

BEBERAPA PENCIRI BERBASIS SEKUENS UNTUK MENGENALI SIFAT FUNGSIONAL PEPTIDA BIOAKTIF: STUDI EKSPLORASI

[Sequence-based Identifiers to Recognize the Functionality of Bioactive Peptides: An Explorative Study]

Badrut Tamam¹⁾, Dahrul Syah²⁾, Hanifah Nuryani Lioe²⁾, Maggy T. Suhartono^{2)*}, dan Wisnu Ananta Kusuma³⁾

¹⁾ Program Studi Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

³⁾ Departemen Ilmu Komputer, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Bogor

Diterima 13 Juni 2017 / Disetujui 05 Maret 2018

ABSTRACT

Bioactive peptides have important roles as functional food ingredients. The sequence patterns of amino acids in a peptide fragment may relate to their functional mechanisms. On the contrary, presence of an amino acid in a peptide fragment might not be sufficient to provide a unique identifier toward the bioactive peptide functional properties such as antihypertensive (AH), antioxidative (AO) or antimicrobial (AM). The main objective of this study was to explore the identifiers of bioactive peptides based on the sequence-generated properties. This study was performed using meta-analysis by utilizing many data sources and qualified international journal publications. The identifiers of bioactive peptides include sequence length, molecular weight, isoelectric point (pI), net charge and hydrophobicity. Based on the average score of the five identifiers, antimicrobial (AM) peptides were very different from antihypertensive (AH) and antioxidative (AO) peptides. The comparisons of the peptide biofunctional properties based on the identifiers may be determined as follows: AH1<AO1<AM1 (for sequence length); AH1<AO1<AM1 (for molecular weight); AH1=AO1<AM1 (for isoelectric point/pI); AH1=AO1<AM1 (for net charge) and AH1<AM1<AO1 (for hydrophobicity).

Keywords: amino acid sequences, antihypertensive peptides, antioxidative peptides, antimicrobial peptides, functional foods

ABSTRAK

Peptida bioaktif memiliki peran penting sebagai bahan pangan fungsional. Pola sekuens asam amino dalam fragmen peptida diduga terkait dengan mekanisme fungsional dari peptida-peptida tersebut. Kehadiran suatu asam amino di dalam fragmen peptida tidaklah cukup untuk memberikan penciri unik terhadap suatu sifat fungsional peptida bioaktif seperti peran sebagai antihipertensi (AH), antioksidan (AO) dan antimikroba (AM). Tujuan dari penelitian ini adalah mengeksplorasi penciri peptida bioaktif berdasarkan beberapa sifat yang dibangkitkan dari sekuensnya. Penelitian ini dilakukan secara *meta-analysis* dengan memanfaatkan berbagai sumber data dan publikasi berbagai jurnal ilmiah internasional yang berkualitas. Penciri peptida bioaktif meliputi panjang sekuens, berat molekul, titik isoelektrik (pI), muatan bersih (*net charge*) dan hidrofobisitas. Berdasarkan nilai rerata terhadap kelima penciri tersebut, peptida antimikroba memiliki perbedaan cukup besar dengan peptida antihipertensi dan antioksidan. Perbandingan sifat fungsional peptida didasarkan atas penciri-penciri tersebut dapat ditentukan sebagai berikut yaitu AH1<AO1<AM1 (untuk panjang sekuens); AH1<AO1<AM1 (untuk berat molekul); AH1=AO1<AM1 (untuk titik isoelektrik); AH1=AO1<AM1 (untuk muatan bersih); dan AH1<AO1>AM1 (untuk hidrofobisitas).

Kata kunci: pangan fungsional, peptida antihipertensi, peptida antioksidan, peptida antimikroba, sekuens asam amino

PENDAHULUAN

Dalam dekade terakhir ini, peptida yang memiliki khasiat kesehatan tertentu telah menjadi tema penelitian dan sorotan menarik. Beberapa penelitian telah mengungkapkan bahwa fragmen protein dalam

bentuk peptida memiliki peran sebagai pangan fungsional. Peran fungsional dari peptide bioaktif diantaranya sebagai antihipertensi, antioksidan, antimikroba, antitrombotik, antiadipogenik (antiobesitas), antikanker, aktifitas opioid, antihiperkolesterol, immunomodulator dan antidiabet (kencing manis) (Abdelhadi *et al.*, 2017; Capriotti *et al.*, 2015). Peptida bioaktif umumnya terikat di dalam sekuens asam

*Penulis Korespondensi:
E-mail: mthenawidjaja@yahoo.com

amino suatu protein bahan pangan yang terdiri atas 2 sampai 20 asam amino, meskipun ada juga yang melaporkan lebih dari 20 asam amino (Ryan *et al.*, 2011). Pola sekuen asam amino dalam fragmen peptida tersebut diduga terkait dengan mekanisme fungsional dari peptida-peptida tersebut. Kehadiran asam amino dengan gugus aromatik dan alifatik, seperti Pro (P), Phe (F) atau Tyr (Y) pada atom C-terminal serta Val (V) dan Ile (I) pada posisi atom N-terminal diduga terkait dengan *angiotensin 1-converting enzyme* (ACE) *inhibitor* atau anti hipertensi (Wijesekara *et al.*, 2011). Disamping itu, asam amino yang memiliki karakter hidrofobik seperti Try (Y), Phe (F), Trp (W), Ala (A), Ile (I), Val (V), dan Met (M) serta asam amino bermuatan positif seperti Arg (R) dan Lys (K) menunjukkan afinitas yang baik dengan ACE (He *et al.*, 2012; Rai *et al.*, 2015). Peran peptida bioaktif sebagai antioksidan diduga karena kehadiran asam amino Tyr (Y), Trp (W), Met (M), Lys (K) dan Cys (C) yang memiliki kemampuan mereduksi ion Fe 3+ menjadi Fe 2+ dan mengikat (chelate) ion Fe 2+ and Cu 2+ (Carrasco-Castilla *et al.*, 2012; Huang *et al.*, 2010). Sedangkan asam amino aromatik yang memiliki gugus fenol, indol dan imidazole seperti Trp, Tyr, Phe, His dapat berperan sebagai donor elektron dan secara efisien menangkap senyawa radikal (Duan *et al.*, 2014; Sarmadi dan Ismail, 2010).

