

PENGARUH PENAMBAHAN ENZIM PAPAIN DAN ENZIM BROMELIN TERHADAP HIDROLISAT PROTEIN DARI AMPAS KELAPA

EFFECT OF PAPAIN AND BROMELAIN ENZYMES ADDITION ON PROTEIN HYDROLYSATES FROM COCONUT DREGS

*Alverdha E. R. Ridhwan dan Nuniek Herdyastuti**

Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences

Universitas Negeri Surabaya

Jl. Ketintang, Surabaya (60231), Telp. 031-8298761

**Corresponding author, email: nuniekherdyastuti@unesa.ac.id*

Abstrak. Limbah ampas kelapa berpotensi dijadikan hidrolisat protein dengan penambahan enzim papain dan enzim bromelin. Penelitian bertujuan untuk menganalisis pengaruh konsentrasi enzim dan lama waktu hidrolisis terhadap hidrolisat protein ampas kelapa berdasarkan rendemen, kadar protein, dan derajat hidrolisis. Konsentrasi enzim menggunakan variasi 1, 3, 5, 6, dan 7% (b/v) yang dihidrolisis selama 240 menit. Penentuan kadar protein dilakukan dengan metode Bradford dan pengukuran derajat hidrolisis dengan metode SN-TCA. Hasil penelitian menunjukkan hidrolisat protein terbaik pada penambahan enzim papain konsentrasi 7% dengan hasil rendemen 24,70%, kadar protein 0,03450 mg/mL, dan derajat hidrolisis 48,04%. Hasil tersebut lebih besar dibandingkan penambahan enzim bromelin konsentrasi 7% dengan hasil rendemen 18,46%, kadar protein 0,03067 mg/mL, dan derajat hidrolisis 42,30%. Variasi lama waktu hidrolisis yaitu 150, 180, 210, 240, dan 270 menit dengan konsentrasi enzim 7% masing-masing enzimnya. Hasil penelitian menunjukkan lama waktu hidrolisis terbaik adalah 270 menit dengan enzim papain menghasilkan rendemen 23,44%, kadar protein 0,03550 mg/mL, dan derajat hidrolisis 65,36%. Hasil tersebut lebih besar dibandingkan lama waktu hidrolisis 270 menit dengan enzim bromelin menghasilkan rendemen 17,06%, kadar protein 0,03360 mg/mL, dan derajat hidrolisis 50,20%. Dalam penelitian ini menunjukkan bahwa hidrolisat protein dengan penambahan enzim papain menunjukkan hasil yang lebih baik dibandingkan penambahan enzim bromelin.

Kata kunci : ampas kelapa, enzim papain, enzim bromelin, hidrolisat protein

Abstract. Coconut dregs waste has potential to be used as protein hydrolysate with addition of papain enzyme and bromelain enzyme. The study aimed to analyze the effect of enzyme concentration and hydrolysis time on coconut pulp protein hydrolysate based on yield, protein content, and degree of hydrolysis. The enzyme concentration used variations of 1, 3, 5, 6, and 7% (b/v) which were hydrolyzed for 240 minutes. Determination of protein content was done by Bradford method and measurement of hydrolysis degree by SN-TCA method. The results showed the best protein hydrolysate in addition of papain enzyme at 7% concentration with a yield of 24.70%, protein content of 0.03450 mg/mL, and degree of hydrolysis of 48.04%. These results were greater than addition of 7% concentration of bromelain enzyme with a yield of 18.46%, protein content of 0.03067 mg/mL, and degree of hydrolysis of 42.30%. The variation of hydrolysis time was 150, 180, 210, 240, and 270 minutes with 7% enzyme concentration for each enzyme. The results showed that the best hydrolysis time was 270 minutes with papain enzyme which produced 23.44% yield, 0.03550 mg/mL protein content, and 65.36% hydrolysis degree. These results are greater than the hydrolysis time of 270 minutes with bromelain enzyme producing a yield of 17.06%, protein content of 0.03360 mg/mL, and degree of hydrolysis of 50.20%. This study showed that protein hydrolysate with the addition of papain enzyme showed better results than the addition of bromelain enzyme.

