

**Review: Peptida Bioaktif Kasein Susu Kambing
sebagai Sumber Antimikroba dan Antioksidan**

**Review: Bioactive Peptide from Goat's Milk Casein
as a Source of Antimicrobial and Antioxidant**

Venna Sinthary*, Maryam Jamila Arief

Program Studi D3 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda, Indonesia

*Email Korespondensi: venna.s@farmasi.unmul.ac.id

Abstrak

Penelitian mengenai susu dan produknya dari spesies susu minor 10 tahun terakhir mengalami peningkatan terutama pada kasein susu kambing. Ketertarikan ini awalnya dipengaruhi oleh konsumen intoleran susu sapi sehingga memilih susu kambing sebagai alternatif. Selanjutnya mengalami peninjauan lebih lanjut dimana kasein pada susu kambing merupakan sumber peptida bioaktif potensial. Urutan asam amino berhubungan dengan aktivitas farmakologi ditemukan pada kasein susu sapi dan produk olahannya memiliki kemiripan dengan susu kambing. Keunggulan kasein susu kambing yang mengalami berbagai modifikasi pasca-translasi mengarah pada produksi berbagai macam molekul kasein. Fraksi kasein ini di fragmentasi terutama secara enzimatik untuk mendapatkan peptida bioaktif telah dilaporkan memiliki berbagai aktivitas khususnya sebagai antimikroba dan antioksidan.

Kata Kunci: Peptida bioaktif, Kasein, Susu Kambing, Antimikroba, Antioksidan

Abstract

Research on milk and its products from minor milk species has increased in the last 10 years, especially for goat milk casein. This interest was initially influenced by cow's milk intolerant consumers who chose goat's milk as an alternative nutrition. Furthermore, it underwent further review where casein in goat's milk was a potential source of bioactive peptides. The amino acid sequence associated with pharmacological activity was found in casein in cow's milk and its processed products are similar to goat's milk. The superiority of casein in goat's milk, which undergoes various post-translational modifications, leads to the production of a wide variety of casein molecules. The

casein fraction is fragmented mainly enzymatically to obtain bioactive peptides that have been reported to have various activities, especially like antimicrobials and antioxidants.

Keywords: Bioactive Peptides, Casein, Goat's Milk, Antimicrobial, Antioxidant

Received: 26 June 2023

Accepted: 30 June 2023

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i3.1895>



Copyright (c) 2023, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.).
Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia.
This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

How to Cite:

Sinthary, V., Arief, M.J., 2023. Review: Peptida Bioaktif Kasein Susu Kambing sebagai Sumber Antimikroba dan Antioksidan. *J. Sains Kes.*, 5(3). 444-457. DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i3.1895>

1 Pendahuluan

Susu adalah cairan biologis mengandung karbohidrat (laktosa), protein, lemak, vitamin, dan mineral yang dihasilkan mamalia untuk kebutuhan gizi tubuh. Komposisi susu berbeda beda untuk spesies yang berbeda. Susu sapi adalah susu yang sering dikonsumsi masyarakat dengan mengandung lebih dari 20 protein (alergen) yang dapat menyebabkan reaksi alergi sehingga konsumen intoleran susu sapi memilih susu kambing sebagai alternatif. Susu kambing mengandung total protein, kasein, lemak susu, mineral dan vitamin A lebih tinggi dibanding susu sapi. Sebagian masyarakat mulai mengonsumsi susu kambing karena beranggapan susu kambing dapat menyembuhkan berbagai macam penyakit, seperti asma, tuberkulosis, alergi, dan kanker. Protein susu bukan hanya berfungsi sebagai asupan kecukupan gizi, tetapi juga fungsi lainnya, salah satunya yang telah dilaporkan adalah sebagai antimikroba. Protein susu kambing terdiri dari kasein (CN), protein whey yang lebih lanjut terdiri dari immunoglobulin, laktoferin dan berbagai fraksi peptida. Kasein terbagi menjadi beberapa fraksi yakni kasein α 1, β , α 2 dan κ yang memiliki karakteristik khas dalam segi fisik dan kimiawinya. Salah satu

fraksi kasein yakni kasein β , diketahui sebagai sumber peptida bioaktif dalam susu kambing. Hal ini berkaitan dengan jumlah kasein β sebanyak 30% dari seluruh protein susu atau 48% dari total kasein dan dinilai sebagai fraksi terbanyak dibandingkan kasein lainnya [1], [2], [3].

Protein secara garis besar memiliki nutrisi yang tinggi dan berbagai fungsi, tetapi karena berat molekulnya yang besar sehingga tubuh tidak dapat mengabsorpsi sepenuhnya yang mana dapat menimbulkan efek alergenik. Oleh karena itu protein harus dimodifikasi dengan cara dihidrolisis untuk memperoleh fragmen berat molekul rendah (fragmen peptida) untuk meningkatkan fungsi biologis, solubilitas dan bioavailabilitas. Peptida bioaktif susu dapat diperoleh dari berbagai cara yaitu dengan melakukan proses fermentasi, hidrolisis dengan sistem pencernaan (*in vivo*) dan hidrolisis oleh enzim proteolitik (*in vitro*). Saat ini metode yang umum digunakan untuk menyiapkan hidrolisat protein dan fragmen peptida adalah hidrolisis oleh enzim. Protease merupakan enzim yang banyak digunakan pada industri makanan dan berfungsi untuk mengkatalis proses hidrolisis ikatan peptida pada molekul protein. Keragaman jenis protease berimplikasi

terhadap berat molekul dan urutan asam amino dari peptida-peptida yang dihasilkannya sehingga aktivitas biologi yang didapat akan berbeda pula [2], [4], [5].

Hidrolisat protein telah banyak digunakan dalam berbagai tujuan yang berbeda, termasuk diantaranya pengganti susu dalam pakan anak sapi, suplemen protein untuk atlet, bahan penstabil dalam minuman, dan suplemen dalam formula pasta gigi untuk mencegah karies gigi [4], [6]–[9]. Beberapa peptida bioaktif dari kasein susu kambing telah dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri, antioksidan, antihipertensi, antidiabetes, antitrombotik [10]–[14]. Dalam review ini, kami menyoroti kemajuan terkini dalam penemuan peptida bioaktif dari kasein susu kambing sebagai antimikroba dan antioksidan dalam 10 tahun terakhir. Selain itu, kami memberikan review detail mengenai pengetahuan terkini pada potensi peran peptida bioaktif kasein susu kambing sebagai agen terapeutik.

2 Metode Penelitian

Penyusunan naskah review ini adalah penelusuran pustaka dari artikel tahun 2013 hingga 2022. Data artikel diperoleh dari basis data jurnal *ScienceDirect*, *PubMed* dan *Google Scholar*. Penelusuran jurnal berdasarkan kata kunci susu, susu kambing, peptida bioaktif, kasein susu, antimikroba dan antioksidan. Seleksi data dilakukan dengan berkaitan peptida bioaktif kasein susu kambing sebagai antimikroba dan antioksidan dimasukkan sebagai jurnal acuan dan yang tidak berkaitan dengan tema dan jurnal acuan dibawah tahun 2013 sebagai acuan diluar kriteria. Hasil penelusuran sesuai kriteria dan studi literature terpilih adalah 15 artikel (8 artikel mengenai peptida antimikroba dan 7 peptida antioksidan) dan dihubungkan dengan sumber artikel lain sebagai penjelasan acuan.

3 Hasil dan Pembahasan

Peptida Bioaktif (PB) adalah zat organik yang dibentuk oleh asam amino yang bergabung dengan ikatan kovalen yang juga dikenal sebagai ikatan amida atau peptida, sedangkan protein adalah polipeptida dengan berat molekul (BM) yang lebih besar [15]. Saat ini, lebih dari 1500 BP berbeda telah dilaporkan dalam database bernama 'Biopep' [16]. Dalam

bentuk peptida bioaktif, peptida ini menunjukkan berbagai efek fisiologis dalam tubuh, seperti pada gastrointestinal, kardiovaskular, endokrin, kekebalan tubuh, dan sistem saraf [17]. Fungsi peptida selain dapat merangsang respons fisiologis yang bermanfaat dalam tubuh meliputi aktivitas antimikroba, antihipertensi, antitrombotik, antioksidan, dan imunomodulator [18], [19] dan juga menghadirkan banyak keuntungan seperti toksisitas rendah dan risiko efek samping yang minimal [20]–[22]. Sebagian besar peptida ini dikodekan dalam rantai polipeptida protein dan tetap tidak aktif sampai pembelahan pengikatannya [23]. Dalam pencernaan gastrointestinal, fermentasi protein dan proteolisis eksogen (disebabkan oleh enzim mikroba atau nabati), dapat menghasilkan campuran asam amino dan peptida, yang dapat menghadirkan satu atau lebih aktivitas biologis sesuai dengan tata letak dan ukurannya [15], [24], [25].

