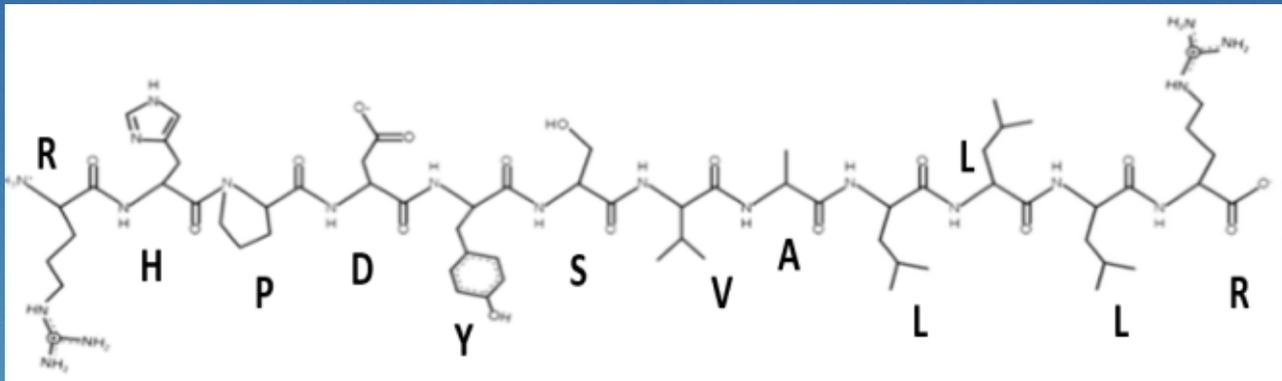
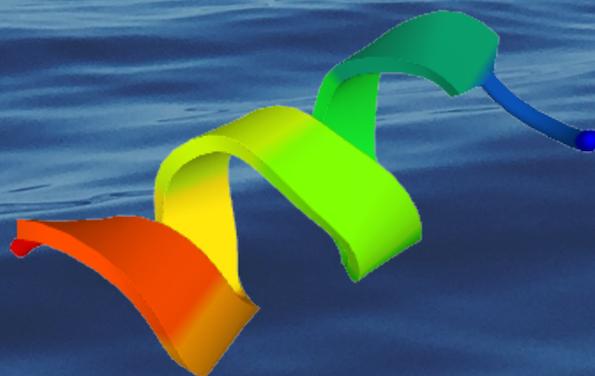
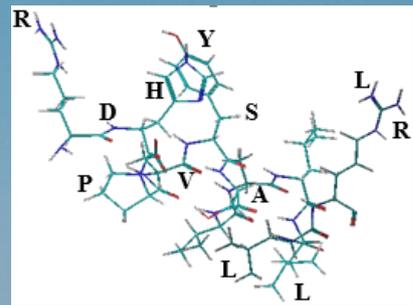


BUKU AJAR



PEPTIDA DARI BIOTA LAUT

*(BERBASIS KURIKULUM
MERDEKA BELAJAR
KAMPUS MERDEKA)*



Dr. Lily Viruly, S.TP, M.Si.

BUKU AJAR

PEPTIDA DARI BIOTA LAUT

***(BERBASIS KURIKULUM MERDEKA
BELAJAR KAMPUS MERDEKA)***

Dr. Lily Viruly, S.TP., M.Si

© Lily Viruly

Editor: Dr.Muzahar, S.Pi, M.Si

Desain Cover: Fathimah Qothrun Nadaa

v, 69 hlm, 14,8 cm x 21 cm

Cetakan 1, Nopember 2021

Hak Penerbitan pada UMRAH Press, Tanjungpinang



Kantor:

Kampus Universitas Maritim Raja Ali Haji, Gedung Rektorat Lantai III

Jl. Dompok, Tanjungpinang - Kepulauan Riau 29111

Telp/Fax : (0771) 7001550 – (0771) 7038999, 4500091

E-mail : umrahpress@gmail.com / umrahpress@umrah.ac.id

Hak cipta dilindungi Undang-Undang.

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku ini tanpa ijin tertulis dari Penerbit

ISBN 978-623-5818-13-9

KATA PENGANTAR PENULIS

Alhamdulillah segala puji hanya kepada Allah SWT yang telah memberikan nikmat kesempatan menuntut ilmu, mengkaruniaai akal dan berbagai kemudahan kepada Penulis untuk menyusun buku ajar ini.

Peptida merupakan senyawa yang tersusun dari dua atau lebih asam amino yang dapat berfungsi sebagai komponen bioaktif dalam bidang pangan, kesehatan/pengobatan dan kosmetik. Penelitian peptide dari biota laut saat ini sangat berkembang, mengingat kondisi kehidupan yang banyak terpapar bahan kimia dan pencemaran lingkungan, Hal inilah yang mendorong penulis untuk memberikan informasi yang bermanfaat bagi pembaca terutama mahasiswa dalam pemanfaatan peptide dari biota laut untuk penelitian di masa yang akan datang. Tulisan ini dipaparkan dalam bentuk **BUKU AJAR PEPTIDA DARI BIOTA LAUT BERBASIS KURIKULUM MBKM (MERDEKA BELAJAR KAMPUS MERDEKA)** sehingga bisa dijadikan pegangan bagi mahasiswa dan para peneliti untuk mengembangkan peptide dari biota laut dan dapat mengaplikasikannya dalam bentuk produk berbasis peptide dari biota laut sehingga bisa dikomersialisasikan bersama koperasi kampus, UMKM maupun industri.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Rektor, Dekan FIKP, Kajur THP dan LP3M Universitas Maritim Raja Ali Haji. Rasa syukur dan ucapan terima kasih tiada terkira kepada kedua orangtua penulis yang telah memotivasi dan memberikan pendidikan terbaik bagi penulis: ayahnda A.V. Munzier, B.Sc dan ibunda Hj. Maznah Ishak. Terima kasih juga untuk suami tercintaku Dr. Muzahar, S.Pi., M.Si dan ketiga buah hatiku yang selalu memotivasi dan membahagiakan penulis (Faqih Muhammad Arif, Fathimah Qothrun Nadaa dan Falah Muhammad Taqiyuddin).

Kritik dan saran yang baik dari pembaca sangat diharapkan untuk menyempurnakan tulisan ini. Semoga buku ajar ini bermanfaat bagi pembaca dan menjadi amal jariyah bagi penulis. Aamiin.

Tanjungpinang, 17 Nopember 2021

Dr. Lily Viruly binti A.V. Munzier

DAFTAR ISI

No	<i>Teks</i>	Halaman
1	Peptida dan bioaktif peptida	1
	Tujuan Instruksional	1
	A. Peptida dan protein	1
	B. Bioaktif peptida	3
	C. Komponen bioaktif	4
	D. Uji Kompetensi	5
2	Klasifikasi dan penamaan peptida	6
	Tujuan instruksional	6
	A. Klasifikasi peptida	6
	B. Penamaan peptida	7
	C. Uji Kompetensi	9
3	Sumber peptida dari biota laut	10
	Tujuan instruksional	10
	A. Sumber peptida dari hewan vertebrata air (ikan)	10
	B. Sumber peptida dari hewan avertebrata air	11
	C. Uji Kompetensi	11
4	Peptida Istimewa dari Biota Laut	12
	Tujuan instruksional	12
	A. Peptida istimewa dari hewan kerang/bivalva	12
	B. Peptida dari gastropoda	14
	C. Uji Kompetensi	15
5	Sifat Fungsional Peptida	16
	Tujuan instruksional	16
	A. Sifat fungsional peptida antimikroba	16
	B. Sifat fungsional peptida antioksidan	18
	C. Sifat fungsional Peptida kolagen	19
	D. Uji Kompetensi	20
6	Metode Esktraksi Peptida dari Biota Laut	21

	Tujuan instruksional	21
	A. Metode ekstraksi kimia untuk produksi peptide dari biota laut	21
	B. Metode ekstraksi fisika untuk produksi peptida dari biota laut	22
	C. Uji Kompetensi	23
7	Teknik Filtrasi Peptida untuk Produksi Peptida dari Biota Laut	24
	A. Metode filtrasi peptida	24
	B. Membran MWCO (<i>molecular weight cut off</i>)	24
	C. Kromatografi filtrasi gel (<i>Sephadex G-25</i>)	25
	D. Uji Kompetensi	25
8	Metode Fraksinasi Peptida dengan SDS PAGE	26
	A. Metode fraksinasi peptida	26
	B. Teknik fraksinasi peptida dengan SDS-PAGE	26
	C. Uji Kompetensi	30
9	Metode Sekuensing Peptida dari Biota Laut	31
	Tujuan instruksional	31
	A. Metode sekuensing peptida	31
	B. Alat LC-MS/MS untuk sekuensing peptida	32
	C. Cara membaca hasil sekuensing peptida	34
	D. Uji Kompetensi	34
10	Bioinformatika Peptida dari Biota Laut	35
	A. Bioinformatika peptide dari biota laut	35
	B. Aplikasi bioinformatika peptida dari biota laut	36
	C. Bioinformatika untuk prediksi struktur peptida	38
	D. Uji Kompetensi	40
11	Pohon Filogenetik Peptida dari Biota Laut	41
	Tujuan instruksional	41
	A. Pohon filogenetik peptida dan cara membuatnya	41
	B. Cara membaca pohon filogenetik	43
	C. Uji Kompetensi	44
12	Aplikasi peptida dari biota laut pada bidang pangan (pembuatan <i>seasoning</i>) <i>Berbasis Kurikulum Merdeka Belajar Kampus Merdeka</i>	45
	Tujuan instruksional	45

A.	Aplikasi peptida dari biota laut sebagai produk berbasis peptida (<i>seasoning</i>)	45
B.	Pembuatan <i>seasoning</i> (peptida sebagai penyedap rasa)	46
C.	Uji Kompetensi	48
13	Aplikasi peptida dari biota laut pada <i>pharmaceutical</i> (pembuatan antibiotik alami/peptida antimikroba) <i>Berbasis Kurikulum Merdeka Belajar Kampus Merdeka</i>	49
	Tujuan Instruksional	49
A.	Aplikasi peptida dari biota laut moluska (gastropoda) sebagai antibiotik alami (AMPs)	49
B.	Pembuatan antibiotik alami (peptida antimikroba)	51
C.	Uji Kompetensi	52
14	Aplikasi peptida dari biota laut pada kosmetika (pembuatan peptida kolagen) <i>Berbasis Kurikulum Merdeka Belajar Kampus Merdeka</i>	53
	Tujuan Intruksional	53
A.	Aplikasi peptida dari biota laut sebagai peptida kolagen	53
B.	Proses pembuatan peptida kolagen	55
C.	Uji Kompetensi	56
	Daftar Pustaka	57
	Glosarium	62
	Index	67

DAFTAR TABEL

No	Teks	Halaman
1	Komposisi gel pemisah dan gel penahan untuk SDS-PAGE	28
2	Hasil BLASTp di NCBI terhadap sekuen peptida gonggong Bintang dengan spesies <i>Strombus canarium</i>	37

DAFTAR GAMBAR

No	Teks	Halaman
1	Contoh peptida (dipeptida) dengan ikatan peptide	2
2	Contoh penamaan peptida	8
3	Alat ekstraksi fisika (<i>extractor vibration</i>)	22
4	Alat ekstraksi fisika ultrasonik (20 Hz, 50 watt)	22
5	Membran MWCO untuk memfraksinasi peptida	24
6	Fraksinasi peptide menggunakan kromatografi filtrasi gel	25
7	Proses perjalanan protein dalam metode SDS PAGE	29
8	Prinsip sekuensing peptide berdasarkan metode degradasi Edman menggunakan pereaksi 2,4 dinitroflorobenzena (fenil isosianat)	32
9	<i>Liquid chromatography mass spectrometry-mass spectrometry (LC- MS/MS)</i>	33
10	Pencarian sekuen peptida dari hasil analisis menggunakan <i>Software Mascot Matrix Science</i>	36
11	Pemilihan sekuens yang tepat dari suatu peptida	37
12	Pencarian sekuen homolog pada data di BLASTp di NCBI	38
13	Prediksi struktur sekunder α -helix peptide antimikroba	39
14	Hasil <i>translate</i> sekuensing DNA pada siput laut Gonggong Bintang	42
15	Hasil <i>Alignment</i> asam amino residu H2A pada siput Gonggong Bintang (Isolat 3,7 dan 8) dengan <i>antimicrobial peptide derived</i> H2A dari spesies lain	42
16	Pohon filogenetik peptide antimikroba (AMPs) histon <i>derived</i> H2A pada siput Gonggong Bintang (Isolat 3,7 dan 8) dengan AMPs histon <i>derived</i> H2A dari spesies yang lain	43
17	Diagram alir pembuatan <i>seasoning</i> dari biota laut	47
18	Diagram alir pembuatan antibiotik alami dari biota laut	51
19	Proses perubahan protein kolagen menjadi peptida kolagen	54
20	Diagram alir pembuatan peptide kolagen dari biota laut	55

BAB 1

PEPTIDA DAN BIOAKTIF PEPTIDA

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami definisi peptida
- 2) Mahasiswa dapat memahami perbedaan antara peptida dan protein
- 3) Mahasiswa dapat memahami bioaktif peptida
- 4) Mahasiswa dapat memahami perbedaan bioaktif peptida dengan komponen bioaktif

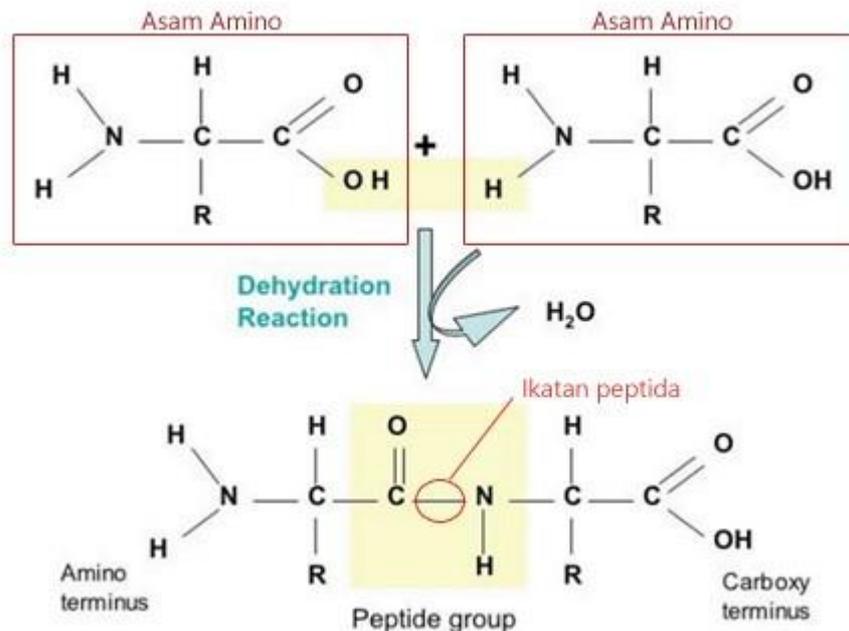
A. PEPTIDA DAN PROTEIN

Peptida adalah molekul yang dihasilkan dari penyatuan dua atau lebih asam amino (AA) melalui ikatan amida. Ikatan amida pada peptida dan protein disebut ikatan peptida dan merupakan hasil reaksi dari gugus karboksil dari satu asam amino dengan gugus amino yang lainnya, dengan menghilangkan satu molekul air. Secara umum suatu molekul dapat dinamakan sebagai peptida jika memiliki asam amino tidak lebih dari 50 atau 100 asam amino. Rantai polipeptida dianggap sebagai peptida dan bukan protein jika memiliki berat molekulnya kurang dari 5.000 dalton.

Istilah “peptida” dan “protein” harus dibedakan. Perbedaannya adalah bahwa tidak semua peptida membentuk protein, tetapi semua protein terdiri dari peptida. Protein adalah peptida besar (polipeptida) yang mengandung 50 atau lebih asam amino atau molekul yang terdiri dari beberapa sub unit peptida. Protein biasanya menampilkan struktur yang lebih kompleks daripada peptida yang lebih sederhana. Adanya ikatan kovalen merupakan karakteristik dari ikatan peptida dan sangat penting untuk sintesis peptida normal. Ikatan peptida menghubungkan asam amino dalam urutan tertentu yang dapat menciptakan polimer protein dan mengarahkan pembentukan struktur unik, tiga-dimensi (struktur 3D). Tanpa ikatan peptida, reaksi penting yang melibatkan asam amino menjadi terhambat atau tidak akan membentuk protein atau peptida.

Di bidang kimia molekul maka peptida menghubungkan dua atau lebih asam amino. Bentuk-bentuk ikatan peptida terjadi antara molekul asam karboksilat yang bereaksi dengan gugus amina dalam molekul asam amino yang berikutnya. Molekul yang dihasilkan adalah dipeptida yaitu dua asam amino dihubungkan oleh ikatan peptida. Ikatan peptida bersifat unik untuk gugus amino yang menghubungkan asam amino tersebut.

Setiap asam amino yang menyusun peptida atau protein merupakan monomer yang membentuk rantai polimer peptida dengan asam amino lainnya ketika gugus karboksil (-COOH) dari satu asam amino bereaksi dengan gugus amino (-NH₂) dari asam amino lain, membentuk ikatan kovalen (ikatan peptide) antara asam amino residu dan melepaskan molekul air (Gambar 1).



Gambar 1 Contoh peptida (dipeptida) dengan ikatan peptida
 Sumber: <http://wonderfullygift.blogspot.com>

Peptida merupakan molekul yang sangat penting secara biologis dan medis. Peptida bisa terbentuk secara alami di dalam tubuh organisme, atau dibuat secara sintesis di laboratorium. Peptida alami pada organisme merupakan komponen struktural sel dan jaringan mencakup hormon, racun, antibiotik, dan enzim. Contoh peptida diantaranya adalah hormon oksitosin, glutathione

(merangsang pertumbuhan jaringan), melittin (racun lebah madu), hormon insulin pankreas, dan glukagon (faktor hiperglikemik).

Ciri peptida berbeda dengan protein yaitu bahwa peptide memiliki asam amino lebih pendek, memiliki bobot molekul lebih rendah. Hal ini memungkinkan peptida lebih mudah larut dalam air panas atau dingin, lebih mudah dicerna, serta cepat dan efektif diserap ke dalam aliran darah. Peptida dikenal sebagai bahan yang selektif dan efektif sekaligus relatif lebih aman dan dapat ditoleransi oleh tubuh karena berasal dari potongan protein sehingga tidak dianggap sebagai benda asing sebagaimana obat kimia, dengan demikian dapat dikembangkan dibidang medis/farmasi.

Sintesis secara kimiawi merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk memproduksi peptida dalam skala laboratorium. Secara umum ada dua metode yang digunakan yaitu sintesis fase cair dan sintesis fase padat. Sintesis fase padat mampu menghasilkan peptida dengan residu 1-10 asam amino. Peptida yang telah diketahui sekuen dan residunya dari hasil hidrolisis enzimatis selanjutnya dilakukan sintesis secara kimiawi untuk menghasilkan peptida dengan sekuen yang sama. Selain secara kimiawi, peptida juga bisa dihasilkan dari teknologi DNA rekombinan. Akan tetapi, metode ini belum mampu menghasilkan peptida dengan sekuen kurang dari 10 asam amino. Pengembangan metode sintesis terus dilakukan untuk menghasilkan peptida dengan aktivitas yang sama dari proses hidrolisis secara enzimatis maupun fermentasi mikroba (Korhonen & Pihlanto, 2003).

B. BIOAKTIF PEPTIDA

Peptida bioaktif merupakan potongan-potongan protein spesifik yang memiliki efek positif terhadap tubuh dan dapat mempengaruhi kesehatan. Protein dalam bentuk utuh memiliki bioaktivitas yang rendah sedangkan protein yang telah dihidrolisis dengan enzim akan meningkat bioaktivitasnya karena protein telah lepas dari ikatan panjang fragmennya. Peptida bioaktif memiliki potensi sebagai senyawa antihipertensi, antioksidan, antagonis opioid, antibakteri, antitrombotik, dan imunomodulator (Murray & Fitzgerald, 2007).

