



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

KAJIAN *IN SILICO* DAN *IN VITRO* PEPTIDA ANTIMIKROBA TERHADAP PERFORMA PERTUMBUHAN PADA AYAM BROILER DAN ANAK BABI

MOHAMMAD MIFTAKHUS SHOLIKIN



**ILMU NUTRISI DAN PAKAN
SEKOLAH PASCASARJANA
IPB UNIVERSITY
BOGOR
2021**



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

PERNYATAAN MENGENAI DISERTASI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA*

Dengan ini saya menyatakan bahwa disertasi dengan judul “Kajian *In Silico* dan *In Vitro* Peptida Antimikroba terhadap Performa Pertumbuhan pada Ayam Broiler dan Anak Babi” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir disertasi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada IPB University.

Bogor, Mei 2021

Mohammad Miftakhus Sholikin
D261180098

*Pelimpahan hak cipta atas karya tulis dari penelitian kerjasama dengan pihak luar IPB University harus didasarkan pada perjanjian kerjasama yang terkait

RINGKASAN

Mohammad Miftakhus Sholikin. Kajian *In Silico* dan *In Vitro* Peptida Antimikroba terhadap Performa Pertumbuhan pada Ayam Broiler dan Anak Babi. Dibimbing oleh Nahrowi, Anuraga Jayanegara, dan Aris Tri Wahyudi.

Industri peternakan ayam broiler dan babi merupakan sektor peternakan yang strategis. Berkembangnya industri ini menyebabkan kebutuhan antibiotik imbuhan pakan meningkat. Antibiotik imbuhan pakan dibutuhkan oleh industri tersebut untuk mengurangi kerugian akibat penyakit diare dan dampak negatif lainnya. Akan tetapi, antibiotik imbuhan pakan mulai dilarang penggunaannya dikarenakan ditemukannya kasus alergi, kanker, resistensi terhadap bakteri patogen, dan dampak merugikan lainnya. Oleh karena itu, diperlukan alternatif baru yang tidak menimbulkan dampak negatif serupa. Salah satu alternatif adalah penggunaan peptida antimikroba (PAM). Peptida antimikroba merupakan peptida aktif yang memiliki aktivitas antimikroba, antifungi, dan antiviral. Keunggulan peptida antimikroba adalah peptida ini mudah didegradasi, tahan suhu tinggi, memiliki spektrum luas melawan bakteri patogen, dan tidak menimbulkan efek resistensi. Mekanisme peptida antimikroba yaitu peptida ini mengenali bakteri patogen melalui pengenalan sinyal dari dinding bakteri berupa lipopolisakarida. Bakteri yang teridentifikasi kemudian diikat oleh peptida ini dan dirusak dinding selnya dan/atau menghambat proses sintesis protein melalui pembentukan oksida reaktif.

Kajian eksperimen terkait peptida antimikroba sudah mulai banyak dilakukan. Akan tetapi, penjabaran efek positifnya masih saling tumpang tindih, sehingga terjadi bias diantara penelitian. Metode pendekatan yang digunakan untuk menyelesaikan permasalahan tersebut adalah kajian *in silico* menggunakan analisis komponen utama dan meta-analisis. Selain itu, di dalam penelitian ini juga dilakukan sintesis peptida antimikroba asal maggot (*Hermetia illucens*) yaitu cecropin like-peptide 1 (CLP1). Selain itu juga, uji antikanker ekstrak akuades dan etanol maggot terhadap sel kanker leukemia (yaitu MOLT4 dan K562). Kajian *in silico* menggunakan data yang bersumber dari perpustakaan digital, literatur yang dipergunakan adalah jurnal yang relevan terkait topik penelitian. Kemudian, jurnal tersebut dipilih menggunakan protokol seleksi data dan dibangun model matematika yang merepresentasikan data. *In vitro*, cecropin asal maggot disintesis menggunakan sistem IVT (*In Vitro Translation*). Komplemen DNA cecropin ditumpang tindihkan pada fragmen T7-IRES-Kozak dan selanjutnya ditranslasikan menggunakan lisat sel epitelium. Produk peptida CLP1 diidentifikasi menggunakan SDS-PAGE, dot blot, dan mikroskop fluoresen. Ekstrak etanol dan akuades maggot diuji sitotoksitasnya pada sel MOLT4 dan K562 kemudian IC50 ditentukan menggunakan regresi linier.

Temuan dari pemodelan *in silico* menggunakan analisis komponen utama, bahwa peptida antimikroba asal serangga yang dikelompokkan menjadi empat kelompok utama yaitu peptida α -heliks, peptida kaya sistein, polipeptida kaya glisin, dan peptida kaya prolin. Peptida kaya sistein memiliki aktivitas penghambatan terhadap tiga jenis mikroba yaitu bakteri gram-negatif, fungi, dan khamir. Peptida ini memiliki asam amino sistein yang membentuk jembatan

disulfida sehingga struktur tersiernya menjadi stabil. Peptida lain seperti cecropin (α -heliks) asal maggot memiliki sifat antibakteri dan antikanker. Cecropin like-peptide 1 yang disintesis secara *in vitro* tidak mampu dideteksi menggunakan SDS-PAGE, dot blot, dan mikroskop fluoresen. Ekstrak akuades dan etanol maggot memiliki IC₅₀ sebesar 123; 114; 204; dan 246 $\mu\text{g mL}^{-1}$ masing-masing untuk akuades MOLT4, akuades K562, etanol MOLT4, dan etanol K562 secara berurutan.