Susu merupakan sumber dari beberapa molekul termasuk peptida bioaktif [24], [26]–[28]. Peptida ini tidak aktif dalam bentuk asli dari protein susu induk dan dapat memberikan efeknya hanya setelah hidrolisis [29]. Protein susu secara luas dapat dibagi menjadi tiga fraksi utama, yaitu kasein, protein whey, dan fraksi nitrogen non-protein. Kasein susu dicirikan sebagai protein yang mengendap pada pH isoelektrik 4,6, sedangkan fraksi protein whey terdiri dari semua protein nonkasein lain yang tetap larut [30]. Susu juga mengandung sejumlah kecil senyawa nitrogen, yang bukan merupakan bagian dari protein apa pun, dan dikenal sebagai nitrogen non-protein (NPN). Ini termasuk asam amino bebas, peptida, kreatin, urea, amonia, asam urat, asam orotik [31].

Berdasarkan karakteristik peptida bioaktifnya, fraksi kasein terbagi menjadi empat fraksi utama kasein (α 1-CN, α 2-CN, β -CN, dan κ -CN). Kasein susu kambing telah ditemukan mengalami berbagai modifikasi pasca-translasi yang mengarah pada produksi berbagai macam molekul kasein [32], [33]. Protein whey Susu kambing terutama terdiri dari α -laktalbumin dan β -laktoglobulin, yang mana β -laktoglobulin memiliki konsentrasi yang jauh lebih tinggi daripada susu sapi [34]. Banyak peptida turunan protein susu menunjukkan lebih dari satu peran fungsional, termasuk peptida dari urutan 60 – 70 dari β - kasein, yang memiliki

aktivitas imunostimulan, opioid, dan *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* (ACEi) [35]. Karakteristik peptida tersebut sangat ditentukan oleh susunan dan panjang asam amino dalam rantai peptida. Peptida bioaktif derivat dari protein susu biasanya berupa fragmen yang mengandung 3-20 residu asam amino [36]. Selain urutan asam amino, spesifisitas enzim yang digunakan untuk menghidrolisis protein merupakan faktor lain untuk menghasilkan peptida bioaktif [28].

Peptida bioaktif sebagian besar diperoleh melalui aktivitas protease asli atau dari penambahan enzim secara sengaja. Setiap enzim memiliki spesifisitas substrat yang berbeda dan urutan asam amino hidrolisis yang berbeda yang menghasilkan fragmen peptida yang berbeda dengan urutan dan bioaktivitas asam amino tertentu. Kondisi hidrolisis seperti pH, suhu, dan waktu hidrolisis menentukan panjang sekuens peptida yang juga mempengaruhi aktivitasnya [37]. Produksi peptida melewati beberapa fase, seperti pra-perlakuan protein dan memperoleh hidrolisat, diikuti dengan langkah pemurnian. Semua langkah pemrosesan harus mempertahankan fungsi dan struktur peptida, karena fitur struktural seperti massa molekul, disposisi residu asam amino, pemuatan dan hidrofobisitas penting untuk stabilitas peptida ini di saluran pencernaan [38], [39]. Berbagai peptida bioaktif telah dilaporkan diproduksi dari susu kambing dan produk susu dalam beberapa dekade terakhir.

3.1 Aktivitas Antimikroba Peptida Kasein Susu Kambing

Peptida antimikroba mencegah pertumbuhan atau penghancuran bakteri melalui mekanisme yang berbeda termasuk mengganggu membran bakteri, mengubah metabolisme, atau berinteraksi dengan komponen sitoplasma. Mekanisme ini menghadirkan kemungkinan baru untuk mengembangkan agen farmasi baru melawan bakteri resisten [40]. Peptida antimikroba dapat beracun bagi bakteri tetapi tidak bagi organisme eukariotik karena perbedaan struktur kimia dan organisasi membran bakteri dibandingkan dengan organisme eukariotik [41]. Telah banyak peptida yang dimurnikan dari beberapa hidrolisat protein susu sapi, tumbuhan yang dapat dimakan, ikan, dan telur

menunjukkan aktivitas antimikroba [42]–[45]. Aktivitas ini membuktikan bahwa protein susu dapat bertindak sebagai prekursor peptida antimikroba yang akan meningkatkan pertahanan alami organisme terhadap patogen yang menyerang [44]. Peptida antimikroba dinilai semakin menarik untuk menggantikan fungsi antibiotika karena penggunaannya lebih aman. Dalam beberapa tahun terakhir, yang menjadi perhatian terkait antibiotika adalah antibiotik yang dikembangkan belum mampu untuk mencegah kecepatan resistensi bakteri. Penggunaan peptida antimikroba diharapkan dapat menjadi alternatif pengganti antibiotika karena berasal dari protein sehingga aman dikonsumsi [2].

Hasil hidrolisis protein susu kambing dengan enzim bromelin kasar atau hidrolisat setelah fraksinasi menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*, *S. Typhimurium* dan *L. monocytogenes*. Aktivitas bakteri lebih tinggi diperoleh pada *E. coli* fraksi peptida >10 kDa menunjukkan penghambatan yang lebih baik dibandingkan dengan peptida sebelum fraksinasi maupun fraksi <10 kDa dan untuk *S. Typhimurium* dan *L. monocytogenes*, fraksinasi juga terbukti dapat meningkatkan aktivitas antibakterinya. Hal ini berbeda dengan hasil hidrolisis kasein susu sapi dengan protease *Lactobacillus acidophilus* DPC6026 yang menunjukkan bahwa peptida dengan ukuran >10 kDa tidak mempunyai aktivitas antibakteri. Perbedaan aktivitas ini karena sumber protein dan spesifitas enzim menyebabkan perbedaan ukuran dan aktivitas peptida yang dihasilkan [37], [46].

Studi terhadap hidrolisat hasil hidrolisis enzim bromelin menggunakan kasein susu kambing lebih lanjut dilakukan [2], [47]. Menurut Lestari dan Suyata [47] dalam uji aktivitas antibakteri fraksi protein hidrolisat kasein susu kambing dengan metode difusi terhadap *S. aureus* ditemukan bahwa fraksi yang dihidrolisis pada waktu inkubasi 45 menit menghasilkan zona bening terbesar sebesar 2,56 mm dan uji terhadap *E. coli* menunjukkan bahwa fraksi yang terhidrolisis pada waktu inkubasi 90 menit menghasilkan zona bening terbesar sebesar 3,05 mm. Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) juga dilakukan dengan ditemukan peptida antibakteri dari kasein dapat dikategorikan sebagai agen antimikroba dengan aktivitas yang

sangat kuat karena memiliki KHM nilai kurang dari 100 ppm [48]. Lestari dan Giordan [2] menemukan bahwa seluruh peptida hidrolisat bromelin beserta kasein menunjukkan aktivitas penghambatan pada *Staphylococcus aureus*. Proses fraksinasi yang dilakukan meningkatkan aktivitas antibakteri peptida hidrolisat B0 dan B1.