Key words: coconut dregs, papain enzyme, bromelain enzyme, hydrolysate protein

PENDAHULUAN

Kelapa merupakan salah satu hasil perkebunan penting bagi masyarakat Indonesia. Di Indonesia, produksi kelapa yang digunakan dalam proses pembuatan santan rata-rata sebesar 40% dari total produksi kelapa per tahun, menurut data yang dirilis oleh Badan Pusat Statistik Indonesia pada tahun 2019. Salah satu hasil samping dari produksi santan adalah ampas kelapa. Ampas kelapa masih menjadi salah satu limbah yang pemanfaatannya masih terbatas sebagai pakan ternak dan sebagian besar dibuang [1]. Pemanfaatannya yang masih terbatas disebabkan ampas kelapa rentan mengalami ketengikan jika tidak segera diolah [2]. Proses pembuatan tepung merupakan salah satu cara yang efektif untuk mengatasi hal tersebut karena dapat mengurangi kadar air hingga 3% dari kadar awal [3]. Dalam ampas kelapa hasil pengolahan santan tersusun atas 8,18-11,35% protein, 23-30% lemak, 14,97-28,00% serat kasar, 3,04-4,90% kadar abu, dan 5,02-6,20% kadar air [4,5]. Berdasarkan komposisi tersebut menunjukkan bahwa protein ampas kelapa masih tinggi, sehingga berpotensi dijadikan hidrolisat protein.

Hidrolisat protein merupakan suatu hasil dari proses penguraian protein menjadi peptida sederhana maupun asam amino melalui proses hidrolisis protein [6]. Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi pembuatan hidrolisat protein yaitu suhu, pH, lama waktu hidrolisis, dan konsentrasi enzim. Protein dapat dihidrolisis dengan berbagai macam metode yaitu metode kimiawi, enzimatik, dan fermentasi. Hidrolisis protein secara enzimatik merupakan metode hidrolisis yang paling banyak dilakukan karena tidak menyebabkan kerusakan pada asam amino dan peptida yang dihasilkan lebih bervariasi berdasarkan pemotongan spesifiknya [7]. Beberapa enzim yang digunakan untuk mendapatkan hidrolisat protein adalah enzim protease diantaranya yaitu enzim papain, bromelin, tripsin, kimotripsin, pepsin, alkalase, dan pankreatin [8]. Enzim papain dalam proses hidrolisisnya secara khusus memecah ikatan peptida pada gugus karbonil asam amino seperti lisin, arginin dan fenilalanin [9], sedangkan enzim bromelin memotong khusus pada ikatan peptida pada gugus karbonil arginin atau asam amino aromatik seperti fenilalanin dan tirosin [10].

Parameter yang dapat digunakan untuk menilai hidrolisat protein adalah derajat hidrolisis dengan nilai lebih besar dari 30% [11]. Derajat hidrolisis adalah persentase ikatan peptida yang terhidrolisis terhadap total ikatan peptida dalam

suatu pangan [12]. Semakin tinggi nilai derajat hidrolisis, maka akan semakin tinggi keefektifan enzim dalam menghidrolisis protein. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rahmawati [13], menyatakan bahwa konsentrasi enzim pada tulang dan cakar ayam berpengaruh terhadap rendemen hidrolisat protein. Pada konsentrasi optimum sebesar 4% diperoleh rendemen sebesar 32,78%. Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rozali [14], menyatakan bahwa lama waktu hidrolisis protein pada tepung beras dengan ekstrak buah nanas berpengaruh terhadap nilai derajat hidrolisis. Pada kondisi optimum 3 jam diperoleh nilai derajat hidrolisis sebesar 46,29%.

METODE PENELITIAN

Bahan

Ampas kelapa yang diperoleh dari limbah rumah masakan padang Surabaya Selatan, enzim papain merk Himedia dan enzim bromelin merk Himedia, buffer fosfat pH 6 dan 7, BSA (*Bovine Serum Albumine*), TCA 10%, serta reagen Bradford.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah oven Dlabtech LDO-030E, spektrofotometer UV-vis Shimadzu 1800, *waterbath*, *magnetic stirrer*, dan alat gelas kimia yang umum digunakan.

Prosedur Penelitian

Pembuatan Tepung Ampas Kelapa [15]

Ampas kelapa yang didapatkan dari limbah produksi santan dicuci dan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 70°C selama 2 jam. Setelah kering, ampas kelapa diblender dan diayak menggunakan ukuran 60 mesh dan disimpan dalam tempat yang kering.

