

HIDROLISAT PROTEIN SEBAGAI PEPTIDA BIOAKTIF DARI BUNGKIL INTI SAWIT DAN FUNGSI BIOLOGINYA

Hasrul Abdi Hasibuan

Abstrak - Bungkil inti sawit (BIS) atau *palm kernel cake* mengandung protein sebesar 15-21%. Selain sebagai pakan ternak, BIS dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan baku untuk produksi isolat dan hidrolisat protein. Protein BIS mengandung globulin, glutelin-1 dan glutelin-2. Protein dari BIS dapat diekstraksi secara efektif menggunakan larutan alkali diikuti dengan hidrolisis enzimatis untuk menghasilkan hidrolisat protein. Isolat protein dan hidrolisat protein mengandung asam-asam amino yang memenuhi syarat sebagai asam amino esensial yang dibutuhkan oleh manusia. Hidrolisat protein mengandung peptida-peptida yang memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan, antibakteri dan antihipertensi. Makalah ini mengulas tentang hidrolisat protein (peptida) dari BIS meliputi ekstraksi protein, hidrolisis protein, fungsi biologi peptida bioaktif, purifikasi dan identifikasi peptida dari BIS.

Kata kunci: bungkil inti sawit, ekstraksi, hidrolisis, hidrolisat protein, peptida bioaktif

PENDAHULUAN

Bungkil inti sawit (BIS) atau *palm kernel cake* adalah produk samping utama dari proses ekstraksi minyak inti sawit. BIS mengandung kadar protein sebesar 15-21% dan telah dimanfaatkan sebagai pakan ternak akuakultur dan ruminansia (Zarei et al., 2012; Zarei et al., 2014). Meskipun kandungan protein tidak begitu tinggi, namun jumlah BIS cukup banyak sehingga dapat dijadikan sebagai sumber bahan baku untuk pembuatan isolat protein dan hidrolisat protein (Chang et al., 2014b), yang memiliki bioaktivitas sebagai peptida bioaktif untuk nutrisi bagi manusia (Zarei et al., 2012; Zarei et al., 2015).

Protein dari BIS dapat diekstraksi secara efektif menggunakan larutan alkali diikuti dengan hidrolisis enzimatis untuk menghasilkan hidrolisat protein BIS atau *crude* peptida BIS (Ng and Khan, 2012). BIS yang telah dihilangkan minyaknya dan isolat protein dari BIS mengandung kadar protein kasar masing-masing sebesar 50-55% dan 75%. Isolat protein dan hidrolisat

protein dari BIS memiliki profil asam amino yang terdiri dari *cysteine* (Cys), *methionine* (Met), lysine (Lys), asam amino aromatik *glutamic* dan *aspartic acids* (Glu dan Asp) (Chang et al., 2014c).

Enzimatis proteolisis merupakan cara tercepat, aman dan paling mudah dikontrol untuk menghasilkan peptida bioaktif BIS yang berfungsi sebagai antioksidan, antimikroba dan antihipertensi (Zarei et al., 2014). BIS juga memiliki asam laurat, asam miristat dan asam palmitat dalam jumlah besar yang dapat memberikan kontribusi untuk efikasi antibakteri dari peptida BIS (Tan et al., 2011).

Protein dari BIS merupakan protein *edible* dengan profil asam amino yang relatif seimbang serta kelarutan dan kemampuan emulsifikasi yang baik. Protein BIS mengandung globulin, glutelin-1 dan glutelin-2 masing-masing sebesar 40,10%, 24,01% dan 33,32%. Hidrolisat globulin memiliki aktivitas sebagai antikanker, antihipertensi dan antibakteri. Beberapa peptida dari glutelin-2 dapat menurunkan tekanan darah sistolik hipertensi spontan pada tikus secara efektif. Glutelin-1 dari BIS menunjukkan *scavenging activity of DPPH radical* yang tinggi (77,69%), *ABTS radical* (64,19%), *superoxide radical* (49,54%) dan *hydroxyl radical* (34,41%) dan *high reducing power* ($0,211 \pm 0,009$) (Zheng et al., 2017a).

Penulis yang tidak disertai dengan catatan kaki instansi adalah peneliti pada Pusat Penelitian Kelapa Sawit

Hasrul Abdi Hasibuan(✉)
Pusat Penelitian Kelapa Sawit
Jl. Brigjen Katamso No. 51 Medan 20158, Indonesia

Email: hasibuan_abdi@yahoo.com

EKSTRAKSI PROTEIN DARI BIS

Ekstraksi protein dari BIS disajikan pada Tabel 1, yang umumnya dilakukan menggunakan larutan alkali kuat (Tan et al., 2011). Selain itu, penggunaan trypsin juga dapat membantu proses ekstraksi protein. Cara ini dapat meningkatkan *yield* protein yang terekstraksi dari BIS (Chee et al., 2012). Pemisahan fraksi-fraksi protein BIS juga dapat dilakukan menggunakan prosedur *Osborne-Type* seperti yang dilakukan oleh Chang et al., (2014b) untuk menghasilkan fraksi protein pada BIS meliputi albumin, globulin dan glutelin. Berbedanya prosedur ekstraksi protein dari BIS akan menghasilkan karakteristik isolat protein yang berbeda-beda. Tabel 2 menyajikan salah satu contoh karakteristik isolat protein hasil ekstraksi dari BIS (Hasibuan dan Daulay, 2015), yang relatif berbeda dengan yang dilaporkan oleh Chang et al., (2014b) (Tabel 4), dan Tan et al., (2013b) (Tabel 6).

