

## Hidrolisat Kuda Laut (*Hippocampus kuda*) dan Uji Aktivitas Antiinflamasi dengan Metode Penghambatan Denaturasi Protein

### Seahorse Hydrolysate (*Hippocampus kuda*) and Anti-Inflammatory Activity Test with Protein Denaturation Inhibition Method

Nur Azizah Nasution, Mala Nurilmala\* & Asadatun Abdullah

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Bogor

\*Corresponding author, email: mnurilmala@ipb.ac.id

Submitted 20 February 2019 Revised 02 April 2019 Accepted 07 June 2019

**Abstrak** Kuda laut merupakan biota laut yang memiliki nilai komersial dan dimanfaatkan sebagai ikan hias dan bahan obat tradisional. Pemanfaatan kuda laut sampai saat ini masih belum diteliti secara luas, terutama dalam bentuk hidrolisat. Hidrolisat kuda laut diketahui memiliki khasiat dalam aktivitas biologis. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kuda laut secara morfometrik, menentukan enzim terpilih berdasarkan derajat hidrolisis dan menentukan aktivitas antiinflamasi hidrolisat. Hasil identifikasi morfometrik menunjukkan ciri-ciri morfologi *Hippocampus kuda* yaitu jumlah cincin tubuh 12 unit, cincin ekor 35 unit, tonjolan mata dan pipi sebanyak 1 unit, rata-rata panjang kepala 3,5 cm, jumlah cincin tubuh pada sirip dorsal 3 unit. Derajat hidrolisis kuda laut terbaik yaitu hidrolisis protein menggunakan enzim alkalase sebesar 42,49%. Aktivitas antiinflamasi tertinggi pada hidrolisat kuda laut memiliki % inhibisi sebesar 42,88%.

**Kata kunci:** Alkalase; derajat hidrolisis; enzim; inhibisi; morfometrik

**Abstract** Seahorse is marine biota that have commercial value and used as ornamental fish and traditional medicinal ingredients. Utilization of seahorses has still not been extensively studied, especially in the form of hydrolysates. Hydrolysates of seahorses are known to have efficacy in biological activity. This study was conducted to identify seahorse morphometrics, determine selected enzymes based on the degree of hydrolysis and determine the anti-inflammatory activity of hydrolysates. The results showed that morphometric identification showed morphological characteristics of *Hippocampus kuda*, namely the number of body rings 12 units, tail ring 35 units, eye protrusion and cheeks as much as 1 unit, average head length of 3.5 cm, number of body rings on dorsal fin 3 units. The best degree of hydrolysis of seahorses is protein hydrolysis using alkalase enzyme of 42.49%. The highest anti-inflammatory activity on sea horse hydrolyzate has %inhibition of 42.88%.

**Keywords:** Alcalase; degree of hydrolysis; enzyme; inhibition; morphometrics

### PENDAHULUAN

Kuda laut (*Hippocampus kuda*) merupakan salah satu komoditas perikanan yang memiliki nilai komersial dan banyak diperdagangkan. Kuda laut dapat dimanfaatkan sebagai ikan hias, souvenir dan bahan dasar obat-obatan tradisional yang diyakini dapat mengobati beberapa penyakit. Kuda laut tersebar luas di seluruh dunia termasuk di perairan Indonesia. Menurut data yang ada, negara-negara pengekspor kuda laut terbesar adalah Thailand, Filipina, Indonesia, India, Vietnam dan Australia. Konsumsi kuda laut di wilayah Asia menempati posisi tertinggi yaitu mencapai 45 ton atau sekitar 16 juta ekor per tahun (FAO, 2010). Pada tahun 2004-2011 CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) melaporkan perdagangan kuda laut di Indonesia berkisar 2.000.000-45.000.000 ekor per tahun (Foster et al., 2016).