Kajian *in silico* menggunakan meta-analisis pada ayam broiler dan anak babi menghasilkan temuan sebagai berikut. Pertambahan bobot badan broiler kuadratik nyata ($P<0,05$) meningkat dengan level maksimum PAM sebesar 346 dan 360 mg kg⁻¹ secara berurutan untuk fase starter dan finisher. Selain itu, populasi *E. coli*, koliform, dan bakteri aerobik nyata ($P<0,05$) turun di ileum. Performa pertumbuhan anak babi seperti pertambahan bobot badan signifikan ($P<0,05$) meningkat. Bobot badan anak babi pada umur 50 hari adalah 16,2 kg dengan level PAM optimalnya 212 mg kg⁻¹. PAM berperan dalam mengontrol ekosistem saluran cerna dan imunomodulator pada hewan inangnya. Mekanisme ini menyebabkan perbaikan saluran cerna sehingga proses penyerapan dan metabolisme nutrien berjalan optimal. Dampak makronya performa pertumbuhan ternak meningkat.

Berdasarkan kajian *in silico* dan *in vitro* peptida antimikroba memiliki aktivitas antibakteri dan antikanker. Cecropin dari maggot sebagai peptida antimikroba diduga memiliki aktivitas antikanker. Nilai IC₅₀ terbaik adalah ekstrak akuades sebesar 123 dan 114 $\mu\text{g mL}^{-1}$ masing-masing pada sel leukimia MOLT4 dan K562 secara berurutan. Peptida antimikroba konsisten meningkatkan pertambahan bobot badan dan menurunkan konversi pakan pada ayam broiler dan anak babi. Level optimal peptida antimikroba pada ayam broiler adalah 337 dan 359 mg kg⁻¹ masing-masing pada fase starter dan finisher secara berurutan. Level optimal untuk anak babi yaitu, 213 dan 221 mg kg⁻¹ masing-masing pada fase 1 dan 2 secara berurutan. Level tersebut adalah level rekomendasi peptida antimikroba berdasarkan konversi pakan.

Kata kunci: cecropin, *Hermetia illucens*, meta-analisis, MOLT4, peptida antimikroba





Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penyusunan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

Diperlukan dengan izin tertulis dari penulis/pemilik hak cipta

Mohammad Miftakhus Sholikin. *In Silico* and *In Vitro* Study of Antimicrobial Peptide on Growth Performance of Broiler Chickens and Piglets. Supervised by Nahrowi, Anuraga Jayanegara, and Aris Tri Wahyudi.

SUMMARY

The broiler and swine industry is a strategic livestock sector. The development of this industry causes the used of antibiotic growth promoters (AGP) to increase. The industry needs AGPs to minimize losses due to diarrhea disease. However, AGPs have begun to be banned due to allergies, cancer, resistance to pathogenic bacteria, and other adverse effects. Therefore, we need new alternatives that do not have the same negative impact. An alternative is the use of antimicrobial peptides (AMP). Antimicrobial peptides are active peptides that have antimicrobial, anti-fungal, and antiviral activities. The advantages of AMPs are resistance to high temperatures, easily degraded, have a broad spectrum, and do not cause resistance effects. Antimicrobial peptides can recognize pathogenic bacteria using signals from the bacteria cell wall (lipopolysaccharides or LPS). Then, AMP causes damage to the bacteria cell wall or inhibits the protein synthesis. Also, lysis of bacteria due to reactive oxygen promote by AMP.

The abundance of experimental studies related to antimicrobial peptides provides metadata. However, the descriptions of the positive effects still overlap, appearing in bias between studies. The approach method used to solve these problems is an *in silico* studies using principal component analysis and meta-analysis. This research also synthesis AMP from maggot (*Hermetia illucens*), namely cecropin like-peptide 1 (CLP1). Moreover, the anticancer test of water and ethanol extract against leukemia cancer cells (particularly MOLT4 and K562). The *in silico* study uses data sourced from digital libraries, the relevant journals related to research topics. The journals are selected using a data selection protocol then a mathematical model was built following the pattern of these data. *In vitro*, cecropin from maggots was synthesized using the IVT (*In Vitro Translation*) system. The complement DNA cecropin was overlapped on the T7-IRES-Kozak fragment and was subsequently translated using epithelial cell lysates. CLP1 was identified using SDS-PAGE, dot blot, and fluorocene microscope. The cytotoxicity of ethanol and water extracts of maggot were tested then IC50 was determined using linear regression.