Hidrolisis Protein dari Tepung Ampas Kelapa yang telah dimodifikasi [16]

Sebanyak 5 gram tepung ampas kelapa dilarutkan dalam 50 mL larutan buffer fosfat sesuai dengan kondisi optimum enzim papain pH 6 dan enzim bromelin pH 7. Larutan dipanaskan mencapai suhu stabil sesuai kondisi optimum enzim papain 40°C dan enzim bromelin 60°C, kemudian masing-masing enzim yang telah dilarutkan dalam buffer fosfat sesuai dengan variasi konsentrasi 1, 3, 5, 6, dan 7% (b/v). Setelah dihidrolisis selama 240 menit, dilakukan proses inaktivasi enzim dengan cara dipanaskan pada suhu 90°C selama 20 menit kemudian didinginkan dalam suhu kamar. Setelah dingin sampel disaring menggunakan kertas saring, filtrat yang terbentuk kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 70°C hingga terbentuk padatan.

Dilakukan pengulangan kembali proses hidrolisis dengan konsentrasi enzim terbaik pada variasi konsentrasi waktu 150, 180, 210, 240, dan 270 menit. Hasil hidrolisis yang didapatkan disebut sebagai hidrolisat protein ampas kelapa.

Parameter Pengujian

Rendemen Hidrolisat [17]

Hidrolisat protein ampas kelapa yang didapatkan dapat dihitung hasil rendemennya dengan rumus :

$$\text{Rendemen}(\%) = \frac{\text{berat hidrolisat ampas kelapa}}{\text{berat tepung ampas kelapa}} \times 100\%$$

Analisis Kadar Protein Metode Bradford [18]

Larutan standar BSA dibuat dengan melarutkan 0,01 gram BSA dalam 100 mL aquades sehingga diperoleh larutan stok konsentrasi 100 ppm. Selanjutnya, larutan stok tersebut dilakukan pengukuran standar protein dengan konsentrasi 5, 25, 50, 75, dan 100 ppm. Kemudian dilakukan pengukuran pada masing-masing sampel dengan melarutkan 0,1 gram sampel dalam 50 mL aquades. Selanjutnya larutan sampel diambil 0,6 mL dan ditambahkan dengan 3 mL reagen Bradford. Kemudian larutan divortex dan di inkubasi pada suhu ruang selama 10 menit. Absorbansi larutan dapat dibaca pada panjang gelombang 595 nm. Kadar protein dapat dihitung dengan rumus :

$$y = ax + b$$

Keterangan : y = absorbansi sampel
x = konsentrasi sampel

Analisis Derajat Hidrolisis (DH) [19]

Sebanyak 20 mg hidrolisat protein ampas kelapa masing-masing perlakuan ditambahkan 20 mL larutan asam trikloroasetat (TCA) 10% (b/v). untuk mengumpulkan bahan terlarut sebagai supernatant, campuran dibiarkan selama 30 menit diikuti dengan sentrifugasi dengan kecepatan 7800 rpm selama 15 menit. Supernatan yang diperoleh kemudian dianalisis kadar proteinnya menggunakan metode Bradford. Nilai derajat hidrolisis dapat diperoleh dengan rumus :

$$\text{Derajat Hidrolisis} (\%) = \frac{\text{kadar protein terlarut dalam TCA 10\%}}{\text{total protein dalam sampel sebelum hidrolisis}} \times 100\%$$


HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Tepung Ampas Kelapa

Ampas kelapa yang mudah mengalami ketengikan, harus segera diolah untuk mengurangi kadar air didalamnya. Proses pembuatan tepung merupakan salah satu cara yang efektif untuk mengatasi hal tersebut karena dapat mengurangi kadar air hingga 3% dari kadar awal [3]. Tepung ampas kelapa yang dihasilkan terlihat pada Tabel 1

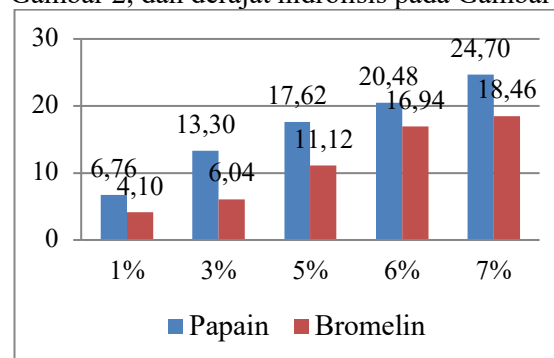
dengan kadar air sebesar 3,90% dan telah mengalami penurunan sebesar 4,60% dari kadar air awal pada ampas kelapa yaitu sebesar 8,50%. Hasil kadar air ampas kelapa yang diperoleh lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Fadhilah [4] dengan kadar air sebesar 5,05%, sedangkan hasil kadar air tepung ampas kelapa yang diperoleh lebih rendah dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Murtini [2] dengan kadar air sebesar 4,57%.