Peptida bioaktif dapat dihasilkan dari beberapa cara yaitu hidrolisis enzimatis dengan enzim pencernaan, fermentasi dengan memanfaatkan aktivitas mikroba, dan sintesis kimia (Bhat *et al.*, 2015). Hidrolisis enzimatis protein dengan enzim proteolitik yang sesuai mampu menghasilkan peptida dengan aktivitas yang diharapkan. Kondisi fisiko-kimia dari substrat seperti suhu dan pH larutan harus sesuai dengan kondisi optimal kerja enzim. Beberapa enzim yang biasa digunakan untuk hidrolisis diantaranya enzim papain, tripsin, α -kimotripsin, pepsin, bromelain, alkalase, dan netrase. Faktor terpenting dalam produksi peptida bioaktif adalah berat molekul dari peptida tersebut. Metode yang biasa digunakan untuk menghasilkan peptida dengan berat molekul tertentu adalah sistem membran ultrafiltrasi. Sistem hidrolisis bertingkat dengan memanfaatkan beberapa enzim sekaligus mampu menghasilkan peptida dengan ukuran yang lebih kecil. Kombinasi dari sistem membran reaktor mult-tahap hidrolisis dan sistem membran ultrafiltrasi mampu menghasilkan peptida dengan aktivitas yang lebih optimal (Kim & Wijesekara, 2010).

Bioaktif peptida yang dihasilkan dari protein pangan dapat menurunkan tekanan darah, menjaga keseimbangan berat badan, menghambat aktivitas endopeptidase spesifik prolin, meningkatkan sistem imun, menghambat agregasi platelet darah, menghambat proteinase HIV dan proses oksidasi, memiliki aktivitas antibakteri dan antikapang, mengikat ion dan membantu tanspor mineral dan memperbaiki nilai gizi pangan (Li & Yu, 2014; Chakrabarti *et al.* 2014).

C. KOMPONEN BIOAKTIF

Komponen bioaktif adalah senyawa aktif dalam pangan fungsional yang bertanggung jawab atas berlangsungnya reaksi-reaksi metabolisme yang menguntungkan kesehatan (Subroto, 2008). Di Jepang sejak tahun 1991 *The Japanese of Health and Welfare* telah mengidentifikasi ingredien yang memperbaiki kesehatan yaitu: serat pangan, oligosakarida, gula alkohol, asam-asam amino, peptida dan protein, glikosida, alkohol, isoprenoid dan vitamin, kolin, bakteri asam laktat (BAL), mineral, *polyunsaturated fatty acids* (PUFA), fitokemikal dan antioksidan (Goldberg, 1994).

Menurut Subroto (2008) komponen bioaktif yang ada pada pangan fungsional diantaranya : karotenoid (beta-karoten, lutein dan likopen), serat pangan (serat tak larut, beta-glukan, serat terlarut), asam lemak Mono unsaturated fatty acids (MUFA), Poly unsaturated fatty acids PUFA], flavonoid (antosianin, flavanol, flavanon, flavonol, proantosianidin), isothiosianat (sulforafan), mineral (Ca, Mg, K, Se), asam fenolat (as.kafeat, as.ferulat), stanol/sterol tanaman (stanol/sterol bebas, stanol/sterol ester), polyol (gula alkohol ; xylitol, sorbitol, manitol, laktitol), dan vitamin (A, B1, B2, B3, B5, B6, B9, B12, Biotin, C, D dan E). Antioksidan yang ada pada buah dan sayuran antara lain vitamin C, vitamin E, karotenoid, glukosinolat dan polifenol (Blasa *et al.* 2010). Contoh aplikasi komponen bioaktif menurut Subroto (2008) ada salah satu jenis mineral yang bersifat antioksidan yaitu selenium (Se) yang terdapat pada bahan pangan seperti ikan, daging merah, biji-bijian, bawang putih, hati dan telur yang dapat berfungsi untuk menetralkan radikal bebas yang dapat merusak sel, dan meningkatkan kekebalan tubuh.

Komponen bioaktif dari tumbuhan dan hewan pada umumnya ditemukan dalam bentuk metabolit sekunder yang penting peranannya bagi kelangsungan hidup suatu spesies tanaman/hewan dalam perjuangan menghadapi adaptasi lingkungan habitatnya dan perlindungannya terhadap spesies-spesies lain. Sebagai contoh bahwa ada satu tanaman biasanya menghasilkan lebih dari satu jenis metabolit sekunder (phytoalexins, asam organik, minyak atsiri dan lain-lain) sehingga memungkinkan dalam satu tanaman memiliki lebih dari satu efek farmakologi (Lattimer dan Haub 2010). Dengan demikian bioaktif peptida merupakan salah satu contoh komponen bioaktif yang secara alami banyak terdapat di alam dari makhluk hidup yang kaya protein.

D. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskan perbedaan antara peptida dan protein ?
- 2) Jelaskanlah perbedaan antara bioaktif peptida dan komponen bioaktif ?
- 3) Berikanlah contoh peptide alami pada hewan ? dan apa ciri khas peptida ?

BAB 2

KLASIFIKASI DAN PENAMAAN PEPTIDA

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami klasifikasi peptida
- 2) Mahasiswa dapat memahami pemanfaatan peptida berdasarkan klasifikasinya
- 3) Mahasiswa dapat memahami penamaan peptida

A. KLASIFIKASI PEPTIDA

Peptida dapat diklasifikasi berdasarkan kemiripan struktur, fungsinya dan sumbernya. Secara rincinya klasifikasi peptida adalah sebagai berikut. Berdasarkan kemiripan struktur dan fungsinya, maka peptida dapat diklasifikasi menjadi 4 yaitu :

1) Peptida ribosomal

Peptida ribosomal disintesis dari translasi mRNA. Peptida ini dapat berfungsi sebagai hormon pada organisme tingkat tinggi. Secara umum, peptida ini mempunyai struktur linear.

2) Peptida non-ribosomal

Peptida non-ribosomal disintesis dengan menggunakan kompleks enzim. Peptida ini terdapat pada organisme uniselular, tanaman, dan fungi. Secara umum, peptida ini berbentuk siklik, sangat sedikit yang berbentuk linear.

3) Peptida hasil digesti

Peptida ini terbentuk dari hasil proses proteolisis non-spesifik, yaitu hidrolisis menggunakan enzim protease spesifik, seperti tripsin

4) Peptida alami

Peptida asli yang terdapat pada organisme tanpa adanya proses hidrolisis dari protein dan dapat diperoleh dari proses ekstraksi menggunakan pelarut organik

Klasifikasi peptida berdasarkan fungsinya terbagi 6 diantaranya :

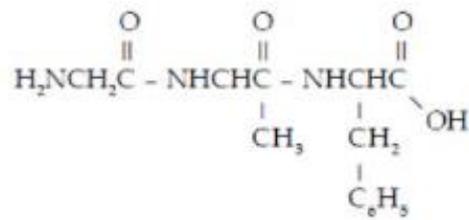
- 1) Peptida Antimikroba (AMPs)/peptida antibiotik alami
- 2) Peptida Kolagen
- 3) Peptida Antioksidan
- 4) Peptida hormon
- 5) Peptida enzim
- 6) Peptida reseptor

Selain itu, peptida juga dapat diklasifikasikan berdasarkan sumbernya, yaitu sebagai berikut:

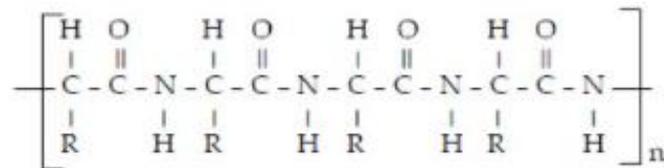
- Peptida antibiotik
- Peptida bakteri
- Peptida otak
- Peptida kanker dan antikanker
- Peptida kardiovaskuler
- Peptida endokrin
- Peptida jamur
- Peptida gastrointestinal
- Peptida invertebrata
- Peptida opiat
- Peptida tanaman
- Peptida ginjal
- Peptida pernapasan
- Peptida vaksin
- Peptida racun

B. PENAMAAN PEPTIDA

Penamaan peptide bisa berdasarkan jumlah ikatan peptidanya atau berdasarkan jumlah asam amino penyusunnya, contohnya pada Gambar 2:



glisilalanilfenilalanin (gli-ala-pen)
merupakan contoh tripeptida



struktur dari suatu polipeptida

Gambar 2 Contoh penamaan peptide

Sumber : <https://www.rumuskimia.net/2017/02/pengertian-protein.html>

Gambar 2 ini adalah contoh penamaan peptide berdasarkan asam amino penyusunnya yaitu gli-ala-pen yaitu tersusun atas 3 asam amino glisn-alanin-penilalanin. Penamaan peptide dapat juga berdasarkan berapa banyak residu asam amino yang dikandungnya, penamaan tersebut diantaranya sebagai berikut:

- Monopeptida: terdiri dari satu asam amino
- Dipeptida: terdiri dari dua asam amino
- Tripeptida: memiliki tiga asam amino
- Tetrapeptida: memiliki empat asam amino
- Pentapeptida: memiliki lima asam amino
- Heksapeptida: memiliki enam asam amino
- Heptapeptida: memiliki tujuh asam amino
- Oktapeptida: memiliki delapan asam amino
- Nonapeptida: memiliki sembilan asam amino
- Dekapeptida: memiliki sepuluh asam amino
- Oligopeptida: terdiri dari antara dua dan dua puluh asam amino
- Polipeptida: rantai linier dari banyak asam amino yang dihubungkan oleh ikatan amida atau peptide

Selain itu Penamaan peptide dapat juga berdasarkan fungsinya, misalnya :

- Protein: terdiri dari lebih dari 50 asam amino atau banyak polipeptida
- Lipopeptida: terdiri dari peptida yang terikat pada lipid
- Neuropeptida: setiap peptida yang aktif dalam jaringan saraf
- Agen peptidergik: bahan kimia yang memodulasi fungsi peptida
- Proteosa: peptida yang dihasilkan oleh hidrolisis protein

C. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskan perbedaan klasifikasi peptide berdasarkan kemiripan struktur dan fungsinya ?
- 2) Jelaskanlah ada berapa cara penamaan peptida?
- 3) Jelaskanlah perbedaan antara peptide alami dengan peptide hidrolisis?

BAB 3

SUMBER PEPTIDA DARI BIOTA LAUT

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami sumber peptida dari jenis ikan/vertebrata
- 2) Mahasiswa dapat memahami sumber peptida dari hewan avertebrata

A. SUMBER PEPTIDA DARI HEWAN VERTEBRATA AIR (IKAN)

Ikan merupakan salah satu sumber pangan yang kaya akan kandungan protein. Protein pada makanan dari ikan telah lama dikenal karena nilai gizi dan sifat fungsionalnya. Nilai gizi dan sifat fungsional dari protein memiliki keterkaitan dengan kandungan peptida serta asam aminonya. Setiap spesies ikan merupakan sumber protein dan peptide. Ikan merupakan hewan yang kaya akan protein. Jumlah kandungan protein pada daging ikan umumnya mencapai 17-22%, dengan rata-rata 19% (Ryan *et al.* 2011).

Secara umum peptide pada ikan diperoleh melalui hidrolisat protein. Hidrolisat protein ikan adalah produk yang didapatkan dari penguraian atau pemotongan protein menjadi peptida sederhana dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh enzim, asam maupun basa. Peptida bioaktif adalah fragmen pendek protein dengan residu asam amino 2-20 yang memiliki fungsi spesifik, misalnya antiinflamasi, antioksidan, antihipertensi, antimikroba, dan antikanker. Limbah pengolahan ikan dan ikan ekonomis rendah merupakan sumber terbaik senyawa biokatif peptida. Sumber terbaik peptida pada ikan laut terdapat pada ikan sardin (*Sardina & pilchardus*) yang mengandung fraksi lipopeptic dan peptidik. Peptida pada ikan sarden ini diperoleh secara enzimatik menggunakan enzim alkalase (Ryan *et al.* 2011).

Setiap jenis ikan merupakan sumber peptide bioaktif. Peptida yang berasal dari ikan yang pernah diteliti berasal dari ikan laut dan ikan darat, diantaranya ikan lele, ikan patin (ikan darat) dan ikan selar, ikan tuna, ikan sarden (ikan laut). Kelemahan peptide yang berasal dari jenis ikan adalah sulit diekstraksi karena harus dibuat menjadi hidrolisat protein terlebih dahulu,

B. SUMBER PEPTIDA DARI HEWAN AVERTEBRATA AIR

Berbeda halnya dengan peptide yang berasal dari hewan vertebrata, hewan avertebrata banyak hidup di wilayah ekstrim karena hidup di wilayah pesisir sehingga hewan avertebrata ini memiliki sistem kekebalan tubuh bawaan (*innate immune*). Secara umum hewan invertebrata sebagai organisme bentik yang terus menerus terkena ancaman mengandalkan pertahanan kekebalan bawaan (*innate immune*) mereka untuk melawan mikroba patogen dalam lingkungannya. Kelangsungan hidup organisme ini tergantung pada mekanisme pertahanan terhadap antimikroba yang melindungi mereka dari mikroba patogen. Senyawa peptide antimikroba (AMPs) memainkan peranan penting dalam mekanisme imun bawaan humoral pada invertebrata. Hal ini meningkatkan perhatian para peneliti dalam beberapa tahun terakhir, terutama didukung oleh perkembangan resistensi terhadap antibiotik konvensional. Setelah dilakukan penelitian bertahun-tahun, senyawa AMPs dari moluska memiliki spektrum yang luas dalam mekanisme pertahanan tubuhnya sehingga diduga dapat berkontribusi sebagai zat farmasi yang baru. Senyawa AMPs yang berasal dari moluska memiliki 10 sampai 50 asam amino dan memiliki berat molekul kecil (~ 5 kDa). Senyawa AMPs pada moluska banyak ditemukan pada jenis kerang-kerangan (kelas bivalva), umumnya dari spesies tiram (*Crassostrea gigas*) (Sathyan *et al.* 2012; Nam *et al.* 2015; Wang *et al.* 2016).

Sumber peptide dari hewan avertebrata yang sudah ditemukan dan diteliti diantaranya hewan moluska (bivalve dan gastropoda), cumi-cumi, udang, kuda laut, dan cacing laut,

C. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskan perbedaan peptide dari sumber vertebrata dan avertebrata ?
- 2) Jelaskanlah peptide yang paling banyak diperoleh dari hewan avertebrata?
- 3) Jelaskanlah mengapa peptide dari hewan vertebrata sulit diperoleh dengan proses ekstraksi ?

BAB 4

PEPTIDA ISTIMEWA DARI BIOTA LAUT

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami peptide istimewa dari hewan bivalve (kerang)
- 2) Mahasiswa dapat memahami peptide istimewa dari hewan gastropoda

Moluska memiliki peptida yang sangat banyak, terutama peptida antimikroba (AMPs) bahkan dalam satu jenis spesies terdapat AMPs yang beragam. Hal ini disebabkan karena hewan moluska hidup di wilayah pesisir yang sangat ekstrim. Senyawa peptida yang sudah diteliti umumnya diperoleh dari hasil hidrolisis protein secara enzimatik oleh enzim protease. Protein yang terhidrolisis tidak hanya menjadi asam amino tetapi terkadang terhidrolisis menjadi peptida-peptida kecil. Peptida ini dapat memiliki sifat fisiologis tersendiri. Peptida dari moluska umumnya bersifat sebagai antimikroba yang dikenal dengan nama peptida antimikroba (*Antimicrobial Peptides*, AMPs). Umumnya secara alami peptida didalam tubuh hewan moluska digunakan untuk sistem pertahanan tubuh nonspesifik supaya dapat mempertahankan hidupnya pada kondisi yang ekstrim (Li *et al.* 2011).

A. PEPTIDA ISTIMEWA DARI HEWAN KERANG /BIVALVA

Penelitian pertama tentang aktivitas antibakteri pada Moluska adalah pengamatan terhadap lendir siput raksasa *Achatina fulica*. Dinamakan *achacin*, karena proteinnya berukuran 150 kDa yang terdiri dari 2 sub unit, karena berat molekulnya yang besar, maka molekul tersebut tidak dapat dikategorikan sebagai peptida antimikroba (Iguchi *et al.* 1982; Kubota *et al.* 1985 dalam Li *et al.* 2011). Selanjutnya, penelitian dilakukan pada tahun 1996 terhadap kerang *Mytilus galloprovincialis* dan kerang biru *Mytilus edulis* dan ditemukan peptida antimikroba (AMPs) yang bersifat kationik, berukuran 4-6 kDa. Sejak

tahun 2004, pengetahuan tentang AMPs pada moluska meningkat secara dramatis karena teknik biologi molekuler diterapkan untuk hewan invertebrata. Penelitian AMPs dari moluska sampai pada tahun 2009 telah berhasil menemukan 35 AMPs baru hasil isolasi dari 12 spesies moluska yang berbeda-beda (Li *et al.* 2011).

Dengan demikian sejak ditemukan 35 AMPs baru yang diisolasi dari 12 spesies moluska yang berbeda-beda, maka para peneliti mulai melakukan pengelompokan AMPs dari moluska menurut kronologis penemuannya melalui teknik komputerisasi berdasarkan urutan nukleotidanya. Para peneliti menyimpulkan jalur penemuan AMPs pada moluska, menunjukkan bahwa AMPs dari moluska memiliki kemampuan antimikroba terhadap bakteri (bakteri gram positif dan gram negatif), fungi, virus dan protozoa (Li *et al.* 2011; Wang 2013).

Secara umum beberapa senyawa AMPs yang telah ditemukan dari moluska diantaranya adalah : *Defensin*, *Abhisin*, *Mytilin*, *Myticin*, *Mytimycin*, *Miscellaneous*. Pengelompokan AMPs ini dilakukan berdasarkan urutan nukleotidanya dan didapatkan bahwa dari satu spesies moluska memiliki lebih dari satu peptida antimikroba (AMPs), misalnya pada kerang *Mytilus galloprovincialis* memiliki enam jenis AMPs yaitu *defensin (MGD-1)*, *defensin (MGD-2)*, *2-myticin (A,B)*, *3-mytilin (C,D,G1)*, *2-mytimycin (P,V)*, *myticin C*. Senyawa AMPs pada *Oyster* (tiram) dari spesies *Crassostrea gigas* memiliki tiga jenis AMPs yaitu *defensin (Cg-Def)*, *2-defensin (Cg-def1-2)*, dan *prolin rich (Cg-prp)*, pada spesies *Crassostrea virginica* memiliki lima jenis AMPs yaitu *big-defensin*, *defensin (AOD)*, *2-defensin*, *histon cv-H2B-1*, dan *histon cv-H2B-2,-3,-4* (Li *et al.* 2011).

AMPs yang berbeda pada satu spesies moluska, dapat berfungsi sebagai antimikroba dengan spektrum yang luas ,misalnya pada kerang-kerangan memiliki AMPs *defensin* dan *mytilin* yang dapat bertindak sebagai antimikroba pada bakteri (gram positif dan gram negatif), fungi, virus dan protozoa. Dengan demikian kemampuan AMPs dari satu spesies moluska bersifat khas (Li *et al.* 2011).

Kelangsungan hidup organisme ini tergantung pada mekanisme pertahanan terhadap antimikroba yang melindungi mereka dari mikroba patogen. Senyawa AMPs memainkan peranan penting dalam mekanisme imun bawaan humoral pada invertebrata. Hal ini meningkatkan perhatian para peneliti dalam beberapa tahun terakhir, terutama didukung oleh perkembangan resistensi terhadap antibiotik konvensional. Setelah dilakukan penelitian bertahun-tahun, senyawa AMPs dari moluska memiliki spektrum yang luas dalam mekanisme pertahanan tubuhnya sehingga diduga dapat berkontribusi sebagai zat farmasi yang baru. Senyawa AMPs yang berasal dari moluska memiliki 10 sampai 50 asam amino dan memiliki berat molekul kecil (~ 5 kDa). Senyawa AMPs pada moluska banyak ditemukan pada jenis kerang-kerangan (kelas bivalva), umumnya dari spesies tiram (*Crassostrea gigas*) (Sathyan *et al.* 2012; Nam *et al.* 2015; Wang *et al.* 2016).

