin	3,31	2,94	1,66
	Lisin	6,16	4,18	2,73
	Alanin	3,37	2,92	2,09
	Fenilalanin	2,44	2,18	1,64
	Isoleusin	2,76	2,59	2,02
	Metionin	1,69	1,62	0,05
Jumlah		24,22	20,51	13,27
Non penstimulasi insulin	Asam aspartat	5,49	4,78	4,17
	Asam glutamat	8,97	7,96	5,89
	Serin	2,10	1,79	1,27
	Histidin	1,35	1,02	0,78
	Glisin	2,24	1,82	1,32
	Treonin	2,08	2,00	1,54
	Tirosin	1,94	1,80	1,85
Valin	2,76	2,66	1,91	
Jumlah		26,93	23,83	18,73
TOTAL		51,15	44,34	32,00

Analisis Penghambatan Aktivitas Enzim α -Glukosidase secara *In Vitro*

Penghambatan suatu reaksi yang dikatalisis enzim dapat menghambat jalur metabolik utama dengan mencegah pembentukan suatu metabolit esensial maupun metabolit yang tidak diinginkan. Enzim α -glukosidase (EC3.2.1.20) adalah enzim yang mengkatalisis pemecahan ikatan α -1,6 glikosida. Enzim ini berfungsi untuk melanjutkan kerja α -amilase, yaitu menghidrolisis lanjut α -limit dextrin menjadi glukosa (Berdanier *et al.* 2006). Alfa-glukosidase pada pencernaan mamalia berada pada permukaan membran *brush border* sel usus halus dan merupakan enzim yang mengkatalisis proses akhir pencernaan karbohidrat pada proses pencernaan. Senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim α -glukosidase menunjukkan indikasi sebagai antidiabetes. Penghambatan aktivitas enzim α -glukosidase pada penderita DM sangat bermanfaat untuk menurunkan kadar glukosa darah, terutama setelah makan (Moritoh *et al.* 2009). Hasil daya uji hambat aktivitas enzim α -glukosidase hidrolisat, isolat fermentasi dan isolat non fermentasi terhadap aktivitas enzim α -glukosidase menunjukkan adanya nilai hambat yang berbeda nyata dari setiap perlakuan pada setiap konsentrasi.

Hasil analisis ragam (ANOVA) menunjukkan bahwa hidrolisat memiliki potensi yang lebih tinggi dan berbeda nyata dibandingkan dengan isolat fermentasi dan isolat non fermentasi. Konsentrasi hidrolisat 10.000 ppm mampu menghambat sebesar 74%, sedangkan isolat fermentasi dan isolat non fermentasi menghambat 59% dan 56% (Gambar 1). Adanya penghambatan diduga karena peran senyawa bioaktif pada protein ikan gabus berupa peptida-peptida dan asam amino yang berikatan dengan sisi allosterik (aktif) enzim, sehingga menyebabkan penurunan kecepatan reaksi enzim. Kondisi ini mengakibatkan terjadinya penurunan metabolisme karbohidrat menjadi glukosa sehingga dengan sendirinya akan menurunkan kadar glukosa dalam darah yang sangat bermanfaat bagi penderita diabetes mellitus (Moritoh *et al.* 2009).

Gambar 1 menunjukkan bahwa hidrolisat memiliki potensi yang lebih besar sebagai antidiabetes adapun mekanisme penghambatan oleh beberapa senyawa bioaktif protein ikan gabus mampu menurunkan aktivitas enzim dan menyebabkan penurunan kecepatan reaksi enzim. Kondisi ini menyebabkan terjadinya penurunan metabolisme karbohidrat menjadi



Gambar 1 Daya hambat hidrolisat (□), isolat fermentasi (▨) dan isolat non fermentasi (▩) terhadap enzim α -glukosidase. Angka yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada setiap konsentrasi menunjukkan perbedaan yang sangat nyata ($p < 0,01$).

glukosa oleh enzim α -glukosidase, sehingga dengan sendirinya akan menurunkan kadar glukosa dalam darah yang sangat bermanfaat bagi penderita diabetes mellitus (Berdanier *et al.* 2006).