Tabel 1 Parameter Pengujian Tepung Ampas Kelapa

Tepung Ampas Kelapa	Parameter Pengujian	
	Kadar Air	Kadar Protein
	3,90%	0,0238 mg/mL

Pengaruh Variasi Konsentrasi Enzim Terhadap Hidrolisat Protein Ampas Kelapa

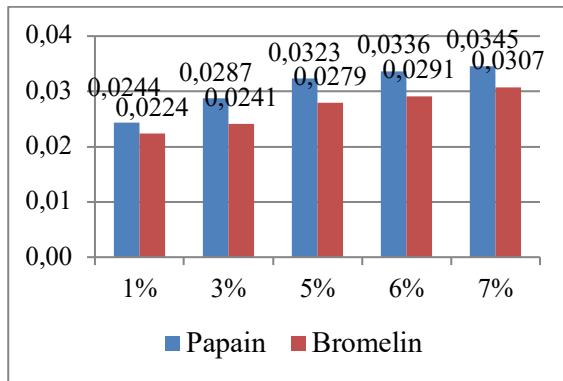
Perbedaan konsentrasi enzim yang ditambahkan dapat mempengaruhi hasil rendemen hidrolisat, kadar protein hidrolisat, dan derajat hidrolisisnya [17]. Pada penelitian ini digunakan variasi konsentrasi enzim yaitu 1, 3, 5, 6, dan 7% baik untuk enzim papain maupun enzim bromelin dengan waktu hidrolisis selama 240 menit. Berdasarkan hasil pengujian hidrolisat protein ampas kelapa dengan variasi penambahan konsentrasi enzim baik dengan enzim papain maupun enzim bromelin didapatkan hasil pengujian rendemen pada Gambar 1, kadar protein pada Gambar 2, dan derajat hidrolisis pada Gambar 3.



Gambar 1 Pengaruh Variasi Konsentrasi Enzim Terhadap Rendemen Hidrolisat Protein

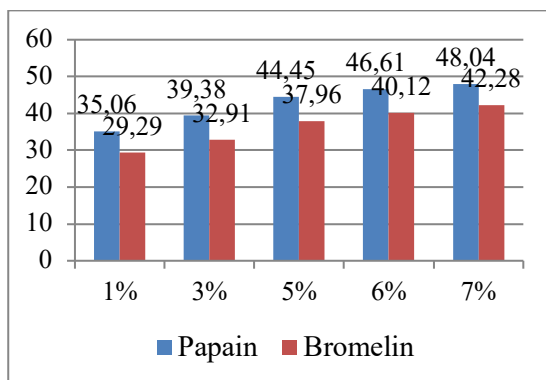
Berdasarkan Gambar 1 menunjukkan hasil rendemen terbaik pada penambahan enzim papain pada konsentrasi 7% dengan rendemen yang dihasilkan sebesar 24,70%. Hasil tersebut

menunjukkan nilai rendemen lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Wijayanti [20] pada hidrolisis ikan bandeng dengan enzim bromelin konsentrasi 6% (b/v) yang memiliki rendemen sebesar 11,41%.



Gambar 2 Pengaruh Variasi Konsentrasi Enzim Terhadap Kadar Protein Hidrolisat

Berdasarkan Gambar 2 menunjukkan kadar protein terbaik pada penambahan enzim papain pada konsentrasi 7% dengan kadar protein sebesar 0,0345 mg/mL. Hasil kadar protein lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian Nur [21] tentang hidrolisis ampas kelapa menggunakan ekstrak buah nanas yang mengandung enzim bromelin dengan konsentrasi 25% yang memiliki kadar protein sebesar 21,55 ppm atau 0,0215 mg/mL.