B. PEPTIDA DARI GASTROPODA

Penelitian AMPs terus berkembang pada moluska, termasuk dari kelas Gastropoda. Perkembangan penelitian AMPs pada Gastropoda sudah dimulai sejak tahun 2005 yang diperoleh dari siput laut (*Biomphalaria glabrata*) dari Famili *Planorbidae* dengan nama 2-AMPs dan diidentifikasi mengandung 31 gen yang berhubungan dengan sistem imun. Penelitian AMPs pada siput laut (*Biomphalaria glabrata*) diambil secara alami pada *hemocyte*-nya (*hemolymph*) (Mitta *et al.* 2005; Li *et al.* 2011). Tahun 2006 dilakukan penelitian AMPs pada *Littorina littorea* melalui pengambilan hemolimph (Gorbushin dan Iacovlevo 2006). Penelitian AMPs ini dilanjutkan pada spesies yang lain yaitu abalon (*Haliotis discus hannai*) dari famili *Haliotidae*, dan didapatkan AMPs dengan nama *Defensin* (hd-def), yang dapat membunuh bakteri gram positif dan gram negatif. Berat molekul *Defensin* (hd-def) adalah 4,323 kDa dan kaya akan asam amino sistein (Xuguang 2008). Penelitian berikutnya pada tahun 2009 diperoleh dari spesies abalon (*Haliotis discus-discus*) dengan nama *Abhisin* (AMPs dari jenis protein Histon H2A). AMPs *Abhisin* lebih banyak mengandung asam amino arginin dan lisin, bersifat hidrofobik dengan muatan kationik +13. Berat molekul

Abhisin yang rendah 4,32 kDa (terdiri dari 40 asam amino), menyebabkan dosis *Abhisin* untuk dapat menghambat mikroba hanya sekitar 250µg/ml (Zoysa *et al.* 2009). Tahun 2009 juga diteliti AMPs *Defensin* dari spesies abalon (*Haliotis Haliotidae*) dan didapatkan *Defensin* dengan berat molekul yang lebih rendah (4 kDa) (Cheng-Hua 2009). Selanjutnya pada tahun 2010 AMPs *Defensin* juga ditemukan pada gastropoda abalon (*Haliotis discus-discus*) dengan berat molekul 4,9 kDa (terdiri dari 49 asam amino) bersifat hidrofobik dengan muatan kationik +5, dan berstruktur α -helix dengan 3 jembatan disulfida serta memiliki 198 pasang basa ((Zoysa *et al.* 2010). Penelitian AMPs dari gastropoda yang terbaru berasal dari spesies *Cenchritis muricatus* dari famili *Littorinidae* dengan nama AMPs *peptida Cm-p5*, berstruktur α -helix yang dapat membunuh fungi (Abarrategui *et al.* 2015). Dengan demikian dari kelas Gastropoda ada 2 sub kelas memiliki kemampuan AMPs, yaitu sub kelas *Prosobrancia* (famili *Haliotidae*, *Viviporidae*, *Littoriniacea*) dan *Pulmota* (*Lymnaeidae* dan *Planorbidae*) (Alexander 2006).

C. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskan perbedaan peptide dari bivalve dan peptide dari gastropoda?
- 2) Jelaskanlah mengapa peptide dari hewan moluska sangat istimewa?
- 3) Jelaskanlah mengapa peptide dari bivalve lebih banyak diteliti daripada peptide dari hewan gastropoda?
- 4) Jelaskanlah berapa berat molekul terbaik dari peptide moluska yang istimewa ini?

BAB 5

SIFAT FUNGSIONAL PEPTIDA

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami sifat fungsional peptida
- 2) Mahasiswa dapat memahami peptida antimikroba
- 3) Mahasiswa dapat memahami peptida antioksidan
- 4) Mahasiswa dapat memahami peptida kolagen

Pangan fungsional adalah pangan yang karena kandungan komponen aktifnya dapat memberikan manfaat kesehatan bagi pengonsumsinya. Pangan fungsional dapat bersumber dari segala macam bahan pangan tak terkecuali peptida dan protein. Berdasarkan jumlah asam amino yang menyusun, peptida dan polipeptida tersusun atas kurang dari 50 asam amino, sedangkan protein terusun atas lebih dari 50 asam amino.

A. SIFAT FUNGSIONAL PEPTIDA ANTIMIKROBA

Peptida antimikroba (AMPs) adalah komponen yang telah berevolusi dan terdapat secara permanen pada sistem imun bawaan dan ditemukan di seluruh makhluk hidup. Perbedaan mendasar terdapat pada sel prokariot dan eukariot. Peptida ini memiliki spektrum antibiotik yang luas. Peptida antimikrobia terbukti mampu membunuh bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, termasuk strain yang resisten terhadap antibiotik konvensional, mycobacteria, virus yang terbungkus kapsul, jamur, dan bahkan sel kanker. Tidak seperti kebanyakan antibiotik konvensional, peptida antimikrobia dapat meningkatkan kekebalan dengan berfungsi sebagai *immunomodulator*.

Peptida antimikrobia memiliki sifat unik dan terbagi dalam beberapa kelompok molekul yang terbagi lagi menjadi beberapa sub kelompok berdasarkan komposisi dan struktur asam aminonya. Peptida antimikrobia umumnya terdiri

dari 12 hingga 50 asam amino. Peptida ini termasuk dua atau lebih residu bermuatan positif dari arginin, lisin, histidin, dan residu hidrofobik. Struktur sekunder dari molekul ini terdiri dari 4 macam, yaitu alpha helical, beta stranded, beta hairpin, dan *extended*. Banyak peptida ini tidak terstruktur pada larutan bebas, dan terlipat menjadi konfigurasi akhirnya sepanjang penempatannya pada membran biologis. Peptida ini mengandung residu asam amino hidrofilik terbentang pada satu sisi sedangkan asam amino hidrofobik terbentang pada sisi yang berlawanan. Sifat ini memudahkan penempatan pada dua lapis membran lipid. Kemampuan untuk berasosiasi dengan membran adalah sifat asli dari peptida antimikrobal, meski permeabilisasi membran tidak diperlukan. Peptida ini memiliki berbagai aktivitas antimikrobal pada membran sel hingga sitoplasma.

Terdapat beberapa faktor yang berhubungan erat dengan sifat selektivitas dari peptida antimikrobal, dan sifat kationik berkontribusi cukup besar. Akibat dari permukaan membran bakteri yang bermuatan lebih negatif daripada sel mamalia, peptida antimikrobal akan menunjukkan perbedaan afinitas terhadap membran bakteri dan membran sel mamalia. Terdapat faktor lain yang memengaruhi selektivitas peptida antimikrobal. Telah diketahui secara umum bahwa kolesterol tersebar secara luas pada membran sel mamalia sebagai bahan penstabil membran, tetapi tidak terdapat pada membran sel bakteri. Keberadaan kolesterol ini mengurangi aktivitas peptida antimikrobal, sehingga keberadaan peptida antimikrobal melindungi sel mamalia dari serangan peptida antimikrobal.

Selain itu, potensial transmembran diketahui memengaruhi interaksi lipid-peptida. Terdapat potensial transmembran negatif yang ada dari lapisan terluar hingga terdalam dari membran sel dan hal ini memfasilitasi permeabilisasi membran yang dapat mempermudah insersi dari peptida bermuatan positif menuju membran. Perbandingan, potensial transmembran dari sel bakteri lebih negatif daripada sel mamalia normal, sehingga peptida antimikrobal akan lebih cenderung untuk menyerang membran sel bakteri, karena pada umumnya peptida antimikrobal bermuatan positif.

B. SIFAT FUNGSIONAL PEPTIDA ANTIOKSIDAN

Antioksidan merupakan molekul yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi molekul lain. Oksidasi adalah reaksi kimia yang dapat menghasilkan radikal bebas, sehingga memicu reaksi berantai yang dapat merusak sel. Antioksidan seperti tiol atau asam askorbat (vitamin C) mengakhiri reaksi berantai ini. Antioksidan dapat menjaga keseimbangan tingkat oksidasi, tumbuhan dan hewan memiliki suatu sistem yang kompleks seperti glutathione dan enzim (misalnya: katalase dan superoksida dismutase) yang diproduksi secara internal atau dapat diperoleh dari asupan vitamin C, vitamin A dan vitamin E.

Peptida antioksidan secara nyata mampu memperlambat atau menghambat oksidasi zat yang mudah teroksidasi meskipun dalam konsentrasi rendah. Antioksidan juga dapat didefinisikan sebagai senyawa-senyawa yang melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas oksigen reaktif jika berkaitan dengan penyakit, radikal bebas ini dapat berasal dari metabolisme tubuh maupun faktor eksternal lainnya. Radikal bebas adalah spesies yang tidak stabil karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dan mencari pasangan elektron dalam makromolekul biologi. Protein lipida dan DNA dari sel manusia yang sehat merupakan sumber pasangan elektron yang baik. Kondisi oksidasi dapat menyebabkan kerusakan protein dan DNA, kanker, penuaan dan penyakit lainnya.

Komponen kimia yang berperan sebagai antioksidan adalah senyawa golongan fenolik atau polifenolik termasuk peptida. Senyawa-senyawa golongan tersebut banyak terdapat di alam, terutama pada tumbuh-tumbuhan. Hewan laut yang kaya protein umumnya sumber peptide antioksidan alami. Secara umum antioksidan memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas. Antioksidan yang banyak ditemukan pada bahan pangan, antara lain vitamin E, vitamin C, dan karotenoid. Antioksidan banyak digunakan dalam suplemen makanan dan telah diteliti untuk pencegahan penyakit seperti kanker atau penyakit jantung koroner. Peptida antioksidan juga memiliki fungsi yang sama dengan antioksidan pada umumnya, hanya saja peptide antioksidan sangat sulit didapatkan dengan proses ekstraksi. Umumnya peptide antioksidan diperoleh dari hidrolisat protein.

C. SIFAT FUNGSIONAL PEPTIDA KOLAGEN

Kolagen adalah salah satu protein yang menyusun tubuh makhluk hidup. Keberadaannya adalah kurang lebih mencapai 30% dari seluruh protein yang terdapat di tubuh. Kolagen terdiri dari asam amino yang terikat bersama untuk membentuk heliks rangkap tiga dari fibril memanjang yang dikenal sebagai heliks kolagen. Hal ini sebagian besar ditemukan di jaringan ikat seperti tulang rawan, tulang, tendon, ligamen, dan kulit.

Peptida kolagen telah banyak digunakan dalam bedah kosmetik, sebagai bantuan penyembuhan untuk pasien luka bakar untuk rekonstruksi tulang dan berbagai keperluan gigi, ortopedi, dan bedah. Kolagen manusia dan sapi banyak digunakan sebagai pengisi kulit untuk pengobatan keriput dan penuaan kulit. Namun demikian kehalalan kolagen masih banyak diteliti di seluruh dunia, kolagen halal banyak juga bersumber dari biota laut. Beberapa hal yang perlu diperhatikan tentang peptide kolagen dalam bidang kosmetik dan medis adalah sebagai berikut:

1. Ketika digunakan pada kosmetik, ada kemungkinan reaksi alergi yang menyebabkan kemerahan berkepanjangan, hal ini sebenarnya dapat dilakukan dengan uji alergi sebelum penggunaan kosmetik.
2. Sebagian besar peptide kolagen medis berasal dari sapi potong muda (*bovine*) dari hewan bersertifikat halal dan bebas BSE (*Bovine* dari babi).

Peptida kolagen berasal dari protein kolagen yang berfungsi sebagai kerangka pada tubuh membentuk struktur tubuh. Kolagen sangat penting untuk mempertahankan kekuatan tubuh, bahkan setelah patah dan cedera. Kolagen digunakan dalam pencangkakan tulang karena memiliki struktur heliks rangkap tiga dimensi yang dapat menjadikannya molekul yang sangat kuat. Peptida kolagen sangat ideal untuk digunakan pada tulang yang patah, luka bakar karena peptide kolagen tidak membahayakan integritas struktural kerangka. Struktur tiga heliks peptide kolagen mencegahnya dipecah oleh enzim, memungkinkan daya rekat sel dan penting untuk perakitan matrik ekstraseluler.

D. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskan perbedaan peptide dari kolagen, dan peptide antimikroba?
- 2) Jelaskanlah manfaat peptide kolagen dibidang medis?
- 3) Jelaskanlah konsep peptide antioksidan dapat menangkal sinar uv ?
- 4) Jelaskanlah prinsip sifat fungsional peptide ?
- 5) Jelaskanlah mengapa peptide dapat memiliki sifat fungsional yang berbeda-beda?

BAB 6

METODE EKSTRAKSI PEPTIDA DARI BIOTA LAUT

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami metode ekstraksi kimia peptide dari biota laut
- 2) Mahasiswa dapat memahami ekstraksi fisika pada produksi peptida dari biota laut

A. METODE EKSTRAKSI KIMIA UNTUK PEPTIDA DARI BIOTA LAUT

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, biasanya air dan yang lainnya pelarut organik (methanol, etanol, klorofom, etil asetat). Metode ekstraksi umumnya dilakukan dengan pelarut organic dinamakan ekstraksi kimia. Adapun prinsip pemilihan pelarut organic sebagai senyawa pemisah, memiliki sifat tidak saling melarutkan, tetapi hanya mengikat senyawa yang ingin diekstraksi.

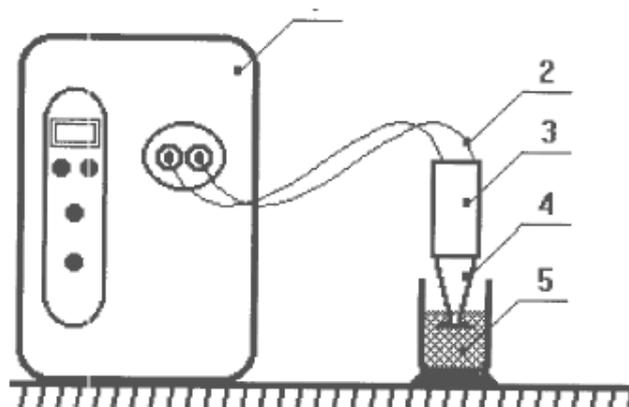
Metode ekstraksi untuk peptide diantaranya adalah ekstraksi dengan metode maserasi yang dikombinasi dengan ultrasonikasi. Sampel yang sudah halus masing-masing ditimbang 6 g kemudian dilarutkan dalam etanol 180 mL (p.a 95%), selanjutnya sampel diinkubasi pada suhu ruang dengan goyangan menggunakan *shaker* selama 1 jam. Sampel tersebut kemudian diultrasonikasi selama 30 menit yang dilanjutkan dengan inkubasi lagi pada suhu ruang dengan goyangan menggunakan *shaker* selama 1 jam. Sampel dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring *whatman* No.1 (125 mm). Sampel kemudian dievaporasi hingga pelarut etanol memisah dengan hasil ekstrak menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 55 °C selama 30 menit, sehingga didapatkan ekstrak kasar daging gonggong dengan volume 30 mL (Modifikasi Ali *et al.* 2006 dan Nam *et al.* 2015).

B. METODE EKSTRAKSI FISIKA UNTUK PEPTIDA BIOTA LAUT

Prinsip ekstraksi fisika adalah ekstraksi yang dilakukan tanpa menambahkan pelarut organik, tetapi mengekstrak senyawa hanya menggunakan peralatan ekstraksi, misalnya ultrasonic, macrowava,dan sebagainya. Salah satu contoh alat ekstraksi fisika dapat dilihat pada Gambar 3 dan Gambar 4 yaitu alat ekstraksi dengan prinsip vibrasi/getaran (Gambar 3) dan ultrasonic (Gambar 4).



Gambar 3. Alat ekstraksi fisika (*extractor vibration*)
Sumber : Orobinskaya *et al.* 2020



Gambar 4. Alat ekstraksi fisika ultrasonik (20 Hz, 50 watt)
Sumber : Orobinskaya *et al.* 2020

Alat ekstraksi fisika menggunakan gelombang elektromagnetik untuk memecah sel pada sampel yang diekstraksi sehingga komponen bioaktif peptide dapat diekstrak. Kelemahan ekstraksi fisika adalah partikel hasil ekstraksi tidak dapat dihasilkan dengan ukuran kecil sehingga jika digunakan untuk ekstraksi fisika pada peptide maka harus dipadu dengan ekstraksi kimia. Misalnya awal preparasi

sampel digunakan ultrasonic (selama 30 menit), selanjutnya dilakukan ekstraksi kimia menggunakan pelarut organik yang sesuai. Meskipun saat ini telah ditemukan teknologi nano partikel namun proses pembuatan peptide menggunakan teknologi ini sangat mahal.

C. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskan perbedaan antara ekstraksi kimia dan ekstraksi fisika untuk produksi peptide dari biota laut ?
- 2) Jelaskanlah kerugian ekstraksi fisika pada produksi peptide dari biota laut?
- 3) Jelaskanlah mengapa ekstraksi kimia harus menggunakan pelarut organik ?
- 4) Jelaskanlah prinsip ekstraksi kimia pada pembuatan peptide dari biota laut?
- 5) Jelaskanlah prinsip ekstraksi fisika pada pembuatan peptide dari biota laut?

BAB 7

TEKNIK FILTRASI PEPTIDA UNTUK PRODUKSI PEPTIDA

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami metode filtrasi peptida
- 2) Mahasiswa dapat memahami penggunaan filtrasi MWCO

A. METODE FILTRASI PEPTIDA

Setelah proses ekstraksi sampel dalam produksi peptide dilakukan filtrasi atau penyaringan menggunakan alat filtrasi khusus yang memiliki membrane berukuran dibawah 10 kDa. Hal ini disebabkan karena ukuran peptide adalah 10 kDa. Adapun alat filtrasi yang sering digunakan untuk memfraksinasi peptide dengan protein dan lainnya diantara adalah:

- 1) Membran MWCO (*molecular weight cut off*) berukuran 1-10 kDa
- 2) Kromatografi filtrasi gel (*Sephadex G-25*) dengan membrane 1-5 kDa

B. MEMBRAN MWCO ((*molecular weight cut off*))

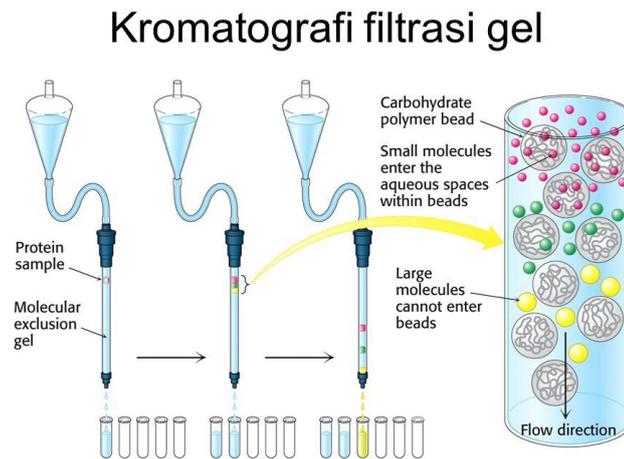
Filtrasi peptide menggunakan MWCO dapat dilakukan untuk ukuran partikel peptide yang beragam antara 1-10 kDa. Proses filtrasi dilakukan dengan bantuan sentrifuge dingin dengan kecepatan 1400xg selama 20 menit. Contoh ukuran membrane MWCO (3 kDa dan 10 kDa) dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Membran MWCO untuk memfraksinasi peptida

C. KROMATOGRAFI FILTRASI GEL (*Sephadex G-25*)

Peptida berukuran 3-5 kDa difraksinasi menggunakan kromatografi gel filtrasi dengan matrik *Sephadex G-25 superfine* (*Ge Healthcare*) yang mampu memisahkan protein dengan kisaran berat molekul 1-5 kDa. Ukuran kolom yang digunakan adalah 9,9 mm x 30 cm. Sebanyak 1,5 mL sampel dimasukkan ke dalam kolom dan dielusi menggunakan akuades. Sampel dipantau pada panjang gelombang 280 nm. Ukuran fraksi yang digunakan sebesar 3 mL per tabung. Eluat dalam tabung dari peak-peak yang muncul dikumpulkan menjadi fraksifikasi. Fraksi yang diperoleh selanjutnya diukur absorbansinya pada $\lambda=280$ nm. Prinsip filtrasi peptide menggunakan alat kromatografi filtrasi gel dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6 Fraksinasi peptide menggunakan kromatografi filtrasi gel
Sumber: Simakip.uhamka.ac.id

Pemilihan alat filtrasi pada produksi peptide sangat ditentukan oleh jenis dan prediksi ukuran peptide dan sifat bahan yang diekstraksi. Pemilihan alat filtrasi ini sangat menentukan rendemen peptide yang dihasilkan.

D. LATIHAN SOAL

- 1) Jelaskan perbedaan antara filtrasi MWCO dengan filtrasi kromatografi gel ?
- 2) Jelaskanlah prinsip filtrasi peptide menggunakan MWCO?
- 3) Jelaskanlah alasan pemilihan filtrasi pada produksi peptide?