HIDROLISIS PROTEIN BIS MENJADI HIDROLISAT PROTEIN (PEPTIDA)

Hidrolisat protein dari BIS dapat diperoleh melalui hidrolisis protein dengan menentukan persentase derajat hidrolisis (DH%), yang umum dilakukan menggunakan enzim. DH% merupakan indikator penting yang digunakan untuk membandingkan perbedaan hidrolisat protein. Selama hidrolisis, perbedaan dari jenis peptida yang dihasilkan tergantung pada spesifitas enzim (Zarei et al., 2012). Hidrolisis enzimatis protein BIS menggunakan alcalase (Tan et al., 2011) dan trypsin (Ng et al., 2013) pada kondisi pH, rasio enzim/substrat, konsentrasi substrat dan waktu dan temperatur reaksi seperti yang disajikan pada Tabel 3 dapat menghasilkan DH% yang berbeda-beda.

Hidrolisis enzimatis protein dari BIS menggunakan enzim alcalase, flavourzyme, pepsin dan tripsin akan menghasilkan DH% yang berbeda-beda. Enzim alcalase memberikan DH tertinggi (71,31-81,35%) selama waktu hidrolisis (6-48 jam) dibandingkan enzim yang lain. Pepsin dan trypsin memiliki *trend* yang sama dalam memberikan nilai DH yaitu sebesar 46% selama 6 jam dan selanjutnya menurun seiring peningkatan waktu hidrolisis. Flavourzyme menghasilkan DH terendah (23,17%) dari hidrolisis protein BIS dari semua protease. Selain itu, konsentrasi enzim juga memberikan DH yang berbeda-beda. Konsentrasi

alcalase sebanyak 8% dapat menghidrolisis protein BIS menjadi hidrolisat protein BIS dengan DH tinggi sebesar 75,96% setelah 1 jam hidrolisis. Meskipun demikian, pada konsentrasi 2% alcalase menghasilkan hidrolisat protein BIS dengan DH sebesar 81,35% namun dibutuhkan waktu hidrolisis selama 12 jam. Pepsin merupakan protease yang relatif kurang efisien untuk menghidrolisis protein BIS (Ng and Khan (2012). Sementara itu, Chang et al., (2014a) menghidrolisis protein BIS menggunakan protease dari *Bacillus licheniformis* dan pepsin-pancreatin dengan DH masing-masing adalah 43% dan 38%.

Zarei et al., (2012) menghidrolisis protein BIS menggunakan trypsin (37°C, pH 8), flavourzyme (55°C, pH 8), chymotrypsin (50°C, pH 6,8), bromelain (55°C, pH 5), alcalase (55°C, pH 7,5), pepsin (37°C, pH 1,5) dan papain (65°C, pH 6,5) pada rasio enzim dan substrat 1:50 serta diaduk pada 150 rpm dengan waktu reaksi selama 30 jam. Hidrolisat protein juga diperoleh dengan DH yang berbeda-beda menggunakan trypsin, flavourzyme, chymotrypsin, bromelain, alcalase, pepsin dan papain masing-masing sebesar $19 \pm 0,11\%$, $56 \pm 0,15\%$, $74 \pm 0,27\%$, $76 \pm 1,3\%$, $77 \pm 2,1\%$, $85 \pm 0,23\%$ dan $87 \pm 0,1\%$. Hidrolisat protein yang dihasilkan menggunakan papain setelah 38 jam menghasilkan DH sebesar $91 \pm 0,1\%$. Dalam penelitian lain, Zarei et al., (2014) melaporkan bahwa untuk menurunkan waktu proteolisis, rasio enzim dan substrat ditingkatkan dari 1:100 menjadi 1:10 akan menghasilkan DH mencapai 93% setelah 15 menit proteolisis kemudian konstan.