Peran antimikroba dari peptida bioaktif diduga karena karakter hidrofobisitas dari peptida tersebut. Peptida yang memiliki hidrofobisitas tinggi mengandung sekuen asam amino yang kaya akan Gly (G) dan Leu (L). Sedangkan kehadiran residu asam amino Arg (R) yang memiliki gugus kation dilaporkan memainkan peran penting sebagai antimikroba karena dapat berinteraksi dengan dinding sel bakteri (Amadou *et al.*, 2013; Tang *et al.*, 2015). Meskipun demikian, Dashper *et al.* (2007) menyatakan bahwa mekanisme aksi dari peptida antimikroba belum jelas mengingat demikian banyak jumlah antimikroba yang telah ditemukan. Terlihat dari uraian di atas, alasan kehadiran suatu asam amino tidaklah cukup untuk memberikan penciri unik terhadap suatu sifat fungsional. Analisis harus dilakukan berdasarkan penciri yang berlandaskan urutan-urutan asam amino (sekuens). Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, tujuan penelitian ini adalah mengeksplorasi penciri peptida bioaktif yang memiliki sifat fungsional sebagai antihipertensi (AH), antioksidan (AO), dan antimikroba (AM) berdasarkan beberapa sifat yang dibangkitkan dari sekuensnya.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa sumber data sekunder dan publikasi ber-

bagai jurnal ilmiah internasional yang berkualitas yang dianalisis secara *meta-analysis*. Sumber data dan publikasi internasional tersebut digunakan untuk penyusunan pustaka peptida bioaktif dan pembangkitan penciri berdasarkan sekuens dari peptida bioaktif tersebut

Penyusunan pustaka peptida bioaktif

Penyusunan pustaka peptida bioaktif dilakukan dengan penelusuran sekuen asam amino peptida bioaktif dari jurnal-jurnal ilmiah internasional yang berkualitas (setidaknya memiliki impact factor 1, diakui oleh komunitas ilmiah atau terindeksi Scopus/Thomson atau memiliki tingkat sitasi yang tinggi menurut komunitas Open Source Researchgate. Sekuen asam amino peptida bioaktif tersebut kemudian ditabulasikan menjadi suatu pustaka peptida bioaktif, yang memuat nama peptida, sumber protein, penulis dan jurnal yang menerbitkan, dan dikategorikan berdasarkan sifat fungsional yang dilaporkan yaitu antihipertensi, antioksidan, atau antimikroba.

Perhitungan penciri sifat berdasarkan sekuen peptida bioaktif

Penciri yang dihitung dengan berdasarkan kepada sekuens asam amino peptida adalah panjang, berat molekul, titik isoelektrik (pI), muatan bersih (*net charge*) dan hidrofobisitas. Panjang sekuens menunjukkan jumlah residu asam amino dari suatu peptida bioaktif, berat molekul dihitung berdasarkan total berat atom semua residu asam amino penyusunnya, titik isoelektrik adalah pH saat muatan bersih peptida bioaktif adalah nol, muatan bersih dihitung berdasarkan jumlah residu yang bermuatan positif dan negatif pada pH netral dan hidrofobisitas diukur sebagai energi bebas untuk mengantarkan suatu peptida dari kondisi aqueous ke lingkungan hidrofobik yang ditetapkan dengan menggunakan skala *Wimley-White* dengan satuan kcal/mol. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan program aplikasi *PepDraw* (Estrada, 2011).

Klustering peptida bioaktif

Pengelompokan penciri peptida bioaktif berdasarkan sifat fungsionalnya dianalisis dengan kluster analysis menggunakan aplikasi WEKA 3.9 *data mining*, dan dilanjutkan dengan biplot menggunakan aplikasi SAS 9.4. Sifat fisikokimia dari masing-masing peptida bioaktif dikelompokkan ke dalam tiga dan empat kluster, dimana kluster pertama menunjukkan jumlah anggota kluster terbanyak dan kluster berikutnya memiliki anggota lebih kecil. Nilai *centroid* masing-masing kluster diperoleh dari rerata nilai setiap anggota peptida bioaktif pada penciri tertentu di tiap kluster. Kluster dari masing-masing sifat fisikokimia, kemudian digambarkan dalam biplot dua dimensi dengan menggunakan aplikasi SAS 9.4.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pustaka peptida bioaktif

Penelusuran peptida bioaktif pada jurnal-jurnal ilmiah internasional menghasilkan pustaka peptida bioaktif, yang dikelompokkan berdasarkan peran fungsionalnya di dalam tubuh. Secara keseluruhan rekam peptida bioaktif disajikan pada Tabel 1.