Peptida dengan berat molekul kecil memiliki aktivitas penghambatan yang lebih baik. Hasil perolehan peptida dari hidrolisis protein oleh protease *Bacillus sp.* E.13 dapat menghambat *Listeria monocytogenes*, *Salmonella thyphimurium* dan *Escherichia coli* sampai 5 siklus log. Waktu inkubasi hidrolisis lebih lama dari 30 menjadi 60 menit tidak mempengaruhi angka *Colony Forming Unit* (CFU) [49]. Kasein hidrolisat kambing diproduksi oleh tripsin, ficin, dan kombinasi keduanya menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap *E. coli* dan *B. cereus*. Fraksi 14 yang diperoleh dari hidrolisat (MW <3 kDa) diproduksi oleh ficin memiliki nilai aktivitas antimikroba tertinggi terhadap (79,76 ± 4,28 %) *E. coli* dan (72,94 ± 2,14 %) *B. cereus*. Secara keseluruhan, fraksi 14 memiliki aktivitas antimikroba yang signifikan terhadap gram-negatif dan bakteri gram positif [50]. Hasil analisis Lestari dan Soesilo [51] menunjukkan isolat kasein dan peptida inkubasi 3 menit menunjukkan aktivitas antibakteri dengan memperpanjang fase lag yang paling baik terhadap *P. aeruginosa* dibandingkan peptida lainnya. Hal menarik mengenai peptida dari κ-CN susu kambing berdasarkan hasil Robitallie [52] bahwa peptida dari kasein susu kambing efektif terhadap *E. coli* sekaligus dapat meningkatkan ketahanan *L. rhamnosus* (probiotik terhadap perlakuan stress asam). Urutan yang berperan dalam aktivitas diidentifikasi berasal dari N-terminal daerah κ-CN f(106–124). Hasil perolehan peptida dari serum susu kambing menggunakan kondisi simulasi bayi in vitro yakni digesti gastrointestinal menunjukkan bioaktivitas peptida sebelum dan sesudah pencernaan gastrointestinal yang ditunjukkan pada Tabel 1 [53]. Studi ini menunjukkan bahwa pola degradasi protein susu serupa, sedangkan tingkat pencernaan protein susu berbeda antara

susu sapi dan kambing. Peptida terkait antimikroba sebagian besar hanya ditemukan di digesta usus kambing.

Menurut Zhao et al. [54], hidrofobisitas peptida berkorelasi dengan aktivitas antimikroba sebab peptida dengan hidrofobisitas yang lebih tinggi menghasilkan aktivitas yang lebih tinggi. Untuk aktivitas antioksidan, Ajibola dkk. [55] mengungkapkan bahwa peningkatan hidrofobisitas berhubungan dengan aktivitas antioksidan. Peptida yang dihasilkan dalam beberapa penelitian memiliki multifungsi sebagai antimikroba dan antioksidan. Peptida antimikroba yang secara bersamaan memiliki aktivitas antioksidan diamati pada kulit amfibi. Peptida tersebut membunuh mikroba dalam waktu singkat dan menetralkan radikal bebas yang terbentuk dalam hitungan detik [56]. Studi oleh Kusumaningtyas dkk. [37] memiliki efek multifungsi tersebut (Tabel 1 dan Tabel 2). Selain memiliki aktivitas antioksidan, peptida dari α2-CN susu kambing diketahui memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur berdasar studi Zanutto [57] menggunakan metode difusi cakram.

3.2 Aktivitas Antioksidan Peptida Kasein Susu Kambing

Aktivitas antioksidan protein dapat meningkat dengan adanya distrupsi pada struktur tersier protein untuk meningkatkan aksesibilitas pelarut residu asam amino yang dapat mendonorkan proton ke radikal bebas. Produksi peptida dari protein utuh melalui reaksi hidrolisis menjadi teknik yang menjanjikan untuk memperoleh aktivitas antioksidan yang lebih baik sebab peptida memiliki aktivitas antioksidan yang jauh lebih tinggi daripada protein utuh. Hidrolisis kasein susu kambing oleh pepsin sangat memberikan aktivitas penangkapan radikal bebas, selain itu proses fraksinasi juga memberikan peran penting dalam memperoleh antioksidan dengan aktivitas yang lebih tinggi. Hidrolisat dengan ukuran peptida yang lebih kecil (hasil subfraksi dari fraksi peptida) memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan peptida yang lebih besar (fraksi peptida) [58].

Tabel 1 Hasil studi peptida kasein susu kambing sebagai antimikroba.

Metode Ekstraksi	Alat Ekstraksi	Nama Hidrolisat/ urutan peptida	Target mikroba	Referensi
Enzimatik	Bromelin	Fraksi peptida B0 dan B1	<i>Staphylococcus aureus</i>	[2]
Enzimatik	Papain	Peptida hasil hidrolisat papain	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[51]
Enzimatik	Bromelin	Fraksi inkubasi 45 menit	<i>Staphylococcus aureus</i>	[47]
		Fraksi Inkubasi 90 menit	<i>Escherichia coli</i>	
Enzimatik	Tripsin	Fraksi 14	<i>Escherichia coli</i> dan <i>Bacillus cereus</i>	[50]
	Ficin			
	Kombinasi Tripsin dan Ficin			
Enzimatik	Bromelin	Fraksi Hasil Hidrolisat	<i>E. coli</i> , <i>Salmonella typhimurium</i> and <i>Listeria monocytogenes</i>	[37]
Enzimatik	Protease <i>Bacillus sp.</i> E.13	Fraksi Hasil Hidrolisat inkubasi 30 dan Fraksi Hasil Hidrolisat 60 menit	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. typhimurium</i> dan <i>E. coli</i>	[49]
Enzimatik	Protease <i>Aspergillus flavipes</i>	ISQYYQK f(182-189) dan FAWPQYLK f(189-197) dari α 2-CN	<i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Salmonella enterica</i> Enteritidis, <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Penicillium expansum</i> , <i>Candida albicans</i>	[57]
In vitro	Digesti Gastro Intestinal	IVLNPWDQVK dari α 2-CN HKEMPFPK dari β -CN KETMVPK dari β -CN PFTGPIPNLQ PVVVPPFLQPE REQEELNV TEDELQDKIHPF YQEPVLPVVRGPFPI IVNTVDNPEASSE dari κ -CN MAIPPKKQDKTEVPAINT PTVHSTPTTE	Tidak Disebutkan	[53]

Urutan asam amino berperan penting dalam memberikan kapasitas penangkapan radikal-oksigen. hidrofobitas asam amino dalam urutannya dianggap sebagai faktor utama kemampuan peptida menangkal radikal [59]. Banyak peptida yang mengandung residu hidrofobik seperti Phe, Leu dan Met, diikuti oleh Cys dan His, dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan tertinggi [60]. Khususnya, residu asam amino pendonor proton seperti Leu dan Met telah dilaporkan meningkatkan aktivitas penangkapan dari peptida [61].

Aktivitas antioksidan dari sub-fraksi peptida aktif ditemukan dalam kasein susu kambing terutama dari fraksi yang berasal dari α 1-CN, α 2-CN, κ -CN, dan β -CN menunjukkan aktivitas pemulungan radikal superoksida dan DPPH (Tabel 2). Kemungkinan besar, urutan spesifik mendominasi peptida aktif melibatkan residu Leu (L), Pro(P), His(H) dan Ser/Thr (S/T) dan keberadaan P dan L di terminal N- atau C-. Residu L dan motif S L/T-L/P-L dalam urutan asam aminonya terutama pada N- dan C-terminus diduga telah berkontribusi pada aktivitas pemulungan radikal bebas [58], [62]. Studi aktivitas antioksidan peptida kasein susu

kambing Moxotó (*Capra hircus Linnaeus*) dengan menggunakan papain diperoleh peptida ukuran 759 Da dengan urutan asam amino NENLL dari fraksi α 1-CN f(17-21), sebelumnya juga telah diidentifikasi oleh Alli et al. (1998) [63] dan untuk peptida 1384 Da dengan urutan asam amino LLYQEPVLPV dari fraksi β -kasein f(191-206) hasil ini mirip dengan Silva et al. [64], Miguel et al. (2009) [65] dan Alli et al. [63] ketika meneliti profil peptida kasein sapi dalam keju "coalho", kasein telur dan kasein sapi dari keju cheddar [64]. Peptida hasil hidrolisis β -CN susu kambing menggunakan protease ekstraseluler dari *Acromonium sp* terdeteksi 31 urutan asam amino (Tabel 2). Hidrolisat tersebut memiliki berat molekul rendah yang berpotensi untuk bertindak dalam pencegahan gangguan yang disebabkan oleh reaksi oksidatif. Diantara urutan asam amino yang diperoleh, peptida dengan urutan yang sama teridentifikasi seperti oktapeptida LQDKIHPF yang juga diidentifikasi sebelumnya oleh Ahmed, El-Bassiony, Elmal & Ibrahim (2015) [58] dan juga urutan asam amino LLYQEPVLPV yang diidentifikasi Bezerra [64].

Tabel 2 Hasil studi peptida kasein susu kambing sebagai antioksidan.