Zheng et al., (2017a) menghidrolisis glutelin-1 BIS dengan DH sebesar $31,90 \pm 2,72\%$ pada konsentrasi pepsin 2 g/100 g protein, pH 2, suhu 37°C selama 4 jam. Nilai ini lebih rendah dibandingkan hidrolisis globulin BIS dengan DH sebesar 59% menggunakan pepsin dan trypsin (Tapal et al., 2016). Selain itu, Zheng et al., (2017b) menggunakan 4 jenis enzim yaitu alcalase, flavourzyme, pepsin dan trypsin untuk menghidrolisis glutelin BIS dengan perlakuan yang berbeda-beda yaitu glutelin BIS tanpa perlakuan, dipanaskan 100°C selama 10 menit, ultrasonication 28 kHz, 600 W selama 20 menit dan tekanan tinggi, 300 MPa selama 20 menit menghasilkan DH masing-masing sebesar $23,79 \pm 1,05\%$, $28,44 \pm 4,05\%$, $31,67 \pm 1,87\%$ dan $36,17 \pm 3,61\%$. DH dapat meningkat dengan perlakuan protein BIS menggunakan tekanan tinggi karena dapat menyebabkan protein *unfolding*,

yang dapat meningkatkan kerentanan dari protein terhadap aksi enzim melalui pembukaan bagian

pembelahan baru yang membawa enzim mencapai sisi hidrolisis.

Tabel 1. Ekstraksi protein dari BIS

Ekstraksi	Karakteristik isolat protein	Referensi
Rasio bubuk BIS dan larutan alkali NaOH 1 N 1:10 (g/ml), diaduk pada 150 rpm, 50°C selama 30 menit. Ekstrak protein diperoleh dari supernatan dengan pH di-adjust menjadi 4,3-4,5 dengan penambahan HCl 3 N	Protein kasar $68,5 \pm 3,08\%$, lemak $0,54 \pm 0,03\%$ dan abu $0,73 \pm 0,02\%$	Ng and Khan (2012)
Rasio bubuk BIS yang telah dihilangkan minyaknya menggunakan larutan NaOH 0,1 M pada rasio 1:10, diaduk pada $24 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 2 jam. Ekstrak protein diperoleh dari supernatan dengan pH di-adjust hingga 4,6 menggunakan HCl 0,1 M. Pengendapan protein melalui sentrifugasi pada 10.000 g selama 30 menit pada $4-8^\circ\text{C}$	Kadar protein $75,6 \pm 24,71\%$, air $2,11 \pm 0,37\%$, lemak $4,93 \pm 0,19\%$, abu $8,71 \pm 4,57\%$, total karbohidrat $6,35 \pm 3,12\%$, serat kasar $2,33 \pm 0,31\%$, dan total fenolik $13,4 \pm 06,87$ mg	Chang et al., (2014b)
Bubuk BIS yang telah dihilangkan lemaknya diekstrak dengan air dingin pada temperatur ruang ($22 \pm 1^\circ\text{C}$) dalam tabung sentrifugasi selama 1 jam dengan <i>magnetic stirrer</i> . Campuran disentrifugasi pada 10.000 g selama 15 menit dan supernatan dikumpulkan. Residu diekstraksi dengan NaCl 0,5 M dingin dan etanol 70% untuk mengekstraksi globulin (<i>salt-soluble proteins</i>) dan prolamin (<i>alcohol-soluble proteins</i>). Residu setelah ekstraksi alkohol selanjutnya diekstraksi dengan NaOH 0,1 M untuk mengekstraksi glutelin (<i>alkali-soluble proteins</i>). Supernatan albumin (<i>aqueous-soluble proteins</i>), prolamins dan glutelin didialisis dengan air pada 4°C selama 72 jam	Kadar protein pada: - Albumin $25,0 \pm 13,65\%$ - globulin $5,7 \pm 3,23\%$ - glutelin $60,0 \pm 8,06\%$.	Chang et al., (2014b)
Rasio bubuk BIS dengan larutan alkali 1,1 g/100 ml, trypsin sebanyak 1,36 g/100 g pada pH 9,5 diaduk dengan pemanasan suhu 50°C selama 2 jam	Kadar protein $61,99 \pm 0,74\%$	Chee et al., (2012)

Tabel 2. Karakteristik isolat protein hasil ekstraksi dari BIS

Karakteristik	Nilai
Kadar protein (%)	49,72
Kadar air (%)	5,99
Kadar lemak (%)	33,12
Kadar serat (%)	0
Alanine (%)	4,38
Arginine (%)	4,30
Aspartate (%)	5,69
Glutamate (%)	11,04
Glycine (%)	3,53
Histidine (%)	0,66
Isoleucine (%)	3,14
Leucine (%)	5,03
Lycine (%)	0,25
Methionine (%)	0,71
Phenil Alanine (%)	2,44
Serine (%)	2,45
Tyrosine (%)	1,15
Valine (%)	4,96

Sumber: Hasibuan dan Daulay, 2015

Tabel 3. Parameter reaksi untuk membuat peptida BIS dengan DH bervariasi

DH %	pH	Temperatur (°C)	Rasio enzim/substrat (%)	Konsentrasi substrat (%)	Waktu (jam)	Enzim	Referensi
30	7,06	30,92	2,62	1,67	6	Trypsin	Ng et al., (2013)
40	7,18	40,76	3,53	1,44			
50	8,36	46,24	3,84	1,09			
50	6,99	50	1,0	1,68	6	Alcalase	Tan et al., (2011)
60	9,13	50	1,0	1,99			
70	9,59	50	1,0	1,68			
80	10,48	50	1,0	1,44			
90	9,63	50	1,0	1,13			
100	10,50	50	1,0	1,00			