Kuda laut berkhasiat sebagai bahan pengobatan tradisional di Cina secara turun temurun dan dipercaya dapat memperkuat stamina. Berbagai manfaat kuda laut sudah dilakukan beberapa peneliti. Kuda laut dapat memperbaiki perubahan histologis vesikula seminalis dan kelenjar

prostat (Zhang et al., 2001), meningkatkan jumlah sperma (spermatogenesis) (Xu et al., 2003), memiliki aktivitas anti bakteri terhadap *Klebsilla pneumoniae*, *Vibrio cholerae* dan *Staphylococcus aureus* (Kumaravel et al., 2010), meningkatkan kadar hemaglobin darah (Adam et al., 2014) aktivitas anti kelelahan (Kang et al., 2017) dan memiliki aktivitas antioksidan sebesar 24,04% (Sanaye et al., 2014).

Kuda laut memiliki kandungan kimia secara *dry basis* dengan kadar protein sebesar 70,70%, kadar lemak 1,71%, kadar abu sebesar 20,92% dan mengandung mineral Zn sebesar 38,15 (µg/g) (Lin et al., 2008). Kandungan protein yang tinggi dari kuda laut ini berpotensi untuk dijadikan produk hidrolisat protein dari kuda laut.

Hidrolisat protein merupakan produk yang dihasilkan dari penguraian protein menjadi peptida dan asam amino melalui proses hidrolisis oleh asam, basa, dan enzim. Salah satu enzim yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat protein adalah protease. Menurut Haslaniza et al. (2010), penggunaan enzim dalam menghidrolisis protein dianggap paling aman dan menguntungkan karena kemampuan enzim dalam menghidrolisis protein dapat menghasilkan produk hidrolisat yang terhindar dari perubahan dan

kerusakan produk.

Peptida-peptida yang merupakan hasil hidrolisis dari protein memiliki aktivitas biologi yang penting untuk kesehatan manusia. Peptida bioaktif hidrolisat kuda laut memiliki aktivitas antikelelahan (Guo *et al.*, 2017; Kang *et al.*, 2017), memberikan pengaruh terhadap neuroprotektif (Pangestuti, 2013), dan memiliki aktivifitas antiinflamasi (Ryu *et al.*, 2010). Inflamasi adalah suatu respon yang ditimbulkan oleh cedera atau kerusakan pada jaringan yang berfungsi untuk menghancurkan atau mengurangi agen pencendera maupun jaringan yang cedera (Erlina *et al.*, 2007). Obat yang biasa digunakan untuk pengobatan inflamasi jika dikonsumsi dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping seperti luka pada lambung, menurunnya imunitas terhadap infeksi, osteoporosis, gangguan ginjal dan anemia (Rinayanti *et al.*, 2014), sehingga diperlukan obat alternatif yang berasal dari bahan alam. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi kuda laut secara morfometrik, menentukan enzim terpilih berdasarkan derajat hidrolisis, menentukan kandungan asam amino hidrolisat dan menentukan aktivitas antiinflamasi hidrolisat secara *in vitro*.

Metode pengujian aktivitas antiinflamasi secara *in vitro* terdiri dari beberapa metode yaitu pelepasan fosforilasi oksidatif (ATP biogenesis terkait dengan respirasi), stabilisasi membran eritrosit, stabilisasi membran lisosomal, tes fibrinolitik, agregasi trombosit dan penghambatan denaturasi protein (Oyedapo *et al.*, 2010). Pada penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antiinflamasi dengan metode penghambatan denaturasi protein dengan *Bovine Serum Albumin* (BSA). Kelebihan pengujian dengan menggunakan metode ini yaitu mudah digunakan, sampel yang digunakan sedikit, proses analisa cepat, dan merupakan uji pendahuluan untuk skrining awal antiinflamasi (Mufidah, 2014).

## BAHAN DAN METODE

### Persiapan sampel kuda laut

Pada pembuatan hidrolisat, tahap awal yang dilakukan yaitu pembuatan serbuk kuda laut. Kuda laut dilakukan proses pemisahan daging dengan isi perut. Kemudian daging kuda laut di *freeze dry* pada suhu -50°C lalu diperoleh serbuk kuda laut.

### Identifikasi morfometrik

Identifikasi morfometrik kuda laut mengacu pada metode Lourie *et al.* (2004) meliputi beberapa parameter yaitu panjang tubuh, tonjolan mata, tonjolan dagu, jumlah sirip insang, jumlah cincin ekor, dan jumlah sirip punggung dari kuda laut. Karakteristik morfometrik kuda laut diamati dan disamakan dengan karakteristik yang terdapat pada buku identifikasi *Marine Fishes of South-East Asia*.