BAB 8

METODE FRAKSINASI PEPTIDA DENGAN SDS PAGE

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami metode fraksinasi peptida
- 2) Mahasiswa dapat memahami penggunaan SDS PAGE untuk fraksinasi peptida

A. METODE FRAKSINASI PEPTIDA

Metode fraksinasi peptida dilakukan sebagai lanjutan dari proses pembuatan peptida setelah sampel difiltrasi atau dilewatkan pada membran MWCO, sehingga dapat divalidasi ukuran molekul peptidanya. Fraksinasi peptida menggunakan SDS PAGE merupakan cara untuk memisahkan peptida dari protein, sehingga dapat ditentukan berat molekul peptida yang dihasilkan. Selain menggunakan SDS PAGE, maka fraksinasi peptida juga dapat dilakukan menggunakan elektroforesis biasa atau kertas kromatografi atau kromatografi gel filtrasi dengan matrik *Sephadex G-25 superfine (Ge Healthcare)* yang mampu memisahkan protein dengan kisaran berat molekul 1-5 kDa. Namun demikian, teknik fraksinasi peptida yang paling baik untuk identifikasi peptida melalui berat molekulnya adalah dengan alat SDS PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis*). Hal ini disebabkan karena pemisahan peptida menggunakan SDS-PAGE bisa dilakukan untuk peptida yang berukuran kecil dibawah 10 kDa maupun peptida yang berukuran besar diatas 10 kDa.

B. TEKNIK FRAKSINASI PEPTIDA DENGAN SDS-PAGE

Karakterisasi profil protein atau peptida dapat dilakukan menggunakan SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electrophoresis*) (*Bio-Rad*), yaitu karakterisasi jenis protein atau peptida berdasarkan berat molekul secara kualitatif. Metode ini sering digunakan untuk menentukan berat molekul suatu protein atau peptida dan dapat juga dilakukan untuk memonitor pemurnian

protein/peptida. SDA-PAGE selain menggunakan teknik elektroforesis juga terdapat larutan SDS yang tidak hanya berfungsi untuk mendenaturasi protein/peptida saja tetapi larutan SDS mengikat protein/peptida pada muatan positifnya sehingga membentuk lembaran seperti membran (oligomer) yang tertahan pada gel elektroforesis (Westermeyer 2004; Vermeer *et al.* 2012).

Prinsip penggunaan metode elektroforesis SDS-PAGE adalah kelompok elektroforesis yang dibedakan berdasarkan medium penyangganya menggunakan gel buatan yang terbentuk dari polimerisasi dengan N-N Metilena bis akrilamida, sehingga terbentuk ikatan silang karena polimerisasi akrilamida hanya menghasilkan ikatan linier. Denaturasi protein pada sampel dilakukan dengan merebus sampel dalam buffer yang mengandung β -merkabtoetanol yang dapat mereduksi ikatan disulfida, gliserol dan SDS. Protein yang terdenaturasi secara sempurna akan mengikat SDS dalam jumlah yang setara dengan berat molekul protein/peptida. Muatan asli protein akan digantikan oleh muatan negatif, dari anion yang terikat sehingga terbentuklah kompleks protein-SDS atau peptide SDS yang memiliki rasio muatan per berat molekul selalu konstan.

Polimerisasi pada metode SDS-PSGE ini terjadi pada suhu kamar dengan sangat cepat karena adanya katalis dan inisiatif dari TEMED (N, N, N, N-tetrametilenadiamina dan APS (ammonium persulfat) sebagai radikal bebas yang akan menginisiasi pembentukan polimer. SDS merupakan detergen anionik yang bersama dengan β -merkabtoetanol dan pemanasan menyebabkan rusaknya struktur tiga dimensi protein menjadi konfigurasi acak. Hal ini disebabkan oleh pecahnya ikatan disulfida yang selanjutnya tereduksi menjadi gugus-gugus sulfhidril. Selanjutnya pergerakan partikel di dalam medium sangat ditentukan oleh ukuran partikel dan ukuran mediumnya. Ukuran pori pada gel sangat ditentukan oleh konsentrasi gel poliakrilamida. Dengan demikian, protein yang berukuran besar mempunyai akan bergerak lebih lambat dibandingkan dengan ukuran protein yang lebih kecil, sehingga tatkala membuat gel dengan konsentrasi tinggi untuk sampel yang ditargetkan dengan berat molekul kecil, dan sebaliknya.

a. Persiapan sampel

Sampel diambil sekitar 0,1 g, kemudian dihaluskan dengan digerus menggunakan alat mortar. Sampel tersebut kemudian diencerkan dengan aquades 1:5, kemudian disentrifuge 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Filtrat masing-masing sampel diambil 20 µL, dan ditambahkan *loading buffer* (1:1) dan kemudian dipanaskan di dalam *waterbath* pada suhu 85 °C selama 10 menit. Sampel diambil sebanyak 10 µL untuk diinjek pada analisis profil peptide menggunakan SDS-PAGE.

b. Analisis profil peptide dengan SDS PAGE

Analisis profil peptida yang menggunakan metode SDS-PAGE meliputi tahapan sebagai berikut: persiapan sampel, penambahan buffer *loading* (1:1), *separation and retaining gel preparation*, *running conditions* (selama ± 3 jam), *gel staining* (30 menit), *destaining* (1 jam), and *gel photo recording*. SDS-PAGE untuk analisis peptide menggunakan gel pemisahan 15% dan gel penahan 3%. Volume sampel sebanyak 10 µL, serta marker (16,5 kDa) sebanyak 15 µL. SDS-PAGE dijalankan pada 220 Volt, 15 mA selama 3 jam (Gmbar 7) (Modifikasi Nurilmala dan Ochiai 2016).

Tabel 1. Komposisi gel pemisah dan gel penahan untuk SDS-PAGE.

Pereaksi	Gel pemisah 15%	Gel Penahan 3%
30% akrilamida	3.75 mL	0.5 mL
1.5M Tris-HCl (pH 8.8)	1.85 mL	-
1 M Tris-HCl (pH 6.8)	-	0.65 mL
dH ₂ O	2.4 mL	3.7 mL
APS (10%)	75 µL	50 µl
SDS (10%)	75 µL	50 µl
TEMED	7.5 µL	5 µl

Keterangan: APS=ammonium persulfat;
TEMED= N, N, N', N'- (tetraetilendiamin)

Pembuatan semua larutan pada Tabel 1 adalah sebagai berikut:

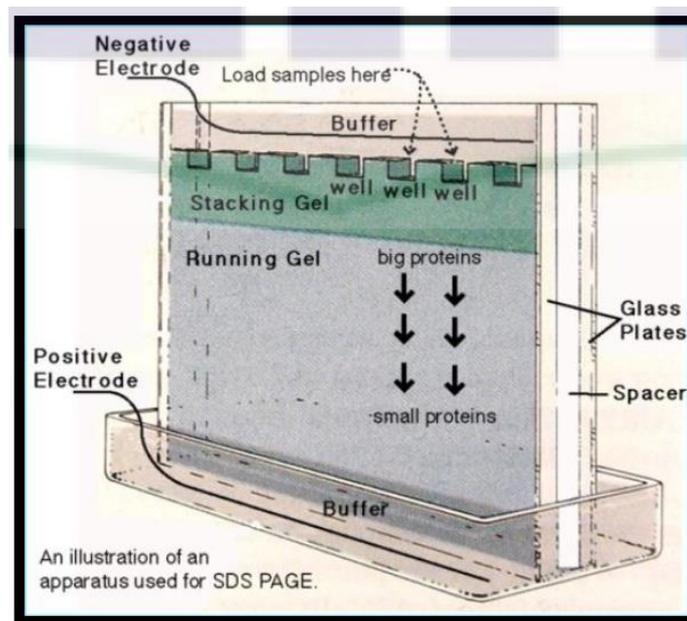
Larutan 30% akrilamida yaitu dibuat dengan cara mencampurkan 29,2 g akrilamida ditambah 0,8 g bis-akrilamida, lalu ditambahkan air deionisasi hingga 100 ml dan ditempatkan dalam wadah gelap dan tertutup rapat di suhu 4°C.

Buffer separating yaitu Gel pemisah protein (1.5 M Tris-HCl pH 8.8) dibuat dengan cara melarutkan 91 g Tris ke dalam 500 ml H₂O dan dibuat menjadi pH 8,8 lalu ditambah dengan 2 g SDS, lalu volume dibuat tepat menjadi 500 ml.

Buffer stacking yaitu gel pengumpul (1 M tris HCl pH 6,8) dibuat dengan cara melarutkan 6,09 g Tris dengan 100 ml H₂O lalu larutan dibuat menjadi pH 6,8 kemudian larutan ditambah dengan 0,4 g SDS, lalu ditambahkan H₂O hingga tepat menjadi bervolume 100 ml.

Buffer running (merupakan buffer elektroda) yaitu dibuat dengan melarutkan 14,4 g glycine ditambahkan dengan 3 g Tris dan disesuaikan pada pH 8,3. kemudian ditambahkan 1 g SDS dan larutan ditepatkan menjadi bervolume 1 L.

Buffer loading dye (merupakan buffer sampel) yaitu dibuat dengan cara melarutkan 0,3 g Tris dengan 10 ml H₂O lalu larutan dibuat menjadi pH 6,8 kemudian larutan ditambah dengan 0,92 g SDS, 4 mL gliserol, 2 mL β-merkaptoetanol, 2 mL bromphenol blue, lalu ditambahkan H₂O hingga tepat menjadi bervolume 20 mL.



Gambar 7. Proses perjalanan peptida/protein dalam metode SDS PAGE
Sumber : <https://www.creative-proteomics.com>

C. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskan perbedaan fraksinasi menggunakan kromatografi gel dengan elektroforesis SDS-PAGE?
- 2) Jelaskanlah prinsip kerja SDS PAGE dan dapat dilakukan untuk analisis sampel apa saja ?
- 3) Jelaskanlah proses pembuatan gel elektroforesis pada metode SDS PAGE?
- 4) Apa fungsi elektroforesis pada SDS-PAGE?
- 5) Jika kita mentargetkan berat molekul sampelnya kecil dibawah 5 kDa, maka ukuran konsentrasi untuk gel pemisah sebaiknya konsentrasi tinggi atau rendah, coba jelaskan?

BAB 9

METODE SEKUENSING PEPTIDA DARI BIOTA LAUT

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami metode sekuensing peptide dari biota laut
- 2) Mahasiswa dapat memahami penggunaan alat LC MS/MS untuk sekuensing peptida dari biota laut
- 3) Mahasiswa dapat memahami cara membaca hasil sekuensing peptida

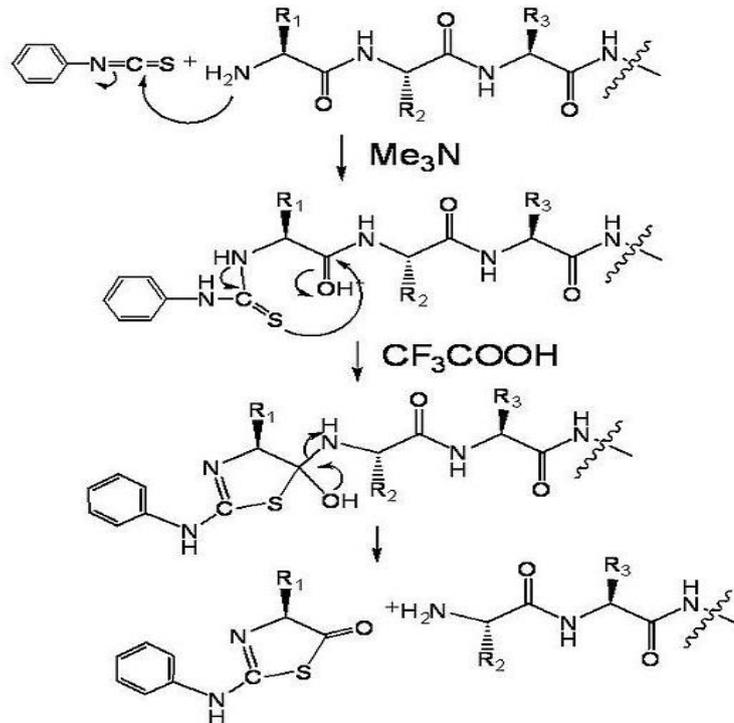
A. METODE SEKUENSING PEPTIDA

Definisi sekuensing biasanya didapatkan pada bidang bioteknologi genetika dan biokimia. Sekuensing berarti penentuan struktur primer (atau sekuens primer) dari rantai biopolimer tak bercabang. Sekuensing menghasilkan penggambaran linear simbolik yang disebut sekuens. Sekuen akan meringkas sebagian besar struktur tingkat atom atas molekul yang di-sekuensing.

Sekuensing protein atau sekuensing peptida adalah penentuan urutan asam amino pada suatu protein atau peptida (oligopeptida maupun polipeptida). Metode untuk sekuensing protein umumnya melibatkan pemutusan ikatan yang diikuti dengan identifikasi asam amino. Metode sekuensing protein atau peptide berdasarkan metode degradasi Edman maka residu pada ujung-N (ujung amino) protein akan dipotong satu per satu dengan reaksi kimia. Setelah setiap pemotongan, residu asam amino yang telah dipotong tersebut dapat diidentifikasi menggunakan kromatografi. Prosedur tersebut diulangi untuk setiap residu asam amino. Kelemahan metode ini adalah bahwa polipeptida yang di-sekuensing tidak dapat lebih panjang dari 50–60 residu, oleh karena itu metode ini ada kelemahan untuk protein karena memiliki asam amino lebih dari 50. Metode degradasi Edman hanya cocok buat peptide yang mengandung asam amino dibawah 50.

Metode Degradasi Edman ini digunakan pada saat identifikasi asam amino menggunakan HPLC atau LC/MS sehingga didapatkan urutan asam amino dari suatu peptide atau protein. Prinsip degradasi Edman dapat dilihat pada Gambar 8.

Reaksi Degradasi Edman



Derivat Asam Amino yang di analisa dengan HPLC

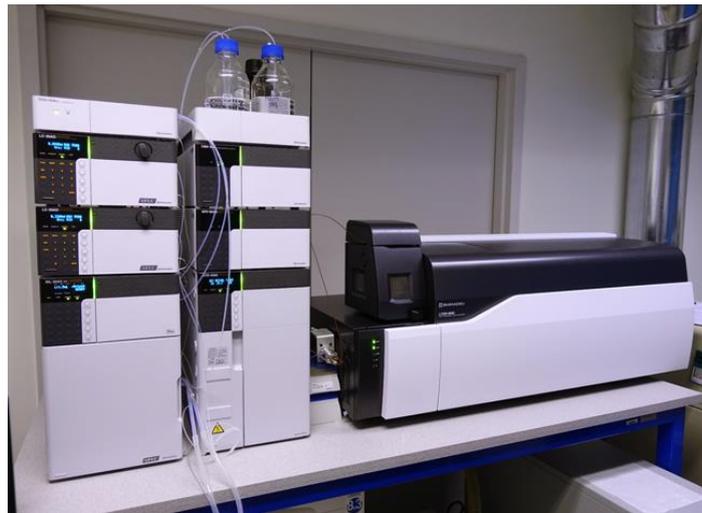
Gambar 8. Prinsip sekuensing peptide berdasarkan metode degradasi Edman menggunakan pereaksi 2,4 dinitroflorobenzena (fenil isosianat)
Sumber : <https://www.wikiwand.com/id/Sekuensing>

Reaksi degradasi Edman yaitu reaksi untuk memotong dan menderivatisasi asam amino yang terpenggal, selanjutnya derivat asam amino dapat diidentifikasi menggunakan kromatografi atau elektroforesis dengan menggunakan standar 20 asam amino.

B. ALAT LC-MS/MS UNTUK SEKUENSING PEPTIDA DARI BIOTA LAUT

Alat LC- MS/MS merupakan alat untuk menentukan susunan asam amino dari suatu peptida. *Liquid chromatography mass spectrometry-mass spectrometry* (LC-MS/MS) yaitu *electrospray ionisation mass spectrometry* menggunakan Agilent 1260 *Infinity HPLC system* [Agilent] coupled to an Agilent 6540 *mass spectrometer* [Agilent] (Gambar 9). Setiap sampel peptida yang akan dianalisis menggunakan alat ini, diinjeksikan ke dalam kolom C18 *column* 300 SB, 5 cm

[Agilent] dan dipisahkan dengan gradient linier air deion: *acetonitrile* 0.1% dalam asam format (v/v) selama 35 menit dengan kecepatan alir 1 mL/ menit (*flow rate*) yang dimonitor pada panjang gelombang 220 nm. Spektrum yang diperoleh kemudian dianalisis untuk mengidentifikasi peptida dari peptide atau protein tertentu menggunakan *Mascot sequence matching software* [Matrix Science] dengan database MSPnr100.



Gambar 9 *Liquid chromatography mass spectrometry-mass spectrometry* (LC-MS/MS)

Sumber : <https://www.mccrone.com/mm/lc-msms-chemical-analysis>

Sebelum dianalisis menggunakan alat ini, maka sampel harus dipreparasi terlebih dahulu. Gel pita peptida dari hasil elektroforesis menggunakan alat SDS-PAGE yang telah dipotong dengan alat steril, selanjutnya dikeringkan menggunakan *vacuum drier*. Sampel kering yang mengandung peptide ini, kemudian dipotong dengan menggunakan 10 μ L larutan enzim tripsin (12,5 μ g/mL enzim tripsin (*Fisher Scientific*) dalam 25 mM ammonium bikarbonat (pH 7,4) semalaman pada 37 °C (Modifikasi Bringans *et al.* 2007). Setelah peptida terpotong oleh enzim tripsin, kemudian ditambahkan 20 μ L larutan 1% TFA (*trifluoroacetic acid*) sehingga pH 2,2 (diinkubasi selama 40 menit), kemudian sampel yang mengandung peptida dikeringkan lagi menggunakan *vacuum rotary evaporator*, selanjutnya ditambahkan 2 μ L pelarut standar yaitu air deion: *acetonitrile* 0,1% dalam asam format (1:1 v/v), selanjutnya sampel ini siap diinjeksikan ke alat LC-MS/MS melalui kolom C18 *column* 300 SB.

C. CARA MEMBACA HASIL SEKUENSING PEPTIDA DARI BIOTA LAUT

Hasil sekuensing yang didapatkan menggunakan alat LC-MS/MS ini, selanjutnya dianalisis secara bioinformatika untuk menentukan data urutan asam amino yang tepat dari suatu sampel peptida. Sekuen yang dihasilkan dari *software Mascot Matrix Science* kemudian dicari homolog sekuennya, sehingga didapatkan sekuen asam amino yang sesuai dari asal suatu peptide di BLASTp pada *Genome Net* (<http://www.ncbi.nlm.gov/BLAST>) dengan menggunakan *Job title: sesuai asal isolasi peptide dari suatu spesies*. Hasil sekuen dikatakan homolog jika didapatkan sekuen identik 100%. Sekuen asam amino yang homolog ini kemudian dianalisis menggunakan bioinformatik *Pepdraw* program dalam www.expasy.org/proteomic sedangkan untuk mengetahui struktur primer dan tersier tiga dimensi dari suatu peptida maka dianalisis menggunakan PEP-FOLD (<http://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/PEP-FOLD/>) dan *PyMol Molecular Graphic* (<https://sourceforge.net/projects/pymol/>).

D. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskan prinsip sekuensing peptide dari biota laut?
- 2) Jelaskanlah prinsip penggunaan alat LC-MS/MS ?
- 3) Jelaskanlah prinsip cara membaca hasil sekuensing?
- 4) Jelaskanlah mengapa penentuan sekuen yang diambil harus memiliki homolog sekuen identic 100% ?
- 5) Jelaskanlah mengapa sampel yang dipreparasi (sebelum diinjeksikan ke alat LC-MS/MS, perlu dipotong menggunakan enzim tripsin ?