Tabel 4. Komposisi asam amino isolat dan hidrolisat protein (Chang et al., 2014b)

Asam amino	Isolat protein	Hidrolisat protease	Hidrolisat pepsin-pancreatin	<i>Infants</i> ^b	<i>Preschool children</i> ^b	<i>Adolescent</i> ^b	<i>Adult</i> ^b
Aspartic acid ^d	11,30±0,50 ^a	9,43±0,00 ^b	9,08±0,54 ^c				
Serine	0,25±0,02 ^a	0,31±0,00 ^a	0,31±0,00 ^a				
Glycine	4,53±0,63 ^a	3,51±0,30 ^b	3,99±0,04 ^c				
Histidine	2,02±0,27 ^{a,b}	1,47±0,75 ^a	1,55±0,10 ^a	2,0	1,8	1,6	1,5
Arginine	5,20±1,84 ^a	3,50±0,04 ^b	4,30±0,94 ^c				
Threonine	5,32±0,18 ^a	4,37±0,09 ^b	4,14±0,03 ^c	3,1	2,7	2,5	2,3
Alanine	6,98±0,45 ^a	5,47±0,44 ^b	5,77±0,02 ^c				
Proline	3,40±1,40 ^a	2,57±1,10 ^b	2,91±1,04 ^c				
Tyrosine	3,16±0,24 ^a	2,01±0,05 ^b	2,59±0,28 ^c	5,2	4,6	4,0	3,8 ^f
Valine	4,93±0,18 ^a	3,94±0,11 ^b	3,85±0,24 ^c	4,3	4,2	4,0	3,9
Methionine	2,34±0,21 ^a	1,94±0,07 ^b	1,74±0,16 ^c	2,8	2,6	2,3	2,2 ^g
Cysteine	5,00±1,69 ^a	6,06±1,54 ^{a,b}	5,46±1,09 ^a				
Isoleucine	3,40±0,35 ^{a,b}	2,65±0,07 ^a	2,56±0,13 ^a	3,2	3,1	3,0	3,0
Leucine	6,83±0,88 ^{a,b}	5,27±0,61 ^a	5,11±1,20 ^a	6,6	6,3	6,0	5,9
Phenylalanine	4,93±1,05 ^{a,b}	3,71±1,29 ^a	3,73±1,45 ^a				
Lysine	5,12±1,85 ^a	6,89±1,50 ^{a,b}	5,63±1,38 ^a	5,7	5,2	4,8	4,5
Total Essential	43,05	38,31	36,36				
Total Non-Essential	57,48	45,11	47,22				
E/T (%)	37,9	45,9	43,5				
Total Amino Acids	100,53±4,78	83,42±13,45	83,58±20,61				

^a Komposisi dalam g asam amino/100 g sampel. Rerata dari setiap baris dengan simbol yang berbeda adalah berbeda signifikan (p<0,05)^b asam amino esensial rekomendasi oleh WHO (2007) untuk *infants*, *preschool children*, *adolescent* dan *adult* (kombinasi laki-laki dan wanita)^c E/T (%), rasio total asam amino esensial dengan total asam amino^d asam aspartic + asparagines^e asam glutamic + glutamine^f tyrosin + phenylalanine^g methionine + cysteine

Isolat protein dan hidrolisat protein dari BIS menunjukkan komposisi asam amino yang baik dibandingkan BIS yang telah dihilangkan minyaknya. Chang et al., (2014b) melaporkan komposisi asam amino dari isolat protein, hidrolisat protein dari protease dan pepsin-pancreatin (Tabel 4). Rasio asam amino esensial dan total asam amino lebih besar dari 36% yang sesuai dengan syarat asam amino untuk *infants*. Hal ini disebabkan oleh hidrolisat protein memisahkan agregat protein yang tidak larut menghasilkan peptida berukuran kecil, meningkatkan pembukaan grup hidrofilik dan memfasilitasi interaksi asam amino hidrofilik dengan lingkungan yang berair. Komposisi asam amino dari isolat protein dan hidrolisat protein juga sesuai dengan syarat asam amino esensial untuk manusia (Chang et al., 2014b), yaitu bayi (0–1 tahun), anak-anak (2–10 tahun), remaja (11–19 tahun) dan dewasa (20–60 tahun).