Dari beberapa jurnal ilmiah internasional yang ditelusur, tiga sifat fungsional yang dominan pada peptida bioaktif adalah antihipertensi, antioksidan dan antimikroba, masing-masing 143 (8 peptida di antaranya berasal lebih dari satu asal bahan), 22 dan 25 peptida (Tabel 1). Sebagian besar peptida bioaktif tersebut berasal dari kedelai, diikuti susu dan gandum. Beberapa peptida bioaktif antihipertensi yang tertelusur di antaranya adalah YLAGNQ, IPPGVYWT, ASYDTKF, DTKF, PNNKPFQ, dan DQTPRVF (Capriotti *et al.*, 2015), YPHY (Tsai *et al.*, 2008), VPP, IPP, GY, AF, VP, AI, dan VG (Castro dan Sato, 2015), AW, AY, GW dan SY (Sanjukta dan Rai, 2015), EVLSNSGY, PGTAVFK dan VH LPP (McClellan *et al.*, 2014), RPKHPIKHQG LPQEV, EVLNENLLRF, FVAPFPEVFGK, YQEPVLPVVRG PF, YQEPVLPVVRGPFPI dan YQEPVLPVVRGPF PIIV (Torres-Llanez *et al.*, 2011), APAMR, EAPRY, IPSEVLS, KHFLA, NSGPLVNP dan RPSYTNGPQ EIYIQQKGIFG (Puchalska *et al.*, 2014). Demikian juga peptida bioaktif antioksidan diantaranya adalah LLPHHADADY, LLPHH, LVNPH DHQN, TTYT dan LQSGDALRVPSGTTY (Capriotti *et al.*, 2015), QSGDALR dan RPSYT (Puchalska *et al.*, 2014), IRHFNEGDVLPVPPGVY, IRHFNEGDVLPVPPGV YW, YRAELSEQDIFVIPAG, IYNFREGDLIA VPTG dan VSIIDTNSLENQLDQMPRR (Coscueta *et al.*, 2015). Sedangkan peptida bioaktif antimikroba di antaranya adalah IIVVQGGKGAIGF, ASRGIRVNG VAPGPVWTPIQPA, IIIAQGGKALGV, IVTVKGGRL VTAPA, LFLVLSGRAIL, KIGGIGTVPVGRVETGVK PGMVV, SGGIKLPTDIISKISPLPVLKEI dan LAFPG SAKDIENLIKSSQ (Capriotti *et al.*, 2015), GLSRLFTA LK (Castro dan Sato, 2015), PGTAVFK dan TTMP LW (McClellan *et al.*, 2014).

Bioactive peptide (BIOPEP) *database* yang dikembangkan oleh University of Warmia dan Mazury di Polandia melaporkan memiliki 3389 peptida bioaktif (Minkiewicz *et al.*, 2008). Di dalam BIOPEP *database*, jumlah peptida antihipertensi sebanyak 799, peptida antimikroba 464 dan peptida antioksidan 539. Jika dibandingkan hasil penelusuran peptida bioaktif dari jurnal ilmiah internasional masih sangat kecil dibandingkan keberadaan peptida bioaktif di *database* BIOPEP, yang mana peptida

antihipertensi baru terdapat 17,9%, anti-mikroba 5,4% dan antioksidan 4,1%.

Penciri peptida bioaktif berdasarkan sekuens asam amino

Statistik dari penciri yang dibangkitkan dari sekuens asam amino dihubungkan dengan sifat fungsional yang dimilikinya disajikan pada Tabel 2.

Peptida antihipertensi dan antioksidan memiliki nilai rerata yang hampir sama pada beberapa penciri seperti panjang sekuens, berat molekul, titik isoelektrik dan hidrofobisitas. Rerata panjang sekuens peptida antihipertensi dan antioksidan berada pada kisaran 7-8 residu asam amino, berat molekul berkisar 800-900 Da, titik isoelektrik berada pada kisaran 6-7, muatan bersih berada pada kisaran 0, dan hidrofobisitas pada kisaran 10-11 kcal/mol. Hal ini sejalan dengan apa yang dinyatakan Nagpal *et al.* (2011) bahwa peptida bioaktif antihipertensi yang memiliki residu asam amino pendek memiliki kemampuan yang lebih potensial untuk menghambat aktifitas *angiotensin 1-converting enzyme* (ACE). He *et al.* (2012) dan Rai *et al.* (2015) juga mengatakan bahwa beberapa peptida antihipertensi memiliki asam amino hidrofobik, asam amino bergugus aromatik dan alifatik dan bermuatan positif. Demikian juga Duan *et al.* (2014) mengungkapkan bahwa beberapa peptida yang berperan sebagai antioksidan memiliki residu asam amino aromatik yang memiliki gugus fenol, indol dan imidazole seperti Trp, Tyr, Phe, His dapat berperan sebagai donor elektron bagi senyawa radikal.

Peptida antimikroba memiliki perbedaan dengan peptida antihipertensi dan antioksidan berdasarkan kelima penciri tersebut yaitu panjang sekuens, berat molekul, titik isoelektrik, muatan bersih dan hidrofobisitas. Rerata panjang sekuens dan berat molekul peptida antimikroba (14,8 dan 1535,3) hampir dua kali lebih besar dari peptida antihipertensi dan antioksidan (masing-masing 7,7 dan 8,4 serta 881,4 dan 965,9). Rerata titik isoelektrik peptida antimikroba (9,9) satu setengah kali peptida antihipertensi dan antioksidan (masing-masing 6,9 dan 6,1). Rerata muatan bersih peptida antihipertensi dan antioksidan berada pada kisaran 0, sedangkan rerata muatan bersih peptida antimikroba di atas 1.

Hidrofobisitas peptida antihipertensi dan antioksidan berada sekitar 10 dan 11, sedangkan peptida antimikroba hampir menembus angka 13. Sebagaimana yang diungkap Amadou *et al.* (2013) bahwa kehadiran residu Arg (asam amino kationik) di dalam sekuens peptida berperan penting dalam aktivitas antimikroba, yang dapat meningkatkan interaksi dengan dinding sel bakteri.

Tabel 1. Jumlah peptida bioaktif dari berbagai bahan yang diperoleh dari hasil-hasil penelitian dalam jurnal ilmiah internasional

No	Asal Bahan	Jumlah Peptida Bioaktif					
		Anti Hipertensi	%	Anti Oksidan	%	Anti Mikroba	%
1	Kedelai	70	48,9	19	86,5	23	92,0
2	Susu	53	37,1	1	4,5	1	4,0
3	Beras	2	1,4	-	-	-	-
4	Gandum	9	6,3	-	-	-	-
5	Gelatin dan jaringan otot	2	1,4	2	9,0	-	-
6	Barley	1	0,7	-	-	-	-
7	Jagung	5	3,5	-	-	-	-
8	Bunga matahari	1	0,7	-	-	-	-
9	<i>Anchovies</i>	-	-	-	-	1	4,0
Total		143	100	22	100	25	100