Gambar 3 Pengaruh Variasi Konsentrasi Enzim Terhadap Derajat Hidrolisis

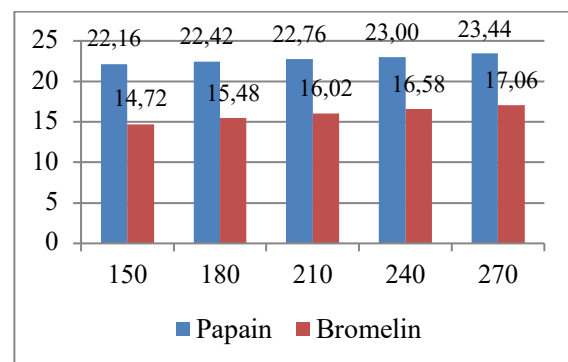
Berdasarkan Gambar 3 menunjukkan derajat hidrolisis terbaik pada penambahan enzim papain pada konsentrasi 7% dengan derajat hidrolisis sebesar 48,04%. Derajat hidrolisis yang didapatkan juga lebih tinggi jika dibandingkan dengan derajat hidrolisis pada penelitian Ratnayani [22] yang menggunakan enzim papain dengan konsentrasi 6% terhadap tepung kecambah merah yaitu 36,02%.

Berdasarkan hasil penelitian terlihat bahwa penambahan konsentrasi enzim berbanding lurus terhadap peningkatan rendemen, kadar protein, dan derajat hidrolisis. Semakin tinggi konsentrasi enzim yang ditambahkan, maka akan semakin banyak pula

substrat yang berikatan dengan sisi aktif enzim sehingga dapat meningkatkan laju reaksi dan jumlah produk reaksi [13]. Sebaliknya, jika konsentrasi enzim yang ditambahkan rendah, maka derajat hidrolisis yang dihasilkan rendah karena substrat yang tersedia lebih besar dibandingkan jumlah enzim yang digunakan sehingga laju reaksi menjadi lambat [16]. Selain penambahan konsentrasi enzim pada proses hidrolisis, jenis enzim yang digunakan juga dapat mempengaruhi rendemen hidrolisat yang dihasilkan. Hal tersebut dapat terjadi karena setiap enzim memiliki sifat memotong spesifik pada asam amino yang berbeda-beda [23].

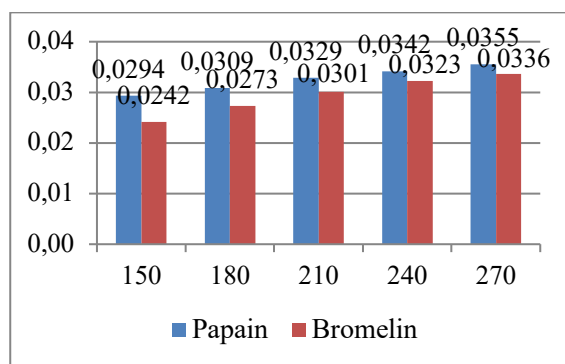
Pengaruh Variasi Waktu Hidrolisis Terhadap Hidrolisat Protein Ampas Kelapa

Perbedaan lama waktu saat proses hidrolisis dapat mempengaruhi hasil rendemen hidrolisat, kadar protein hidrolisat, dan derajat hidrolisisnya [24]. Pada penelitian ini digunakan variasi waktu hidrolisis yaitu 150, 180, 210, 240, dan 270 menit dengan konsentrasi enzim yang sama. Berdasarkan hasil pengujian hidrolisat protein ampas kelapa dengan variasi lama waktu hidrolisis baik dengan enzim papain maupun enzim bromelin didapatkan hasil pengujian rendemen pada Gambar 4, kadar protein pada Gambar 5, dan derajat hidrolisis pada Gambar 6.



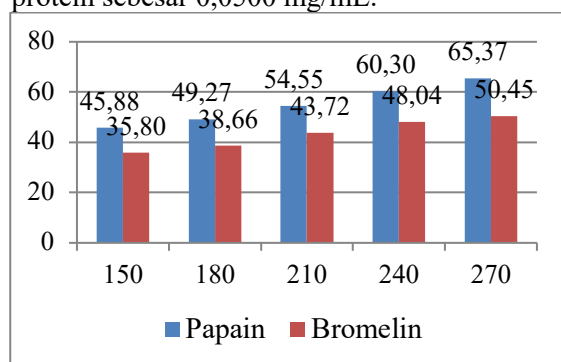
Gambar 4 Pengaruh Lama Waktu Hidrolisis Terhadap Rendemen Hidrolisat Protein

Berdasarkan Gambar 4 menunjukkan hasil rendemen terbaik pada penambahan enzim papain pada lama waktu hidrolisis 270 menit dengan rendemen yang dihasilkan sebesar 23,44%. Hasil tersebut menunjukkan nilai rendemen lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan oleh Prasetyo [23] pada hidrolisis ikan nila dengan enzim papain 5% dengan rendemen sebesar 9,80% dan pada enzim bromelin 5% dengan rendemen sebesar 12,75%.