Metode Ekstraksi	Alat Ekstraksi	Nama Hidrolisat/ urutan peptida	Metode evaluasi	Referensi
Enzimatik	Pepsin	ALNEINQ dari α 2-CN (f 82-88) DMESTEVF dari α 2-CN (f 141-148) VLNTPVPAKSCQ dari κ -CN (f 78-89) SDIPNPIGSENSGKTTMPL dari α 1-CN (f 180-198) SLTLTDVEKLHLPL dari β -CN (f 124-137) EQEELNVVGETVESL dari β -CN (f 2-16) TVNREQI dari α 2-CN (f 123-129) KHKEMPF dari β -CN (f 105-111) QYVLSRYPYGLNYY dari κ -CN (f 29-43) VNQELAYFYPLFRQ dari α 1-CN (f 138-152) SFSIPNP dari α 1-CN (f 178-185) QSLVYYPETGPI dari β -CN (f 56-66) NFLKKSQYY dari α 2-CN (f 163-172) ARHPHPLHSLFM dari κ -CN (f 96-106) ERYLGYLEQLLRL dari α 1-CN (f 89-101) TTLARHP dari κ -CN (f 93-99) VLNPWDQ dari α 2-CN (f 106-112) YAKPVAVRSP dari κ -CN (f 61-70) PNENLLRFVVPF dari α 1-CN (f 16-28) LHSMKEGNAHQKQP dari α 1-CN (f 120-134) LQDKIHPF dari β -CN (f 45-52) KAMKPWTQP dari α 2-CN (f 189-197) PPKDDQDKTEVPAINI dari κ -CN (f 109-125)	Kimiawi (Radikal Superoksida O ²⁻ dan Radikal DPPH)	[58]
Enzimatik	Papain	NENLL dari α 1-CN (f 17-21) LLYQEPVLPV dari β -CN (f 191-206)	ABTS	[64]
Enzimatik	Serine protease dari <i>Acromonium sp.</i> L1-4B	REQEELNV REQEELNVVGE LQDKIHPF LQDKIHPFAQAQ IHPFAQAQ AQLVYYPETGPIPN SLVYYPFTGPIPN SLVYYPETGPIPNSLPQN VYYPFTGPIPNSLPQN GVPKVKETMVPK GVPKVKETMVPK* GVPKVKETMVPKH HKEMPFKYPVEPFESQ SLTLTDVEK HLPLPLVQ SWMHQPPQPLSPT MHQPPQPL MHQPPQPLSPT MHQPPQPLSPT* MHQPPQPLSPTVMFPPQSVL SLSQPKVLPVPQ SLSQPKVLPVPQK LSQPKVLPVPQK SQPKVLPVPQ SQPKVLPVPQK KVLVVPQKAVPQ RDMPIQAF RDMPIQAF* LLYQEPVLPV LGPVVRGPFPIV RGPFPILV	ABTS, Pengkelat Fe ²⁺ , Pengkelat Cu ²⁺	[23]
Enzimatik	Kombinasi Protease (EC 3.4.24.4), protease basa (EC 3.4.21.62), papain (EC 3.4.22.2), and tripsin (EC 3.4.21.4)	VYYPF FPYCAP FGGMAH YPPYETY YVPEPF	Pemulungan Radikal Hidroksil (OH ⁻), DPPH, ABTS, Pengkelat Fe ²⁺ , Inhibisi Autooksidasi asam linoleic (Penghambatan peroksidasi lipid)	[66]
Enzimatik	Subtilisin, Tripsin, dan kombinasi subtilisin dan tripsin	Fraksi SEC	ABTS, Pengkelat Fe ²⁺ , dan inhibisi pembentukan oksidasi sekunder dalam liposom	[67]
Enzimatik	Protease <i>Bacillus sp.</i> E.13	Fraksi Hasil Hidrolisat inkubasi 30 dan Fraksi Hasil Hidrolisat 60 menit	ABTS dan DPPH	[49]
Fermentasi	<i>Lactobacillus casei</i> L61	Tidak Ditentukan	Pemulungan Radikal Hidroksil (OH ⁻), DPPH	[11]

* + Oksidasi (M)

Lima peptida baru (Tabel 2) dengan aktivitas antioksidan lebih tinggi diperoleh oleh Li [66], kasein susu kambing yang dihidrolisis oleh kombinasi protease netral dan basa memberikan aktivitas lebih tinggi dibandingkan dengan protein kasein susu kambing. Aktivitas ini bergantung pada jenis enzim karena ikatan peptida spesifik dihidrolisis oleh protease spesifik. Umumnya, protease alkali terutama menghidrolisis ujung karboksi residu asam amino hidrofobik dari Val, Pro, Gly, Ala, dan Phe, sedangkan protease netral menghidrolisis ujung amino Leu, Phe, dan asam amino lainnya. Peptida yang teridentifikasi dengan urutan asam amino VYPF (Val-Tyr-Pro-Phe) memiliki kemiripan urutan dengan yang diidentifikasi oleh Ahmed [58] dan Nascimiento [23] menandakan bahwa urutan asam amino ini berperan penting dalam aktivitas peptida kasein susu kambing sebagai antioksidan (Tabel 2 urutan asam amino yang digarisbawahi). Protease subtilisin dan tripsin serta kombinasi keduanya digunakan untuk memproduksi hidrolisat mikrofiltrasi susu kambing [67]. Ditemukan bahwa retentat yang dihasilkan dengan hidrolisis subtilisin menunjukkan aktivitas pemulungan radikal tertinggi, sedangkan permeat memiliki kapasitas khelasi besi yang tinggi dan membentuk sejumlah besar produk oksidasi lipid sekunder.

Aktivitas oksidatif peptida dari hidrolisat susu kambing oleh Kusumaningtyas, dkk [49] dengan menggunakan berbagai protease ditentukan dengan uji 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) dan 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Aktivitas antioksidan terlihat pada protease *Bacillus sp.* E.13, sedangkan pada peptida hasil hidrolisis oleh trypsin dan chymotrypsin tidak terdeteksi. Jika dibandingkan dengan De Gobba dkk. [67] yang juga menggunakan tripsin, penggunaan kombinasi enzim substisin dan tripsin menghasilkan kapasitas penangkapan radikal yang sedikit lebih baik daripada tripsin saja. Tampaknya trypsin dapat menurunkan bagian dari peptida aktif yang dibentuk oleh aksi subtilisin dalam hidrolisat permeat. Subtilisin, yang memotong peptida dengan residu leusin, fenilalanin, serin, tirosin, asam glutamat atau triptofan, sebagaimana ditentukan dengan protein whey [68], akan membebaskan banyak peptida, di antaranya

beberapa dengan C-terminal tirosin yang merupakan fitur struktural yang dikenal untuk meningkatkan aktivitas antioksidan [69]. Dengan aksi trypsin, bagian dari peptida ini akan dibelah menciptakan peptida yang lebih pendek dan kurang aktif, karena tirosin bebas dan peptida pendek yang mengandung tirosin seringkali antioksidannya lebih sedikit daripada peptida yang lebih panjang [70].

Dalam uji DPPH, aktivitas antioksidan yang terdeteksi adalah lebih rendah dari tes ABTS. Perbedaannya dianggap dapat disebabkan oleh perbedaan karakter DPPH dan ABTS. Radikal DPPH lebih stabil dibandingkan radikal ABTS sehingga DPPH lebih sulit dinetralkan [71]. DPPH juga memiliki rentang reaksi yang sempit dibandingkan ABTS, oleh karena itu dibutuhkan lebih banyak peptida untuk mencapai nilai aktivitas antioksidan yang sama dengan ABTS. Waktu hidrolisis protein susu kambing lebih lama dari 30 hingga 60 menit menggunakan protease *Bacillus sp.* E.13 menurunkan aktivitas antioksidan. Hal ini bertentangan dengan Daroit dkk. [72] yang melaporkan bahwa aktivitas antioksidan peptida dari kasein susu kambing yang dihidrolisis oleh protease *Bacillus sp.* P45 meningkat setelah 4 jam. Sun dkk. [73] menjelaskan bahwa tidak ada korelasi antara waktu hidrolisis dan aktivitas antioksidan. Spesifitas enzim pada urutan asam amino untuk menghasilkan peptida lebih menentukan aktivitas antioksidannya dibandingkan waktu hidrolisis. Pemurnian dapat meningkatkan aktivitas antioksidan, jika proses meningkatkan konsentrasi dan kemurnian peptida aktif. Namun, aktivitas antioksidan dapat menurun jika pemurnian menghilangkan interaksi antara peptida dalam hidrolisat.

