

## FRAKSINASI PEPTIDA DARI HIDROLISAT PROTEIN IKAN SELAR (*Selaroides leptolepis*)

Reinal Putalan<sup>1\*</sup>, Tati Nurhayati<sup>2</sup>, Ekowati Chasanah<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Politeknik Palu, Jalan Sinar Kemuning 1 Nomor 1 A Bumi Roviga Tondo-Palu Sulawesi Tengah

<sup>2</sup>Departemen Teknologi Hasil Perairan, IPB University, Jalan Agatis, Kampus IPB Dramaga, Bogor

<sup>3</sup>Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Jakarta

\*Korespondensi: [reinalputalan@gmail.com](mailto:reinalputalan@gmail.com)

Diterima: 18 Agustus 2020/Disetujui: 04 November 2020

**Cara sitasi:** Putalan R, Nurhayati T, Chasanah E. 2020. Fraksinasi peptida dari hidrolisat protein ikan selar (*Selaroides leptolepis*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(3): 434-440.

### Abstrak

Ikan selar (*Selaroides leptolepis*) merupakan ikan dengan sebaran yang cukup luas dengan produksi yang melimpah serta memiliki kandungan gizi protein yang tinggi. Peptida yang berasal dari hidrolisat protein ikan mempunyai manfaat yang besar untuk pengembangan produk pangan fungsional. Penelitian ini bertujuan mendapatkan fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan dan inhibitor ACE dari hidrolisat protein ikan selar. Penelitian dilakukan dengan cara melakukan fraksinasi peptida menggunakan kolom kromatografi, lalu dikarakterisasi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksinasi dengan kolom kromatografi filtrasi gel mendapatkan 2 fraksi, yaitu fraksi A dan B dengan  $IC_{50}$  berturut-turut 4.737,95 ppm dan 529,42 ppm, serta memiliki aktivitas inhibitor ACE sebesar 90,65% dan 96,61%. Peptida fraksi B lebih potensial sebagai antioksidan dan inhibitor ACE.

Kata kunci: antioksidan, inhibitor ACE, kromatografi gel filtrasi, peptida

### *Fractionation of Peptide from Yellowstripe scad (Selaroides leptolepis) Protein Hydrolysate*

#### Abstract

Yellowstripe scad (*Selaroides leptolepis*) is a highly produced fish, widely distribute along Indonesian coast and has high protein nutritional content. Peptides derived from fish protein hydrolysate have great benefits for the development of function-al food products. This study was aimed to obtain the peptide fraction from yellowstripe scad protein hydrolysate having anti-oxidant and ACE inhibitor activity. The research was conducted by fractionating the peptides using a chromatography column. The results showed that the fractionation resulted 2 fractions, namely fractions A and B with  $IC_{50}$  4,737.95 ppm and 529.42 ppm and ACE inhibitor activity of 90.65% and 96.61%, respectively. Peptide fraction B had higher antioxidants and ACE inhibitors than that of fraction A.

Keywords: ACE inhibitors, antioxidants, filtration gel chromatography, peptides

## PENDAHULUAN

Ikan selar (*Selaroides leptolepis*) merupakan ikan dengan sebaran yang cukup luas dengan produksi yang melimpah serta memiliki kandungan gizi protein yang tinggi. 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 sehingga untuk mendapatkan sifat fungsional antioksidan dan inhibitor

ACE dari protein ikan selar perlu dilakukan proses hidrolisis.

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 (Ryan *et al.* 2011).

Sejumlah penelitian menjelaskan bahwa peptida yang berasal dari hidrolisat protein secara enzimatik baik ikan maupun dari protein hewani lain memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Jun *et al.* 2004; Fan *et al.* 2012) dan juga sebagai inhibitor ACE (Wu *et al.* 2015). Hasil penelitian Klompong *et al.* (2009) menunjukkan bahwa peptida ikan selar memiliki aktivitas antioksidan 80%, Ji *et al.* (2013) menghidrolisis ikan *croaker* kuning menghasilkan peptida yang memiliki aktivitas antioksidan dengan  $IC_{50}$  1.784 ppm. Khirzin *et al.* (2015) menghidrolisis teripang secara enzimatik menghasilkan peptida dengan aktivitas inhibitor ACE 82,31%. Toopcham *et al.* (2017) mendapatkan peptida dari tilapia dapat menghambat kerja enzim ACE 89,3%. Putalan *et al.* (2018) menghidrolisis ikan selar menggunakan enzim protease koleksi BBRP2BKP menunjukkan hidrolisat protein ikan selar memiliki aktivitas antioksidan dan inhibitor ACE. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan fraksi yang memiliki aktivitas antioksidan dan inhibitor ACE dari hidrolisat protein ikan selar.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan penelitian yang digunakan meliputi daging ikan selar yang diperoleh dari pasar ikan Muara Baru, dengan panjang 12-17 cm, enzim protease lokal koleksi BBRP2BKP, *angiotensin converting enzyme* (Sigma, AS), *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (Sigma, AS). Peralatan yang digunakan yaitu spektrofotometer (*Thermo Scientific™ Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer*, Singapura), ultrafiltrasi (*GE Healthcare QuixStand benchtop system*, AS), gel filtrasi 9,9 mm x 30 cm.