FUNGSI BIOLOGI PEPTIDA BIOAKTIF DARI BIS

Antioksidan

Peptida bioaktif dari hidrolisat protein BIS memiliki aktivitas sebagai antioksidan sebagaimana telah dilaporkan oleh Zarei et al., (2012) dan Zarei et al., (2014). Peptida yang memiliki aktivitas antioksidan terdiri atas tiga hingga enam belas asam amino (Chang et al., 2014a). Penggunaan enzim berbeda akan memberikan pengaruh berbeda terhadap fungsinya sebagai antioksidan. Papain memberikan *radical scavenging activity* tertinggi diikuti pepsin, alcalase, chymotrypsin, bromelain, flavourzyme dan trypsin. Ada korelasi yang kuat antara DH% dengan *radical scavenging activity* dari hidrolisat protein. Hidrolisat protein yang dihasilkan oleh papain setelah 38 jam hidrolisis menghasilkan DH sebesar $91 \pm 0,1\%$ dan DPPH* *radical scavenging activity* sebesar $73,5 \pm 0,25\%$ (Zarei et al., 2012). Sementara itu, Ng et al., (2013) melaporkan hidrolisat protein BIS dengan DH% yang berbeda menunjukkan perbedaan antiradikal yang signifikan. Hidrolisat protein BIS dengan DH 50% menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan DH 30% dan 40%.

Antibakteri

Peptida dari BIS juga memiliki aktivitas sebagai antibakteri. Tan et al., (2011) melaporkan bahwa

peptida dari BIS memiliki pengaruh yang besar melawan bakteri yang dimungkinkan karena adanya komponen gula, beberapa asam lemak dan kombinasi asam amino. DH yang berbeda dari peptida BIS menghasilkan efikasi antibakteri yang berbeda. Peptida dari BIS dengan DH 70% menunjukkan pengaruh yang besar dibandingkan DH 100% untuk melawan *B. cereus*, *B. coagulans*, *B. megaterium*, *B. pumilus*, *B. stearothermophilus*, *B. subtilis*, *B. thuringiensis*, *Cl. Perfringens*, *Lysinibacillus sphaericus* dan *L. monocytogenes* (Tan et al., 2011). Beberapa bakteri patogen yang bila terdapat pada pangan dapat menyebabkan penyakit pada manusia meliputi *B. cereus*, *Cl. Perfringens*, dan *L. monocytogenes*. *B. cereus* dapat menyebabkan gejala mual, muntah, sakit perut dan kram perut. *Cl. Perfringens* dapat menyebabkan diare dan muntah. *L. monocytogenes* dapat menyebabkan gejala muntah, kesulitan bernafas, demam, kemungkinan meningitis dan keracunan pada darah (Rahayu dan Nurwitri, 2012). *Lysinibacillus sphaericus* merupakan bakteri yang dapat menghasilkan toksin protein (Indayati dan Purwanto, 2021).

Umumnya, ukuran peptida alami sebagai antibakteri berkisar 12 hingga lebih dari 50 asam amino. Meskipun demikian, peptida yang terlalu pendek atau panjang mungkin tidak optimum sebagai antibakteri (Tan et al., 2011). Tan et al., (2013a) juga menambahkan bahwa peptida yang dihasilkan dari purifikasi hidrolisis protein BIS menggunakan alcalase menunjukkan aksi penghambatan terbaik dalam melawan *B. cereus* dibandingkan menggunakan tryptic. Keduanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui perubahan permeabilitas membran sel bakteri.

Anti Hipertensi

Hipertensi merupakan faktor resiko yang signifikan terhadap penyakit kardiovaskuler yang dapat dicegah melalui penghambatan *angiotensin-I-converting enzyme* (ACE). ACE berperan dalam regulasi tekanan darah karena mengkatalisis dalam konversi angiotensin-I yang tidak aktif menjadi angiotensin-II (Zarei et al., 2015; Zheng et al., 2017b). Peptida dari BIS juga dilaporkan memiliki aktivitas penghambatan ACE. Zarei et al., (2015) menginformasikan bahwa aktivitas penghambatan ACE dari hidrolisat protein yang berbeda akan meningkat dengan meningkatnya

waktu hidrolisis. Papain merupakan enzim protease yang memberikan penghambatan ACE tertinggi dibandingkan enzim protease yang lain seperti trypsin, alcalase, pepsin, flavourzyme dan bromelain. Tingginya efisiensi yang dihasilkan oleh papain dikarenakan papain memiliki spesifikasi dan aktivitas untuk pembelahan ikatan peptida dengan asam amino dasar yang berdekatan seperti lysine atau glycine.

Chang et al., (2014a) melaporkan bahwa hidrolisat protein BIS yang dihasilkan dengan menggunakan pepsin-pancreatin memberikan aktivitas penghambatan ACE tertinggi dibandingkan hidrolisat protease. Aktivitas biologi dari peptida bioaktif tergantung pada spesifikasi enzim yang digunakan untuk produksi peptida, DH, peptida alami yang dihasilkan (berat molekul, komposisi asam amino dan *sequence* asam amino) dan pengaruh kombinasi dari karakteristik biokimianya. Ukuran peptida mungkin juga penting karena peptida penghambat ACE spesifikasinya pendek, terdiri dari dua hingga sembilan asam amino.