Kasein merupakan sumber utama peptida aktif dalam susu fermentasi [65]. Studi telah menunjukkan bahwa penambahan kaseinat dapat secara signifikan meningkatkan pelepasan peptida aktif selama fermentasi [74]. Studi oleh Shu dkk. [11] menggunakan *Lactobacillus casei* L61 sebagai kultur starter untuk memfermentasi susu kambing karena kemampuannya yang tinggi untuk menghasilkan antioksidan. Bakteri asam laktat dan ragi digunakan untuk menghasilkan peptida antioksidan selama fermentasi [75]. Dilaporkan bahwa *L. casei* merupakan strain bakteri antioksidan tinggi [76], [77]. Peptida

antioksidan dilepaskan dari protein yang difermentasi oleh *L. casei* L61 dan aktivitas antioksidannya tergantung pada jenis protein aslinya [78]. Simulasi digesti gastrointestinal digunakan sebagai evaluasi kestabilan aktivitas peptida antioksidan. Hasil dari pemaparan peptida antioksidan terhadap kondisi lambung yang disimulasikan menunjukkan aktivitas antioksidan yang berubah. Aktivitas antioksidan dalam cairan lambung simulasi untuk 40 menit secara signifikan lebih tinggi dibandingkan dengan 0 menit. Eksperimen mengungkapkan peningkatan lambat dari tingkat pemulungan radikal bebas hidroksil dalam kondisi lambung yang disimulasikan selama 80 menit, yang dapat dikaitkan dengan fakta bahwa pepsin memecah peptida antioksidan dalam susu kambing yang difermentasi menjadi peptida yang lebih kecil yang memiliki aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan menurun setelah terpapar cairan usus yang disimulasikan, menunjukkan bahwa lebih banyak peptida kecil tanpa aktivitas antioksidan dihasilkan. Sebuah studi oleh You dkk. [79] menyarankan bahwa lebih banyak ikatan peptida yang rusak menggunakan pencernaan pankreatin daripada pencernaan pepsin.

3.3 Peptida Kasein Susu Kambing dan Prospek Kedepan

Susu karena sifat fungsional dan nutrisinya, susu dianggap sebagai komoditas pangan penting. Protein dari susu sapi telah dipelajari secara luas sebagai sumber peptida bioaktif. Di sisi lain, protein dari susu yang jarang dikonsumsi seperti susu kambing tidak ditelusuri mendalam karena dianggap penelitian yang memberikan signifikansi ekonomi yang rendah. Namun, dalam beberapa tahun terakhir ini telah berubah, karena ada peningkatan permintaan untuk menemukan sumber susu dan produk susu alternatif, terutama untuk peptida bioaktifnya. Berbagai peptida bioaktif, yang berasal dari berbagai sumber protein susu selain susu sapi telah menunjukkan aktivitas antimikroba dan antioksidan seperti susu domba [80], [81], susu unta [82]–[87], susu keledai [86], [88] yang telah mengungkap peptida-peptida unik. Studi oleh Gong dkk. [13] menemukan bahwa peptida SDIPNPIGSE (α 1-CN, f195–204), NPWDQVQR (α 2-CN, f123–130), SLSSEESITH (β -CN, f30–

40), and QEPVLGPVRGPPF (β -CN, f207–219) sebagai antidiabetes dan 2 peptida tersebut (SDIPNPIGSE dan QEPVLGPVRGPPF) memiliki kemiripan urutan asam amino yang sama dengan peptida kasein susu kambing sebagai antimikroba dan antioksidan (Tabel 1 dan Tabel 2). Peptida dengan urutan asam amino NPWDQ diketahui secara signifikan menghambat penetrasi alergen makanan, ovalbumin, ke dalam sel Caco-2 usus manusia yang menunjukkan bahwa peptida ini dapat meningkatkan fungsi penghalang epitel usus [89]. Studi peptida kasein susu kambing sebagai antidiabetes secara in vitro telah dilakukan dengan menghubungkan aktivitas penghambatannya terhadap ACEi [12], [90]–[94].

Masih terdapat kesenjangan besar dalam pengetahuan dalam hal stabilitas, bioavailabilitas, dan efisiensi peptida ini, khususnya dalam percobaan in vivo dan uji klinis dalam studi peptida bioaktif dari protein susu [30]. Salah satu hal menarik penelitian yang dilakukan akhir-akhir ini adalah penelitian secara in silico mulai banyak dilakukan sebagai tahap awal untuk menambah wawasan mengenai efektivitas peptida bioaktif yang membuka jalan besar untuk memahami peran peptida ini dalam kesehatan manusia. Studi mengenai interaksi molekul inhibitor DPP-IV dari protein susu kambing sebagai kandidat antidiabetes [95] menunjukkan bahwa molekul peptida INNQFLPYPY memiliki afinitas yang baik terhadap makromolekul DPP-IV sehingga diprediksi dapat digunakan sebagai kandidat inhibitor DPP-IV. Peptida dari kasein susu kambing juga diketahui memiliki kemampuan sebagai ACEi [3]. ACEi adalah enzim kunci dalam pengaturan tekanan darah melalui dua reaksi berbeda dalam renin angiotensin aldosterone system (RAAS) dan kinin nitric oxide system (KNOS) sehingga interaksi penghambatan enzim ini oleh peptida bioaktif dapat menghambat peningkatan tekanan darah atau hipertensi [12]. Salah satu bagian kasein β memiliki sebutan “strategic zone” pada residu ke-60 sampai 70 karena memiliki manfaat ACEi, opioid dan imunostimulus [96]. Hal tersebut menyebabkan susu kambing khususnya bagian kasein β memiliki potensi sebagai sumber nutrisi yang baik serta menjadi bahan pangan fungsional bagi manusia karena menghasilkan

peptida bioaktif yang berdampak positif pada kesehatan [97].

Sejak memasuki era baru pada abad ke-21, kemajuan dalam biologi struktural, biologi rekombinan, dan teknologi sintetik dan analitik baru telah mempercepat proses secara signifikan. Sistem canggih pengembangan obat peptida telah ditetapkan, termasuk penemuan obat peptida, desain obat, sintesis peptida, modifikasi struktural, dan evaluasi aktivitas [98]. Sebagai terapi berbasis asam amino alami, peptida terapeutik memiliki dua kelemahan intrinsik yakni impermeabilitas membran dan stabilitas *in vivo* yang buruk, hal ini merupakan hambatan utama untuk pengembangan obat peptida [99], [100]. Kajian lebih lanjut mengenai peptida kasein susu kambing dapat memberi informasi tambahan dalam pembentukan dan pengembangan desain obat baru.

4 Kesimpulan

Penelitian mengenai susu dan produknya terutama bagian kasein pada susu kambing merupakan sumber peptida bioaktif potensial. Urutan asam amino berhubungan dengan aktivitas farmakologi ditemukan pada kasein susu sapi dan produk olahannya memiliki kemiripan dengan susu kambing. Keunggulan kasein susu kambing yang mengalami berbagai modifikasi pasca-translasi mengarah pada produksi berbagai macam molekul kasein. Fraksi kasein ini terutama secara enzimatis untuk mendapatkan peptida bioaktif telah dilaporkan memiliki berbagai aktivitas khususnya sebagai antimikroba dan antioksidan. Selain itu ditemukan bahwa peptida bioaktif dari kasein susu kambing beberapa diantaranya dapat memiliki 2 atau aktivitas biologis berdasarkan urutan asam amino pada peptidanya.

5 Pernyataan

5.1 Penyandang Dana

Para penulis menyatakan bahwa tidak ada dana yang disediakan untuk artikel ini.

5.2 Konflik Kepentingan

Para penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan.