BAB 10

BIOINFORMATIKA PEPTIDA BIOTA LAUT

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami bioinformatika peptide dari biota laut
- 2) Mahasiswa dapat mengaplikasikan bioinformatika peptida untuk prediksi sifat fungsional peptida
- 3) Mahasiswa dapat mengaplikasikan bioinformatika peptida untuk prediksi struktur peptida

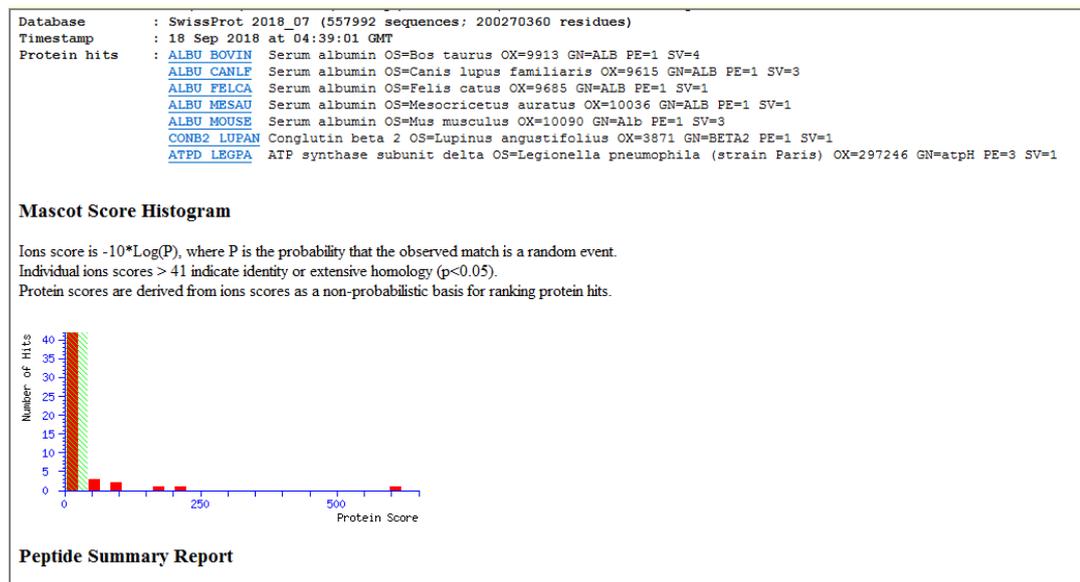
A. BIOINFORMATIKA PEPTIDA

Bioinformatika merupakan bidang ilmu yang mempelajari penerapan teknik komputasional yang dapat digunakan untuk mengelola dan menganalisis informasi biologis. Bidang ilmu bioinformatika ini mencakup penerapan metode-metode matematika, statistika, dan informatika dalam hal memecahkan masalah-masalah biologis, terutama dengan menggunakan sekuens DNA dan asam amino serta informasi yang berkaitan dengannya, misalnya topik utama bidang ini meliputi basis data untuk mengelola informasi biologis, penyejajaran sekuens (*sequence alignment*), prediksi struktur untuk meramalkan bentuk struktur protein maupun struktur sekunder RNA, analisis filogenetik, dan analisis ekspresi gen. Analisis bioinformatik dapat juga digunakan dalam memprediksi karakteristik makanan fungsional pada makanan berbasis peptida bioaktif. Penggalan genom spesifik untuk karakterisasi *therapeutic ingredient* tertentu pada makanan memungkinkan penemuan ingredien sumber makanan baru dalam waktu yang lebih singkat (Khaldi 2012). Penemuan teknik visualisasi tiga dimensi memungkinkan prediksi struktur dan fungsi senyawa bioaktif menjadi lebih akurat tanpa harus melalui rangkaian eksperimen yang mahal. Beberapa perangkat lunak yang digunakan untuk analisis dan prediksi struktur primer, sekunder maupun struktur tiga dimensi telah tersedia dan sebagian dapat diunduh tanpa perlu

berbayar seperti program-program dalam www.expasy.org, atau di laman <http://www.rasmol.org> (Zou *et al.* 2016).

B. APLIKASI BIOINFORMATIKA PEPTIDA DARI BIOTA LAUT

Bioinformatika peptida merupakan bidang bioinformatika yang khusus untuk analisis sekuens asam amino dari suatu peptida, struktur peptidanya serta sifat fungsional peptida. Hasil analisis sekuens asam amino pada BLASTp di NCBI dari data primer hasil analisis *software Mascot Matrix Science*, misalnya pencarian sekuens peptide antimikroba pada spesies gonggong (*Strombus* sp.).



Gambar 10 Pencarian sekuens peptida dari hasil analisis menggunakan *Software Mascot Matrix Science*
Sumber : Viruly *et al.*(2019)

Pencarian sekuens asam amino pada peptida dari hasil analisis menggunakan *Software Mascot Matrix Science* harus ditentukan berdasarkan pemilihan sekuens dari hasil analisis *Software Mascot Matrix Science* (Gambar 10) yaitu sekuens yang berwarna hitam yaitu sekuens untuk peptida dengan berat molekul dibawah 5 kDa dengan katagori *Unique* (U) (Gambar 10). Sekuens yang berwarna merah juga katagori *Unique* (U) tapi tidak bisa mewakili sekuens asam amino pada suatu peptide. Gambar 11 menunjukkan bahwa prediksi sekuens peptidanya adalah: RHPDYSVALLLR, kemudian sekuens ini disesuaikan dengan

data peptida pada spesies *Strombus canarium*. Sekuen dinyatakan homolog jika memiliki persentase sekuen identik 100% (memiliki susunan asam amino pada peptida dengan tingkat homologi 100%) (Tabel 2).

Query	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Miss	Score	Expect	Rank	Unique	Peptide
<u>66</u>	480.6100	1438.8083	1438.8045	0.0039	1	8	1.3e+02	7	U	R.RHPDYSVALLLR.L
<u>78</u>	740.4032	1478.7918	1478.7881	0.0036	0	(67)	0.00014	1		K.LGEYGFQNALIVR.Y
<u>80</u>	740.4032	1478.7918	1478.7881	0.0036	0	82	5.5e-06	1		K.LGEYGFQNALIVR.Y
<u>86</u>	740.4914	1478.9682	1478.7881	0.1801	0	(13)		15	1	K.LGEYGFQNALIVR.Y

5. [ALBU MOUSE](#) Mass: 68648 Score: 81 Matches: 3(2) Sequences: 1(1) emPAI: 0.05
 Serum albumin OS=Mus musculus OX=10090 GN=Alb PE=1 SV=3
 Check to include this hit in error tolerant search or archive report

Query	Observed	Mr(expt)	Mr(calc)	Delta	Miss	Score	Expect	Rank	Unique	Peptide
<u>78</u>	740.4032	1478.7918	1478.7881	0.0036	0	(67)	0.00014	1	U	K.LGEYGFQNALIVR.Y
<u>80</u>	740.4032	1478.7918	1478.7881	0.0036	0	82	5.5e-06	1	U	K.LGEYGFQNALIVR.Y
<u>86</u>	740.4914	1478.9682	1478.7881	0.1801	0	(13)		15	1	K.LGEYGFQNALIVR.Y

Gambar 11. Pemilihan sekuen yang tepat dari suatu peptida
 Sumber : Viruly *et al.*(2019)

Tabel 2 berikut ini menyajikan urutan asam amino pada peptida antimikroba, setelah dilakukan analisis bioformatika. Prediksi sekuen peptide antimikroba (AMPs) adalah : RHPDYSVALLLR, hal ini disesuaikan dengan data peptida pada spesies *Strombus canarium*. Sekuen dinyatakan homolog jika memiliki persentase sekuen identik 100% (memiliki susunan asam amino pada peptida dengan tingkat homologi 100%). Sekuens RHPDYSVALLLR ini dimasukkan ke BLASTp untuk membuktikan homologi 100% (Gambar 12).

Tabel 2 Hasil BLASTp di NCBI terhadap sekuen peptida gonggong Bintang dengan spesies *Strombus canarium*. Sumber : Viruly *et al.*(2019)

Peptida	Jumlah asam amino	Identik/homologi (%)
-RHPDYSVALLLR-	12 asam amino	100%
-KKN DALNNLIKL-	12 asam amino	66.67%
-KNDALNNLIKL-	11 asam amino	66.67%
-KKN DALNNLIKL-	13 asam amino	66.67%
RHPYFYAPELLYYANKY-	17 asam amino	Tidak signifikan (tidak identik)

BLAST® » blastp suite

Standard Protein BLAST

blastn **blastp** blastx tblastn tblastx

BLASTP programs search protein databases using a protein query. [more...](#)

Enter Query Sequence

Enter accession number(s), gi(s), or FASTA sequence(s)
 From
 To

Or, upload file No file selected.
 Job Title
 Enter a descriptive title for your BLAST search
 Align two or more sequences

Choose Search Set

Database
 Organism Exclude
 Enter organism common name, binomial, or tax id. Only 20 top taxa will be shown.
 Models (XM/XP) Non-redundant RefSeq proteins (WP) Uncultured/environmental sample sequences

Descriptions

Sequences producing significant alignments:

Select: All None Selected: 0

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
cytochrome oxidase subunit I [Strombus canarium]	14.6	14.6	33%	0.053	100%	ABF82720.1

Alignments

cytochrome oxidase subunit I, partial (mitochondrion) [Strombus canarium]
 Sequence ID: [ABF82720.1](#) Length: 159 Number of Matches: 1

Range 1: 88 to 91

Score	Expect	Identities	Positives	Gaps
14.6 bits(27)	0.053	4/4(100%)	4/4(100%)	0/4(0%)

Query 8 ALLL 11
 Sbjct 88 ALLL 91

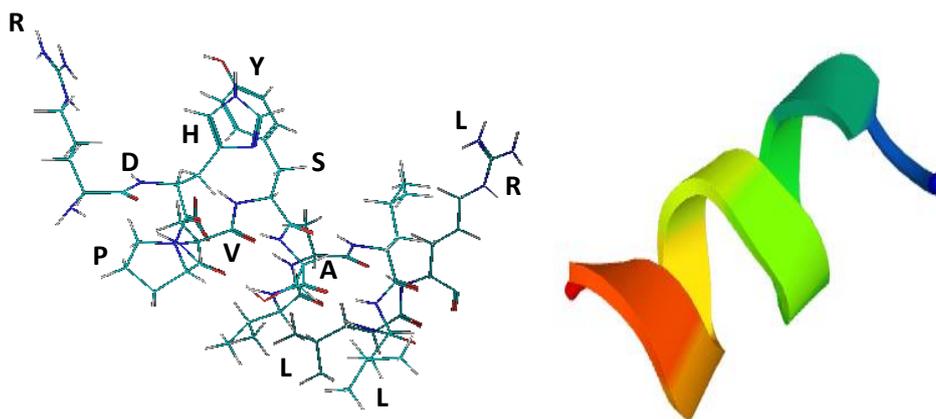
Gambar 12. Pencarian sekuen homolog pada data di BLASTp di NCBI
 Sumber : Viruly *et al.*(2019)

C. BIOINFORMATIKA UNTUK PREDIKSI STRUKTUR PEPTIDA

Prediksi struktur tiga dimensi suatu peptide dari hasil pengolahan sekuen asam amino menggunakan program *pyMol* atau PEP-FOLD untuk prediksi struktur primer. Prediksi struktur tiga dimensi berguna untuk memahami hubungan antara struktur dan fungsi peptida. Beberapa peptida yang mempunyai persamaan struktur kemungkinan besar juga mempunyai fungsi yang sama (Wang

et al. 2015). Bahnsen *et al.* (2013) melaporkan bahwa muatan dan hidrofobisitas saja tidak cukup menentukan aktivitas peptida. Aktivitas peptida juga dipengaruhi oleh konformasi dan struktur sekunder peptida. Faktor-faktor tersebut penting untuk mempertahankan struktur sekunder (struktur α -helix) agar mendapatkan aktivitas biologi yang diinginkan (Rosenfeld *et al.* 2010; Huang *et al.* 2010).

Sebagai contoh, prediksi struktur tiga dimensi dari peptide antimikroba dari siput gonggong menggunakan program *pyMol*, dengan cara memasukkan sekuens asam aminonya pada program tersebut. Aktivitas peptida antimikroba sangat ditentukan oleh karakteristik AMPs diantaranya memiliki struktur α -helix, dan memiliki sedikitnya 5 residu asam amino hidrofobik dan kaya asam amino kationik (Sathyan *et al.* 2012). Gambar 13 menunjukkan prediksi struktur tiga dimensi peptide antimikroba (AMPs).



Gambar 13 Prediksi struktur sekunder α -helix pada peptide antimikroba
Sumber : Viruly *et al.*(2019)

Prediksi struktur tiga dimensi dari suatu peptide dapat digunakan untuk mengetahui sifat fungsional peptide, sebagai contohnya pada peptide antimikroba (Gambar 13) dapat memprediksi aktivitas daya hambatnya terhadap mikroba. Struktur α -helix dari peptide antimikroba dapat memprediksi bahwa peptide ini memiliki hidrofobisitas yang lebih tinggi pada sisi nonpolar sehingga memiliki kemampuan membentuk asosiasi yang lebih kuat dengan membran sel mikroba karena kemampuan dimer dapat terbentuk oleh interaksi antara sisi nonpolar dari dua molekul yang menyebabkan mikroba terhambat atau mengalami kematian dalam waktu sangat singkat (mekanisme patogen-eliminasi). Struktur α -helix ini

juga memudahkannya berinteraksi dengan asam nukleat (mengikat DNA mikroba) dari sel mikroba, terutama peptida ini memiliki asam amino hidrofobik prolin (*ring prolin*), karena ring prolin dapat mengatur pergerakan struktur α -helix sehingga lebih mudah memasuki dan merusak membran mikroba dan mikroba lebih cepat rusak dan mengalami kematian. Asam amino prolin juga dapat menghambat translasi protein bakteri dengan menghambat 70S pada ribosom sehingga bisa sebagai antiresisten (Chen *et al.* 2007; Zoysa *et al.* 2009; Sathyan *et al.* 2012; Abraham *et al.* 2014; Wang *et al.* 2015; Suartini *et al.* 2016).

D. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskan keunggulan Bioinformatika dibandingkan dengan analisis kimia?
- 2) Jelaskanlah prinsip penggunaan bioinformatika peptide dari biota laut?
- 3) Jelaskanlah kegunaan prediksi struktur tiga dimensi dari suatu peptide secara bioinformatika ?
- 4) Jelaskanlah mengapa hasil sekuensing peptide dari biota laut harus di BLAST di NCBI ?
- 5) Jelaskanlah apa BLASTp itu ? mengapa untuk peptide digunakan BLASTp bukan BLASTn?

BAB 11

POHON FILOGENETIK PEPTIDA DARI BIOTA LAUT

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami dan membuat pohon filogenetik peptida
- 2) Mahasiswa dapat membaca pohon filogenetik peptida

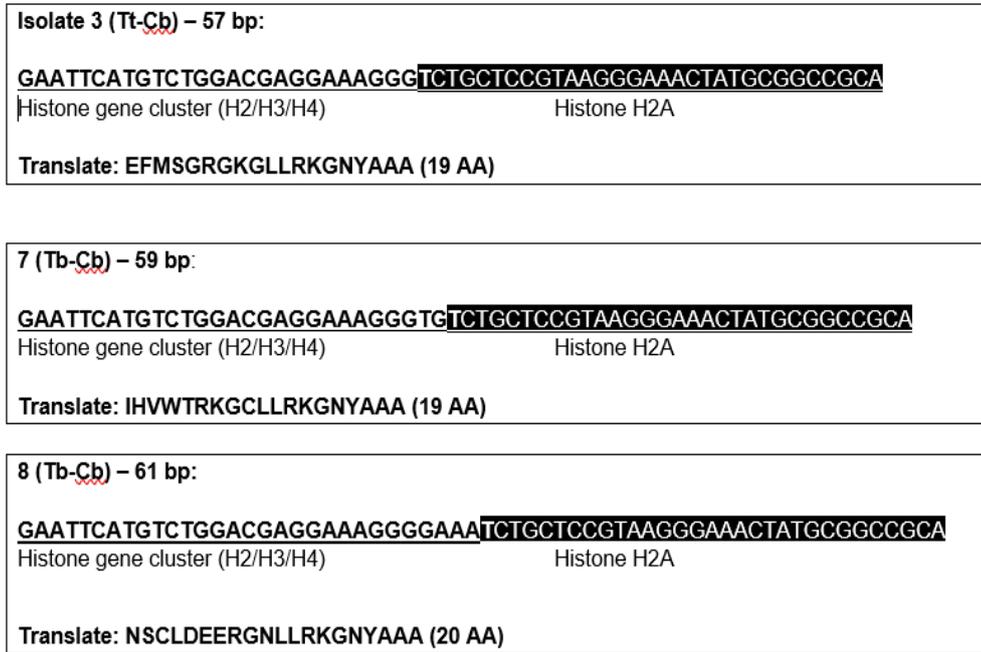
A. POHON FILOGENETIK PEPTIDA DAN CARA MEMBUATNYA

Pohon filogenetika pada peptide diperlukan untuk mengetahui asal peptide dan evolusi spesies yang mengandung peptide tersebut. Pohon filogenetik merupakan pohon yang menunjukkan evolusi berupa diagram percabangan atau "pohon" yang dapat menjelaskan secara rinci hubungan evolusi antara berbagai spesies makhluk hidup berdasarkan kemiripan dan perbedaan karakteristik fisik atau genetik. Takson yang terhubung pada pohon tersebut berarti diturunkan dari satu nenek moyang.

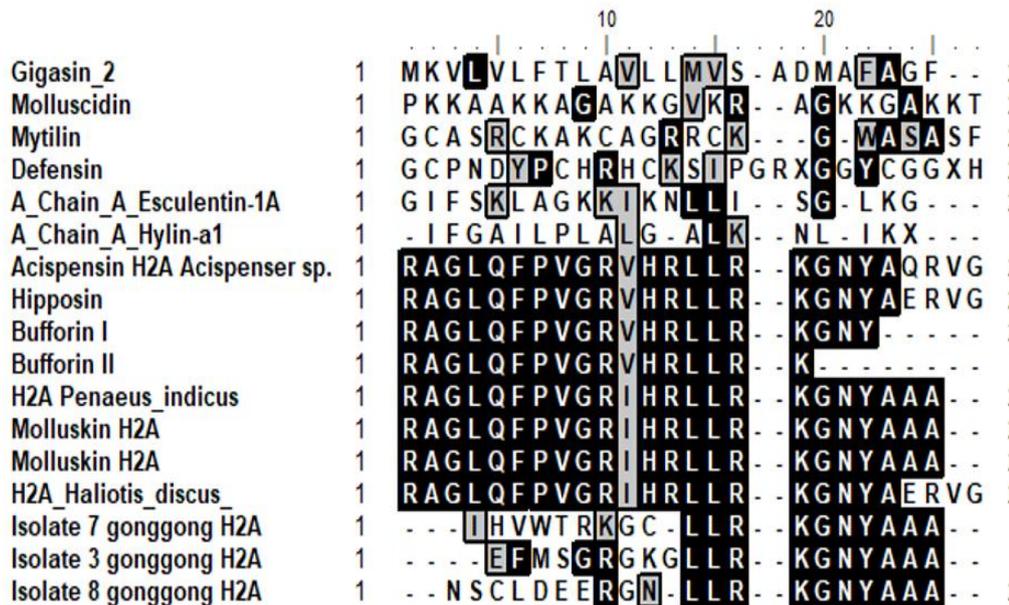
Melalui pohon filogenetik peptide maka dapat diketahui hubungan kemiripan/ homologi antar peptide dari beberapa spesies. Pembuatan pohon filogenetik peptide dapat membantu dalam menentukan sifat fungsional peptide berdasarkan kemiripannya/homologinya dengan peptide lain dari spesies yang berbeda.