### Metode Penelitian

#### Fraksinasi menggunakan kromatografi gel filtrasi

Peptida berukuran 5-3 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 fraksi-fraksi. Fraksi yang diperoleh selanjutnya diukur absorbansinya pada  $\lambda=280$  nm, kadar protein (Lowry *et al.* 1951), kadar peptida aktivitas antioksidan (Li *et al.* 2006) dan inhibitor ACE (Nakamura *et al.* 1995) serta analisis komposisi asam amino menggunakan *EZ:faast-Free (physiological) Amino Acid Analysis by GC-FID*.

#### Kadar Protein (Lowry *et al.* 1951)

Pengukuran kadar protein terlarut hidrolisat ditentukan dengan metode Lowry menggunakan *bovine serum albumin* (BSA) sebagai protein standar. Tahapan analisis dimulai dengan pembuatan kurva standar protein pada seri konsentrasi BSA pada konsentrasi 0, 20, 40 80, 100 ppm, sedangkan larutan lowry merupakan pencampuran dari larutan alkali, ion tembaga dan 10  $Na_2$ (tartrat) $2(H_2O)$  dengan konsentrasi yang sudah diketahui. Setelah proses dilakukan sampel ditambahkan folin. Campuran diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum (750 nm).

#### Kadar Peptida (Church *et al.* 1983)

Analisis kandungan peptida diukur dengan metode Church *et al.* (1983) dengan beberapa modifikasi. Reagen *O-phthalaldehyde* (OPA) segar sebanyak 50 mL disiapkan dengan cara mencampur 25 mL dari 100 mM sodium tetra hidroborat; 2,5 mL dari 20% (w/w) *sodium dodecyl sulphate* (SDS), 40 mg larutan OPA (dilarutkan dalam 1 mL metanol) dan 100 mL  $\beta$ -merkaptotanol. Campuran kemudian diencerkan hingga 50 mL dengan air deionisasi. Sebanyak 50  $\mu$ L sampel, dicampur dengan 2 mL reagen OPA dan diinkubasi selama 2 menit pada suhu ruang. Absorbansi diukur pada 340 nm menggunakan spektrofotometer. Kasein tripton dalam bufer fosfat (pH 7,4) digunakan sebagai standar untuk menghitung kandungan peptida.

### Aktivitas Antioksidan (Li *et al.* 2002)

Analisis aktivitas antioksidan menggunakan radikal bebas DPPH. Sampel dibuat dalam seri konsentrasi (ppm) yang telah ditentukan, tiap seri konsentrasi dimasukkan ke dalam sumur *microplate* sebanyak 160  $\mu$ L, kemudian ditambahkan larutan DPPH masing-masing 40  $\mu$ L. Larutan DPPH dibuat dengan cara melarutkan 3 mg DPPH ke dalam 10 mL metanol p.a. Blangko sampel dibuat dengan cara 160  $\mu$ L sampel dimasukkan ke dalam sumur lalu ditambahkan 40  $\mu$ L metanol p.a. Kontrol negatif dibuat dengan cara 160  $\mu$ L metanol p.a ditambahkan dengan 40  $\mu$ L DPPH dan sebagai blangko digunakan 200  $\mu$ L metanol p.a. vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dengan seri konsentrasi yang telah ditentukan. Selanjutnya *microplate* diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit dan dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Persen aktivitas penghambatan radikal bebas dihitung dengan rumus:

$$\text{Aktivitas penghambatan (\%)} = \frac{(A-B)-(C-D) \times 100\%}{A-B}$$

Keterangan:

A = absorbansi kontrol negatif

B = absorbansi blangko;

C = absorbansi sampel;

D = absorbansi blangko sampel

Persen aktivitas penghambatan yang didapat kemudian diplotkan ke dalam kurva regresi linier dengan sumbu x berupa konsentrasi dan sumbu y berupa persen penghambatan. Nilai *inhibition concentration* 50 ( $IC_{50}$ ) didapat dengan memasukkan angka 50 ke dalam sumbu y dan hasil  $IC_{50}$  sampel dibandingkan dengan  $IC_{50}$  dari standar.