Gambar 5 Pengaruh Variasi Lama Waktu Hidrolisis Terhadap Kadar Protein Hidrolisat

Berdasarkan Gambar 5 menunjukkan kadar protein terbaik pada penambahan enzim papain pada lama waktu hidrolisis dengan kadar protein sebesar 0,0355 mg/mL. Hasil kadar protein lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian Hartoyo [25] tentang hidrolisis cakar ayam menggunakan enzim papain yang memiliki kadar protein sebesar 0,0500 mg/mL.



Gambar 6 Pengaruh Variasi Lama Waktu Hidrolisis Terhadap Derajat Hidrolisis

Berdasarkan Gambar 6 menunjukkan derajat hidrolisis terbaik pada penambahan enzim papain pada konsentrasi 7% dengan derajat hidrolisis sebesar 65,37%. Derajat hidrolisis yang didapatkan juga lebih rendah jika dibandingkan dengan derajat hidrolisis pada penelitian Prasetyo [23], yang menggunakan enzim papain dengan konsentrasi 5% terhadap ikan nila yaitu 87%.

Berdasarkan hasil penelitian diatas terlihat bahwa lama waktu hidrolisis berbanding lurus dengan peningkatan rendemen, kadar protein, dan derajat hidrolisis. Proses hidrolisis bergantung pada lama waktu hidrolisis, dimana prosesnya bekerja hingga waktu reaksi tertentu [26]. Enzim dalam proses hidrolisis bekerja untuk memecah ikatan peptida dan seiring berjalannya waktu, ikatan peptida yang terhidrolisis menjadi asam amino akan terus meningkat sehingga menghasilkan nilai rendemen, kadar protein, dan derajat hidrolisis yang tinggi. laju hidrolisis akan mencapai keadaan stasioner, enzim akan berhenti memecah ikatan peptida yang ada [27]. Keadaan stasioner pada

enzim dicapai ketika seluruh sisi aktif enzim sudah mengikat semua substrat pada proses hidrolisis sehingga laju pembentukan produk seimbang dengan laju pemotongan substrat. Hal tersebut menyebabkan laju reaksi melambat bahkan menurun seiring berjalannya waktu.

KESIMPULAN

Parameter pada hidrolisat protein dipengaruhi oleh penambahan konsentrasi enzim dan lama waktu hidrolisis. Jenis enzim yang digunakan pada proses hidrolisis juga dapat mempengaruhi hidrolisat protein yang dihasilkan. Hal tersebut disebabkan karena setiap enzim tentunya memiliki pemotongan spesifik masing-masing sehingga dapat menghasilkan hidrolisat protein yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Putri, M., 2014, Kandungan Gizi dan Sifat Fisik Tepung Ampas Kelapa Sebagai Bahan pangan Sumber Serat. *J. Teknobuga*, 1, 39-52.
- Sabilla, N., Murtini, E., 2020, Pemanfaatan Tepung Ampas Kelapa dalam Pembuatan *Flakes Cereal*. *J. Teknologi Pertanian*. 21.155-164.
- Santosa, H., Yuliati, 2021, Alat Hammer Mill-Strainer Combined Pada Pengolahan Ampas Kelapa Sisa Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni (*Virgin Coconut Oil*). *J. Ritektra*, 1-8.
- Fadhilah, I., Octaviani, V., Kurniasih, N., 2020, Nilai Nutrisi (Analisis Proksimat) Ampas Kelapa Terfermentasi sebagai Pakan Kelinci, *J. Gunung Djati Conference Science*. 7, 83-88.
- Miskiyah, I. 2006. Pemanfaatan Ampas Kelapa Limbah Pengolahan Minyak Kelapa Murni menjadi Pakan. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner*.
- Kristinsson, H., 2007, *Aquatic Food Protein Hydrolysates*, CRC Press, Boca Raton.
- Wahyudianti, D., 2017. *Biokimia*. LEPPIM Mataram, Mataram.
- Chatterjee, C., 2018, Soybean Bioactive Peptides and Their Functional Properties : A Review. *J. Nutrients*. 1211-1227.
- Amri, E., Mamboya, F., 2012, Papain: A Plant Enzyme of Biological Importance. *J. Biochem Biotechnol*. 99-104.
- Gautam, S., 2010, Comparative Study of Extraction, Purification, and Estimation of Bromelain From Stem and Fruit of Pineapple Plant, *J. Thai*. 67-76.
- Himonides, A., 2011, A Study of The Enzymatic Hydrolysis of Fish Frames using Model Systems, *J. Food Nutrition Science*. 575-585.