### Pembuatan hidrolisat

Serbuk kuda laut sebanyak 0,2% ditambahkan akuades sebanyak 100 mL. Hidrolisis dilakukan dengan menggunakan dua enzim berbeda yaitu alkalase pH 8 suhu 55°C selama 3 jam (Sari *et al.*, 2017) enzim pancidase pH 7 suhu 48°C selama 12 jam (Arafah, 2017). Setelah waktu hidrolisis tercapai, dilakukan inaktivasi enzim pada suhu 85°C selama 20 menit untuk menghentikan proses

hidrolisis. Kemudian di sentrifugasi pada kecepatan 6000 g selama 30 menit pada suhu 4°C untuk memisahkan supernatant dan pelet. Selanjutnya supernatant di freeze dryer pada suhu -50°C.

### Perhitungan derajat hidrolisis

Analisis derajat hidrolisis berdasarkan Baharrudin *et al.* (2016) dilakukan dengan metode titrasi formol melalui perbandingan nilai N-terasimilasi terhadap nilai total nitrogen sampel. Derajat hidrolisis dihitung berdasarkan persentase rasio *trichloroacetic acid* (TCA). Sampel yang digunakan yaitu 10 mL hidrolisat protein ditambahkan TCA 20% (b/v) sebanyak 10 mL. Campuran tersebut kemudian didiamkan selama 30 menit agar terjadi pengendapan, kemudian disentrifugasi (kecepatan 6000 g, selama 30 menit). Supernatannya lalu dianalisis kadar nitrogennya menggunakan metode *Kjeldahl* (AOAC, 2005). Derajat hidrolisis dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Derajat hidrolisis (\%)} = \frac{\text{Nitrogen terlarut dalam TCA 10\%}}{\text{Nitrogen total sampel}} \times 100\%$$

### Analisis asam amino (AOAC, 2005)

Analisis asam amino dilakukan untuk mengetahui jenis dan kadar asam amino pada serbuk kuda laut serta hidrolisatnya. Prinsip analisis asam amino adalah memanfaatkan reaksi pra kolom gugus amino yaitu pereaksi *ortho-ftalaldehid* (OPA) yang akan bereaksi dengan asam amino primer dalam suasana basa, mengandung merkuptoetanol membentuk senyawa yang berfluoresensi sehingga dapat dideteksi dengan *detector* fluoresensi. Proses analisis asam amino menggunakan HPLC meliputi: (1) Preparasi sampel, sampel ditimbang sebanyak 3 mg dan dihaluskan. Sampel yang telah halus dihidrolisis asam menggunakan HCl 6 N sebanyak 1 mL yang kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 110°C selama 24 jam. Pemanasan dalam oven dilakukan untuk menghilangkan gas atau udara yang ada pada sampel agar tidak mengganggu kromatogram yang dihasilkan. Sampel kemudian dipindahkan ke labu *rotary evaporator* untuk dikeringkan, ditambah dengan HCl 0,01 N dan ditera sampai 5 mL lalu disaring dengan kertas milipore no. 45. (2) Injeksi sampel ke HPLC, larutan buffer kalium borat pH 10,4 ditambahkan ke dalam sampel dengan perbandingan 1:1, kemudian dimasukkan 50 µL sampel dan ditambahkan 250 µL pereaksi OPA dengan perbandingan 1:5. Larutan standar diinjeksikan ke dalam kolom HPLC sebanyak 5 µL. Tunggu sampai pemisahan semua asam amino selesai, waktu yang diperlukan sekitar 25 menit. Kondisi alat HPLC saat dilakukan analisis yaitu temperatur 27°C (suhu ruang), jenis kolom HPLC yaitu *Ultra techspere* (Coloum C-18), kecepatan alir eluen yaitu 1 mL/menit, tekanan yaitu 3000 psi, fase gerak yaitu buffer Na-Asetat dan methanol 95%, detektor yaitu Fluoresensi dan panjang gelombang yaitu 254 nm. Kandungan asam amino dalam 100 g bahan dapat dihitung dengan rumus:

$$\text{Konsentrasi asam amino (\mu mol)} = \frac{\text{luas puncak sampel} \times \text{konsentrasi standar}}{\text{Luas puncak standar}}$$

$$\%AA = \frac{\mu\text{mol AA} \times \text{Mr AA} \times 100\%}{\mu\text{g sampel}}$$