Keterangan: Prosentase jumlah peptida bioaktif dihitung untuk masing-masing sifat fungsional; Sumber: ¹Capriotti *et al.*, 2015; ²Tsai *et al.*, 2008; ³Castro dan Sato, 2015; ⁴Sanjukta dan Rai, 2015; ⁵McClellan *et al.*, 2014; ⁶Puchalska *et al.*, 2014; ⁷Coscuela *et al.*, 2015

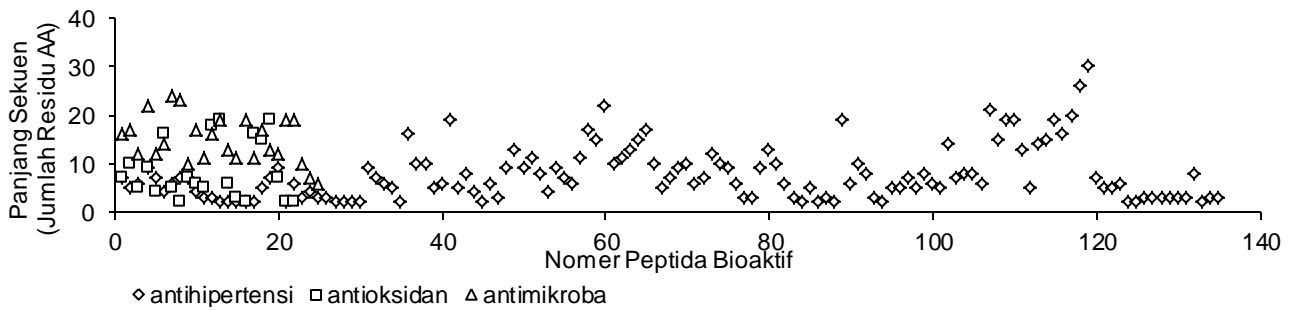
Tabel 2. Statistik penciri berbasis sekuens peptida bioaktif dan sifat fungsionalnya

Penciri	Statistik	Antihipertensi	Antioksidan	Antimikroba
Panjang Sekuens	Minimum	2	2	6
	Quartil 1	3	4	11
	Median	6	6,5	14
	Quartil 3	10	15	19
	Maksimum	30	19	24
	Rata-rata	7,67±5,5 ^a	8,4±5,9 ^a	14,8±4,8 ^d
Berat Molekul	Minimum	174,1	226,1	718,4
	Quartil 1	391,2	546,2	1130,2
	Median	718,4	730,4	1428,8
	Quartil 3	1131,6	1663	1931,1
	Maksimum	3243,6	2228	2417,4
	Rata-rata	881,4±615,2 ^a	965,9±665,3 ^a	1535,3±490,9 ^d
Titik Isoelektrik	Minimum	3,02	3,1	5,2
	Quartil 1	5,4	5,2	9,9
	Median	5,6	5,5	10,2
	Quartil 3	9,5	6,5	11,2
	Maksimum	11,7	11,5	12,5
	Rata-rata	6,9±2,3 ^a	6,1±1,9 ^a	9,9±1,9 ^d
Muatan Bersih	Minimum	-2	-2	-1
	Quartil 1	0	-1	1
	Median	0	0	1
	Quartil 3	1	0	2
	Maksimum	3	2	4
	Rata-rata	0,2±0,9 ^a	-0,3±0,9 ^d	1,2±1 ^c
Hidrofobisitas	Minimum	3,2	4,5	4,5
	Quartil 1	6,9	7,5	9,4
	Median	9	12,6	10,9
	Quartil 3	12,2	15,6	16,9
	Maksimum	27,3	21,1	24,9
	Rata-rata	10,1±4,5 ^a	11,1±4,0 ^{ab}	12,6±5,2 ^d

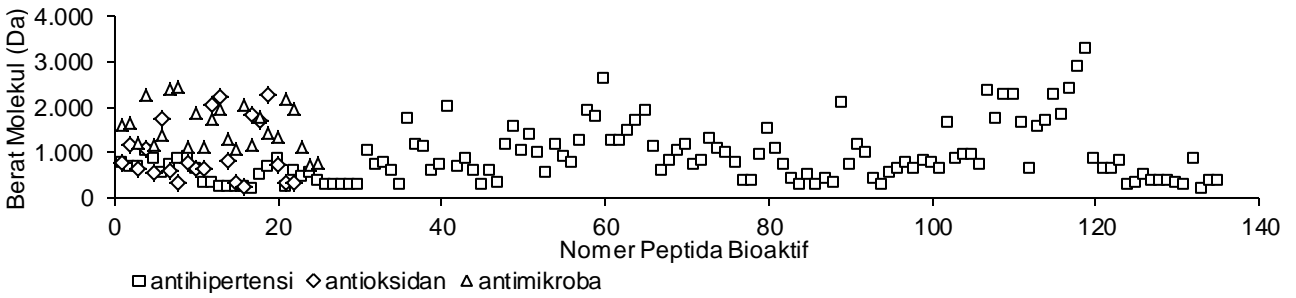
Keterangan: Huruf yang berbeda pada setiap penciri menunjukkan perbedaan nyata pada taraf uji $P \leq 0,05$

Hal itu disebabkan sel bakteri kaya akan fosfolipid bermuatan negatif menghadap ke lingkungan luar, sehingga memudahkan berinteraksi dengan peptida yang bermuatan positif. Meskipun demikian, hidrofobisitas dari peptida yang mengandung *Gly* dan *Leu* dilaporkan juga sebagai molekul antimikroba yang potensial. Kesulitan untuk mendapatkan