### Aktivitas inhibitor ACE (Nakamura *et al.* 1995)

Aktivitas penghambat *angiotensin converting enzyme* (ACE) diukur berdasarkan laju pembentukan asam hippurat dari *hippuryl-L-histidyl-L-leusine* (HHL). Kaptopril digunakan sebagai kontrol positif. Sampel 50  $\mu$ L (10 mg/mL) ditambah 125 bufer substrat (7,6 mM HHL dan 608 mM NaCl dalam 10 mL bufer borat pH 8,3) campuran diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit. Selanjutnya 50  $\mu$ L enzim ACE 50 mU/mL

ditambahkan pada campuran kemudian diinkubasi selama 30 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 200  $\mu$ L HCl 1N. Campuran di-*vortex*, ditambah dengan 1.140  $\mu$ L etil asetat kemudian disentrifugasi 10.000 x g selama 10 menit. Supernatan sebanyak 800  $\mu$ L diambil dan dikeringkan pada suhu 95 °C selama 90 menit. Asam hirupat yang terbentuk dilarutkan ke dalam 1 mL akuabides. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 228 nm menggunakan spektro UV-Vis. Perhitungan aktivitas antihipertensi dengan penghambat ACE yaitu sebagai berikut:

$$\text{Penghambatan ACE (\%)} = \frac{(A-B)-(C-D) \times 100\%}{A-B}$$

Keterangan:

A = absorbansi kontrol negatif

B = absorbansi blangko;

C = absorbansi sampel;

D = absorbansi blangko sampel

### Asam Amino (EZ:faast)

Komposisi asam amino ditentukan dengan menggunakan EZ:faast-Free (*physiological*) *Amino Acid Analysis* dari GC-FID. Analisis ini terdiri dari tiga tahap, yaitu tahap pembuatan hidrolisat protein, tahap preparasi sampel dan tahap injeksi serta analisis asam amino.

a. Tahap pembuatan hidrolisat protein

Preparasi sampel, yaitu tahap pembuatan hidrolisat protein, sampel ditimbang, sebanyak 200 mg. Sampel tersebut ditambahkan HCl 6 N sebanyak 10 mL yang kemudian dipanaskan dalam *microwave* pada suhu 110 °C selama 80 menit. Pemanasan dilakukan untuk mempercepat reaksi hidrolisis.

b. Tahap preparasi sampel

Sampel hasil hidrolisis selanjutnya dipreparasi kembali menggunakan kit yang tersedia.

c. Tahap injeksi ke GC

Hasil preparasi diambil sebanyak 100  $\mu$ L untuk diinjeksikan ke dalam GC. Perhitungan konsentrasi asam amino yang ada pada bahan dilakukan dengan pembuatan kromatogram standar dengan menggunakan asam amino yang telah siap dipakai yang mengalami perlakuan yang sama dengan sampel. Untuk analisis kuantitatif dapat dihitung dengan cara:

$$\text{Asam Amino (ng/mL)} = \frac{\text{luas area sampel} \times (\text{luas area standar} \times \text{berat molekul})}{\text{luas area standar}}$$

Pengaturan GC-FID  
 Injeksi Split 1:15@250 °C, 2.0 µL  
 Carrier Gas Helium, 1.5 mL/min constant flow  
 Oven Program 32°C/min for 110 to 320 °C

**Analisis Data**

Data yang diperoleh dianalisis menggunakan microsoft excel dan perangkat lunak SPSS versi 16 untuk mengetahui rata-rata dan standar deviasinya.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

Ukuran panjang peptida diduga memiliki kaitan erat dengan bioaktivitasnya. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa panjang peptida yang diisolasi dengan kromatografi gel filtrasi (Sephadex G-25) berpengaruh signifikan terhadap bioaktivitasnya (Sampath Kumar *et al.* 2011). Hasil kromatografi (*Figure 1*) menunjukkan bahwa peptida yang diisolasi menggunakan kromatografi gel filtrasi terdapat dua fraksi, fraksi A dan fraksi B.