### Pengujian aktivitas antiinflamasi

Pengujian aktivitas antiinflamasi dilakukan secara *in vitro* berdasarkan Williams *et al.* (2008) dengan pembuatan pereaksi: (1) Pembuatan *Tris Buffer Saline* (TBS), sebanyak

1,21 g tris base dan 8,7 g NaCl lalu dilarutkan dalam 900 mL aquadest. Selanjutnya pH diatur sampai pH 6,2-6,5, kemudian ditambahkan aquadest sampai 1000 mL. (2) Pembuatan 0,2% BSA (*Bovine Serum Albumin*), sebanyak 0,2 g *Bovine Serum Albumin* dan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, Lalu ditambahkan larutan TBS hingga volume 100 mL. (3) Pembuatan larutan kontrol negatif, sebanyak 50 $\mu$ L metanol lalu ditambahkan larutan 0,2% BSA ke labu ukur hingga volume 5 mL. (4) Pembuatan larutan kontrol positif, sebanyak 100 mg natrium diklofenak kemudian dilarutkan dengan methanol ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan dengan methanol sampai 25 mL. (5) Pembuatan larutan uji, sebanyak 0,5 g sampel dan dilarutkan dalam metanol didalam labu ukur 25 mL, kemudian ditambah dengan pelarut sampai volume 25 mL. (6) Pengukuran aktivitas antiinflamasi, larutan uji dipipet 50 $\mu$ L kemudian ditambahkan larutan 0,2% BSA sampai mencapai volume 5 mL, kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 30 menit, lalu dipanaskan selama 5 menit pada suhu 72°C, kemudian didiamkan selama 25 menit suhu 23°C. Setelah dingin, larutan divortex dan diukur absorbansi dengan spektrofotometri *Uv-Visible* pada panjang gelombang 660 nanometer. Perhitungan persentase penghambatan denaturasi protein diukur dengan menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{inhibisi} = \frac{\text{Abs control negatif} - \text{Abs larutan uji} \times 100\%}{\text{Abs control negatif}}$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Identifikasi morfometrik

Berdasarkan hasil identifikasi morfometrik, kuda laut yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Hippocampus kuda*. Morfometrik dilakukan dari 15 sampel diperoleh rata-rata panjang tubuh berkisar 12,9 $\pm$ 0,83 cm dan memiliki rata-rata berat sebesar 2,84 $\pm$ 0,61 g. Ciri-ciri morfologi *H. kuda* yaitu memiliki warna tubuh bercak hitam, moncong lebih tebal, duri halus, mahkota rendah, jumlah cincin tubuh 12 unit, cincin ekor 35 unit, tonjolan mata dan pipi sebanyak 1 unit, rata-rata panjang kepala 3,5 cm, jumlah cincin tubuh pada sirip dorsal 3 unit. *H. kuda* menurut [Lourie et al. \(2004\)](#) memiliki tubuh yang lebih besar dengan maksimum panjang tubuh 17 cm, jumlah cincin ekor 34-38 unit, cincin tubuh 11 unit, rata-rata panjang hidung dan kepala 2,0-2,6 cm. Kuda laut memiliki ekor yang dapat dililitkan dan pada kuda laut jantan terdapat kantong pengeraman yang terletak di bawah perut sedangkan betina tidak memiliki kantong pengeraman. Jenis kuda laut yang terdapat di Indonesia yaitu *Hippocampus barbouri*, *Hippocampus comes*, *Hippocampus hystrix*, *Hippocampus kelloggi*, *Hippocampus bargibanti*, *Hippocampus pontohi*, *Hippocampus spinosissimus*, *Hippocampus trimaculatus* dan *Hippocampus kuda* ([Lourie et al., 2004](#)).