6 Daftar Pustaka

- [1] R. Susanti and E. Hidayat, "Profil Protein Susu dan Produk Olahannya," *J. MIPA*, vol. 39, no. 2, pp. 98–106, 2016.
- [2] D. Lestari and E. Giordan, "Casein Goat's Milk Bioactive Peptides as Antibacterial Agent Against *Staphylococcus aureus* Diana," *J. Agroindustri Halal*, vol. 6, no. 1, pp. 28–38, 2020.
- [3] H. S. Widodo, T. W. Murti, A. Agus, and W. Widodo, "Mengidentifikasi Peptida Bioaktif Angiotensin Converting Enzyme-inhibitor (ACEi) dari Kasein β Susu Kambing dengan Polimorfismenya Melalui Teknik *In Silico*," *J. Apl. Teknol. Pangan*, vol. 7, no. 4, pp. 180–185, 2019.
- [4] R. Song, R. bian Wei, G. qiang Ruan, and H. yu Luo, "Isolation and identification of antioxidative peptides from peptic hydrolysates of half-fin anchovy (*Setipinna taty*)," *Lwt*, vol. 60, no. 1, pp. 221–229, 2015.
- [5] N. Herlina, A. Zaaenal Mustopa, R. Sari Surachma, L. Triratna, G. Kartina, and W. Nurul Alfisyahrin, "Aktivitas antibakteri dan antioksidan peptida susu kambing hasil hidrolisis dengan protease *Lactobacillus plantarum* S31 (Antibacterial and antioxidant activity of goat milk peptide hydrolyzed with protease of *Lactobacillus plantarum* S31)," *J. Biol. Indones.*, vol. 15, no. 1, pp. 23–31, 2019.
- [6] A. . Petchey, "weaned on to a cereal based diet at about 5 weeks . Satisfactory milk substitutes for calves are based generally upon skim milk powder and added vegetable or animal fat . Less frequently t h e y contain whey powder . When milk is ingested by the calf it," *Anim. Feed Sci. Technol.*, vol. 7, pp. 141–146, 1982.
- [7] J. D. Buckley, R. L. Thomson, A. M. Coates, P. R. C. Howe, M. O. DeNichilo, and M. K. Rowney, "Supplementation with a whey protein hydrolysate enhances recovery of muscle force-generating capacity following eccentric exercise," *J. Sci. Med. Sport*, vol. 13, no. 1, pp. 178–181, 2010.
- [8] S. F. Gauthier and Y. Pouliot, "Functional and Biological Properties of Peptides Obtained By Enzymatic Hydrolysis of Whey Proteins," *J. Dairy Sci.*, vol. 86, no. SUPPL. 1, pp. E78–E87, 2003.
- [9] R. Nagpal *et al.*, "Bioactive peptides derived from milk proteins and their health beneficial potentials: An update," *Food Funct.*, vol. 2, no. 1, pp. 18–27, 2011.
- [10] I. López Expósito and I. Recio, "Antibacterial activity of peptides and folding variants from milk proteins," *Int. Dairy J.*, vol. 16, no. 11, pp. 1294–1305, 2006.

- [11] G. Shu, X. Shi, L. Chen, J. Kou, J. Meng, and H. Chen, "Antioxidant peptides from goat milk fermented by lactobacillus casei l61: Preparation, optimization, and stability evaluation in simulated gastrointestinal fluid," *Nutrients*, vol. 10, no. 6, 2018.
- [12] H. R. Ibrahim, A. S. Ahmed, and T. Miyata, "Novel angiotensin-converting enzyme inhibitory peptides from caseins and whey proteins of goat milk," *J. Adv. Res.*, vol. 8, no. 1, pp. 63–71, 2017.
- [13] H. Gong *et al.*, "Identification of novel peptides from goat milk casein that ameliorate high-glucose-induced insulin resistance in HepG2 cells," *J. Dairy Sci.*, vol. 103, no. 6, pp. 4907–4918, 2020.
- [14] M. A. Manso and R. López-Fandiño, "Angiotensin I converting enzyme - Inhibitory activity of bovine, ovine, and caprine κ -casein macropeptides and their tryptic hydrolysates," *J. Food Prot.*, vol. 66, no. 9, pp. 1686–1692, 2003.
- [15] A. Sánchez and A. Vázquez, "Bioactive peptides: A review," *Int. J. Bioautomation*, vol. 15, no. 4, pp. 223–250, 2017.
- [16] D. Kumar, M. K. Chatli, R. Singh, N. Mehta, and P. Kumar, "Antioxidant and antimicrobial activity of camel milk casein hydrolysates and its fractions," *Small Rumin. Res.*, vol. 139, pp. 20–25, 2016.
- [17] Y. W. Park, *Bioactive Components in Milk and Dairy Products*. Ames: Wiley-Blackwell, 2009.
- [18] R. J. Fitzgerald and H. Meisel, "Milk Protein Hydrolysates and Bioactive Peptides," *Adv. Dairy Chem. Proteins*, pp. 675–698, 2003.
- [19] H. Korhonen and A. Pihlanto, "Food-derived Bioactive Peptides - Opportunities for Designing Future Foods," *Curr. Pharm. Des.*, vol. 9, no. 16, pp. 1297–1308, 2005.
- [20] D. Agyei and M. K. Danquah, "Industrial-scale manufacturing of pharmaceutical-grade bioactive peptides," *Biotechnol. Adv.*, vol. 29, no. 3, pp. 272–277, 2011.
- [21] D. Agyei, C. M. Ongkudon, C. Y. Wei, A. S. Chan, and M. K. Danquah, "Bioprocess challenges to the isolation and purification of bioactive peptides," *Food Bioprod. Process.*, vol. 98, pp. 244–256, 2016.
- [22] F. Tonolo *et al.*, "Identification of new peptides from fermented milk showing antioxidant properties: Mechanism of action," *Antioxidants*, vol. 9, no. 2, pp. 1–22, 2020.
- [23] T. C. E. S. Nascimento *et al.*, "Antarctic fungus proteases generate bioactive peptides from caseinate," *Food Res. Int.*, vol. 139, p. 109944, 2021.
- [24] H. Korhonen, "Milk-derived bioactive peptides: From science to applications," *J. Funct. Foods*, vol. 1, no. 2, pp. 177–187, 2009.
- [25] Y. W. Park and M. S. Nam, "Bioactive Peptides in Milk and Dairy Products: A Review," *Korean J. Food Sci. Anim. Resour.*, vol. 35, no. 6, pp. 831–840, 2015.
- [26] B. Dziuba and M. Dziuba, "Milk proteins-derived bioactive peptides in dairy products: Molecular, biological and methodological aspects," *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, vol. 13, no. 1, pp. 5–25, 2014.
- [27] A. B. Nongonierma and R. J. FitzGerald, "Bioactive properties of milk proteins in humans: A review," *Peptides*, vol. 73, pp. 20–34, 2015.
- [28] A. Pihlanto, "Antioxidative peptides derived from milk proteins," *Int. Dairy J.*, vol. 16, no. 11, pp. 1306–1314, 2006.
- [29] F. Tonolo *et al.*, "Milk-derived bioactive peptides exhibit antioxidant activity through the Keap1-Nrf2 signaling pathway," *J. Funct. Foods*, vol. 64, no. October, p. 103696, 2020.
- [30] S. Guha, H. Sharma, G. K. Deshwal, and P. S. Rao, "A comprehensive review on bioactive peptides derived from milk and milk products of minor dairy species," *Food Prod. Process. Nutr.*, vol. 3, no. 1, 2021.
- [31] [A. M. Michaelidou, "Factors influencing nutritional and health profile of milk and milk products," *Small Rumin. Res.*, vol. 79, no. 1, pp. 42–50, 2008.
- [32] D. Marletta *et al.*, "Casein polymorphism in goat ' s milk To cite this version : HAL Id : hal-00895642 Casein polymorphism in goat ' s milk," *Le Lait, INRA Ed.*, vol. 87, no. 6, pp. 491–504, 2007.
- [33] M. S. Sansi, D. Iram, S. Zanab, A. K. Vij, S., Puniya, and S. Singh, A., & Meena, "Antimicrobial bioactive peptides from goat Milk proteins: In silico prediction and analysis," *J. Food Biochem.*, vol. 46, no. 10, 2022.
- [34] G. Moatsou, A. Hatzinaki, M. Samolada, and E. Anifantakis, "Major whey proteins in ovine and caprine acid wheys from indigenous greek breeds," *Int. Dairy J.*, vol. 15, no. 2, pp. 123–131, 2005.
- [35] H. Korhonen and A. Pihlanto, "Bioactive Peptides from Food Proteins," *Handb. Food Prod. Manuf.*, vol. 1, pp. 1–37, 2007.
- [36] E. Kusumaningtyas, "Peran peptida susu sebagai antimikroba untuk meningkatkan kesehatan," *Wartazoa*, vol. 23, no. 2, pp. 63–75, 2013.
- [37] E. Kusumaningtyas, R. Widiastuti, H. Dewantari Kusumaningrum, and M. Thenawidjaja Suhartono, "Aktivitas Antibakteri Dan Antioksidan Hidrolisat Hasil Hidrolisis Protein Susu Kambing Dengan Ekstrak Kasar Bromelin," *J. Teknol. dan Ind. Pangan*, vol. 26, no. 2, pp. 179–188, 2015.