Kromatografi filtrasi gel yang dilakukan menggunakan matrik Sephadex G-25, memiliki karakteristik memisahkan sampel berdasarkan berat molekul. Sampel dengan berat molekul lebih besar akan keluar lebih

dahulu dan selanjutnya menjadi fraksi A, sedangkan sampel dengan berat molekul lebih kecil sementara tertahan pada matrik dan keluar belakangan dan menjadi fraksi B. Hal ini yang menyebabkan fraksi yang keluar lebih awal memiliki berat dan konsentrasi protein dan peptida yang lebih besar (*Table1*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa IC<sub>50</sub> antioksidan fraksi B lebih kuat dibandingkan dengan fraksi A. Perbedaan bioaktivitas antar fraksi disebabkan oleh beberapa hal di antaranya adalah berat molekul dan komposisi asam amino (Zou *et al.* 2016). Peptida dengan berat molekul rendah (<10 kDa) diketahui sebagai peptida antioksidan dan antihipertensi (Waseem *et al.* 2018). Nilai IC<sub>50</sub> antioksidan hidrolisat protein yang difraaksinasi menggunakan gel filtrasi matrik Sephadex G-25 memiliki nilai yang hampir sama (Fan *et al.* 2012 dan Mendis *et al.* 2005).

Inhibitor ACE pada fraksi B memiliki aktivitas 96,61% dan fraksi A 90,65%. Beberapa peneliti menjelaskan peptida hasil hidrolisis protein dan diisolasi menggunakan metode gel filtrasi memiliki bioaktivitas sebagai inhibitor ACE. Sun *et al.* (2011) menyatakan bahwa peptida dari kerang air tawar yang

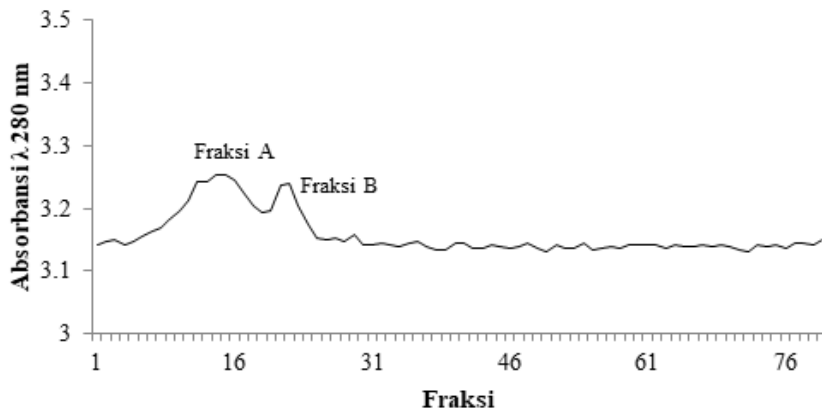


Figure 1 Gel filtration chromatography of peptide fraction(Sephadex G-25)

Table 1 Antioxidant activity and ACE inhibitor from filtration gel chromatography peptide fraction

Sample	Peptide (mg/mL)	Protein (mg/mL)	IC <sub>50</sub> Antioxidant (ppm)	ACE Inhibitor (%)
Gel Fraction A	60.96±0.24	2.36±0.00	4,737.95	90.65±0.81
Filtration Fraction B	24.61±0.01	0.44±0.03	529.42	96.61±2.42
Control Vit. C	-	-	10.90	-
(+) Captopril	-	-	-	95.93

diisolasi menggunakan gel filtrasi (Sephadex G-25) memiliki inhibitor ACE 67,23%. Selanjutnya Zhang *et al.* (2018) menyatakan bahwa peptida dari gonad ubur-ubur yang diisolasi menggunakan gel filtrasi (Sephadex G-25) memiliki inhibitor ACE 80%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kandungan asam amino yang terdapat pada masing-masing fraksi. Kandungan asam amino dapat dilihat pada *Table 2*.

