

ABSTRAK

Radikal bebas dapat memicu terjadinya penyakit degeneratif dan dapat dicegah dengan menggunakan senyawa yang mengandung antioksidan dan antiinflamasi. Senyawa sintesis dapat menimbulkan efek samping bagi tubuh, sehingga perlu alternatif alami seperti peptida bioaktif dari proses hidrolisis protein, salah satunya protein ikan patin (*Pangasius sp.*). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan antiinflamasi dari hidrolisat protein ikan patin yang dihidrolisis secara enzimatis menggunakan enzim protease dari bakteri *Bacillus subtilis* B209. Tahapan penelitian ini meliputi isolasi ikan patin, produksi enzim protease, karakterisasi suhu dan pH terhadap aktivitas enzim, hidrolisis protein dengan variasi waktu (0-60 menit), uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, pengujian antiinflamasi secara *in vitro* dengan penambahan BSA, dan uji hemolisis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enzim protease dari *Bacillus subtilis* B209 memiliki suhu dan pH optimum pada 45 °C dan pH 7 dengan aktivitas 0,050 U/mL. Derajat hidrolisis tertinggi diperoleh pada waktu 60 menit dengan nilai sebesar 36,82%. Persentase penghambatan radikal bebas DPPH tertinggi terjadi pada waktu hidrolisis 50 menit dengan nilai sebesar 43,47%. Nilai AAI dari hidrolisat protein ikan patin sebesar 0,0146 sehingga masuk kategori antioksidan lemah. Hidrolisat protein ikan patin menunjukkan aktivitas antiinflamasinya pada konsentrasi 0,1 mg/mL dengan persentase penghambatan sebesar 36,93%. Uji hemolisis menunjukkan bahwa hidrolisat protein ikan patin menyebabkan sedikit lisis pada sel darah sapi dengan persentase sebesar 2,17%.

Kata kunci: antioksidan, antiinflamasi, *Bacillus subtilis* B209, enzim protease, hidrolisat protein.

ABSTRACT

Free radicals can trigger degenerative diseases, which can be prevented using compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties. Synthetic compounds may cause side effects, it is necessary to develop natural alternatives, such as bioactive peptides derived from protein hydrolysis, including *Pangasius* sp. fish protein. This study aims to evaluate the antioxidant and anti-inflammatory activities of *Pangasius* sp. fish protein hydrolysate, enzymatically hydrolyzed using protease enzymes from *Bacillus subtilis* B209. The research stages included fish isolation, protease enzyme production, characterization of the enzyme's optimal temperature and pH, protein hydrolysis at various time intervals (0, 10, 20, 30, 40, 50, and 60 minutes), antioxidant activity assessment using the DPPH method, in vitro anti-inflammatory testing with BSA, and hemolysis testing. The results showed that the protease enzyme from *Bacillus subtilis* B209 had an optimal temperature of 45 °C and a pH of 7, with an activity of 0.050 U/mL. The highest degree of hydrolysis was obtained at 60 minutes, reaching 36.82%. The highest DPPH free radical inhibition occurred at 50 minutes, with a value of 43.47%. The antioxidant activity index (AAI) of *Pangasius* sp. fish protein hydrolysate was 0.0146, categorizing it as a weak antioxidant. The hydrolysate exhibited anti-inflammatory activity at a concentration of 0.1 mg/mL, with an inhibition percentage of 36.93%. Hemolysis testing showed that the hydrolysate caused slight lysis in bovine blood cells, with a percentage of 2.17%.

Keywords: antioxidant, anti-inflammatory, *Bacillus subtilis* B209, protease enzyme, protein hydrolysate.