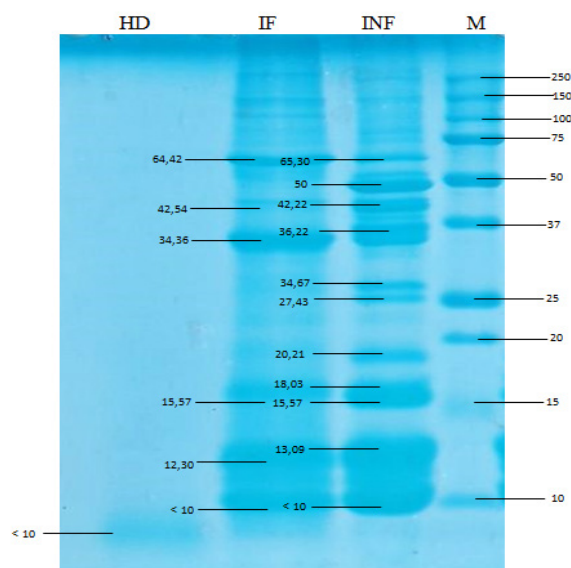
Profil berat molekul protein hidrolisat, isolat fermentasi dan isolat non fermentasi

Penentuan berat molekul protein hidrolisat, isolat fermentasi dan non fermentasi pada penelitian ini menggunakan metode Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrilamide Gel Electrophoresis (SDS-PAGE). Hasil analisis menunjukkan bahwa hidrolisat memiliki bobot molekul < 10 KDa, sedangkan isolat fermentasi memiliki bobot molekul protein dimulai dari 64,42 KDa- < 10 KDa dan isolat fermentasi dimulai dari 65,10 KDa- < 10 KDa. Hasil ini menunjukkan hidrolisat memiliki fraksi protein lebih rendah dibandingkan perlakuan lainnya, diduga hidrolisis menggunakan *crude* enzim bromelin mampu memecah fraksi protein ikan gabus. Isolat fermentasi menghasilkan pita protein yang lebih sedikit jika dibandingkan dengan isolat non fermentasi, hal ini membuktikan selama proses fermentasi terjadi penguraian protein. Pita protein tersebut terbentuk akibat molekul protein yang kecil bermigrasi lebih cepat melewati pori-pori gel poliakrilamid,

sedangkan molekul protein yang lebih besar tertahan oleh pori-pori gel dan bergerak lebih lambat sehingga terjadi pemisahan protein berdasarkan berat molekulnya (Alberts *et al.* 2002) Hasil analisis profil berat molekul protein hidrolisat, isolat fermentasi dan non fermentasi protein ikan gabus dapat dilihat pada Gambar 2.

Belkaaloul *et al.* (2010) menyatakan bahwa selama proses hidrolisis protein oleh enzim proteolitik berlangsung terjadi pemecahan protein menjadi fraksi-fraksi protein yang lebih kecil dan mampu meningkatkan kadar protein serta asam amino pada produk hasil hidrolisis. Hal ini sejalan dengan analisis lainnya pada penelitian ini yang menunjukkan bahwa hidrolisat memiliki kandungan protein yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan lainnya yaitu 90,43% bk, begitu juga dengan hasil analisis kadar asam amino total sebesar 51,15% b/b yang juga lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan isolat fermentasi dan isolat non fermentasi.

Mine dan Shahidi (2009) menyatakan bahwa protein dalam daging ikan berupa peptida bioaktif. Peptida bioaktif adalah suatu jenis peptida yang memiliki urutan komposisi asam amino merupakan fragmen pecahan protein dengan protein aslinya sendiri tidak memiliki keaktifan biologi. Senyawa-senyawa peptida bioaktif bekerja sangat aktif dan



Gambar 2 Elektroforegram protein SDS-PAGE M= Marker, INF= Isolat Non fermentasi, IF= Isolat fermentasi HD= Hidrolisat (Satuan= KDa).

berpengaruh positif bagi kesehatan maupun saluran pencernaan manusia. Jenis peptida yang mampu memberikan efek positif dalam tubuh biasanya memiliki berat molekul yang rendah dibawah 100 KDa terdiri atas 3 sampai 10 asam amino.

