

ABSTRAK

Efek negatif dari radikal bebas dan adanya bahaya dari antioksidan sintetis memunculkan pengembangan antioksidan alami yaitu salah satunya dari peptida bioaktif. Peptida bioaktif salah satunya dapat diperoleh dari hidrolisis enzimatis protein kacang-kacangan, contohnya kacang hijau (*Vigna radiata L.*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan protein hidrolisat kacang hijau yang dihidrolisis menggunakan hasil fraksinasi enzim protease *B. subtilis* B298. Tahap penelitian adalah isolasi protein kacang hijau dan produksi ekstrak enzim protease dari bakteri *B.subtilis* B298. Ekstrak kasar enzim protease kemudian difraksinasi menggunakan garam amonium sulfat dengan tingkat kejemuhan bertingkat yaitu 0-15%, 15-30%, 30-45% dan 45-60% serta dilanjutkan dengan karakterisasi suhu dan pH terhadap fraksi enzim yang memiliki aktivitas spesifik tertinggi. Enzim hasil fraksinasi digunakan untuk menghidrolisis protein kacang hijau dengan variasi waktu 10, 20, 30, 40, 50, dan 60 menit. Protein hidrolisat diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH dan dilakukan uji hemolisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa aktivitas spesifik tertinggi terdapat pada fraksi 45% yaitu sebesar 1,256 U/mg dengan suhu optimum 40 °C dan pH optimum 7. Nilai derajat hidrolisis tertinggi diperoleh pada waktu inkubasi 60 menit dengan nilai sebesar 74%. Persentase inhibisi tertinggi terhadap radikal DPPH terjadi pada waktu inkubasi 10 menit. Nilai AAI yang diperoleh pada hidrolisat protein kacang hijau sebesar 0,156 yang menunjukkan aktivitas antioksidan lemah. Uji hemolisis menunjukkan bahwa protein hidrolisat kacang hijau menyebabkan sedikit lisis terhadap sel darah merah ayam dengan persentase sebesar 2,5%.

Kata kunci: antioksidan, *B.subtilis* B298, enzim protease, kacang hijau, protein hidrolisat

ABSTRACT

*The negative effects of free radicals and the dangers of synthetic antioxidants have led to the development of natural antioxidants, one of which is bioactive peptides. One of the bioactive peptides can be obtained from the enzymatic hydrolysis of legumes protein, such as mung beans (*Vigna radiata L.*). This study aims to determine the antioxidant activity of mung bean protein hydrolysate, which was hydrolyzed using the fractionation results of the *B. subtilis* B298 protease enzyme. The research stage was isolating mung bean protein and producing protease enzyme extract from the bacteria *B. subtilis* B298. The crude extract of the protease enzyme was then fractionated using ammonium sulfate salt with graduated levels of saturation, namely 0-15%, 15-30%, 30-45% and 45-60% and continued with temperature and pH characterization of the enzyme fraction that had the highest specific activity. Fractionated enzymes were used to mung bean protein hydrolysate at 10, 20, 30, 40, 50 and 60 minutes. The protein hydrolysate was tested for antioxidant activity using the DPPH method, and a hemolysis test was performed. The research results showed that the highest specific activity was found in the 45% fraction, namely 1.256 U/mg, with an optimum temperature of 40 °C and an optimum pH of 7. The highest degree of hydrolysis was obtained at an incubation time of 60 minutes with a value of 74%. The highest percentage of inhibition against DPPH radicals occurred at an incubation time of 10 minutes. The AAI value obtained from the mung bean protein hydrolysate was 0.156, which indicates weak antioxidant activity. The hemolysis test showed that mung bean protein hydrolysate caused lysis of chicken red blood cells with a percentage of 2.5%.*

Keywords: antioxidant, *B. subtilis*, mung bean, protease enzyme, protein hydrolysate