PURIFIKASI DAN IDENTIFIKASI PEPTIDA DARI PROTEIN HIDROLISAT BIS

Teknik purifikasi dan identifikasi hidrolisat protein dari BIS disajikan pada Tabel 5. Purifikasi peptida dilakukan menggunakan gel filtrasi, ultrafiltrasi, reversed-phase dan semi-preparative HPLC. Identifikasi peptida melalui penentuan aktivitasnya sebagai antioksidan, antimikroba dan antihipertensi. Selanjutnya fraksi peptida terpilih sesuai dengan fungsinya yang terbaik dikarakterisasi asam amino, berat molekul, *sequence* dan strukturnya.

Purifikasi hidrolisat protein BIS menggunakan *gel filtration* menghasilkan beberapa fraksi. Fraksi yang memiliki berat molekul tinggi akan terelusi lebih awal dibandingkan berat molekul rendah. Fraksi yang memiliki aktivitas antibakteri tertinggi adalah fraksi dengan berat molekul sebesar 2,4 kDa dengan komposisi asam amino seperti disajikan pada Tabel 6. Purifikasi menyebabkan hilangnya beberapa asam amino seperti asam amino esensial leucine dan valine. Namun, leucine rendah dan lysine tinggi (merupakan hal yang positif) karena berkontribusi untuk efek penghambatan (Tan et al., 2013b).

Zarei et al., (2014) memperoleh *sequence* peptida AWFS, WAF dan LPWRPATNVF yang menunjukkan aktivitas *radical scavenging* tertinggi masing-masing sebesar 71%, 56% dan 50%. Sementara itu, *sequence* peptida GGIF, YGIKVGYAIP dan YLLLK menunjukkan aktivitas *metal chelating* tertinggi masing-masing sebesar 56%, 53% dan 50%. Namun, *sequence* peptida yang menunjukkan nilai IC_{50} terbaik menggunakan DPPH assay yaitu GIFE, GVQEGAGHYALL dan GGIF masing-masing pada 0,02 μ M, 0,09 μ M dan 0,35 μ M. Nilai *half maximal inhibitory concentration* tertinggi menggunakan *metal chelating activity* ditunjukkan *sequence* peptida LPWRPATNVF, AWFS dan YGIKVGYAIP masing-masing pada 0,001 μ M, 0,002 μ M dan 0,087 μ M. Zarei et al., (2015) juga memperoleh peptida yang menunjukkan aktivitas ACE *inhibitory* sebesar 100% dengan *sequence* YLLLK, YGIKVGYAIP dan LPWRPATNVF, namun nilai IC_{50} yang terbaik adalah YGIKVGYAIP, GIFE dan LPWRPATNVF masing-masing pada 1 μ M, 3 μ M dan 20 μ M.

Selain itu, hidrolisat glutelin dari BIS juga dapat menghasilkan peptida yang berbeda fungsi biologinya. Zheng et al., (2017a) menghasilkan peptida dari hidrolisat glutelin-1 BIS dengan fungsinya sebagai antioksidan. Sementara itu, Zheng et al., (2017b) menghasilkan peptida dari hidrolisat glutelin-2 BIS dengan fungsinya sebagai penghambatan ACE.

KESIMPULAN

Kadar protein pada BIS cukup tinggi (15-21 %) sehingga berpotensi digunakan sebagai sumber protein untuk menjadi hidrolisat protein sebagai peptida bioaktif. Hidrolisis protein dari BIS dapat dilakukan melalui hidrolisis enzimatik. Peptida bioaktif yang dihasilkan dari BIS dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri dan antihipertensi. Peptida yang memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri dan antihipertensi, masing-masing terdiri atas 3-16, 12 - 50 dan 2 – 9 asam amino. Namun demikian, aktivitas biologi dari peptida bioaktif yang dihasilkan tergantung pada spesifikasi enzim yang digunakan. Fungsi biologi ini dapat mendukung diversifikasi BIS menjadi produk yang bernilai tambah menjadi produk pangan fungsional dan nutrasetikal.