Proses pembuatan pohon filogenetik dari suatu peptide dimulai dengan menentukan terlebih dahulu susunan asam amino dalam suatu peptide (sekuen peptide). Setelah didapatkan sekuen asam amino (misalnya sekuen asam amino dari siput gonggong Bintan pada Gambar 14) maka sekuen tersebut dianalisis secara bioinformatika dengan memasukkannya ke bank protein/peptide menggunakan program BLASTp (*The Basic Local Alignment Search Tool protein*) di NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) untuk mencari susunan asam amino yang memiliki kemiripan/homologi 100% dengan sekuen asam amino ini dengan beberapa sekuen asam amino dari spesies yang berbeda, misalnya didapatkan homologinya seperti pada Gambar 15. Selanjutnya hasil

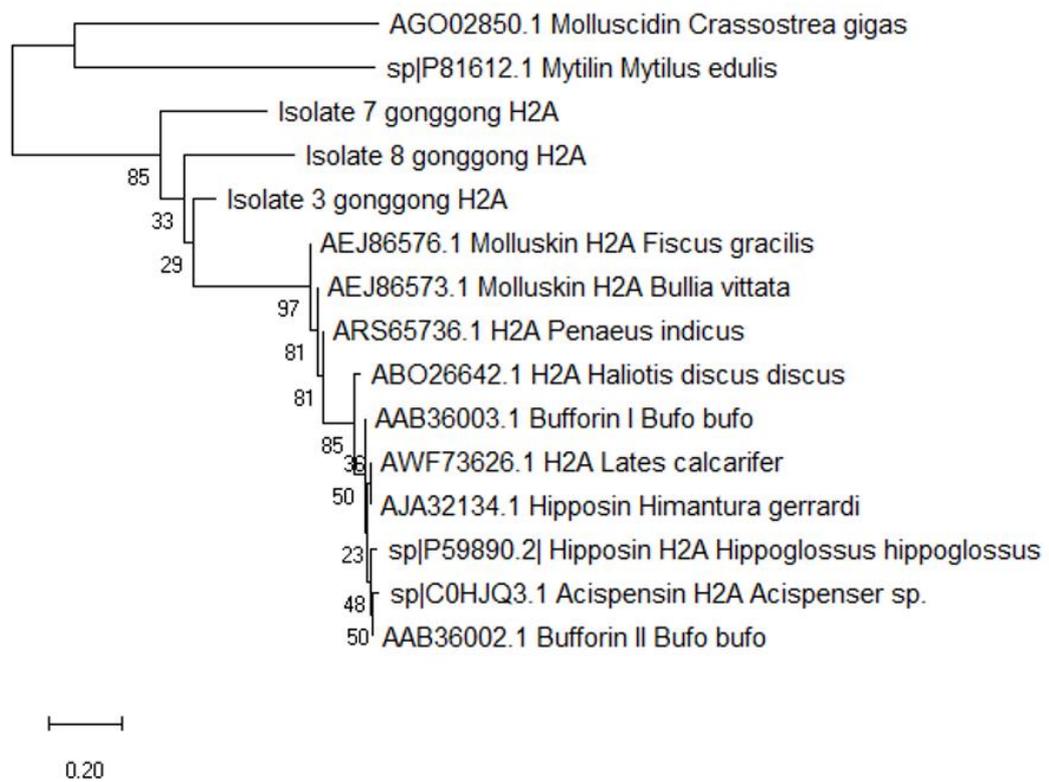
pencarian ini dimasukkan ke MEGA 6.0 untuk membuat pohon filogenetiknya (Gambar 16).



Gambar 14. Hasil *translate* sekuensing DNA pada siput laut Gonggong Bintang



Gambar 15. Hasil *Alignment* asam amino residu H2A pada siput Gonggong Bintang (Isolat 3,7 dan 8) dengan *antimicrobial peptide derived* H2A dari spesies lain (Viruly *et al.* 2019)



Gambar 16 Pohon filogenetik peptide antimikroba (AMPs) histon *derived* H2A pada siput Gonggong Bintang (Isolat 3,7 dan 8) dengan AMPs histon *derived* H2A dari spesies yang lain ((Viruly *et al.* 2019)

B. CARA MEMBACA POHON FILOGENETIK

Gambar 16 merupakan contoh pohon filogenetik yang didapatkan dari spesies siput laut gonggong (*Laevistrombus turturella*) asal Pulau Bintang Kepri. Pohon filogenetik ini menggambarkan hubungan kekerabatan berdasarkan homologi sekuen DNA atau hubungan kekerabatan berdasarkan homologi sekuen asam amino pada peptide/protein dari suatu spesies.

Gambar 16 merupakan contoh pohon filogenetik yang dapat dibaca bahwa isolate siput laut gonggong (*Laevistrombus turturella*) yang mengandung peptide antimikroba (AMPs) histon *derived* H2A berada pada *clade* yang berbeda meskipun berasal dari satu keturunan/nenek moyang yang sama dengan jarak kekerabatannya 0,2. Namun demikian, isolate 3 memiliki kekerabatan yang lebih dekat dengan peptide antimikroba (AMPs) histon *derived* H2A Molluskin dari spesies gastropoda lainnya (*Fiscus gracilis* dan *Bullia vittata*), yaitu berasal dari

nenek moyang yang sama. Informasi ini dapat digunakan untuk menduga sifat fungsional yang sama antara AMPs histon *derived* H2A dari siput laut gonggong dengan AMPs histon *derived* H2A Molluskin dari spesies gastropoda lainnya (*Fiscus gracilis* dan *Bullia vittata*). Hal ini tidak berlaku untuk isolate 7 dan 8 AMPs histon *derived* H2A dari siput laut gonggong.

C. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskanlah apa kegunaan pohon filogenetik ?
- 2) Jelaskanlah apa beda antara pohon filogenetik DNA dengan pohon filogenetik peptida?
- 3) Jelaskanlah prinsip pembuatan pohon filogenetik?
- 4) Jelaskanlah cara membaca pohon filogenetik peptide dari biota laut?
- 5) Jelaskanlah mengapa jika sampel berada pada satu *clade* maka dapat dikatakan memiliki kekerabatan yang dekat sehingga bisa diduga memiliki kemiripan sifat fungsional ?

BAB 12

APLIKASI PEPTIDA DARI BIOTA LAUT PADA PANGAN (PEMBUATAN *SEASONING*) KURIKULUM BERBASIS MERDEKA BELAJAR KAMPUS MERDEKA

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami aplikasi peptida dari biota laut sebagai produk pangan berbasis peptida (*seasoning*)
- 2) Mahasiswa dapat mengaplikasikannya pada program kewirausahaan dikampus dan dapat bekerjasama dengan UMKM atau Industri Pangan

A. APLIKASI PEPTIDA DARI BIOTA LAUT SEBAGAI PRODUK BERBASIS PEPTIDA (*SEASONING*)

Peptida merupakan potongan protein yang tersusun dari 2-50 asam amino atau susunan 2-50 asam amino yang ada pada suatu organisme sebagai peptide alami. Biota laut merupakan sumber peptide alami maupun potongan peptide dari protein yang berupa hidrolisat protein. Sampai saat ini pengolahan biota laut masih sedikit yang berbasis peptide, hal ini disebabkan karena ketidapahaman khasiat peptide pada suatu bahan pangan dan kesulitan untuk mendapatkan peptide.

Seasoning adalah suatu produk yang dapat membangkitkan cita rasa (*flavor potentiator*) atau bahan yang dapat menekan atau mengurangi rasa yang tidak diinginkan (rasa bawang, sayuran mentah, bau amis ikan, rasa pahit), namun bahan itu (*seasoning*) tidak memiliki cita rasa sama sekali. *Seasoning* alami dapat diperoleh dari proses hidrolisis protein dari biota laut selama proses fermentasi menggunakan bakteri asam laktat (BAL), sehingga dihasilkan peptide khusus pemberi cita rasa (umami, manis, asam, asin dan pahit) (Jay *et al.* 2005; Raghavan 2006).

Seasoning sintetik yang sangat dikenal di pasaran dengan nama *mono sodium glutamate* (MSG), jika dikonsumsi secara berlebihan maka akan

mengganggu Kesehatan. Saat ini banyak dikembangkan *seasoning* dari biota laut yang alami dan aman untuk dikonsumsi.

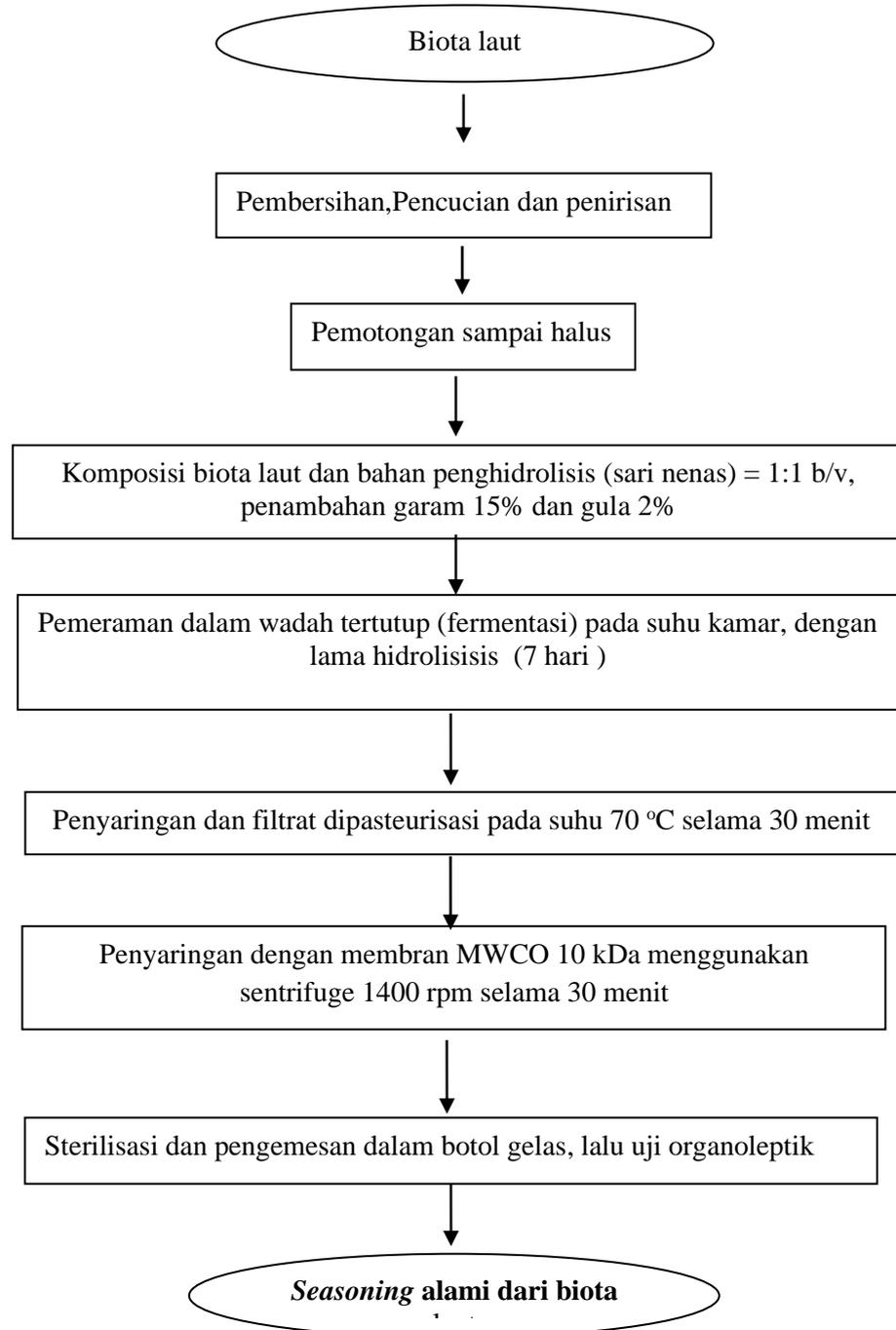
B. PEMBUATAN SEASONING (PEPTIDA SEBAGAI PENYEDAP RASA)

Seasoning merupakan bagian dari flavor bahan pangan yang terdiri dari tiga komponen utama yaitu bau, rasa dan rangsangan mulut. Bau akan muncul pada saat pangan berbentuk uap, rasa dapat dinikmati bila dirasakan oleh lidah, sedangkan rangsangan mulut akan muncul pada saat makanan tersentuh dan terasa di rongga mulut. Dua jenis bahan pembangkit cita rasa secara umum adalah asam amino L atau garamnya, nukleotida dan peptide. Komponen inilah yang dapat menimbulkan rasa gurih (*umami*) pada makanan. Terjadinya perbedaan perubahan flavor termasuk *seasoning* disebabkan oleh perubahan formasi dari peptida dan asam amino dari proses hidrolisis protein sehingga mengubah struktur dan susunan asam amino dari protein. Hasil hidrolisis protein pada bahan baku pangan (ikan, daging, ayam, dan kerang-kerangan, rumput laut) akan dapat menimbulkan rasa umami jika memiliki berat molekul lebih dari 6000 dalton (6 kDa). Hasil hidrolisis protein yang memiliki berat molekul 6 kDa berupa peptida gurih ini masih sering memiliki rasa pahit yang berkombinasi dengan rasa asam manis dan asin sehingga dapat menimbulkan rasa gurih/umami.

Peptida hasil hidrolisis protein selama proses fermentasi atau proses enzimatik yang memiliki berat molekul rendah akan berasa pahit dan umumnya sebagian besar mengandung residu asam amino yang hidrofobik. Protein dari biota laut (Ikan, kerang, udang, cumi, siput laut) secara umum merupakan protein hidrofobik yang berasa pahit, tetapi melalui proses hidrolisis dapat mengurangi sifat hidrofobik asam amino pada suatu protein, bahkan hidrolisis pada protein otot/ daging ikan dan jamur dapat menghilangkan sifat hidrofobik ini. Susunan asam amino Glisin, Aspartat, Asam glutamat dan Glutamin pada peptide pembangkit cita rasa ini memiliki tingkat hidrofobisitas yang rendah dari pada asam amino lainnya. Rasa pada asam amino bebas adalah manis, pahit, netral dan asam dapat diperoleh melalui proses hidrolisis protein pada bahan baku pangan yang kaya proteinnya. Bahan baku yang kaya protein dengan kandungan peptide

yang dapat membangkitkan cita rasa umami lebih banyak didapatkan pada biota laut diantaranya : udang, kerang, siput laut, ikan, cumi dan rumput laut.

Proses pembuatan seasoning dari biota laut melalui proses fermentasi dan dikombinasi dengan enzim bromelin/papain dapat menghasilkan cita rasa (seasoning) yang khas dan alami (Gambar 17) (Modifikasi Viruly *et al.* 2011).



Gambar 17. Diagram alir pembuatan *seasoning* dari biota laut

C. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskanlah prinsip pada proses pembuatan *seasoning* berbasis peptida ?
- 2) Jelaskanlah apa beda *seasoning* alami dengan *seasoning* sintetik?
- 3) Jelaskanlah perbedaaan antara *seasoning* berbasis peptide dengan *seasoning* sintetik ?
- 4) Jelaskanlah biota laut apa yang paling sering digunakan untuk pembuatan *seasoning* alami ?sebutkan alasannya!
- 5) Jelaskanlah apakah ada perbedaaan pembuatan *seasoning* alami dari bahan baku biota laut yang berbeda, misalnya antara *seasoning* dari kerang dengan *seasoning* dari ikan laut ? jika ada perbedaan maka tolong dijelaskan !

BAB 13

APLIKASI PEPTIDA DARI BIOTA LAUT PADA *PHARMACEUTICAL* (PEMBUATAN ANTIBIOTIK ALAMI/PEPTIDA ANTIMIKROBA) KURIKULUM BERBASIS MERDEKA BELAJAR KAMPUS MERDEKA

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami aplikasi peptida dari biota laut (gastropoda) sebagai antibiotik alami (AMPs)
- 2) Mahasiswa dapat mengaplikasikannya pada program kewirausahaan dikampus dan dapat bekerjasama dengan UMKM atau Industry Farmasi

A. APLIKASI PEPTIDA DARI BIOTA LAUT MOLUSKA (GASTROPODA) SEBAGAI ANTIBOTIK ALAMI (AMPs)

Antibiotik alami merupakan senyawa bioaktif alami yang diekstrak dari bahan alam termasuk dari biota laut (kaya peptida alami) yang dapat digunakan untuk mengobati infeksi akibat mikroba (bakteri, virus, kapang dan khamir). Saat ini berkembang resisten antibiotik sehingga penelitian beralih ke antibiotik alami yang tidak berefek samping di dalam tubuh. Antibiotik konvensional umumnya disamping dapat menyebabkan resisten juga dapat merusak hati dan ginjal, sehingga perlu dicari alternatif pengganti antibiotik konvensional.

Dewasa ini ribuan senyawa bioaktif telah diidentifikasi dari organisme laut, hal ini mengungkapkan bahwa hewan laut juga dapat dijadikan salah satu sumber obat (*pharmaceutical*), diantaranya adalah senyawa peptida antimikroba (*Antimicrobial Peptides*, AMPs) (Li *et al.* 2011). *Antimicrobial Peptides* merupakan senyawa dengan bobot molekul rendah, berupa protein atau peptida pendek yang diproduksi oleh sel-sel dan jaringan dalam tubuh makhluk hidup yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh, mulai dari prokariot, tumbuhan, hewan dan manusia. AMPs dapat memiliki aktivitas menghambat atau membunuh mikroba (Battison *et al.* 2008; Fitri 2012). Peptida antimikroba (AMPs) adalah salah satu senyawa yang paling penting dalam *innate immunity* (kekebalan bawaan), terutama pada hewan invertebrata sebagai pertahanan utama terhadap berbagai potensi patogen dan secara alami digunakan untuk sistem pertahanan

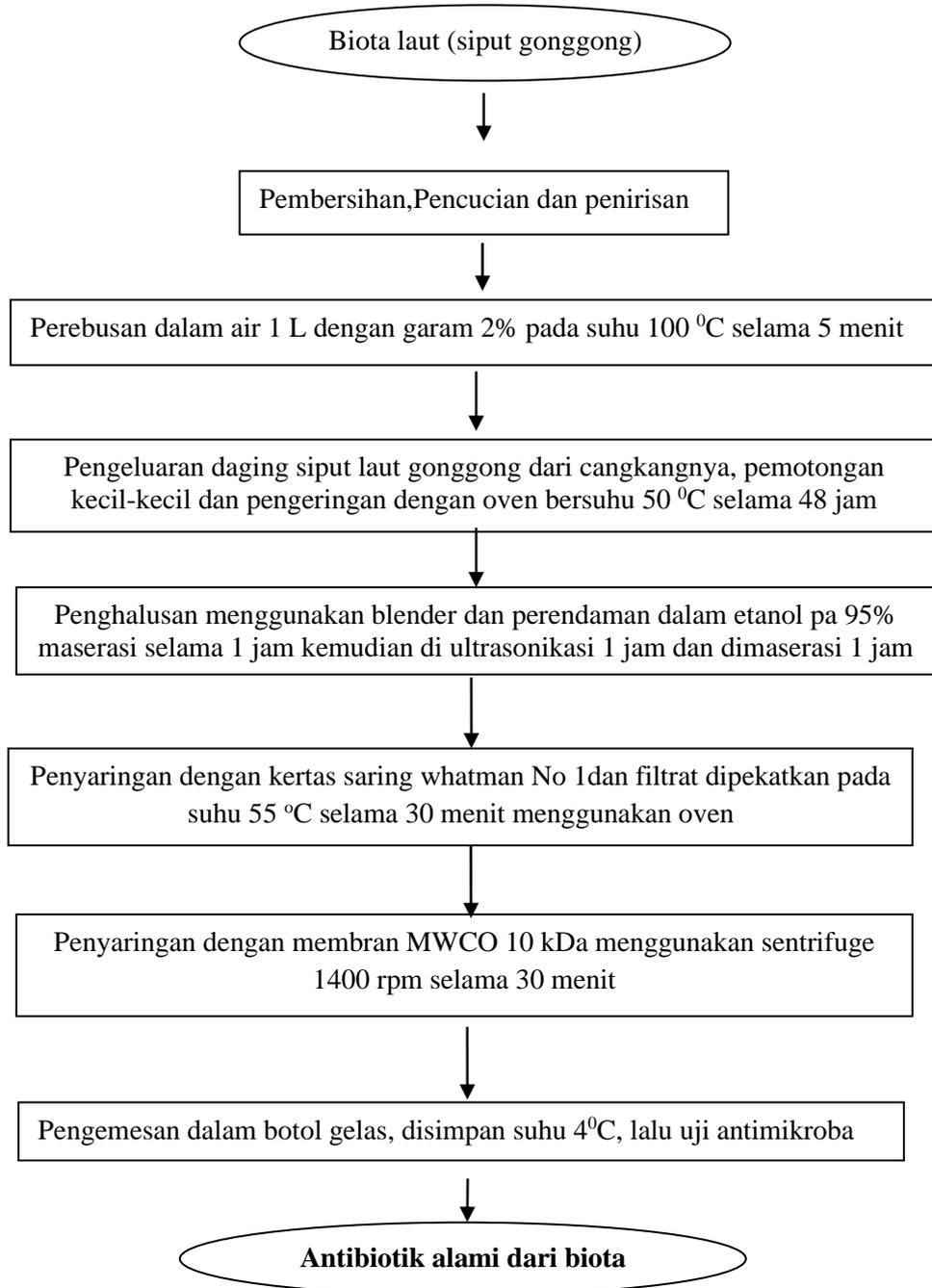
tubuh non-spesifik supaya dapat mempertahankan hidupnya pada kondisi yang ekstrim (Li *et al.* 2011; Sathyan *et al.* 2012). AMPs ini ternyata banyak ditemukan pada beberapa hewan invertebrata laut diantaranya golongan sponge laut, moluska (bivalva dan gastropoda), dan krustasea (Ovchinnikova *et al.* 2006).