Hasil analisis menunjukkan hidrolisat memiliki kandungan protein yang lebih besar dibandingkan perlakuan lainnya yaitu 80,71 %bb, hal ini juga dibuktikan dari hasil analisis kadar asam amino total sebesar 51,15 b/b yang juga lebih tinggi dibanding perlakuan lainnya, jika dikaitkan dengan penghambatan enzim α -glukosidase dengan kadar protein dan asam amino yang tinggi hidrolisat juga memiliki nilai inhibisi paling tinggi yaitu 74% pada konsentrasi 10.000 ppm. Hal ini menunjukkan proses hidrolisis menggunakan *crude* enzim bromelin mampu memecah fraksi ikatan peptida yang dimiliki ikan gabus sehingga meningkatkan sifat fungsionalnya dan dibuktikan dari profil protein menggunakan SDS-PAGE hidrolisat memiliki berat molekul yang terendah <10 KDa dibandingkan perlakuan lainnya, diduga peptida-peptida dan asam amino yang terdapat dalam hidrolisat mampu berperan sebagai inhibitor enzim α -glukosidase sehingga menunjukkan potesinya sebagai antihiperqlikemik.

KESIMPULAN

Hidrolisat, isolat fermentasi dan isolat non fermentasi ikan gabus mengandung asam amino penstimulasi insulin, terdiri dari: leusin, arginin, lisin, alanin, fenilalanin, isoleusin, dan metionin. Hidrolisat memiliki kandungan asam amino 51,15 b/b serta memiliki potensi antihiperqlikemik karena mampu menghambat aktivitas enzim α -glukosidase lebih besar dibanding isolat fermentasi dan isolat non fermentasi pada setiap konsentrasi yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

Aisyatussoffi N, Abdulgani N. Pengaruh pemberian ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) pada stuktur histologi pankreas dan kadar glukosa darah mencit (*Mus musculus*) hiperglikemik. *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*. 2(1): 2337-3520.
Ali Y, Stone MA, Peters, JL, Davies, MJ, Khunti,

K. 2016. The prevalence of co-morbid depression in adults with Type 2 diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Journal Diabetic Medicine*. 23(11): 1165-1173.

Alberts B, Johnsons A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. 2002. *Molecular Biology of The Cell*. New York (USA): Garland Science.

Belkaaloul K, Checroun A, Ait- Abdeslam A, Saidi D, Kherouoa O. 2010. Growth, acidification & proteolysis performance of two co-cultures (*Lactobacillus plantarum*- *Bifidobacterium longum* and *Streptococcus thermophilus* bifido-bacterium longum). *African Journal of Biotechnology*. 9(10): 1463-1469.

Berdanier CD, Dwyer J, Feldman EB. 2006. *Handbook of nutrition and food*. Second Edition. New York (USA): CRC Press.

Dewi K, Karnila R, Loekman S. 2015. Pengaruh penambahan konsentrasi *crude* enzim bromelin berbeda terhadap kualitas kecap ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Perikanan dan Ilmu Kelautan*. 2(2).

Foline OF, Fidelis AE, Iyabo BE, Rachael A. 2011. Proximate composition of catfish (*Clarias gariepinus*) smoked in nigerian stored products research institute (NSPRI): Developed kiln. *Internasional Journal of Fisheries and Aquaculture*. 3(5).

Guo LP, Jiang TF, Lv ZH, Wang YH. 2010. Screening alpha-glukosidase inhibitors from traditional chienes drugs by capillary electrophoresis with electrophoretically mediated microanalysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 53: 1250-1253.