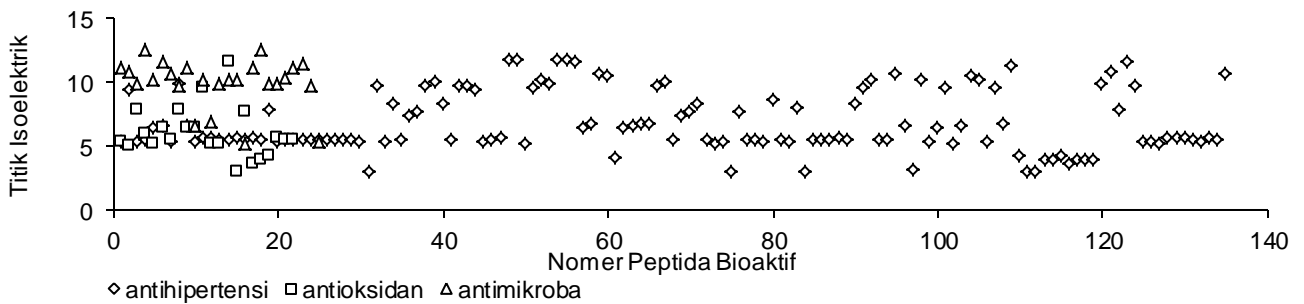
penciri dengan hanya berlandaskan kepada sifat tunggal juga terlihat di dalam diagram pencar sifat-sifat tersebut sebagaimana disajikan pada Gambar 1a, 1b, 1c, 1d, dan 1e. Terlihat dari diagram pencar (Gambar 1a, 1b, 1c, 1d dan 1e), belum memungkinkan untuk menarik penciri sifat fungsional peptida dengan hanya mengandalkan satu penciri tunggal.



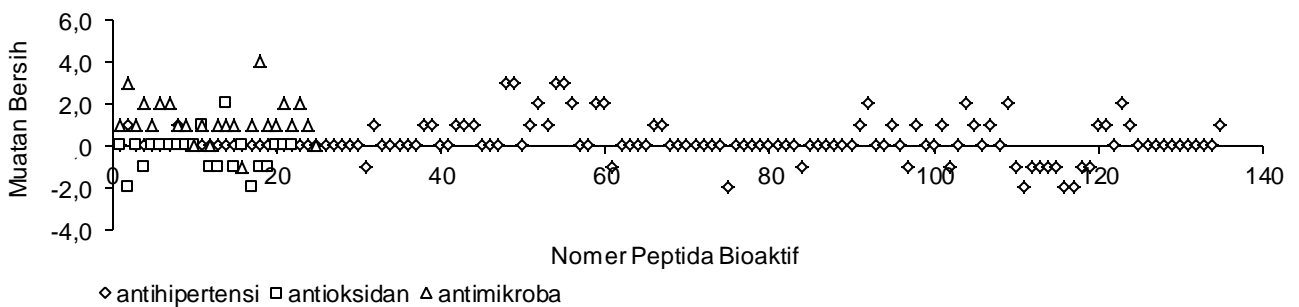
Gambar 1a. Distribusi peptida bioaktif berdasarkan panjang sekuens



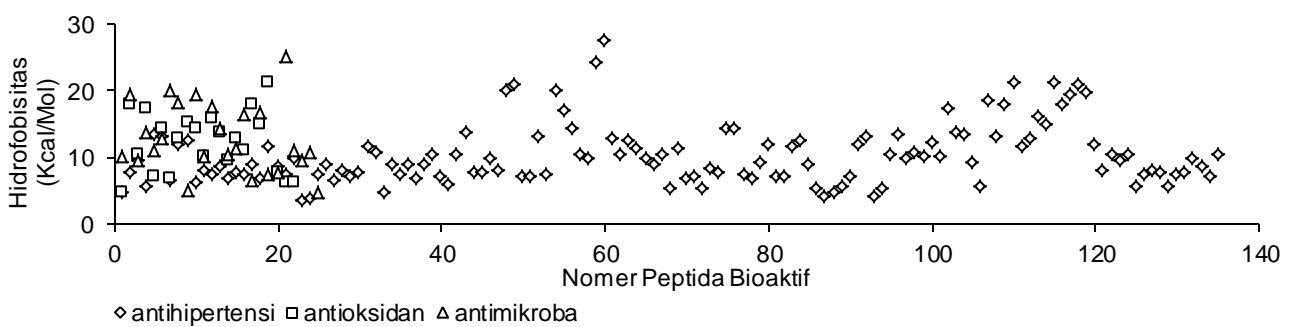
Gambar 1b. Distribusi peptida bioaktif berdasarkan berat molekul



Gambar 1c. Distribusi peptida bioaktif berdasarkan titik isoelektrik



Gambar 1d. Distribusi peptida bioaktif berdasarkan muatan bersih

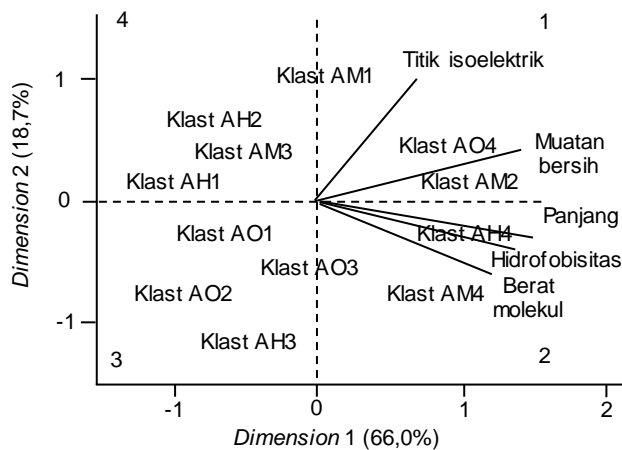


Gambar 1e. Distribusi peptida bioaktif berdasarkan hidrofobisitasnya

Mengingat sulitnya mendapatkan penciri dengan hanya menggunakan satu penciri tunggal yang diturunkan dari sekuens, maka dilakukan analisis biplot dengan menggunakan semua penciri secara simultan sebagaimana akan dibahas pada bagian berikut ini.

Pengklasteran penciri dengan sifat fungsional peptida bioaktif

Pengklasteran dilakukan dengan menggunakan dua strategi yaitu 4 dan 3 buah klaster. Hasil pengklasteran dengan menggunakan teknik biplot disajikan pada Gambar 2a dan 2b berikut ini. *Biplotting* dengan 4 klaster (Gambar 2a) dan 3 klaster (Gambar 2b) menunjukkan tidak ada plot klaster yang tumpang tindih. Kesemua plot klaster tersebar merata pada kuadran 1 hingga 4.