Kuda laut termasuk dalam ordo Gasterosteiformes dan famili Syngnathidae. Komoditi perikanan yang termasuk dalam famili Syngnathidae termasuk ikan air laut dan ikan air tawar memiliki bentuk badan memanjang. Memiliki satu sirip punggung yang biasanya terdiri dari 15-60 jari-jari lunak, 2-6 jari-jari sirip dubur dengan ukuran yang sangat kecil, dan tidak memiliki sirip perut ([Rabiansyah, 2015](#)). Kuda laut atau yang dikenal sebagai tangkur kuda termasuk dalam jenis ikan, bernafas dengan menggunakan insang dan

merupakan jenis ikan yang sangat berbeda dibandingkan dengan ikan lainnya. Kepala kuda laut memiliki mahkota, tubuh agak pipih dan melengkung, seluruh bagian tubuh kuda laut terbungkus oleh lempengan-lempengan tulang atau cincin, terdapat mata kecil dan sama lebar, memiliki mulut yang panjang seperti pipa ([Lourie et al., 2004](#)).

### Derajat hidrolisis

Derajat hidrolisis merupakan parameter utama memantau reaksi suatu hidrolisis. Proses hidrolisis kuda laut dengan menggunakan alkalase memiliki derajat hidrolisis lebih tinggi dibandingkan hidrolisis dengan pancidase. Hidrolisis dengan pancidase memiliki nilai derajat hidrolisis sebesar 20,42% sedangkan menggunakan alkalase sebesar 42,49%. [See et al. \(2011\)](#) menyatakan nilai derajat hidrolisis dipengaruhi oleh jenis enzim. Enzim yang ditambahkan ke dalam substrat akan terserap pada partikel yang tersuspensi dan enzim yang tersuspensi akan berikatan dengan peptida. [Ryu et al. \(2010\)](#) melaporkan bahwa kuda laut (*Hippocampus kuda*) yang dihidrolisis menggunakan alkalase paling efektif dibandingkan dengan enzim protease lainnya seperti papain dan tripsin. Menurut [Charoenphun et al. \(2013\)](#) semakin tinggi derajat hidrolisis menunjukkan proses hidrolisis yang efektif dalam memecah ikatan peptida. Hidrolisis secara enzimatik lebih menguntungkan karena tidak menyebabkan kerusakan peptida dan asam amino selama proses hidrolisis ([Baehaki et al., 2015](#)).

### Asam amino

Tabel 1. Asam amino hidrolisat protein kuda laut.

Asam Amino	Asam amino	Hidrolisat kuda laut dengan pancidase	Hidrolisat kuda laut dengan alkalase	
Esensial	Histidin	0,705	0,767	
	Threonin	0,765	0,891	
	Leusin	1,175	1,248	
	Valin	0,800	0,822	
	Isoleusin	0,521	0,579	
	Phenilalanin	0,515	0,556	
	Lisin	1,094	1,168	
	Metionin	0,604	0,592	
	Non esensial	Prolin	1,231	1,295
		Tirosin	0,658	0,619
Asam aspartat		1,309	1,565	
Glisin		0,896	1,009	
Arginin		0,958	1,211	
Alanin		0,505	0,520	
Asam glutamat		3,609	4,122	
Sistein		0,331	0,375	
	Serin	0,417	0,464	

Asam amino merupakan komponen utama penyusun protein yang memiliki fungsi dalam metabolisme tubuh. Kandungan kimia kuda laut menurut [Sari et al. \(2017\)](#) terdiri dari kadar abu 9,65 $\pm$ 0,16% kadar lemak 4,89 $\pm$ 0,37%, kadar protein 69,83 $\pm$ 0,31%, dan karbohidrat 5,50 $\pm$ 0,34. Analisis asam amino bertujuan untuk mengetahui jumlah dan jenis asam amino esensial yang terkandung dalam hidrolisat kuda laut. Metode analisis yang digunakan yaitu metode HPLC. Hasil analisis asam amino hidrolisat protein kuda laut dengan enzim berbeda disajikan pada Tabel 1. hidrolisat protein kuda laut memiliki 17 jenis asam amino yang terdiri



dari asam amino esensial dan asam amino non esensial. Asam amino yang tidak dianalisis yaitu triptofan, prolin, sistein, asparagine, dan glutamin.

