BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Protein merupakan makromolekul penting sebagai sumber asam amino, protein dapat di hidrolisis menjadi peptida bioaktif yang memiliki aktivitas bioaktif seperti antimikroba. Proses hidrolisis dapat dilakukan secara enzimatis menggunakan enzim protease. Enzim protease merupakan enzim yang memiliki kemampuan untuk menghidrolisis protein menjadi bentuk sederhana seperti peptida kecil dan asam amino (Wijayanti, 2016). Berdasarkan jenis mekanisme kerjanya, enzim protease terbagi menjadi dua yaitu endopeptidase dan eksopeptidase. Salah satu contoh endopeptidase adalah enzim bromelin, enzim ini diperoleh dari ekstrak buah nanas. reaksi hidrolisis, enzim bromelin dapat mengkatalisasi penguraian protein menjadi asam amino dengan membangun blok sehingga mampu menghasilkan fragmen peptida rantai pendek lebih banyak yang berfungsi sebagai hidrolisis lebih lanjut oleh eksopeptidase (Khasanah, 2022). Sedangkan golongan enzim eksopeptidase dapat berasal dari getah tanaman biduri (Calotropis gigantea) yaitu enzim calotropin. Menurut Wicaksono and Winarti (2021) penggunaan kombinasi enzim protease yaitu endopeptidase dan eksopeptidase lebih efektif untuk menghidrolisis substrat yang lebih banyak. Hal ini karena endopeptidase memotong ikatan peptida di dalam rantai protein, sedangkan eksopeptidase menguraikan protein dari ujung rantai, menghasilkan satu asam amino dan sisa peptida (Putri et al., 2020).

Berdasarkan penelitian Khasanah *et al.*, (2022) menunjukan bahwa kecap keong mas yang dihidrolisis dengan perbandingan enzim bromelin dan enzim calotropin (biduri) memiliki derajat hidrolisis yang tinggi yaitu 51,10%, dibandingkan dengan kecap yang dihidrolisis dengan enzim tunggal. Menurut Ketnawa *et al.*, (2011) enzim bromelin dari nanas memiliki aktivitas proteolitik tinggi dan mampu menghasilkan peptida dengan derajat hidrolisis yang signifikan dalam waktu yang relatif singkat. Selain itu, menurut Sampaio *et al.*, (2020) bromelin menghasilkan peptida bioaktif

dengan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan enzim papain, terutama pada konsentrasi enzim yang sama, menunjukan efektivitasnya dalam menghasilkan senyawa fungsional dari hidrolisat protein. Sedangkan, enzim calotropin merupakan enzim nabati yang mudah diperoleh, ramah lingkungan dan masih sedikit peneliti yang menggunakan enzim tersebut. Oleh karena itu enzim calotropin dipilih sebagai alternatif enzim protease eksopeptidase.

Peptida bioaktif dikenal dengan ikatan peptida yang disebut dengan zat organik terdiri dari asam amino yang bergabung dengan ikatan kovalen. Peptida bioaktif adalah peptida yang terdapat dalam protein pangan tetapi biasanya tidak bersifat aktif, untuk mengurai protein dalam bahan baku pangan tersebut, dibutuhkan proses hidrolisis enzimatis. Salah satu protein yang masih jarang digunakan sebagai bahan baku pembuatan peptida bioaktif adalah kulit sapi, kulit sapi digunakan sebagai bahan baku peptida bioaktif karena bahan tersebut halal dan mudah didapatkan. Kolagen pada kulit sapi yang kaya akan residu glisin, prolin, dan hidroksipolin dapat dihidrolisis untuk menghasilkan peptida yang memiliki muatan positif dan sifat hidrofobik. Selain itu, kulit sapi merupakan sumber protein yang memliki potensi besar untuk diolah menjadi peptida bioaktif yang memiliki aktivitas antimikroba (Lima et al., 2015). Efektivitas peptida bioaktif bergantung pada sifat strukturalnya seperti urutan asam amino, muatan elektronik peptida, panjang dan berat peptida serta sifat hidrofobik atau hidrofilik yang memungkinkan interaksi eletrostatik dengan membran sel bakteri bermuatan negatif. Fungsi biologis peptida bioaktif dipengaruhi oleh strukturnya, diantaranya seperti antimikroba dan antikanker (Fan et al., 2014). Peptida bioaktif berpotensi menjadi agen antibakteri dan antikanker karena ukurannya yang kecil dan memiliki kemampuan untuk menembus membran sel sehingga dapat melawan berbagai patogen seperti bakteri, jamur dan virus (Felício et al., 2017).