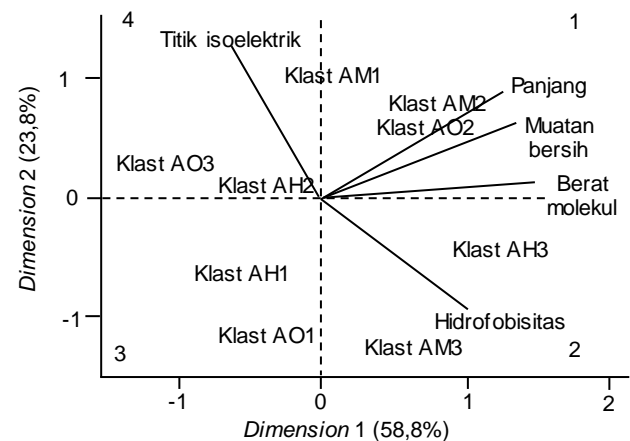
Keterangan: AH1, AH2, AH3, AH4 : Antihipertensi klaster 1, klaster 2, klaster 3, dan klaster 4; AO1, AO2, AO3, AO4 : Antioksidan klaster 1, klaster 2, klaster 3 dan klaster 4; AM1, AM2, AM3, AM4 : Antimikroba klaster 1, klaster 2, klaster 3 dan klaster 4

Gambar 2a. Biplot dari *klastering* penciri dan sifat fungsional peptida bioaktif dengan 4 klaster

Pada *biplotting* dengan 4 klaster, klaster AH1 (antihipertensi dengan jumlah anggota terbanyak) berada di garis pembatas kuadran 3 dan 4, berdekatan dengan klaster AO1 (antioksidan dengan jumlah anggota terbanyak) yang berada di kuadran 3 sebelah atas. Sedangkan *biplotting* dengan 3 klaster, posisi klaster AH1 dan AO1 berada pada kuadran yang sama yaitu kuadran 3. Panjang sekuens, berat molekul dan titik isoelektrik peptida antihipertensi dan antioksidan yang konsisten berdekatan pada Tabel 3a dan 3b yang memicu kedekatan kedua sifat fungsional peptida tersebut.

Sebagaimana tampak pada Tabel 3a, nilai *centroid* panjang sekuens, berat molekul dan titik isoelektrik pada *biplotting* dengan 4 klaster pada AH1

dan AO1 adalah masing-masing 3,4 dan 6,7; 404,7 dan 744,2; serta 5,7 dan 5,7. Sedangkan pada Tabel 3b, nilai *centroid* panjang sekuens, berat molekul dan titik isoelektrik pada AH1 dan AO1 adalah masing-masing 3,8 dan 6,3; 435,9 dan 744,2; serta 5,9 dan 5,2. Dibandingkan dengan kedua sifat fungsional (antihipertensi dan antioksidan), sifat antimikroba cukup mencolok perbedaannya. Posisi AM1 (antimikroba dengan jumlah anggota terbanyak) baik dengan 4 klaster (Gambar 2a) maupun 3 klaster (Gambar 2b) berada di area yang sama yaitu di garis pembatas kuadran 4 dan 1.



Keterangan: AH1, AH2, AH3: Antihipertensi klaster 1, klaster 2, dan klaster 3; AO1, AO2, AO3: Antioksidan klaster 1, klaster 2, dan klaster 3; AM1, AM2, AM3: Antimikroba klaster 1, klaster 2, dan klaster 3

Gambar 2b. Biplot dari *klastering* penciri dan sifat fungsional peptida bioaktif dengan 3 klaster

Sebagaimana tampak pada Tabel 3a dan 3b, nilai *centroid* AM1 (antimikroba dengan jumlah anggota terbanyak) tampak memiliki nilai tertinggi pada setiap pencirinya (panjang, berat molekul, titik isoelektrik dan muatan bersih), kecuali nilai hidrofobisitasnya. Jika dibandingkan nilai *centroid* masing-masing penciri terhadap sifat fungsionalnya (antihipertensi, antioksidan dan antimikroba) pada jumlah anggotanya terbanyak (pada Tabel 3a) berdasarkan panjang adalah $AH1 < AO1 < AM1$; berat molekul adalah $AH1 < AO1 < AM1$; titik isoelektrik adalah $AH1 = AO1 < AM1$; muatan bersih adalah $AH1 = AO1 < AM1$; dan hidrofobisitas adalah $AH1 < AO1 > AM1$. Hal ini mengilustrasikan bahwa sifat antihipertensi dan antioksidan memiliki lebih banyak kemiripan dibandingkan dengan sifat antimikroba. Korelasi penciri sifat fungsional peptida bioaktif yang terdiri atas panjang, berat molekul, titik isoelektrik, muatan bersih dan hidrofobisitas dapat dilihat berdasarkan sudut yang dibentuk vektor penciri tersebut (Mattjik dan Sumertajaya, 2011).

Tabel 3a. Jumlah anggota klaster dan nilai *centroid* pada *klastering* 4 klaster berdasarkan sifat pencirinya