- [38] A. Dullius, M. I. Goettert, and C. F. V. de Souza, "Whey protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for functional foods – Biotechnological facilitation of industrial scale-up," *J. Funct. Foods*, vol. 42, no. August 2017, pp. 58–74, 2018.
- [39] B. Wang, N. Xie, and B. Li, "Influence of peptide characteristics on their stability, intestinal transport, and in vitro bioavailability: A review," *J. Food Biochem.*, vol. 43, no. 1, pp. 1–6, 2019.
- [40] M. Simmaco, G. Mignogna, and D. Barra, "Antimicrobial peptides from amphibian skin: What do they tell us?," *Biopolymers*, vol. 47, no. 6, pp. 435–450, 1998.
- [41] Michael R. Yeaman and N. Y. Yount, "Mechanisms of Antimicrobial Peptide Action and Resistance," *Pharmacol. Rev.*, vol. 55, no. 1, pp. 453–499, 2003.
- [42] D. Clare, G. Catignani, and H. Swaisgood, "Biodefense Properties of Milk: The Role of Antimicrobial Proteins and Peptides," *Curr. Pharm. Des.*, vol. 9, no. 16, pp. 1239–1255, 2005.
- [43] R. Floris, I. Recio, B. Berkhout, and S. Visser, "Antibacterial and Antiviral Effects of Milk Proteins and Derivatives Thereof," *Curr. Pharm. Des.*, vol. 9, no. 16, pp. 1257–1275, 2005.
- [44] A. Pellegrini, "Antimicrobial Peptides from Food Proteins," *Curr. Pharm. Des.*, vol. 9, no. 16, pp. 1225–1238, 2005.
- [45] M. Gobetti, F. Minervini, and C. G. Rizzello, "Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antimicrobial bioactive peptides," *Int. J. Dairy Technol.*, vol. 57, no. 2–3, pp. 173–188, 2004.
- [46] M. Hayes, R. P. Ross, G. F. Fitzgerald, C. Hill, and C. Stanton, "Casein-derived antimicrobial peptides generated by *Lactobacillus acidophilus* DPC6026," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 72, no. 3, pp. 2260–2264, 2006.
- [47] P. Lestari and Suyata, "Antibacterial activity of hydrolysate protein from Etawa goat milk hydrolysed by crude extract bromelain," *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 509, no. 1, 2019.
- [48] F. B. Holetz *et al.*, "Screening of Some Plants Used in the Brazilian Folk Medicine for the Treatment of Infectious Disease," *Mem Inst Oswaldo Cruz*, vol. 97, no. 7, pp. 1027–1031, 2002.
- [49] E. Kusumaningtyas, R. Widiastuti, H. D. Kusumaningrum, and M. T. Suhartono, "Antimicrobial and antioxidative activities of peptides from goat milk hydrolyzed with various protease," *J. Ilmu Ternak dan Vet.*, vol. 20, no. 3, pp. 175–183, 2015.
- [50] M. Esmaeilpour, M. R. Ehsani, M. Aminlari, S. Shekarforoush, and E. Hoseini, "Antimicrobial activity of peptides derived from enzymatic hydrolysis of goat milk caseins," *Comp. Clin. Path.*, vol. 25, no. 3, pp. 599–605, 2016.
- [51] D. Lestari and V. V. Soesilo, "Aktivitas Antibakteri Peptida Kasein Susu Kambing Hidrolisis oleh Papain terhadap *Pseudomonas aeruginosa*," *J. Ilmu Pangan dan Has. Pertan.*, vol. 1, no. 2, pp. 81–92, 2017.
- [52] G. Robitaille, C. Lapointe, D. Leclerc, and M. Britten, "Effect of pepsin-treated bovine and goat caseinomacropptide on *Escherichia coli* and *Lactobacillus rhamnosus* in acidic conditions," *J. Dairy Sci.*, vol. 95, no. 1, pp. 1–8, 2012.
- [53] Y. Ma, Y. Hou, B. Han, K. Xie, L. Zhang, and P. Zhou, "Peptidome comparison following gastrointestinal digesta of bovine versus caprine milk serum," *J. Dairy Sci.*, vol. 104, no. 1, pp. 47–60, 2021.
- [54] J. Zhao, C. Zhao, G. Liang, M. Zhang, and J. Zheng, "Engineering antimicrobial peptides with improved antimicrobial and hemolytic activities," *J. Chem. Inf. Model.*, vol. 53, no. 12, pp. 3280–3296, 2013.
- [55] C. F. Ajibola, J. B. Fashakin, T. N. Fagbemi, and R. E. Aluko, "Effect of peptide size on antioxidant properties of African yam bean seed (*Sphenostylis stenocarpa*) protein hydrolysate fractions," *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 12, no. 10, pp. 6685–6702, 2011.
- [56] H. Yang *et al.*, "Antioxidant peptidomics reveals novel skin antioxidant system," *Mol. Cell. Proteomics*, vol. 8, no. 3, pp. 571–583, 2009.
- [57] M. R. Zanutto-Elgui *et al.*, "Production of milk peptides with antimicrobial and antioxidant properties through fungal proteases," *Food Chem.*, vol. 278, pp. 823–831, 2019.
- [58] A. S. Ahmed, T. El-Bassiony, L. M. Elmalt, and H. R. Ibrahim, "Identification of potent antioxidant bioactive peptides from goat milk proteins," *Food Res. Int.*, vol. 74, pp. 80–88, 2015.
- [59] B. H. Sarmadi and A. Ismail, "Antioxidative peptides from food proteins: A review," *Peptides*, vol. 31, no. 10, pp. 1949–1956, 2010.
- [60] A. Dávalos, M. Miguel, B. Bartolomé, and R. López-Fandiño, "Antioxidant activity of peptides derived from egg white proteins by enzymatic hydrolysis," *J. Food Prot.*, vol. 67, no. 9, pp. 1939–1944, 2004.
- [61] B. Li, F. Chen, X. Wang, B. Ji, and Y. Wu, "Isolation and identification of antioxidative peptides from porcine collagen hydrolysate by consecutive chromatography and electrospray ionization-mass spectrometry," *Food Chem.*, vol. 102, no. 4, pp. 1135–1143, 2007.
- [62] E. Mendis, N. Rajapakse, and S. K. Kim, "Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared

- fish skin gelatin hydrolysate," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, no. 3, pp. 581–587, 2005.
- [63] I. Alli, M. Okoniewska, B. F. Gibbs, and Y. Konishi, "Identification of peptides in Cheddar cheese by electrospray ionization mass spectrometry," *Int. Dairy J.*, vol. 8, no. 7, pp. 643–649, 1998.
- [64] V. S. Bezerra, J. F. Campos, R. A. da Silva, T. S. Porto, J. L. de Lima Filho, and A. L. F. Porto, "Biotechnological richness of the northeastern semi-arid region: Antioxidant activity of casein hydrolysates from Moxotó goat milk (*Capra hircus* Linnaeus, 1758) obtained by papain action," *Food Sci. Technol.*, vol. 33, no. 3, pp. 513–520, 2013.
- [65] M. Miguel, M. M. Contreras, I. Recio, and A. Aleixandre, "ACE-inhibitory and antihypertensive properties of a bovine casein hydrolysate," *Food Chem.*, vol. 112, no. 1, pp. 211–214, 2009.
- [66] Z. Li, A. Jiang, T. Yue, J. Wang, Y. Wang, and J. Su, "Purification and identification of five novel antioxidant peptides from goat milk casein hydrolysates," *J. Dairy Sci.*, vol. 96, no. 7, pp. 4242–4251, 2013.
- [67] C. De Gobba, F. J. Espejo-Carpio, L. H. Skibsted, and J. Otte, "Antioxidant peptides from goat milk protein fractions hydrolysed by two commercial proteases," *Int. Dairy J.*, vol. 39, no. 1, pp. 28–40, 2014.
- [68] D. Doucet, S. F. Gauthier, D. E. Otter, and E. A. Foegeding, "Enzyme-induced gelation of extensively hydrolyzed whey proteins by alcalase: Comparison with the plastein reaction and characterization of interactions," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, no. 20, pp. 6036–6042, 2003.
- [69] I. Gülçin, "Comparison of in vitro antioxidant and antiradical activities of L-tyrosine and L-Dopa," *Amino Acids*, vol. 32, no. 3, pp. 431–438, 2007.
- [70] H. Guo, Y. Kouzuma, and M. Yonekura, "Structures and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein," *Food Chem.*, vol. 113, no. 1, pp. 238–245, 2009.
- [71] R. L. Prior, X. Wu, and K. Schaich, "Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, no. 10, pp. 4290–4302, 2005.
- [72] D. J. Daroit *et al.*, "Physicochemical properties and biological activities of ovine caseinate hydrolysates," *Dairy Sci. Technol.*, vol. 92, no. 4, pp. 335–351, 2012.
- [73] Q. Sun, H. Shen, and Y. Luo, "Antioxidant activity of hydrolysates and peptide fractions derived from porcine hemoglobin," *J. Food Sci. Technol.*, vol. 48, no. 1, pp. 53–60, 2011.
- [74] P. L. Leclerc, S. F. Gauthier, H. Bachelard, M. Santure, and D. Roy, "Antihypertensive activity of casein-enriched milk fermented by *Lactobacillus helveticus*," *Int. Dairy J.*, vol. 12, no. 12, pp. 995–1004, 2002.
- [75] A. Parrella *et al.*, "Antioxidant properties of different milk fermented with lactic acid bacteria and yeast," *Int. J. Food Sci. Technol.*, vol. 47, no. 12, pp. 2493–2502, 2012.
- [76] Shuwen Zhang, "Antioxidative activity of lactic acid bacteria in yogurt," *African J. Microbiol. Res.*, vol. 5, no. 29, pp. 5194–5201, 2011.
- [77] S. Jain, H. Yadav, and P. Ravindra Sinha, "Antioxidant and cholesterol assimilation activities of selected lactobacilli and lactococci cultures," *J. Dairy Res.*, vol. 76, no. 4, pp. 385–391, 2009.
- [78] K. W. Skrzypczak *et al.*, "Antioxidative properties of milk protein preparations fermented by Polish strains of *Lactobacillus Helveticus*," *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.*, vol. 16, no. 2, pp. 199–207, 2017.
- [79] L. You, M. Zhao, J. M. Regenstein, and J. Ren, "Changes in the antioxidant activity of loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) protein hydrolysates during a simulated gastrointestinal digestion," *Food Chem.*, vol. 120, no. 3, pp. 810–816, 2010.
- [80] C. G. Rizzello, I. Losito, M. Gobetti, T. Carbonara, M. D. De Bari, and P. G. Zambonin, "Antibacterial activities of peptides from the water-soluble extracts of Italian cheese varieties," *J. Dairy Sci.*, vol. 88, no. 7, pp. 2348–2360, 2005.
- [81] J. Á. Gómez-Ruiz, M. Ramos, and I. Recio, "Identification of novel angiotensin-converting enzyme-inhibitory peptides from ovine milk proteins by CE-MS and chromatographic techniques," *Electrophoresis*, vol. 28, no. 22, pp. 4202–4211, 2007.
- [82] B. J. Muhiaddin and H. L. Alqboory, "Identification of low molecular weight antimicrobial peptides from Iraqi camel milk fermented with *Lactobacillus plantarum*," *PharmaNutrition*, vol. 6, no. 2, pp. 69–73, 2018.
- [83] M. Homayouni-Tabrizi, A. Asoodeh, and M. Soltani, "Cytotoxic and antioxidant capacity of camel milk peptides: Effects of isolated peptide on superoxide dismutase and catalase gene expression," *J. Food Drug Anal.*, vol. 25, no. 3, pp. 567–575, 2017.
- [84] H. R. Ibrahim, H. Isono, and T. Miyata, "Potential antioxidant bioactive peptides from camel milk proteins," *Anim. Nutr.*, vol. 4, no. 3, pp. 273–280, 2018.
- [85] Z. Jrad *et al.*, "Effect of digestive enzymes on antimicrobial, radical scavenging and angiotensin I-converting enzyme inhibitory

- activities of camel colostrum and milk proteins," *Dairy Sci. Technol.*, vol. 94, no. 3, pp. 205–224, 2014.
- [86] M. Aspri, G. Leni, G. Galaverna, and P. Papademas, "Bioactive properties of fermented donkey milk, before and after in vitro simulated gastrointestinal digestion," *Food Chem.*, vol. 268, pp. 476–484, 2018.
- [87] D. Kumar, M. K. Chatli, R. Singh, N. Mehta, and P. Kumar, "Enzymatic hydrolysis of camel milk casein and its antioxidant properties," *Dairy Sci. Technol.*, vol. 96, no. 3, pp. 391–404, 2016.
- [88] F. Tidona *et al.*, "Antimicrobial effect of donkeys' milk digested in vitro with human gastrointestinal enzymes," *Int. Dairy J.*, vol. 21, no. 3, pp. 158–165, 2011.
- [89] S. Tanabe, N. Isobe, E. Miyauchi, S. Kobayashi, M. Suzuki, and M. Oda, "Identification of a peptide in enzymatic hydrolyzate of cheese that inhibits ovalbumin permeation in Caco-2 cells," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 54, no. 18, pp. 6904–6908, 2006.
- [90] C. Bao, H. Chen, L. Chen, J. Cao, and J. Meng, "Comparison of ACE inhibitory activity in skimmed goat and cow milk hydrolyzed by alcalase, flavourzyme, neutral protease and proteinase K," *Acta Univ. Cibiniensis. Ser. E Food Technol.*, vol. 20, no. 1, pp. 77–84, 2016.
- [91] F. Minervini, F. Algaron, C. G. Rizzello, P. F. Fox, V. Monnet, and M. Gobbetti, "Angiotensin I-converting-enzyme-inhibitory and antibacterial peptides from *Lactobacillus helveticus* PR4 proteinase-hydrolyzed caseins of milk from six species," *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 69, no. 9, pp. 5297–5305, 2003.
- [92] A. Geerlings *et al.*, "Identification and characterization of novel angiotensin-converting enzyme inhibitors obtained from goat milk," *J. Dairy Sci.*, vol. 89, no. 9, pp. 3326–3335, 2006.
- [93] L. Chen, Q. Zhang, Z. Ji, G. Shu, and H. Chen, "Production and fermentation characteristics of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory peptides of goat milk fermented by a novel wild *Lactobacillus plantarum* 69," *Lwt*, vol. 91, pp. 532–540, 2018.
- [94] F. J. Espejo-Carpio, R. Pérez-Gálvez, M. Del Carmen Almécija, A. Guadix, and E. M. Guadix, "Production of goat milk protein hydrolysate enriched in ACE-inhibitory peptides by ultrafiltration," *J. Dairy Res.*, vol. 81, no. 4, pp. 385–393, 2014.
- [95] T. M. Fakhri and M. L. Dewi, "Interaksi Molekuler Inhibitor Dipeptidyl Peptidase-Iv (Dpp-Iv) Dari Protein Susu Kambing Secara in Silico Sebagai Kandidat Antidiabetes Molecular Interactions of Dipeptidyl Peptidase-Iv (Dpp-Iv) Inhibitors From Protein of Goat Milk Through in Silico a," *Media Farm.*, vol. 17, no. 1, pp. 13–24, 2020.
- [96] E. Haque and R. Chand, "Antihypertensive and antimicrobial bioactive peptides from milk proteins," *Eur. Food Res. Technol.*, vol. 227, no. 1, pp. 7–15, 2008.
- [97] K. J. Lee, S. B. Kim, J. S. Ryu, H. S. Shin, and J. W. Lim, "Separation and purification of angiotensin converting enzyme inhibitory peptides derived from goat's milk casein hydrolysates," *Asian-Australasian J. Anim. Sci.*, vol. 18, no. 5, pp. 741–746, 2005.
- [98] L. Wang *et al.*, "Therapeutic peptides: current applications and future directions," *Signal Transduct. Target. Ther.*, vol. 7, no. 1, 2022.
- [99] D. J. Craik, D. P. Fairlie, S. Liras, and D. Price, "The Future of Peptide-based Drugs," *Chem. Biol. Drug Des.*, vol. 81, no. 1, pp. 136–147, 2013.
- [100] K. Fosgerau and T. Hoffmann, "Peptide therapeutics: Current status and future directions," *Drug Discov. Today*, vol. 20, no. 1, pp. 122–128, 2015.