Kadar asam amino hidrolisat kuda laut dengan menggunakan pancidase lebih rendah dibandingkan dengan kadar asam amino hidrolisat protein kuda laut alkalase. Hal ini diduga karena perbedaan jenis enzim yang digunakan dalam proses hidrolisis kuda laut dapat menghasilkan komposisi asam amino yang berbeda dan protein terlarut lainnya masih dalam bentuk peptida-peptida. Menurut [Gauthier et al. \(1982\)](#) enzim yang digunakan dalam pembuatan hidrolisat akan menghidrolisis ikatan peptida secara spesifik sehingga menghasilkan kandungan asam amino yang berbeda.

Hidrolisat kuda laut pancidase dan alkalase yaitu asam glutamat (3,609%) dan (4,122%), sedangkan persentase asam amino terendah sistein (0,331%) dan (0,375%). Menurut [Sari \(2018\)](#) kandungan asam amino tertinggi hidrolisat dan tepung kuda laut adalah asam glutamat dengan nilai masing-masing 9,13% (hidrolisat) dan 7,33% (tepung). Asama glutamate merupakan asam amino yang paling banyak terdapat dalam produk perikanan ([Uju et al., 2009](#)).

#### Uji aktivitas antiinflamasi

Metode pengujian antiinflamasi pada penelitian ini adalah metode penghambatan denaturasi protein *Bovine Serum Albumin* (BSA). Pengujian dengan BSA dilalukan untuk skrining awal pengembangan obat baru dengan proses ketika BSA dipanaskan, maka akan terjadi denaturasi dan menunjukkan reaksi hipersensitif tipe III yang berhubungan dengan antigen. Senyawa yang dapat menstabilkan protein dari proses denaturasi merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antiinflamasi. Interaksi BSA dengan zat aktif terjadi akibat adanya ikatan antara zat aktif dengan tirosin, treonin, dan lisin. Ketika zat aktif menempel dengan tirosin, treonin, dan lisin yang terdapat pada BSA maka akan tidak mencegah terjadinya denaturasi BSA ([Williams et al., 2008](#)). Hidrolisat terbaik yaitu hidrolisis dengan alkalase. Hasil uji antiinflamasi disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Aktivitas antiinflamasi hidrolisat kuda laut.

No.	Sampel	Konsentrasi	%Inhibisi
1	Natrium Diklofenak	250 ppm	44,40
		275 ppm	47,33
		300 ppm	44,86
		325 ppm	54,11
		350 ppm	54,12
		375 ppm	59,54
2	Hidrolisat kuda laut	250 ppm	28,02
		275 ppm	30,32
		300 ppm	34,51
		325 ppm	37,44
		350 ppm	38,49
		375 ppm	42,88

Penghambatan denaturasi protein hidrolisat kuda laut mulai ditunjukkan pada konsentrasi 250 ppm. Berdasarkan [William et al. \(2008\)](#) senyawa yang memiliki persen inhibisi denaturasi protein >20% merupakan senyawa yang memiliki aktivitas antiinflamasi. Senyawa yang diduga berperan sebagai antiinflamasi adalah flavonoid. Hal ini

didukung dengan hasil penelitian dari [Sari \(2018\)](#) pengujian senyawa flavonoid pada kuda laut menunjukkan hasil yang positif. Pada penelitian [Bandawane \(2013\)](#) yang menyatakan bahwa tanin dan flavonoid pada *Tamarandus indica* diduga menimbulkan efek antiinflamasi.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Identifikasi morfometrik menunjukkan ciri-ciri morfologi *Hippocampus kuda* yaitu jumlah cincin tubuh 12 unit, cincin ekor 35 unit, tonjolan mata dan pipi sebanyak 1 unit, rata-rata panjang kepala 3,5 cm, jumlah cincin tubuh pada sirip dorsal 3 unit. Derajat hidrolisis kuda laut terbaik yaitu hidrolisis protein menggunakan enzim alkalase sebesar 42,49%. Aktivitas antiinflamasi tertinggi pada hidrolisat kuda laut memiliki %inhibisi sebesar 42,88%.

### Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai identifikasi sekuens asam amino dengan menggunakan LC-MS.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adam, K., L. Fitria & M. Sarto. 2014. Pengaruh pemberian fraksi protein ekstrak kuda laut (*Hippocampus kuda Bleeker*, 1852) terhadap peningkatan kadar hemoglobin mencit (*Mus musculus* L). Jurnal Kefarmasian Indonesia. 4 (2) :83-90
- Arafah, P. 2017. Karakteristik gelatin kulit ikan tuna (*Thunnus albacares*) dan potensinya sebagai antioksidan. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Baehaki, A., S.D. Lestari & A.R. Romadhoni. 2015. Hidrolisis protein ikan patin menggunakan enzim papain dan aktivitas antioksidan hidrolisatnya. Jurnal Pengolahan Hasil Perairan.18 (30): 230-239
- Baharuddin, N.A., N.R.A. Halim & N.M. Sarbon. 2016. Effect of degree of hydrolysis (DH) on the functional properties angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibit ry activity of eel (*Monopterus* sp.) protein hydrolysate. International Food Research Journal. 23 (4): 1424-1431
- Charoenphun, N., B. Cheirsilp, N. Sirinupong & W. Youravong. 2013. Calcium-binding peptides derived from tilapia (*Oreochromis niloticus*) protein hydrolysate. European Food Research and Technology. 236: 57-63
- Coultate, T.P. 2002. Food: The Chemistry of Its Components. Fourth Edition. Cambridge (UK): RSC Paperbacks
- Erlina, R.A., Indah & Yanwirasti. 2007. Efek antiinflamasi ekstrak etanol kunyit (*Curcuma domestica* Val) pada tikus putih jantan galur wistar. Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi. 12 (2): 112-115
- FAO. 2010. Cultured Aquatic Species Information Programme : Hippocampus comes. FAO Fisheries and Aquaculture Department
- Fawole, O.O., M.A. Ogundiran, T.A. Ayandiran & O.F. Olagunju. 2007. Proximate and mineral composition in some selected fresh water fishes in Nigeria. Internet Journal of Food Safety. 9: 52-55