	Panjang		Berat Molekul		Titik Isoelektrik		Muatan Bersih		Hidrofobisitas	
	Jumlah Anggota Klaster	Centroid	Jumlah Anggota Klaster	Centroid	Jumlah Anggota Klaster	Centroid	Jumlah Anggota Klaster	Centroid	Jumlah Anggota Klaster	Centroid
Klaster1 AH	60	3,4±1,3	59	404,7±153,0	73	5,7±0,5	85	0,0±0,0	58	6,5±1,3
Klaster2 AH	39	7,4±1,1	45	863,8±152,3	34	10,4±0,7	22	1,0±0,0	39	9,9±1,0
Klaster3 AH	24	12,4±2,2	19	1487,8±222,4	15	3,7±0,5	16	-1,3±0,4	23	12,9±1,0
Klaster4 AH	12	20,7±3,8	12	2331,1±406,5	13	7,9±0,4	12	2,4±0,5	15	20,1±2,7
Klaster1 AO	10	6,7±1,7	11	744,2±199,8	12	5,7±0,5	12	0,0±0,3	8	13,9±1,1
Klaster2 AO	6	2,5±0,8	5	282,7±32,2	5	4,0±0,7	7	-1,0±0,4	6	6,3±1,1
Klaster3 AO	4	18,0±1,4	3	2152,1±113,9	4	8,2±0,9	2	-2,0±2,3	4	10,1±0,5
Klaster4 AO	2	15,5±0,7	3	1731,9±71,6	1	11,5±0,0	1	2,0±0,0	4	17,4±0,5
Klaster1 AM	10	10,2±2,1	9	1034,8±176,0	9	11,5±0,6	12	1,0±0,0	11	11,2±1,6
Klaster2 AM	6	18,3±1,0	7	1839,2±143,2	6	10,3±0,2	7	2,4±0,8	6	17,8±1,3
Klaster3 AM	5	14,4±1,5	5	1401,0±124,0	5	9,9±0,1	5	-0,3±0,7	6	6,6±1,8
Klaster4 AM	4	23,0±3,1	4	2297,1±113,8	5	6,8±1,9	1	3,5±0,0	2	22,4±3,7

Keterangan: *Klastering* dilakukan dengan metode simple K Means. Nilai centroid adalah rerata nilai anggota klaster pada setiap klaster di kelompok sifat fungsionalnya. AH= Antihipertensi; AO= Antioksidan; AM= Antimikroba

Tabel 3b. Jumlah anggota klaster dan nilai *centroid* pada *klastering* 3 klaster berdasarkan sifat pencirinya

	Panjang		Berat Molekul		Titik Isoelektrik		Muatan Bersih		Hidrofobisitas	
	Jumlah Anggota Klaster	Centroid	Jumlah Anggota Klaster	Centroid	Jumlah Anggota Klaster	Centroid	Jumlah Anggota Klaster	Centroid	Jumlah Anggota Klaster	Centroid
Klaster1 AH	71	3,8±1,5	67	435,9±167,2	80	5,9±0,7	107	0,2±0,4	69	6,8±1,4
Klaster2 AH	44	9,1±1,9	46	980,6±200,0	40	10,0±1,0	16	-1,3±0,4	50	11,5±1,5
Klaster3 AH	20	18,4±4,1	22	2030,6±451,0	15	3,7±0,5	12	2,3±0,5	16	19,8±2,8
Klaster1 AO	10	6,3±1,7	11	744,2±199,8	17	5,2±0,9	18	-0,3±0,5	10	16,1±2,3
Klaster2 AO	6	17,2±1,7	6	1942,0±243,3	4	8,2±0,9	2	1,5±0,7	6	10,9±1,4
Klaster3 AO	6	2,5±0,8	5	282,7±32,2	1	11,5±0,0	2	-2,0±0,0	6	6,3±1,1
Klaster1 AM	10	19,6±2,5	13	1132,5±212,3	12	10,1±0,2	14	1,0±0,0	14	8,8±2,3
Klaster2 AM	8	13,5±1,7	8	1808,8±158,0	9	11,5±0,6	7	2,4±0,8	9	16,3±1,6
Klaster3 AM	7	9,4±2,1	4	2297,1±113,8	4	6,0±0,9	4	-0,3±0,5	2	22,3±1,2

Keterangan: *Klastering* dilakukan dengan metode simple K Means. Nilai centroid adalah rerata nilai anggota klaster pada setiap klaster di kelompok sifat fungsionalnya. AH= Antihipertensi; AO= Antioksidan; AM= Antimikroba

KESIMPULAN

Kehadiran suatu asam amino tidak cukup dalam mencirikan suatu sifat fungsional pada peptida bioaktif, seperti kehadiran residu asam amino gugus aromatik dan alifatik pada peptida yang memiliki sifat antihipertensi dan antioksidan serta residu asam amino bergugus kation pada peptida yang memiliki sifat antimikroba. Penciri yang dibangkitkan dari sekuens peptida biokatif meliputi panjang sekuens, berat molekul, titik isoelektrik, muatan bersih dan hidrofobisitas secara simultan digunakan untuk mencirikan sifat fungsional peptida bioaktif. Peptida bioaktif dengan sifat antihipertensi dan antioksidan memiliki beberapa kemiripan, sedangkan sifat antimikroba cukup besar perbedaannya terhadap sifat antihipertensi dan antioksidan. Panjang sekuens, berat molekul dan titik isoelektrik pada peptida antihipertensi dan antioksidan memiliki nilai yang sangat berdekatan sehingga menjadi penciri kesamaan sifat kedua sifat fungsional tersebut. Peptida antimikroba memiliki nilai yang tertinggi dibandingkan peptida antihipertensi dan antioksidan dalam hal penciri panjang sekuens, berat molekul, titik isoelektrik dan muatan bersih, kecuali hidrofobisitas. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengembangkan studi tentang peptida bioaktif dan menjadi alternatif penentuan sifat fungsional peptida bioaktif, khususnya anti-

hipertensi, antioksidan dan antimikroba, melalui pendekatan sifat fisik dan kimianya. Untuk penelitian lanjutan, telaah secara *in vitro* terhadap kandungan peptida bioaktif dan menguji bioaktivitasnya pada bahan pangan dan produk fermentasi asli Indonesia penting untuk dilakukan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada Kemenristek Dikti yang telah membiayai penelitian ini dalam skema Penelitian Unggulan Dasar Simlitabmas tahun 2017 dengan nomor kontrak 1388/IT3.11/PN/2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelhadi O, Nasri R, Jridi M, Mora L, Toledo, MEO, Aristoy MC, Amara IB, Toldra F, Nasri M. 2017. In silico analysis and antihypertensive effect of ACE-inhibitory peptides from smooth-hound viscera protein hydrolysate: Enzyme-peptide interaction study using molecular docking simulation. *Process Biochem* 58: 145-159. DOI: 10.1016/j.procbio.2017.04.032.