Hubungan antara berat molekul, komposisi dan urutan asam amino memengaruhi bioaktivitas baik antioksidan maupun inhibitor ACE (Kristinsson dan Raghavan 2014). Fraksi B memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan serta inhibitor ACE yang kuat. Komposisi dari asam amino, misalnya valina, metionina, dan triptofan, yang cukup banyak pada fraksi B berpengaruh pada bioaktivitas sebagai antioksidan dan inhibitor ACE. Studi Nwachukwu dan Aluko (2019) serta Sarmadi dan Ismail (2010) menjelaskan bahwa komposisi asam amino tertentu yang terkandung pada suatu peptida, misalnya leusina atau valina, di daerah terminal-N, asam amino yang mengandung sulfur nukleofilik (sisteina dan metionin), residu asam amino aromatik (fenilalanina, triptofan, dan tirosina) memberikan pengaruh yang signifikan pada bioktivitiesnya. Data hasil penelitian juga diketahui mengandung asam amino alanina, valina, fenilalanina, leusina, metionina, prolina, tirosina, asparagin, aspartat, hidroksiprolina. Berdasarkan hasil studi

Mendis *et al.* (2005) diketahui bahwa peptida dari hidrolisat protein yang mengandung beberapa asam amino, misalnya alanina, valina, leusina, tirosina, metionina, histidina, triptofan, lisina, dan prolina, yang berfungsi sebagai antioksidan. Hasil studi Jao *et al.* (2012) menunjukkan bahwa peptida hasil hidrolisis protein yang mengandung asam amino contohnya triptofan, tirosina, fenilalanina, dan prolina memiliki aktivitas sebagai inhibitor ACE kuat. Berdasarkan hasil studi Je *et al.* (2005) diketahui bahwa peptida dengan residu asam amino tirosina dan dengan berat molekul yang kecil memiliki bioaktivitas antioksidan lebih kuat dibandingkan dengan yang lain.

## KESIMPULAN

Peptida yang diisolasi dari hidrolisat protein ikan selar menggunakan metode kromatografi gel filtrasi memiliki aktivitas antioksidan dan inhibitor ACE. Peptida tersebut menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan ( $IC_{50}$  529,42 ppm) dan inhibitor ACE (96,61%), dengan komposisi asam amino yang terdeteksi yaitu alanina, valina, leusina, prolina, asparagina, metionina, fenilalanina, ornitina dan tirosina. Peptida yang diisolasi dari hidrolisat protein ikan selar dapat diterapkan sebagai bahan makanan fungsional, suplemen atau bahkan obat-obatan.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan

Table 2 Amino acid composition of peptide fraction separated using filtration gel chromatography

Amino acid (%)	Ala	Val	Phe	Ile	Leu	Met	Pro	Ser	Tyr	Gly
Fraction A	9.20	5.32	10.45	4.06	11.58	4.57	16.69	2.80	2.02	7.05
Fraction B	2.54	8.85	7.12	-	4.31	11.45	10.6	-	24.51	-

Table 2 continued

Amino acid (%)	Asn	Asp	Lys	Hyp	Orn	AABA*	BAIBA*
Fraction A	2.68	7.81	3.63	5.00	5.79	1.36	-
Fraction B	9.26	8.27	-	3.29	-	3.57	6.23