Adanya kasus kecepatan resistensi terhadap bakteri patogen, mendorong para peneliti untuk mencari alternatif antibiotik alami yang aman dan tidak menimbulkan efek samping, termasuk dari kelas *Gastropoda*, karena diduga memiliki kemampuan antibiotik yang lebih baik dibandingkan AMPs dari hewan darat. AMPs pada moluska umumnya memiliki protein histon yaitu suatu bentuk protein yang berperan penting dalam peptida antibiotik (Duval *et al.* 2009; Sathyan *et al.* 2012). Salah satu keistimewaan mekanisme kerja antibiotik alami ini (AMPs) dari moluska adalah dapat membunuh mikroorganisme dalam waktu sangat singkat (mekanisme patogen-eliminasi). Hal ini disebabkan AMPs dari moluska dapat berinteraksi dengan asam nukleat (mengikat DNA mikroba) dari sel mikroba, sehingga mikroba lebih cepat rusak mengalami kematian. Sifat membunuh atau menghambat mikroba dengan jalan merusak asam nukleatnya ini menjadikan AMPs dari moluska sulit mengalami resisten terhadap mikroba. Dengan demikian AMPs dari moluska berfungsi sebagai antimikroba alami dengan spektrum yang luas, yaitu memiliki kemampuan antimikroba alami terhadap bakteri (bakteri gram positif dan gram negatif), fungi, virus, protozoa dan khamir (Li *et al.* 2011; Zoysa *et al.* 2009; Nam *et al.* 2015). Penelitian AMPs dari moluska menjadi fokus pemecahan masalah resistensi antibiotik konvensional (Yu *et al.* 2016). Sejak Tahun 2009 telah berhasil ditemukan 35 AMPs baru dari isolasi terhadap 12 spesies moluska yang berbeda-beda (Li *et al.* 2011).

Tahun 2019 telah berhasil ditemukan antibiotik alami dari siput laut Gonggong Bintan (ekstrak daging) dengan karakteristik diantaranya: peptida pendek/ sederhana (memiliki 12 residu asam amino), berat molekul 1.4 kDa, struktur α -helix, dan kaya asam amino hidrofobik (49.9%) sehingga berpotensi dikembangkan sebagai antibiotik alami untuk membantu dalam mengatasi permasalahan resistensi terhadap antibiotik konvensional terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* (Viruly *et al.* 2019).

B. PEMBUATAN ANTIBIOTIK ALAMI (PEPTIDA ANTIMIKROBA)

Antibiotik alami dapat diperoleh dari hasil hidrolisis atau ekstraksi sampel hewan atau tumbuhan di alam yang mengandung senyawa bioaktif atau peptida bioaktif. Sebagai contoh pembuatan antibiotik alami dari biota laut siput gonggong asal Pulau Bintan Kepri (Gambar 18) (Modifikasi Viruly *et al.* 2019).



Gambar 18. Diagram alir pembuatan antibiotik alami dari biota laut

C. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskanlah prinsip pada proses pembuatan antibiotik alami berbasis peptida ?
- 2) Jelaskanlah apa yang dimaksud peptide antimikroba (AMPs)?
- 3) Jelaskanlah mengapa peptide antimikroba dapat disebut sebagai antibiotik alami?
- 4) Jelaskanlah mengapa pembuatan peptide antimikroba diperlukan penyaringan menggunakan membrane MWCO berukuran 10 kDa?
- 5) Jelaskanlah apa fungsi pemekatan filtrat peptide sebelum penyaringan?

BAB 14

APLIKASI PEPTIDA DARI BIOTA LAUT PADA KOSMETIKA (PEMBUATAN PEPTIDA KOLAGEN) KURIKULUM BERBASIS MERDEKA BELAJAR KAMPUS MERDEKA

Tujuan Intruksional

- 1) Mahasiswa dapat memahami peptide kolagen dan proses pembuatannya
- 2) Mahasiswa dapat mengaplikasikannya pada program kewirausahaan dikampus dan dapat bekerjasama dengan UMKM atau Industri Kosmetik

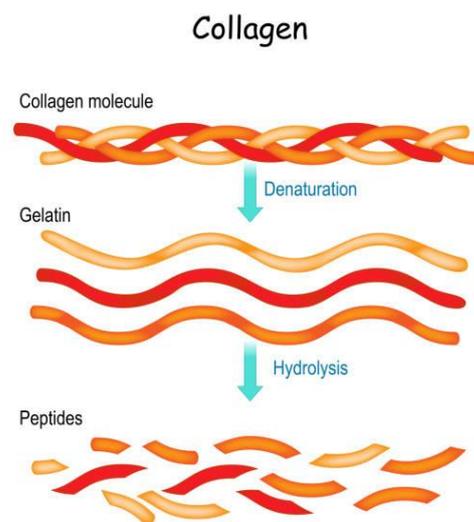
A. APLIKASI PEPTIDA DARI BIOTA LAUT SEBAGAI PEPTIDA KOLAGEN

Kolagen merupakan jenis protein dengan struktur berserat yang merupakan komponen utama matriks ekstraseluler pada suatu organisme hidup yang berjumlah 25-30% dari total protein dan berperan penting dalam menjaga integritas struktur biologis beberapa jaringan. Protein kolagen adalah salah satu bahan struktural utama pada tubuh makhluk hidup, terutama ditemukan di tulang rawan. Fungsi utama kolagen adalah untuk memberikan kekuatan, elastisitas, dan kohesi pada jaringan. Kolagen juga berperan dalam regenerasi jaringan. Selain jaringan ikat, protein kolagen juga dapat ditemukan di kulit, ligamen, tendon, dan tulang. Terdapat tiga jenis utama kolagen yang ditemukan dalam tubuh yaitu Tipe I, II, dan III dan mayoritas kolagen adalah kolagen Tipe I, yang dapat memberikan kekuatan tarik yang sangat besar pada suatu jaringan. Bertambahnya usia pada seseorang maka akan mengurangi tingkat produksi kolagen dan ini dapat menyebabkan hilangnya elastisitas dan kekuatan kulit serta bagian struktural lainnya dari tubuh (Marousek *et al.*, 2015; Schmidt *et al.*, 2016). Pemanfaatan ekstrak kolagen diantaranya untuk industri kosmetik, farmasi (penyembuh luka), dan industri makanan karena kolagen memiliki sifat daya tarik (*tensile strength*) yang tinggi, antigenisitas rendah, dan biokompatibilitas yang baik. Kolagen juga dapat menginduksi koagulasi trombosit sehingga dapat mempengaruhi diferensiasi sel, dan berkontribusi dalam penyembuhan luka (Subhan *et al.*, 2017;

Dang *et al.*, 2017). Industri kosmetik saat ini lebih banyak memanfaatkan kolagen atau peptide kolagen untuk anti penuaan sehingga tidak perlu lagi operasi plastik

Dewasa ini sebagian besar kolagen komersial bersumber dari jaringan tulang dan kulit dari hewan darat sapi atau babi (Choi *et al.*, 2013) sehingga masih bermasalah terkait kehalalannya (Hidayat & Siradj, 2015). Banyak para peneliti perikanan mencari alternatif sumber kolagen yang dijamin kehalalannya dari biota laut (kulit dari ikan tuna, teripang). Komoditas perikanan yang saat ini banyak dimanfaatkan untuk mendapatkan kolagen diantaranya adalah teripang. Hal ini disebabkan karena protein kolagen yang terkandung dalam tubuh teripang mencapai 86% dari total proteinnya (Purcell, 2014).

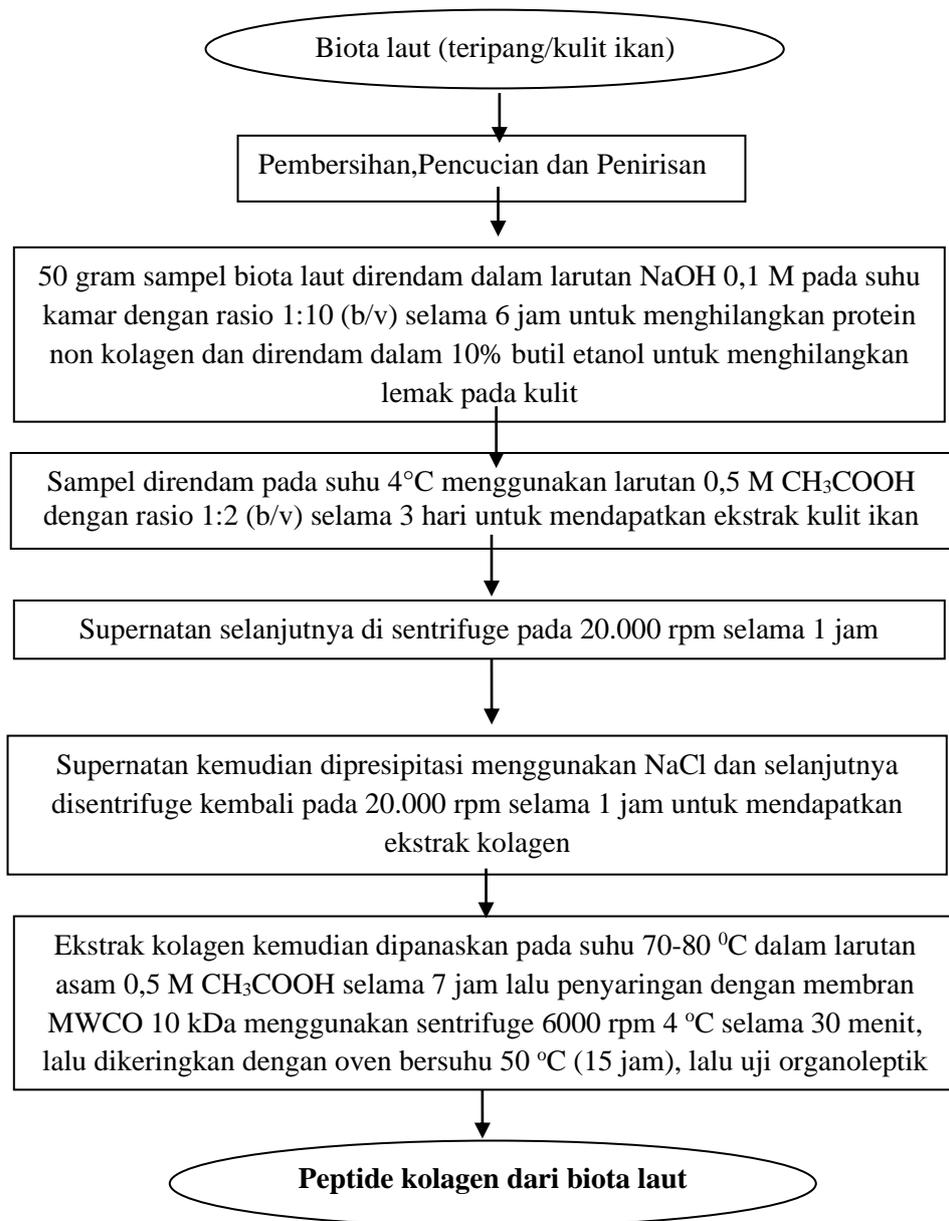
Faktanya sampai saat ini pemanfaatan protein kolagen masih menimbulkan banyak kendala dalam proses penyerapannya ke dalam tubuh, oleh karena itulah para peneliti memproses protein kolagen lebih lanjut menjadi peptide kolagen dengan berat molekul yang lebih kecil (kurang dari 10 kDa). Peptida kolagen merupakan bentuk protein kolagen yang sudah terhidrolisis, atau dikenal juga dengan nama hidrolisat kolagen. Gambar 19 menunjukkan bahwa peptida kolagen merupakan protein gelatin yang telah dipecah menjadi ukuran yang lebih kecil (peptide kolagen). Peptida kolagen yang merupakan hidrolisat kolagen ini sangat mudah larut dalam air dingin, sehingga sangat mudah dicerna dan diserap oleh tubuh.



Gambar 19. Proses perubahan protein kolagen menjadi peptida kolagen
Sumber: <https://www.istockphoto.com/id/foto-foto/collagen-peptides>

B. PROSES PEMBUATAN PEPTIDA KOLAGEN

Proses pembuatan kolagen untuk bahan baku dari biota laut (teripang atau kulit ikan) pada umumnya sama, yaitu menggunakan metode kelarutan kolagen dalam asam dan metode kelarutan kolagen dalam enzim (pepsin, tripsin atau enzim protease lainnya). Metode menggunakan enzim sangat mahal dan lebih sulit dilakukan namun mutu kolagen lebih baik. Pembuatan peptide kolagen di tingkat UMKM dan praktikum mahasiswa dapat menggunakan metode kelarutan kolagen dalam asam, sebagaimana Gambar 20 (Modifikasi Syafitri *et al.* 2020).



Gambar 20. Diagram alir pembuatan peptide kolagen dari biota laut

C. UJI KOMPETENSI

- 1) Jelaskanlah perbedaan antara kolagen, gelatin dan peptide kolagen ?
- 2) Jelaskanlah prinsip pembuatan peptide kolagen?
- 3) Jelaskanlah mengapa peptide kolagen dapat digunakan sebagai alternatif operasi plastik di bidang kosmetika ?
- 4) Jelaskanlah mengapa peptide kolagen lebih baik daripada kolagen?
- 5) Jelaskanlah mengapa ekstraksi kolagen dapat digunakan asam atau enzim? jelaskan pula keuntungan dan kerugiannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abraham T, Prenner EJ, Lewis RNAH, Mant CT, Keller S, Hodges RS, Melhaney RN. 2014. Structure-activity relationships of the antimicrobial peptide gramicidin S and its analogs: Aqueous solubility, self-association, conformation, antimicrobial activity and interaction with model lipid membranes. *Biochim Biophys Acta*, 1420-1429.
- Abarrategui CL, McBeth C, Mandal SM, Sun ZJ, Heffron G, Menéndez AA, Migliolo L, Acosta OR, Villarino MG, Nolasco DO, Falcão R, Cherobim MD, Dias SC, Brandt, Wessjohann L, Starnbach M, Franco OL, González AJO. 2015. Cm-p5: an antifungal hydrophilic peptide derived from the coastal mollusk *Cenchritis muricatus* (Gastropoda:Littorinidae). *J The Faseb* 29: 1-11
- Al-sahlany STG , Altemimi AB , Al-Manhel J , Niamah K , Lakhssassi, Ibrahim SA. 2020. Purification of Bioactive Peptide with Antimicrobial Properties Produced by *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal Foods* 9:1-11
- Ali A, Hala Y, Darminto. 2006. Screening and partial characteristics of antimicrobial compounds of mangrove snails and thin layer chromatography profiles of active fractions. *J Bio Research* 12:63-68.
- Ali Khomsan. 2006. Solusi Makanan Sehat. PT Rajagrafindo Persada, Jakarta.
- Battison AL, Summerfield R, Patrzykat A. 2008. Isolation and characterisation of two antimicrobial peptides from haemocytes of the American lobster *Homarus americanus*. *J Fish and Shellfish immun* 25:181-187.
- Bahnsen JS, Franzyk H, Sandberg-Schaal A, Nielsen HM. 2013. Antimicrobial and cell-penetrating properties of penetratin analogs: Effect of sequence and secondary structure. *Biochem Biophys Acta*. 1928: 223-232.
- Blasa M, Gennari L, Angelino D and Ninfali P. 2010. Fruit and Vegetable Antioxidants in Health. In :Watson RR and Freedy VR. (Ed.). *Bioactive Foods in Promoting Health. Fruit and Vegetables*. Elsevier Inc. New York.
- Bhat ZF, Kumar S, Bhat HF. 2015. Bioactive peptides of animal origin: a review. *Journal of Food Science Technology*. 52(9):5377- 5392.
- Chen Y, Guarneri MT, Vasil AI, Vasil ML, Mant CT, Hodges RS. 2007. Role of peptide hydrophobicity in the mechanism of action of α -helical antimicrobial peptide. *Antimicrob Agent Chemother*. 1398-1406.
- Cheng Hua L, Jian-Min Z, Lin-Sheng S. 2009. A review of advances in research on marine molluscan antimicrobial peptides and their potential application in aquaculture. *J Molluscan Research* 29(1): 17–26.

- Choi, J. H., Benham, S. H., Kim, S. M. 2013. Physicobiochemical characteristics of scallop mantle collagen soluble in pepsin. *Journal Agricultural Science and Technology*. 15: 293-302.
- Chakrabarti S, Jahandideh F, Wu J. 2004. Food-derived bioactive peptides on inflammation and oxidative stress. *Journal of Biomed Res Int*. 1:1-11
- Dang, Q., Liu, K., Zhang, Z., Liu, C., Liu, X., Xin, Y., Cheng, X., Xu, T., Cha, D., Fan, B. 2017. Fabrication and evaluation of thermosensitive chitosan/Collagen/ α , β glycerophosphate hydrogels for tissue regeneration. *Carbohydrate Polymers*. 167: 145-157.
- Duval E, Zatylny C, Laurencin M, Baudy-Floc'h M, Henry J. 2009. KKKKPLFGLFFGLF: A cationic peptide designed to exert antibacterial activity. *J Peptides*. 30:1608-1612.
- Fitri N., 2012 Antimicrobial peptides as an alternative medicine on antibiotic resistance. *J Indonesian Pharm* 2: 62-67.
- Hidayat, A. S. & Siradj, M. 2015. Sertifikasi halal dan sertifikasi non halal pada produk pangan industri. *Ahkam*. 15(2): 199-210. doi.org/10.15408/ajis.v15i2.2864.
- Huang YH, Huang JH, Chen Y. 2010. Alpha-helical cationic antimicrobial peptides: relationships of structure and function. *Protein Cell*. 1: 143-152.
- Goldberg I. 1994. Introduction. In : Goldberg I.(Ed.). *Functional Foods. Designer Foods, Pharmafoods, Nutraceuticals*. Chapman & Hall, New York.
- Gorbushin AM dan Iacovlevo NV. 2006. Haemogram of *Littorina littorea*. *J Marine Bio Ass of the United Kingdom*. 86:1175-1181
- Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. 2005. *Modern Food Microbiology*. Ed ke-7. New York: Springer Science, Inc.
- Khaldi N. 2012. Bioinformatics approaches for identifying new therapeutic bioactive peptides in food. *Functional Foods in Health and Disease*. 2(10): 325-338.
- Kim SK, Wijesekara I. 2010. Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides: a review. *Journal of Funct Food*. 2:1-9.
- Korhonen H, Pihlanto A. 2003. Food derived bioactive peptides opportunities for designing future foods. *Journal of Curr Pharm*. 9:1297-1308.
- Lattimer JM and Haub MD. 2010. Effects of Dietary Fiber and Its Components on Metabolic Health. *Nutrients*, 2 : 1266-1289.

- Li Y, Yu J. 2014. Research progress in structureactivity relationship of bioactive peptides. *Journal of Med Food*. 18(2):147-156.
- Li H, Parisi MG, Parrinello N, Cammarata M, Roch P. 2011. Molluscan Antimicrobial Peptides, A Review from Activity-based Evidences to Computer-assisted Sequences. *J Int Scholarly Research*. 8 :85-97.
- Marousek, J., Marouskova, A., Myskova, K., Vachal, J., Vochozka, M., Zak, J. 2015. Techno-economic assesment of collagen casings waste management. *International Journal of Environmental Science and Technology*. 12(10): 3385-3390. <http://dx.doi.org/10.1007/s13762-015-0840-z>
- Murray BA, Fitzgerald RJ. 2007. Angiotensin-I converting enzyme inhibitory peptides derived from food proteins: Biochemistry, bioactivity and production. *Curr Pharm Design Journal*. 13:773-791
- Nam BH, Seo JK, Lee MJ, Kim YO, Kim DG, An CM, Park NG. 2015. Functional Analysis of Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) β -thymosin: Focus on antimicrobial activity. *J Fish and Shellfish Immun*. 45: 167-174.
- Orobinskaya VN, Permyakov AV, Piserenko ON, Galdin EV, Konovalova ID. 2020. Modern Methods for Extraction of Biologically Active Compounds. *IOP Conf.Series:Earth and Enviromental Science*. 613. Doi :10.1088/1755-1315/278/1/012078
- Ovchinnikova TV, Balandin SV, Aleshina GM, Tagaev AA, Leonova YF, Krasnodembsky ED, Men'shenin AV, Kokryakov VN. 2006. Aurelin, a novel antimicrobial peptide from jellyfish *Aurelia aurita* with structural features of defensins and channel-blocking toxins. *J Biochem and Biophys Research Communicat*. 348 : 514–523.
- Purcell, S. W. 2014. Processing Sea Cucumbers Into Beche-De-Mer: A Manual For Pacific Island Fishers. Southern Cross University, Lismore, and the Secretariat of the Pacific Community, Noumea. 44 Halaman.
- Nurilmala M dan Ochiai Y. 2016. Molecular characterization of southern bluefin tuna myoglobin (*Thunnus maccoyii*). *J Fish Fisiol and Biochem*. 42: 1407-1416
- Raghavan S. 2006. *Handbook of Spice, Seasoning and Flavorings*. Ed ke-2. New York: CRC Press.
- Ryan JT, Ross RP, Bolton D, Fitzgerald GF, Stanton C. 2011. Bioactive peptides from muscle sources: Meat and fish. *Nutrients*. 3(9): 765–791.
- Rosenfeld Y, Lev N, Shai Y. 2010. Effect of the hydrophobicity to net ositive charge ratio on antibacterial and anti-endotoxin activities of structurally similar antimicrobial peptide. *J. Biochem*. 49: 853-861.