12. Awwaly, A., 2017, *Protein Pangan Hasil Ternak dan Aplikasinya*. UB Press, Malang.
13. Rahmawati, R., 2020. Pengaruh Konsentrasi Enzim Papain terhadap Mutu Gelatin Bubuk dari Tulang dan Cakar Ayam. *J. Konversi*. 9. 39-52.
14. Rozali, Z., Zaidiyah, Lubis, Y., 2023. Hidrolisis Protein Beras oleh Ekstrak Kasar Enzim Bromelin. *J. Bioluser*. 7. 11-14.
15. Yosefa, T., 2018, Pemanfaatan Tepung Ampas Kelapa dalam Pembuatan Kerupuk Sagu. *J.SAGU*.17.1-8.
16. Restiani, R., 2016. Hidrolisis Secara Enzimatis Protein Bungkil Biji Nyamplung (*Calophyllum inophyllum*) menggunakan Bromelain. *J. Biota*. 1. 103-110.
17. Harahap, M., 2022. Pengaruh Konsentrasi Enzim Bromelin terhadap Derajat Hidrolisis Hidrolisat Protein Belut. *J. Online Mahasiswa Universitas Riau*. 1-8.
18. Bradford, M., 1976. A Rapid and Sensitive Method for The Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing The Principle of Protein-Dye Binding. *J. Analytical Biochemistry*. 2333-2334.
19. Witono, Y., 2020. Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein Ikan Wader (*Rasbora jacobsoni*) dari Hidrolisis oleh Enzim Calotropis dan Papain. *J. Agroteknologi*. 14. 44-57.
20. Wijayanti, I., 2016. Karakteristik Hidrolisat Protein ikan Bandeng (*Chanos Chanos Forsk*) dengan Konsentrasi Enzim Bromelin yang Berbeda. *J. Sainstek Perikanan*. 11. 129-133.
21. Nur, S., Surati, Relahat, R., 2017. Aktivitas Enzim Bromelin terhadap Peningkatan Protein Tepung Ampas Kelapa. *J. Biology Science & Eduxation*. 6. 84-98.
22. Ratnayani, O., Rahayu, M., & Ratnayani, K., 2023. Hidrolisis Protein Kecambah Kacang Merah Menggunakan Enzim Papain dengan Variasi Rasio Enzim-Substrat. *J. Cakra Kimia*. 11. 1-7.
23. Prasetyo, D. Y., Sarmin, 2020. Pengaruh Perbedaan Enzim Proteolitik dan Lama Waktu Hidrolisa terhadap Kualitas Hidrolisat Protein Ikan dari Limbah Industri Fillet Ikan Nila. *J. Ilmu Kelautan Kepulauan*. 3. 202-210.
24. Susanty, A., 2021. Pengaruh Waktu Hidrolisis terhadap Karakteristik Hidrolisat Protein Ikan Toman Asal Das Kalimantan Timur. *J. Riset Teknologi Industri*. 15. 463-475.
25. Hartoyo, B., Widiyastuti, T., Rahayu, S., & Santoso, R. S., 2022. Study of Protein Hydrolysis and Peptide Antioxidants Activity of Chicken Slaughterhouse Waste and its Potential for Feed Additives. *J. Animal Production*. 24. 97-103.
26. Zarei, M., 2014. Identification & Characterization of Papain-Generated Antioxidant Peptides From Palm Kernel Cake Protein. *J. Of Food Reasearch International*. 62. 726-734.
27. Deeth, H., bansal, N., 2018. *Whey Proteins: From Milk to Medicine*. Academic press, Australia.