Peptida bioaktif dapat berpotensi sebagai agen antimikroba dikarenakan kemampuan peptida dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen. Peptida dengan aktivitas antimikroba dikenal sebagai antimicrobial peptide (AMP). Terdapat dua mekanisme utama *Antimicrobial peptide* dalam membunuh bakteri yaitu mekanisme

perusakan membran dan inhibisi enzim dalam sel mikroba (Farkas *et al.*, 2017). Mekanisme peptida bioaktif sebagai antimikroba yaitu adanya interaksi membran peptida bermuatan positif (kationik) dan bersifat amfipatik menempel pada lipoposakarida gram negatif diikuti dengan kerusakan membran, gangguan fisiologi membran seperti biosintesis dinding sel, pembelahan sel atau translokasi melewati membran untuk berinteraksi dengan sitoplasma sel target. *Antimicrobial peptide* memiliki panjang, komposisi dan urutan asam amino yang berbeda, *antimicrobial peptide* juga memiliki lipatan silang dengan ikatan disulfida (Pane *et al.*, 2017).

Peptida bioaktif hasil hidrolisis protein dapat memiliki aktivitas antimikroba terhadap bakteri gram negatif dan gram positif. Salah satu bakteri yang relevan di uji adalah *Pseudomonas aeruginosa*, yaitu bakteri gram negatif yang sering menyebabkan infeksi serius pada pasien dengan sistem imun rendah, luka bakar dan penyakit kronis (Hu M & Chua S., 2025). *Pseudomonas aeruginosa* merupakan bakteri yang memiliki resistensi antibiotik yang tinggi, berkemampuan membentuk biofilm, dan mekanisme ganda melalui membran luar lipoposakarida. Sifat ini menjadikan *Pseudomonas aeruginosa* sebagai model yang tepat untuk menguji efektivitas peptida bioaktif sebagai antimikroba.

Berdasarkan permasalahan tersebut, maka diperlukan adanya penelitian untuk membahas pengaruh perbandingan kombinasi enzim eksopeptidase dan endopeptidase protease terhdap karakteristik peptida kulit sapi sebagai antimikroba *Pseudomonas* aeruginosa. Penelitian penerapan peptida bioaktif dengan menggunakan bahan kulit sapi masih terbatas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas peptida bioaktif kulit sapi sebagai antimikroba dan antioksidan.

1.2 Rumusan Masalah

- 1. Berapa konsentrasi enzim eksopeptidase dan endopeptidase untuk menghasilkan peptida bioaktif dari kulit sapi dengan sifat antimikroba terbaik dan aktivitas antioksidan terbaik ?
- 2. Bagaimana pengaruh penggunaan enzim eksopeptidase dan enzim endopeptidase terhadap peptida bioaktif kulit sapi ditinjau dari sifat antimikroba dan aktivitas antioksidan?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1. Mengetahui konsentrasi enzim eksopeptidase dan enzim endopeptidase yang dapat menghasilkan sifat antimikroba dan aktivitas antioksidan terbaik (tertinggi).
- 2. Mengetahui pengaruh penggunaan enzim eksopeptidase dan enzim endopeptidase terhadap karakter peptida bioaktif (sifat antimikroba dan aktivitas antioksidan).

1.4 Manfaat Penelitian

- 1. Meningkatkan nilai tambah produk kulit sapi sebagai peptida bioaktif antimikroba.
- Memberikan informasi mengenai pengaruh konsentrasi eksopeptidase dan endopeptidase protease terhadap produksi peptida bioaktif dari kulit sapi sebagai antimikroba