- Sathyan, N.R., Philip, Chaithanya ER, Kumar RRA. 2012. Identification and molecular characterization of molluskin, a histone-H2A-derived antimicrobial peptide from molluscs. International scholarly research network. *J ISRN Molecular Biol.* ID. 219656. 6 pages.
- Satheeshkumar P, Basheer Khan A, Senthilkumar D. 2010. Marine Organisms as potential supply for drug finding-A review study. *Journal of Scienties Research* 5 (6): 514-519.
- Safithri, M., Tarman, K., Suptijah, P., Sagita, S. N. 2020. Karakteristik kolagen larut asam teripang gama (*Stichopus variegatus*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia.* 23(1): 166-177. doi.org/10.17844/jphpi.v23i1.31063
- Schmidt, M. M., Dornelles, R. C. P., Mello, R., Kubota, E. H., Mazutti, M., Kempka, A. P., Demiate, I. M. 2016. Collagen extraction process. *International Food Research Journal.* 23(3): 913-922.
- Subroto MA. 2008. Real Food, True Health. Makanan Sehat Untuk Hidup Lebih Sehat. PT AgroMedia Pustaka, Jakarta.
- Subhan, F., Kang, H. Y., Lim, Y., Ikram, M., Baek, S. Y., Jin, S., Jeong, Y. H., Kwak, J. Y., Yoon, S. 2017. Fish scale collagen peptides protect against CoCl₂/TNF- α -induced cytotoxicity and inflammation via inhibition of ROS, MAPK, and NF- κ B pathways in HaCaT cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity.* 2017:1-17. doi.org/10.1155/2017/9703609
- Suartini IGAA, Agustini NLP, Setiasih NLE, Putriningsih S, Nurwidana DL, 2016. Aktivitas biologis Imunoglobulin yolok anti parvovirus setelah perlakuan suhu. *Bul Veteriner Udayana* 8 (1) :79-85.
- Viruly L. 2019. Karakterisasi Peptida Antimikroba (AMPs) dari Siput Laut Gonggong (*Strombus canarium*) Asal Pulau Bintan Kepulauan Riau [Disertasi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.
- Viruly L. 2011. Pemanfaatan Siput Laut Gonggong (*Strombus canarium*) Asal Pulau Bintan Kepulauan Riau Menjadi *Seasoning* Alami [Tesis]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor. 96 hal.
- Viruly L. 2012. Pemanfaatan Limbah Air Rebusan Siput Laut Gonggong (*Strombus canarium*) Asal Pulau Bintan Kepulauan Riau Menjadi *Seasoning* Alami. *J Dinamika Maritim PPSPL UMRAH* 1:36-59.
- Viruly, L., Andarwulan N, Tenawidjaja M, Nurilmala M. 2019. Morphological and Molecular Partial Histone-H3 Characterization of Bintan Sea Snail Gonggong (*Strombus* sp.) as a Species Validation. *Hayati Journal of Bioscience* 26 (2):56-62.

- Viruly, L., Andarwulan N, Tenawidjaja M, Nurilmala M. 2019. Protein histon pada siput laut gonggong *Strombus* sp. sebagai kandidat pangan fungsional. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis* 11(1):89-102.
- Viruly, L., Andarwulan N, Tenawidjaja M, Nurilmala M. 2019. Protein profiles and DNA isolation of hemolymph gonggong snail *Strombus* sp. from Bintan. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 278. Doi :10.1088/1755-1315/278/1/012078.
- Vermeer LS, Abbate V, Ruh E, Bui TT, Wilkinson LJ, Kanno T, Jumagulova E, Kozłowska J, Patel J, McIntyre CA, Yam WC, Siu G, Atkinson AA, Lam JKW, Bansal SS, Drake AF, Mitchell GH, Mason AJ. 2012. Conformational flexibility determines selectivity and antibacterial, antiplasmodial, and anticancer potency of cationic α -helical peptides. *J Biol Chem.* 287: 34120-34133.
- Wang G, Mishra B, Lau K, Lushnikova T, Golla R, Wang X. 2015. Antimicrobial peptides in 2014. *J Pharmaceuticals.* 8: 123-150.
- Westermeier R. 2004. Electrophoresis in Practice: A Guide to Theory and Practice. New-Jersey: John Wiley & Sons inc. 331 hal.
- Yu Q, Niu M, Yu M, Liu Y, Wang D, Shi X. 2015. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from retail shellfish in Shanghai. *J Food Control* 60: 263-268.
- Zou T, He T, Li H, Tang H, Xia E. 2016. The structure-activity relationship of the antioxidant peptides from natural proteins. *J Molecules.* 21(72): 1-14.
- Zoysa MD, Nikapitiya C, Whang I, Lee JS, Lee J. 2009. Abhisin: A potential antimicrobial peptide derived from histone H2A of disk Abalone (*Haliotis discus discus*). *J Fish and Shellfish Immun.* 27 : 639-646.

GLOSARIUM

Akrilamida adalah senyawa organik sederhana dengan rumus kimia C_3H_5NO dan berbahaya bagi kesehatan

Analisis filogenetik dari keluarga sekuen nukleotida atau asam amino adalah analisis untuk menentukan bagaimana hubungan kekeluargaan tersebut diturunkan selama proses evolusi.

Analisis ekspresi gen adalah analisis rangkaian proses penggunaan informasi dari suatu gen untuk sintesis produk gen fungsional.

Antibiotik adalah golongan molekul, baik alami maupun sintetis, yang mempunyai efek menekan atau menghentikan suatu proses biokimia pada organisme khususnya dalam proses infeksi oleh bakteri. A

Antibiotik alami adalah molekul antibiotik yang diekstrak dari hewan atau tumbuhan sebagai pertahanan tubuh alami makhluk hidup

Antimikroba merupakan zat yang memiliki kemampuan untuk menghambat maupun mematikan pertumbuhan mikroba.

Antioksidan merupakan molekul yang mampu memperlambat atau mencegah proses oksidasi molekul lain. Oksidasi adalah reaksi kimia yang dapat menghasilkan radikal bebas, sehingga memicu reaksi berantai yang dapat merusak sel. Antioksidan seperti tiol atau asam askorbat mengakhiri reaksi berantai ini.

Asam amino adalah bagian terkecil atau monomer dari struktur protein.

Bioaktif peptide merupakan senyawa **bioaktif** hasil pemecahan protein oleh enzim protease atau hidrolisis asam.

Bioinformatika adalah ilmu yang mempelajari penerapan teknik komputasional untuk mengelola dan menganalisis data informasi biologis.

Bivalva adalah kelas dari hewan dengan tubuh dua katup, misalnya kerang.

BLAST (*basic local alignment search tool*) dalam bioinformatika adalah algoritma dan program untuk membandingkan informasi sekuens biologis primer, seperti sekuens asam amino protein atau nukleotida DNA dan/atau sekuens RNA.

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan suatu zat berdasarkan perbedaan kelarutannya terhadap dua cairan tidak saling larut yang berbeda, biasanya air dan yang lainnya pelarut organik.

Elektroforesis yaitu teknik untuk memisahkan molekul dalam cairan atau gel menggunakan medan listrik.

Elektrostatik adalah cabang fisika yang berkaitan dengan gaya yang dikeluarkan oleh medan listrik statik terhadap objek bermuatan

Eluat larutan yang dihasilkan pada elusi; hasil elusi.

Elusi adalah proses ekstraksi suatu bahan dari bahan lainnya dengan cara mencuci menggunakan pelarut; seperti dalam pencucian resin penukar ion yang telah jenuh untuk menghilangkan ion yang tertangkap.

Enzim adalah biokatalisator yang mempercepat reaksi biologis di dalam tubuh. Fraksi atau bagian dari suatu senyawa atau zat setelah melalui proses filtrasi dengan membran.

Flavonoid adalah kelompok senyawa bioaktif yang banyak ditemukan pada bahan makanan yang berasal dari tumbuhan. Flavonoid serupa dengan antioksidan, yang memiliki beragam manfaat untuk tubuh Anda, seperti dapat memperbaiki sel yang rusak akibat radikal bebas. Suplemen flavonoid juga diduga bisa mengurangi risiko kanker, hipertensi, dan diabetes.

Fraksinasi adalah proses pemisahan suatu zat dari campuran zat tersebut. Bagian yang telah terpisah dinamakan **Fraksi**

Fermentasi adalah proses alami kerja mikroorganisme seperti ragi dan bakteri mengubah karbohidrat, seperti pati dan gula, menjadi alkohol atau asam.

Filtrasi adalah pemisahan berdasarkan perbedaan fisik yang digunakan untuk memisahkan antara larutan (cairan) dan padatan.

Gastropoda adalah suatu kelas dari golongan keong atau siput

Genom dalam genetika dan biologi molekular modern adalah keseluruhan informasi genetik yang dimiliki suatu sel atau organisme, atau khususnya keseluruhan asam nukleat yang memuat informasi tersebut.

Glukagon adalah antagonis dari insulin yang disekresi pada saat kadar gula darah dalam darah rendah. Pada prinsipnya menaikkan kadar gula di dalam darah dan diproduksi di sel alpha dari pankreas.

Glutathione adalah tripeptida intraselular berbentuk Gamma-Levo-glutamyl-L-sisteinil-glisina, dengan berbagai kegunaan, antara lain, detoksifikasi, antioksidan, pemeliharaan status tiol dan modulasi proliferasi sel.

Hemolimph adalah istilah atau sebutan untuk "darah" pada keong atau siput yang umumnya berwarna biru.

Hidrofobik adalah sifat fisik dari suatu molekul yang "tidak suka / anti" terhadap massa air.

Hidrolisis adalah penguraian zat dalam reaksi kimia yang disebabkan oleh air. Reaksi kimia dalam hidrolisis memecah molekul air menjadi kation hidrogen dan anion hidroksida. Hidrolisis bergantung pada kimiawi, kelarutan, derajat keasaman dan oksidasi-reduksi dari setiap senyawa.

Hormon adalah zat yang dibentuk oleh bagian tubuh tertentu dalam jumlah kecil dan dibawa ke jaringan tubuh lain serta memiliki pengaruh terhadap aktivitas sel-sel tubuh.

Hormon oksitosin adalah hormon pada vertebrata air (ikan) yang berfungsi untuk merangsang kontraksi yang kuat pada dinding ovarium sehingga mempermudah dalam membantu proses pemijahan.

HPLC adalah singkatan dari *High Performance Liquid Chromatography*, atau dikenal juga dengan istilah KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi). *High Pressure Liquid Chromatography* dapat diartikan sebagai suatu alat yang berupa metode pemisahan molekul dengan media cair yang diberikan tekanan tinggi.

Imunomodulator adalah semua zat yang dapat memodifikasi respons imun, menstimulasi mekanisme pertahanan alamiah dan adaptif, dan dapat berfungsi baik sebagai immunosupresan maupun immunostimulan.

Kolagen adalah salah satu protein yang menyusun tubuh manusia berupa struktur organik pembangun tulang, gigi, sendi, otot, dan kulit.

Ikatan disulfida adalah sejenis ikatan kimia antara dua atom sulfur

Ikatan kovalen adalah sejenis ikatan kimia yang memiliki karakteristik berupa pasangan elektron yang saling terbagi di antara atom-atom yang berikatan

Inkubasi atau penyimpanan biakan atau pengeraman dalam waktu dan suhu tertentu

Karotenoid adalah pigmen organik yang ditemukan dalam kloroplas dan kromoplas tumbuhan dan kelompok organisme lainnya seperti alga, sejumlah

bakteri, dan beberapa fungi. Karotenoid dapat diproduksi oleh semua organisme tersebut dari lipid dan molekul-molekul penyusun metabolit organik dasar.

Kewirausahaan adalah sebuah bisnis suatu produk atau proses menciptakan sesuatu produk yang bernilai tambah dalam ekonomi.

Kosmetika adalah zat perawatan yang digunakan untuk meningkatkan atau memperbaiki penampilan atau aroma tubuh manusia.

Kromatografi filtrasi gel ialah pemisahan komponen dalam suatu senyawa berdasarkan perbedaan berat molekul, komponen dengan berat molekul lebih besar akan terfiltrasi lebih dulu dibandingkan dengan komponen yang memiliki berat molekul lebih rendah.

Marker atau penanda adalah penciri individu yang terlihat oleh mata atau terdeteksi dengan alat tertentu yang menunjukkan genotipe suatu individu.

Metode maserasi adalah metode ekstraksi dengan proses perendaman bahan dengan pelarut yang sesuai dengan senyawa aktif yang akan diambil dengan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan.

Moluska adalah filum dari hewan bercangkang dan bertubuh lunak seperti siput atau keong.

Mono sodium glutamate (MSG) adalah penyedap rasa yang dapat membangkitkan cita rasa suatu makanan.

NCBI singkatan dari *National Center for Biotechnology Information* atau Pusat Nasional Informasi Bioteknologi.

Nukleotida adalah senyawa organik yang terdiri dari sebuah nukleosida dan sebuah gugus fosfat. Ia berperan sebagai monomer yang menyusun polimer berupa asam nukleat, yaitu asam deoksiribonukleat dan asam ribonukleat.

Peptida adalah molekul yang dihasilkan dari penyatuan dua atau lebih asam amino (AA) melalui ikatan amida. Jumlah asam aminonya tidak lebih besar dari 50 atau 100 asam amino dan berat molekulnya kurang dari 5.000 dalton.

Peptida antimikroba (AMPs) adalah komponen yang telah berevolusi dan terdapat secara permanen pada sistem imun bawaan dan ditemukan di seluruh makhluk hidup.

Pohon filogenetik atau pohon evolusi adalah diagram percabangan atau "pohon" yang menunjukkan hubungan evolusi antara berbagai spesies makhluk hidup berdasarkan kemiripan dan perbedaan karakteristik fisik dan/atau genetik mereka.

Polimerisasi adalah reaksi pembentukan polimer dari monomer-monomernya. Polimerisasi merupakan proses bereaksinya molekul monomer bersama dalam reaksi kimia untuk membentuk tiga dimensi jaringan atau rantai polimer.

Polimerisasi akrilamida adalah reaksi adisi atau sering pula disebut reaksi rantai, yaitu reaksi yang berlangsung sangat cepat dan menghasilkan produk dengan berat molekul tinggi

Poly unsaturated fatty acids (PUFA) atau Asam lemak tak jenuh ganda adalah asam lemak yang mengandung lebih dari satu ikatan rangkap pada tulang punggungnya. Kelas ini mencakup banyak senyawa penting, seperti asam lemak esensial dan yang memberikan sifat khas pada minyak pengering.

Seasoning atau bumbu dalam Bahasa Indonesia adalah campuran dari rempah-rempah dan bahan-bahan lainnya seperti gula, garam, penyedap dan lain-lain.

SDS PAGE atau Elektroforesis gel poliakrilamida-Sodium Dodesil Sulfat adalah teknik elektroforesis gel yang menggunakan poliakrilamida untuk memisahkan protein yang bermuatan berdasarkan berat molekulnya saja.

Sekuens DNA adalah sebuah deretan dari nukleotida yang jumlahnya lebih dari empat.

Sekuensing adalah langkah penentuan struktur primer (atau sekuens primer) rantai biopolimer tak bercabang.

Sentrifuge merupakan alat yang digunakan untuk memisahkan organel berdasarkan massa jenisnya melalui proses pengendapan.

UMKM adalah singkatan dari usaha mikro kecil dan menengah.

Vertebrata air adalah hewan bertulang belakang yang sebagian atau seluruh siklus hidupnya di perairan seperti ikan.

INDEKS

Akrilamida 28
Analisis filogenetik 35
Analisis ekspresi gen 35
Antibiotik 2, 49
Antimikroba 12
Antioksidan 5, 18
Anti penuaan 50
Anti UV atau anti ultra violet 50
APS (ammonium per sulfat) 27
Asam amino 1, 2, 3, 8, 10, 12, 17, 31, 32, 34, 35, 36, 37, 39, 40, 41, 45, 46
Bintan 41, 42, 43
Bioaktif peptide 22
Bioinformatika 32, 35, 40
Bivalva 11
BLAST (basic local alignment search tool) dalam bioinformatika 34, 36, 37, 38, 41
Ekstraksi 21
Elektroforesis 27
Elektrostatik 18
Eluat 25
Elusi 25
Enzim 25
Flavonoid 5
Fraksinasi 24, 26
Fermentasi 45, 47
Filtrasi 24
Genom 35
Glukagon 3
Glutathione 2
Hemolimfa 14

Hidrofobik 14, 17
Hidrolisis 6
Hormon 2, 6
Hormon 2
HPLC 31, 32
Imunomodulator 16
Kolagen 19, 2050
Ikatan disulfida 27
Ikatan kovalen 1, 2
Inkubasi 21
Karotenoid 4
Kewirausahaan 45
Kosmetika 50
Kromatografi filtrasi gel 24, 25
Marker 28
Metode maserasi 21
Moluska 11 , 13
Mono sodium glutamate (MSG) 45
MWCO (*molecular weight cut off*) 24, 26, 47
NCBI National Center for Biotechnology Information 36, 37, 38, 41
Nukleotida 13, 46
Peptida 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 21, 24, 25, 26, 27, 28, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 45, 46, 48, 49, 50
Peptida antimikroba (AMPs) 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 36, 37, 39, 43, 44, 49
Pohon filogenetik 41, 42, 43, 44
Polimerisasi 27
Polimerisasi akrilamida 27
Poly unsaturated fatty acids (PUFA) 5
Protein 1, 2, 3, 4, 6, 10, 27, 28, 29, 31, 46
Seasoning 45, 46, 47, 48
SDS PAGE 26, 27, 28, 29, 30, 32
Sekuens DNA 35, 43

Sekuensing 31, 32, 33, 42

Sentrifuge 28

Siput gonggong 39, 41, 42

Siput raksasa *Achatina fulica* 12

UMKM 45, 49

Vertebrata air 10, 11

BIODATA PENULIS



Penulis dilahirkan di Baturaja (OKU-Sumatera Selatan), pada tanggal 30 Juli 1972, sebagai anak kedua dari tiga bersaudara pasangan Bapak A. V Munzier B. Sc dan Ibu Hj. Maznah Ishak. Penulis menikah dengan Dr. Muzahar, S. Pi, M. Si pada tanggal 31 Agustus 1997 dan dikaruniai tiga orang anak, yaitu: Faqih Muhammad Arif (23 tahun), Fathimah Qothrun Nadaa (19 tahun), dan Falah Muhammad Taqiyuddin (14 tahun).

Penulis lulus dari Sekolah Dasar (SD) Negeri 2 Baturaja pada tahun 1985, Sekolah Menengah Pertama (SMP) Negeri 1 Baturaja lulus pada tahun 1988, Sekolah Menengah Atas (SMA) Negeri 1 Baturaja lulus pada tahun 1991. Tahun 1991 penulis diterima di IPB melalui Jalur Undangan Seleksi Masuk IPB (USMI) pada Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor dan lulus pada Tahun 1995. Tahun 2009, penulis diterima di Program Studi Teknologi Hasil Perairan pada Program Pascasarjana IPB dengan beasiswa BPPS dari Kemendiknas-Dikti. dan lulus pada Tahun 2011 sebagai Lulusan Terbaik Program Magister Sains Tahun 2011. Kesempatan melanjutkan ke Program Doktor pada Program Studi Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor diperoleh melalui beasiswa BPPDN Ristek Dikti pada tahun 2015 dan lulus Tahun 2019, dengan bidang keahlian Kimia dan Bioteknologi Hasil Perikanan, khususnya Peptida dari Biota Laut.

Penulis bekerja sebagai Dosen pada Jurusan Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan, Universitas Maritim Raja Ali Haji sejak tahun 2008 sampai sekarang. Penulis juga menjadi Ketua Pusat Studi Halal di Universitas Maritim Raja Ali Haji.

ISBN 978-623-5818-13-9