- Amadou I, Le GW, Amza T, Sun J, Shi YH. 2013. Purification and characterization of foxtail millet-derived peptides with antioxidant and antimicrobial activities. *Food Res Int* 51: 422-428. DOI: 10.1016/j.foodres.2012.12.045.
- Capriotti AL, Caruso G, Cavaliere C, Saperi R, Ventura S, Chiozzi RZ, Lagana A. 2015. Identification of potential bioactive peptides generated by simulated gastrointestinal digestion of soybean seeds and soy milk proteins. *J Food Compos Anal* 44: 205-213. DOI: 10.1016/j.jfca.2015.08.007.
- Carrasco-Castilla J, Hernández-Álvarez AJ, Jiménez-Martínez C, Jacinto-Hernández C, Alaiz M, Girón-Calle J. 2012. Antioxidant and metal chelating activities of *Phaseolus vulgaris* L. var. Jamapa protein isolates, phaseolin and lectin hydrolysates. *Food Chem* 131: 1157-1164. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.09.084.
- Castro RJS, Sato HH. 2015. Biologically active peptides: Processes for their generation, purification and identification and applications as natural additives in the food and pharmaceutical industries. *Food Res Int* 74: 185-198. DOI: 10.1016/j.foodres.2015.05.013.
- Coscueta ER, Amorim MM, Voss GB, Nerli BB, Picó GA, Pintado ME. 2015. Bioactive properties of peptides obtained from Argentinian defatted soy flour protein by Corolase PP hydrolysis. *Food Chem* 198: 36-44. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.11.068.
- Dashper SG, Liu SW, Reynolds EC. 2007. Antimicrobial peptides and their potential as oral therapeutic agents. *Int. J Pept Res Ther* 13: 505-516. DOI: 10.1007/s10989-007-9094-z.
- Duan X, Ocen D, Wu F, Li M, Yang N, Xu J. 2014. Purification and characterization of a natural antioxidant peptide from fertilized eggs. *Food Res Int* 56: 18-24. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.12.016.
- Estrada G. 2011. Peptide drawings made easy. http://www.ohr.tulane.edu/news/newwave/010411_peptides.cfm?RenderForPrint=1 [15 Januari 2017]. DOI: 10.1016/j.foodres.2013.12.016.
- He R, Ju X, Yuan J, Wang L, Girgih AT, Aluko RE. 2012. Antioxidant activities of rapeseed peptides produced by solid state fermentation. *Food Res Int* 49: 432-438. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2010.02239.x.
- Huang S, Chen K N, Chen YP, Hong WS, Chen MJ. 2010. Immunomodulatory properties of the milk whey products obtained by enzymatic and microbial hydrolysis. *Int J Food Sci Tech* 45: 1061-1067. DOI: 10.1111/j.1365-2621.2010.02239.x.
- Mattjik AA, Sumertajaya IM. 2011. Sidik Pengubah Ganda dengan menggunakan SAS. 246-270. IPB Press. Bogor.
- McClellan S, Beggs LB, Welch RW. 2014. Antimicrobial activity of antihypertensive food-derived peptides and selected alanine analogues. *Food Chem* 146: 443-447. DOI: 10.1016/j.foodchem.2013.09.094.
- Minkiewicz P, Dziuba J, Iwaniak A, Dziuba M, Darewicz M. 2008. BIOPEP database and other programs for processing bioactive peptide sequences. *J AOAC Int* 91: 965-980.
- Nagpal R, Behare P, Rana R, Kumar A, Kumar M, Arora S, Morotta F, Jain S, Yadav H. 2011. Bioactive peptides derived from milk proteins and their health beneficial potentials. *Food Funct* 2: 18-27. DOI: 10.1039/C0FO00016G.
- Puchalska P, Garcia MC, Marina ML. 2014. Identification of native angiotensin-1 converting enzyme inhibitory peptides in commercial soybean based infant formulas using HPLC-Q-ToF-MS. *Food Chem* 157: 62-29. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.01.130.
- Rai AK, Sanjukta S, Jeyaram K. 2015. Production of Angiotensin I converting enzyme inhibitory (ACE-I) peptides during milk fermentation and its role in treatment of hypertension. *Cri Rev Food Sci* 57: 2789-2800. DOI: 10.1080/10408398.2015.1068736.
- Ryan JT, Ross RP, Bolton D, Fitzgerald GF, Stanton C. 2011. Bioactive peptides from muscle sources: meat and fish. *Nutrients* 3: 765-791. DOI: 10.3390/nu3090765.
- Sarmadi BH, Ismail A. 2010. Antioxidative peptides from food proteins - a review. *Peptides* 31: 1949-1956. DOI: 10.1016/j.peptides.2010.06.020.
- Sanjukta S, Rai AK. 2015. Production of bioactive peptides during soybean fermentation and their potential health benefits. *Trends Food Sci Tech* 50: 1-10. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.01.010.

- Tang W, Zhang H, Wang L, Qian H, Qi X. 2015. Targeted separation of antibacterial peptide from protein hydrolysate of anchovy cooking wastewater by equilibrium dialysis. *Food Chem* 168: 115-123. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.07.027.
- Torres-Llanez MJ, Cordova G, Mendoza H, Garcia HS. 2011. Angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in Mexican Fresco cheese. *J Dairy Sci* 94: 3794-3800. DOI: 10.3168/jds.2011-4237.
- Tsai. 2008. ACE-inhibitory peptides identified from the muscle protein hydrolysate of hard clam (*Meretrix lusoria*). *Process Biochem* 43: 743-747. DOI: 10.1016/j.procbio.2008.02.019.
- Wijesekara I, Qian Z, Ryu B, Ngo D, Kim S. 2011. Purification and identification of antihypertensive peptides from seaweed pipefish (*Syngnathus schlegelii*) muscle protein hydrolysate. *Food Res Int* 44: 703-707. DOI: 10.1016/j.foodres.2010.12.022.