Tabel 5. Teknik purifikasi, identifikasi, sekuen dan bioaktivitas peptida

Teknik purifikasi	Identifikasi	Sekuen peptide	Bioaktivitas	Referensi
- semi-preparative C18 reversed phase HPLC	- Analisa berat molekul (MS)	AWFS, WAF dan LPWRPATNVF (aktivitas <i>radical scavenging</i> tertinggi), GGIF, YGIKVGYAIP dan YLLLK (aktivitas <i>metal chelating</i> tertinggi), GIFE, GVQEGAGHYALL dan GGIF (nilai IC_{50} -DPPH assay), LPWRPATNVF, AWFS dan YGIKVGYAIP (nilai <i>half maximal inhibitory concentration</i> tertinggi)	Antioksidan	Zarei <i>et al.</i> , 2014
- <i>isoelectric focusing system</i>	- Sequencing peptide			
- Membran ultrafiltrasi dengan cut off berat molekul < 3 kDa dan > 3 kDa	- Analisa asam amino	Val-Val-Gly-Gly-Asp-Gly-Asp-Val (VVGGDGDV), Val-Pro-Val-Thr-Ser-Thr (VPVTST), Leu-Thr-Thr-Leu-Asp-Ser-Glu (LTTLDSE)	Antioksidan	Chang <i>et al.</i> , 2015
- Semi preparative HPLC (kolom ZORBAX) 300SB-C18	- Analisa kadar protein			
- HPLC (Kolom LiChospher RP18-5)	- Sequencing peptide			
- membran ultrafiltrasi cutoff 5 kDa, 3-5 kDa dan 3 kDa	- Sequencing peptide	Thr-Val-Phe-Asp-Gly-Glu-Leu-Arg (935,5 Da), Ala-Asp-Val-Phe-Asn-Pro-Arg (818,7 Da), Cys-Ala-Gly-Val-Ser-Ala-Ile-Arg (832,4 Da) dan leu-Val-Tyr-Ile-Ile-Gin-Gly-Arg (819,4 Da)	Antioksidan	Zheng <i>et al.</i> , 2017a
- Sephadex G-15 kolom gel filtrasi		(IC_{50} terhadap aktivitas hidroksi <i>radical scavengening</i>), LVYIIQGR (aktivitas antioksidan tertinggi),		

(continued)

Teknik purifikasi	Identifikasi	Sekuen peptide	Bioaktivitas	Referensi
- RP-HPLC (kolom Zorbax semi preparative C18)		CAGVSAIR dan ADVFNPR (stabilitas dalam <i>gastrointestinal digestion system</i>)		
- Gel filtration	- berat molekul (<i>molecular weight marker</i>) - asam amino - ESI-mass spectra	Tidak dianalisa	Antibakteri	Tan <i>et al.</i> , 2013b
- semi-preparative C18 reversed phase HPLC - <i>isoelectric focusing system</i>	- Analisa berat molekul (MS) - Sequencing peptide	YLLLK, YGIKVGYAIP dan LPWRPATNVF (aktivitas ACE <i>inhibitory</i> tertinggi), YGIKVGYAIP, GIFE dan LPWRPATNVF (nilai IC ₅₀ tertinggi)	ACE <i>inhibitory</i>	Zarei <i>et al.</i> , 2015
- Ultrafiltrasi - sephadex G-15 gell filtration - RP-HPLC	- Sequencing peptide	Ala-Asp-Val-Phe-Asn-Pro-Arg, Val-Val-Leu-Tyr-Lys, Leu-Pro-Ile-Leu-Arg dan Val-Ile-Glu-Pro-Arg (ACE <i>inhibitory</i>), Val-Val-Leu-Tyr-Lys (nilai IC ₅₀ tertinggi)	ACE <i>inhibitory</i>	Zheng <i>et al.</i> , 2017b

Tabel 6. Komposisi asam amino (g/100 g protein) BIS, protein BIS, hidrolisat protein kasar BIS dan fraksi F6 dari hidrolisat protein BIS terpurifikasi

Asam amino	Bahan baku BIS	Isolat protein dari BIS	Hidrolisat crude BIS	Fraksi berat molekul 2,4 kDa dari BIS terpurifikasi
Non-polar, hidrofobik				
Alanine	4,46	5,89	5,75	3,17

(continued)

Asam amino	Bahan baku	Isolat protein dari	Hidrolisat	Fraksi berat molekul 2,4
	BIS	BIS	crude BIS	kDa dari BIS terpurifikasi
Valine	5,48	7,46	7,89	2,82
Leucine	6,88	10,14	10,72	4,71
Isoleusine	3,81	5,37	5,63	2,52
Phenylalanine	4,40	5,97	6,17	4,74
Tryptophan	ND	ND	ND	ND
Metionine	ND	ND	ND	ND
Proline	3,89	4,81	5,61	4,75
Polar				
Glycine	4,91	4,64	3,79	3,67
Serine	4,66	1,64	1,55	2,29
Threonine	3,34	1,36	1,23	12,49
Cysteine	ND	ND	ND	ND
Tyrosine	2,60	2,81	3,33	4,49
Aspartic Acid	8,78	10,47	10,08	2,78
Glutamic acid	20,10	22,44	21,02	4,05
Lysine	3,31	3,21	2,72	21,38
Arginine	13,12	2,92	4,08	1,91
Histidine	2,01	2,40	2,03	1,40

Sumber: Tan et al., (2013b)