- Fawole, O.O., T.A. Yekeen, S.O. Adewoye, M.A. Ogundiran, O.E. Ajayi & M.N. Nwaiya. 2013. Nutritional qualities and trace metals concentration of six fish species from Oba reservoir Ogbomoso, Nigeria. *African Journal of Food Science*. 7 (8): 246- 252
- Foster, S., S.Wiswedel & A. Vincent. 2016. Opportunities and challenges for analysis of wildlife trade using CITES data-seahorses as a case study. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 26 (1): 154-172
- Gauthier, S.F., C. Vachon, J.D. Jones & L. Savoie. 1982. Assessment of protein digestability in vitro enzymatic hydrolysis with simultaneous dialysis. *Journal of Nutrition*. 112: 1718-1725
- Guo, Z., D. Lin, J. Guo, Y. Zhang & B. Zheng. 2017. In vitro antioxidant activity and in vivo anti-fatigue effect of seahorse (*Hippocampus*) peptides. *Molecules*. doi:10.3390/molecules22030482
- Haslaniza, H., M.Y. Maskat, A.W.M. Wan & S. Mamot. 2010. The effects of enzyme concentration, temperature and incubation time on nitrogen content and degree of hydrolysis of protein precipitate from cockle (*Anadara granosa*) meat wash water. *International Food Research Journal*. 17: 147-152
- Kang, N., S.Y. Kim, S. Rho, J.Y. Ko & Y.J. Jeon. 2017. Anti-fatigue activity of a mixture of seahorse (*Hippocampus abdominalis*) hydrolysate and red ginseng. *Fisheries and Aquatic Sciences*. 20: 3
- Kumaravel, K., S. Ravichandran, T. Balasubramanian & K.S. Subramanian. 2010. Antimicrobial effect of five seahorse species from indian coast. *British Journal of Pharmacology and Toxicology*. 1: 62-6
- Lin, Q., L. Junda, L. Junyi & L. Bingsi. 2008. Biochemical composition of six seahorse species *Hippocampus* sp from the chinese coast. *World Aquaculture Society*. 39 (2): 225-234
- Lourie, S.A., S.J. Foster, E.W.T. Cooper & A.C.J. Vincent. 2004. A guide to the identification of seahorses. Project seahorse and traffic. North America (US): University of British Columbia and World Wildlife Fund
- Mufidah, S. 2014. Modifikasi struktur senyawa etil p-metoksisinamat yang diperoleh dari kencur (*Kaempferia galanga* Linn.) melalui transformasi gugus fungsi serta uji aktivitas sebagai antiinflamasi. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta
- Oyedapo, O.O., B.A. Akinpelu, K.F. Akinwunmi, M.O. Adeyinka & F.O. Sipeolu. 2010. Red blood cell membrane stabilizing potentials of extracts of *Lantana camara* and its fractions. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry*. 2 (4): 46-51
- Pangestuti, R., B. Ryu, S.W.A. Himaya & S.K. Kim. 2013. Optimization of hydrolysis conditions, isolation, and identification of neuroprotective peptides derived from seahorse *Hippocampus trimaculatus*. *Amino Acids*. 45: 369-381
- Rabiansyah. 2015. Studi Ekologi Kuda Laut (*Hippocampus* di Perairan Desa Sebong Perek Kecamatan Teluk Sebong Kabupaten Bintan. Universitas Maritim Raja Ali. Kepulauan Riau
- Rinayanti, A., E. Dewanti & M.H. Adelina. 2014. Uji efek antiinflamsi fraksi air daun mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa* (Shecfl.) Boerl.) terhadap tikus putih (*Rattus norvegicus* L.). *Pharmaceutical Sciences and Research*. 1 (2): 78-85
- Ryua, B., Z.J. Qianb & S.K. Kim. 2010. Purification of a peptide from seahorse, that inhibits TPA-induced MMP, iNOS and COX-2 expression through MAPK and NF- $\kappa$ B activation, and induces human osteoblastic and chondrocytic differentiation. *Chemico-Biological Interactions*. 413-422
- Sanaye, S.V., N.M. Pise, A.P. Pawar, P.P. Parab, R.A. Sreepada, H.B. Pawar & A.D. Revankar. 2014. Evaluation of antioxidant activities in captive-bred cultured yellow seahorse *Hippocampus kuda* (Bleeker, 1852). *Aquaculture*. 1-34. doi 10.1016/j.aquaculture.2014.08.007
- Santoso, B. 2014. Analisis jenis makanan kuda laut *Hippocampus barbouri*, (Jordan & Richardson, 1908) pada daerah padang lamun di kepulauan tanakeke, takalar, sulawesi selatan. Skripsi. Fakultas ilmu kelautan dan perikanan. Universitas Hasanuddin. Makassar
- Sari, E.M. 2018. Identifikasi kuda laut berdasarkan marka molekuler serta potensinya sebagai antioksidan, antiglikasi dan imunomodulator. Tesis. Bogor. Institut Pertanian Bogor
- Sari, E.M., M. Nurilmala & A. Abdullah. 2017. Profil asam amino dan senyawa bioaktif kuda laut *Hippocampus comes*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*. 9 (2): 605-617
- Uju, T., Nurhayati, B. Ibrahim, W. Trilaksani & M. Siburian. 2009. Karakterisasi dan *recovery protein* dari air cucian *minced fish* dengan membran *reverse osmosis*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 12 (2) :115-127
- Verma M.A, A.P. Kumar, D. Kavitha & K.B. Anurag. 2011. Anti denaturation and antioxidant activities of *Annona cherimola* in vitro. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2 (2) :1-6
- Widyakarya Nasional Pangan dan Gizi [WNPNG]. 2004. Pangan dan Gizi. Jakarta. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia.
- Xu, D., X. Mei, B. Lin & S. Xu. 2003. The pharmacological effects of *Hippocampus capsule* on enhancing sexual functions of rats. *Chinese Medicine*. 26 (11): 807-808
- Zhang, H., Y. Luo & S.D. Luo. 2001. Affect of the sea horse *Hippocampus japonicus* on pituitary gonadal axis in male rats. *Chinese Journal of Marine Drugs*. 2: 39-41