Note: AABA:  $\alpha$ -Aminobutyric acid; BAIBA:  $\beta$ -Aminoisobutyric acid



Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Badan Riset dan SDM Kelautan dan Perikanan yang telah mengizinkan penulis ikut dalam proyek penelitian APBN 2016 di bawah supervisi Prof. Dr. Ekowati Chasanah. Selain itu, masing-masing penulis memiliki kontribusi yang sama dalam penyelesaian manuskrip ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Church FC, Swaisgood HE, Porter DH, Catignani GL. 1983. Spectrophotometric assay using o-Phthaldialdehyde for determination of proteolysis in milk and isolated milk proteins. *Journal of Dairy Science*. 66(6): 1219–1227.
- Fan J, He J, Zhuang Y, Sun L. 2012. Purification and identification of antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of tilapia (*Oreochromis niloticus*) frame protein. *Molecules*. 17(11): 12836–12850.
- Jao CL, Huang SL, Hsu KC. 2012. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides: Inhibition mode, bioavailability, and antihypertensive effects. *BioMedicine*. 2(4): 130–136.
- Je JY, Park PJ, Kim SK. 2005. Antioxidant activity of a peptide isolated from alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate. *Food Research International*. 38(1): 45–50.
- Ji Y, Zhang G, Li X, Zhao B, Zhou S. 2013. Enzymatic hydrolysis of protein from small yellow croaker (*Pseudosciaena polyactis*) and evaluation of its antioxidant activity. *Journal of Food Biochemistry*. 37(3): 278–285.
- Jun SY, Park PJ, Jung WK, Kim SK. 2004. Purification and characterization of an antioxidative peptide from enzymatic hydrolysate of yellowfin sole (*Limanda aspera*) frame protein. *European Food Research and Technology*. 219(1): 20–26.
- Khirzin MH, Sukarno S, Yuliana ND, Fawzya YN, Chasanah E. 2015. Aktivitas inhibitor enzim pengubah angiotensin (ACE) dan antioksidan peptida kolagen dari teripang gama (*Stichopus variegatus*). *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. 10(1): 27.
- Klompong V, Benjakul S, Yachai M, Visessanguan W, Shahidi F, Hayes KD. 2009. Amino acid composition and antioxidative peptides from protein hydrolysates of yellow stripe trevally (*Selaroides leptolepis*). *Journal of Food Science*. 74(2):126-133.
- Li Y, Li X, Lee U, Jung SK, Hong DC, Byeng WS. 2006. A new radical scavenging anthracene glycoside, asperflavin ribofuranoside, and polyketides from a marine isolate of the fungus *Microsporium*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 54(6): 882–883.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*. 193(1): 265–275.
- Mendis E, Rajapakse N, Byun HG, Kim SK. 2005. Investigation of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) skin gelatin peptides for their in vitro antioxidant effects. *Life Sciences*. 77(17): 2166–2178.
- Nakamura Y, Yamamoto N, Sakai K, Okubo A, Yamazaki S, Takano T. 1995. Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitors from sour milk. *Journal of Dairy Science*. 78(4): 777–783.
- Nwachukwu ID, Aluko RE. 2019. Structural and functional properties of food protein-derived antioxidant peptides. *Journal of Food Biochemistry*. 43(1): 12761.
- Putalan R, Munifah I, Nurhayati T, Chasanah E. 2018. Antioxidant and ace inhibitor potential of stripe trevally fish (*Selaroides leptolepis*) hydrolysate. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*. 13(1): 17-22.
- Ryan JT, Ross RP, Bolton D, Fitzgerald GF, Stanton C. 2011. Bioactive peptides from muscle sources: Meat and fish. *Nutrients*. 3(9): 765–791.
- Sampath Kumar NS, Nazeer RA, Jaiganesh R. 2011. Purification and biochemical characterization of antioxidant peptide from horse mackerel (*Megalaspis cordyla*) viscera protein. *Peptides*. 32(7): 1496–1501.
- Sarmadi BH, Ismail A. 2010. Antioxidative peptides from food proteins: A review. *Peptides*. 31(10): 1949–1956.
- Sootawat B, Suthasinee Y, Theeraphol S,

- Sigrun MH, Kristinsson HG. 2014. Fish protein hydrolysates: production, bioactivities, and applications. Dalam: *Antioxidants and Functional Components in Aquatic Foods*. Kristinsson HG (editor). Chichester (EN): John Wiley & Sons, Ltd.
- Sun Y, Hayakawa S, Ogawa M, Naknukool S, Guan Y, Matsumoto Y. 2011. Evaluation of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activities of hydrolysates generated from byproducts of freshwater clam. *Food Science and Biotechnology*. 20(2): 303–310.
- Toopcham T, Mes JJ, Wichers HJ, Roytrakul S, Yongsawatdigul J. 2017. Bioavailability of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides derived from *Virgibacillus halodenitrificans* SK1-3-7 proteinases hydrolyzed tilapia muscle proteins. *Food Chemistry*. 220: 190–197.
- Waseem M, Kumar S, Kumar A. 2018. Bioactive peptides. Dalam: *Secondary Metabolite and Functional Food Components: Role in Health and Disease*. Kumar S (editor). Punjab (ID): Nova Science Publishers.
- Wu S, Feng X, Lan X, Xu Y, Liao D. 2015. Purification and identification of Angiotensin-I converting enzyme (ACE) inhibitory peptide from lizard fish (*Saurida elongata*) hydrolysate. *Journal of Functional Foods*. 13: 295–299.
- Zhang Q, Song C, Zhao J, Shi X, Sun M, Liu J, Fu Y, Jin W, Zhu B. 2018. Separation and characterization of antioxidative and angiotensin converting enzyme inhibitory peptide from jellyfish gonad hydrolysate. *Molecules*. 23 (1): 94.
- Zou T Bin, He TP, Li H Bin, Tang HW, Xia EQ. 2016. The structure-activity relationship of the antioxidant peptides from natural proteins. *Molecules*. 21(1):72.