DAFTAR PUSTAKA

- Chang, S. K., Hamajima, H., Ismail, A., Yanagita, T., Esa, N. M., & Baharuldin, M. T. H. (2014a). Health promoting properties of protein hydrolysates produced from oil palm (*Elaeis guineensis*) kernel. *Food Sci. Biotechnol*, 23(4), 1279-1285.
- Chang, S. K., Ismail, A., Yanagita, T., Esa, N. M., & Baharuldin, M. T. H. (2014b). Biochemical characterisation of the soluble proteins, protein isolates and hydrolysates from oil palm (*Elaeis guineensis*) kernel. *Food Bioscience*, 7, 1-10.
- Chang, S. K., Hamajima, H., Amin, I., Yanagita, T., Esa, N. M., & Baharuldin, M. T. H. (2014c). Cytotoxicity effect of oil palm (*Elaeis guineensis*) kernel protein hydrolysates. *International Food Research Journal*, 21(3), 909-914.
- Chang, S. K., Ismail, A., Yanagita, T., Esa, N. M., & Baharuldin, M. T. H. (2015). Antioxidant peptides purified and identified from the oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) kernel protein hydrolysate. *Journal of Functional Food*, 14, 63-75.
- Chee, K. L., Ling, H. K., & Ayob, M. K. (2012).

- Optimization of trypsin-assisted extraction, physico-chemical characterization nutritional qualities and functionalities of palm kernel cake protein. *LWT-Food Science and Technology*, 46, 419-427.
- Hasibuan, H. A., & Daulay, A. S. (2015). Ekstraksi protein dari bungkil inti sawit dengan teknik pengendapan menggunakan pelarut alkali. *Jurnal Hasil Penelitian Industri*, 28(1).
- Indayati, I., & Purwanto, H. (2021). Controlling culex quinquefasciatus say, 1823 (Diptera: Culicidae) using several lysinibacillus sphaericus isolates endogenic to Indonesia. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(1), 298-304. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i1.2566>
- Ng, K. L., & Khan, M. A. (2012). Enzymatic preparation of palm kernel expeller protein hydrolysate (PKEPH). *International Food Research Journal*, 19(2), 721-725.
- Ng, K. L., Ayob, M. K., Said, M., Osman, M. A., & Ismail, A. (2013). Optimization of enzymatic hydrolysis of palm kernel cake protein (PKCP) for producing hydrolysates with antiradical capacity. *Industrial Crops and Products*, 43, 725-731.
- Rahayu, W. P., Nurwitri, C. C. (2012). *Mikrobiologi Pangan*. IPB Press. Hal: 67-79.
- Tan, Y. N., Ayob, M.K., Osman, M. A., & Matthews, K. R. (2011). Antibacterial activity of different degree of hydrolysis of palm kernel expeller peptides against spore-forming and non-spore forming bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 53, 509-517. DOI: 10.1111/j.1472-765X.2011.03137.x.
- Tan, Y. N., Matthews, K. R. Di, R., & Ayob, M. K. (2013a). Comparative antibacterial mode of action of purified alcalase- and tryptic-hydrolyzed palm kernel cake proteins on the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Food Control*, 31, 53-58.
- Tan, Y. N., Ayob, M. K., & Yacoob, W. A. W. (2013b). Purification and characterisation of antibacterial peptide-containing compound derived from palm kernel cake. *Food Chemistry*, 136, 279-284.
- Tapal, A., Vegarud, G. E., Sreedhara, A., Hegde, P., Inamdar, S., & Tikku, P. K. (2016). In vitro human gastro-intestinal enzyme digestibility of globulin isolate from oil palm (*Elaeis guineensis* var. tenera) kernel meal and the bioactivity of the digest. *RSC Adv*, 6, 20219–20229.
- Zarei, M., Ebrahimpour, A., Abdul-Hamid, A., Anwar, F., & Saari, N. (2012). Production of defatted palm kernel cake protein hydrolysate as a valuable source of natural antioxidant. *International Journal of Molecular Science*, 13, 8097-8111. DOI: 10.3390/ijms13078907.
- Zarei, M., Ebrahimpour, A., Abdul-Hamid, A., Anwar, F., Bakar, F. A., Philip, R., & Saari, N. (2014). Identification and characterization of papain-generated antioxidant peptides from palm kernel cake proteins. *Food Research International*, 62, 726-734.
- Zarei, M., Forghani, B., Ebrahimpour, A., Abdul-Hamid, A., Anwar, F., & Saari, N. (2015). In vitro and in vivo antihypertensive activity of palm kernel cake protein hydrolysates: sequencing and characterization of potent bioactive peptides. *Industrial Crops and Products*, 76, 112-120.
- Zheng, Y., Li, Y., & Zhang, Y. (2017a). Purification and identification of antioxidative peptides of palm kernel expeller glutelin-1 hydrolysates. *The Royal Society of Chemistry*, 7, 54196-54202. DOI: 10.1039/c7ra11657h.
- Zheng, Y., Li, Y., Zhang, Y., Ruan, X., & Zhang, R. (2017b). Purification, characterization, synthesis, in vitro ACE inhibition and in vivo antihypertensive activity of bioactive peptides derived from oil palm kernel glutelin-2 hydrolysates. *Journal of Functional Foods*, 28, 48-58.