Hasnaliza H, Maskat MY, Wan AWM, Mamot S. 2010. The effect of enzyme concetration, temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water. *International Food Research Journal*. 17: 147-152.

[IDF]. IDF Diabetes Atlas Sixth Edition, International Diabetes Federation 2014. http://www.idf.org/sites/default/files/EN_6E_Atlas_Full_0.pdf. [4 Januari 2017].

- Jeevita K, Buford, Hwy, Mailstop. 2014. Diabetes report: Division of Diabetes Tranlation. National Center for chronic disease prevention and health promotion centers for disease contron and prevention. www.cdc.gov/diabetes/library/reports/congress.html [12 Januari 2016].
- Kanetro B. 2009. Kajian profil asam amino kecambah kedelai: hubungannya dengan jumlah insulin pancreatic islet tikus normal dan diabetes [disertasi]. Yogyakarta (ID): Universitas Gadjah Mada.
- Karnila R. 2012. Daya hipoglikemik protein teripang pasir (*Holothuria scabra* J) pada tikus percobaan [disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2013. Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS). Jakarta (ID): Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Liu Z Jeppesen PB, Gregersen S, Chen X, Hermansen K. 2008. Dose and glucose dependent effects of amino acids on insulin secretion from isolated mouse islets and clonal INS-1E beta-cells. *Rev Diab Studies*. 5(4): 232-244.
- Mahendradatta M. 2012. The extraction of albumin of a snakehead (*Ophiocephalus striatus*) as a food suplemen. *Journal Teknologi Pangan*. 21(2).
- Mine Y, Shahidi F. 2006. Nutraceutical proteins and peptides in health and disease. Boca Raton: CRC Press.
- Moritoh Y, Takeuchi K, Hazama M. 2009. Voglibose, an alpha-glucosidase inhibitor, to increase acvtive glucagon-like peptide-1 levels. *Journal Molecular Cell Pharmacol*. 1(4): 188-192.
- Newsholme P, Brennan L, Bender K. 2007. Amino acid metabolism, insulin secretion, and diabetes. *Journal Biochemical Society Transactions*. 35: 1180-1186.
- Novianti D. 2013. Kuantitasi dan identifikasi bakteri asam laktat serta konsentrasi asam laktat dari fermentasi ikan gabus (*Channa striata*), ikan nila (*Oreochromis niloticus*) dan ikan sepat (*Trichogaster trichopterus*) pada pembuatan bekasam. *Jurnal Sainmatika*. 10(2): 34-41.
- Prastari C, Desmelati, Karnila. R. 2015. Pengaruh penggunaan *crude* enzim papain konsentrasi berbeda terhadap karakteristik mutu kecap ikan gabus (*Channa striata*). Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. *Jurnal Online Mahasiswa: ISSN 2355-6900*. Pekanbaru (ID): Universitas Riau.
- Santoso H. 2009. Uji potensi ekstrak ikan gabus (*Channa striata*) sebagai hepatoprotector pada tikus yang diinduksi dengan parasetamol. [tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Sharah A, Karnila R, Desmelati. 2015. The manufacture of lactic acid bacteria growth curve in the isolation of kembung (*Rastrelliger* Sp.) peda. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Perikanan dan Ilmu Kelautan*. 2(2).
- Westermeier. 2004. Electrophoresis in Practice: A Guide to Theory and Practice. New Jersey (US): John Wiley & Sons Inc.
- [WHO] World Health Organization. 2013. Diabetes. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en.html> [1 Desember 2016].
- Wijayanti I. 2016. Caracteristic of milkfish (*Chanos chanos* forsk) protein hydrolysate as effect of different bromelin enzyme concentration. *Jurnal saintek perikanan* 11(2): 129-133.
- Wisuthiphaet N, Kongruang S. 2015. Production of protein hydrolysates by acid and enzymatic hydrolysis. *Journal of medical and bioengineering*. 4(6): 466-470.