The findings from *in silico* modeling using principal component analysis were as follows. AMP from insects classifies into four main groups, such as α -helical peptides, cysteine-rich peptides, glycine-rich polypeptides, and proline-rich peptides. Cysteine-rich peptides have inhibitory activity against three types of microbes, i.e., gram-negative bacteria, fungi, and yeasts. This peptide has the amino acid cysteine which forms a disulfide bridge so that its tertiary structure becomes stable. Other peptides such as cecropin (α -helix) from maggot have antibacterial and anticancer properties. Cecropin like-peptide 1 synthesized *in vitro* could not be detected using SDS-PAGE, dot blot, and fluorocene microscope. Water and ethanol of the maggot extracts had IC50s of 123; 114; 294;



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

and 246 $\mu\text{g mL}^{-1}$ sequentially for MOLT4 ethanol, K562 ethanol, MOLT4 water, and K562 water.

In silico study using meta-analysis on broiler chickens and piglets produced the following findings. Broiler body weight gain significantly ($P<0,05$) increased with a maximum AMP level of 346 and 360 mg kg^{-1} , respectively for the starter and finisher phases. Also, populations of *E. coli*, coliform, and aerobic bacteria are significantly ($P<0,05$) descended in the ileum. The growth performance of piglets, e.g., bodyweight gain significantly ($P<0,05$) increased. The body weight of piglets at 50 days is 16,2 kg with an optimal AMP level of 212 mg kg^{-1} . AMP important role in controlling the digestive tract ecosystem and immunomodulators in the host animal. This mechanism causes gastrointestinal repair so that the absorption and metabolism of nutrients run optimally. The macro impact on the performance of livestock growth is increasing.

Based on *in silico* and *in vitro* studies, antimicrobial peptides have antibacterial and anticancer activity. Synthesis of the cecropin from maggot can not identify using SDS-PAGE, dot blot, and fluorocene microscope. The best IC50 was water extract with fellow value 123 and 114 $\mu\text{g mL}^{-1}$ in MOLT4 and K562 leukemia cells, respectively. Antimicrobial peptides consistently increase body weight gain and decrease feed conversion in broiler chickens and piglets. The optimal levels of antimicrobial peptides in broiler chickens were 337 and 359 mg kg^{-1} in the starter and finisher phases, respectively. The optimal levels for piglets were 213 and 221 mg kg^{-1} in phases 1 and 2, respectively. This level is the recommended level for the antimicrobial peptide-based on feed conversion.

Keywords: antimicrobial peptides, cecropin, *Hermetia illucens*, meta-analysis, MOLT4

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

© Hak Cipta milik IPB University, tahun 2021
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB University.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB University.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

**KAJIAN *IN SILICO* DAN *IN VITRO* PEPTIDA ANTIMIKROBA
TERHADAP PERFORMA PERTUMBUHAN PADA AYAM
BROILER DAN ANAK BABI**

MOHAMMAD MIFTAKHUS SHOLIKIN

Disertasi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Doktor pada
Program Studi Ilmu Nutrisi dan Pakan

**ILMU NUTRISI DAN PAKAN
SEKOLAH PASCASARJANA
IPB UNIVERSITY
BOGOR
2021**



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Daring mengumumkan dalam tempat banyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Penguji Luar Komisi Pembimbing pada Ujian Tertutup Disertasi:

- 1 Dr. Cahyo Budiman, S.Pt. M.Eng.
(Staf Pengajar Fapet IPB Bogor)
- 2 Dr. Dilla Mareistia Fassah, S.Pt. M.Sc.
(Staf Pengajar Fapet IPB Bogor)

Promotor Luar Komisi Pembimbing pada Sidang Promosi Terbuka Disertasi:

- 1 Dr. Cahyo Budiman, S.Pt. M.Eng.
(Staf Pengajar Fapet IPB Bogor)
- 2 Drh. Desianto Budi Utomo, Ph.D.
(Vice President Charoen Pokphand Indonesia dan Ketua Umum Gabungan Perusahaan Makanan Ternak Indonesia)

Judul Disertasi : Kajian *In Silico* dan *In Vitro* Peptida Antimikroba terhadap Performa Pertumbuhan pada Ayam Broiler dan Anak Babi

Nama : Mohammad Miftakhus Sholikin

NIM : D261180098

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Prof. Dr. Ir. Nahrowi, M.Sc.



Pembimbing 2:
Dr. Anuraga Jayanegara, S.Pt. M.Sc.



Pembimbing 3:
Prof. Dr. Aris Tri Wahyudi, M.Si.



Diketahui oleh

Ketua Program Studi:
Prof. Dr. Ir. Luki Abdullah, M.Sc.Agr.
19670107 199103 1 003



Dekan Sekolah Pascasarjana:
Prof. Dr. Ir. Anas Miftah Fauzi, M.Eng.
19600419 198503 1 002



Tanggal Ujian Tertutup : 26 Maret 2021
Tanggal Sidang Promosi : 19 April 2021

Tanggal Lulus :

PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah subhanaahu wa ta'ala atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Januari 2019 sampai bulan Januari 2021 ini ialah alternatif antibiotik imbuhan pakan, dengan judul “Kajian *In Silico* dan *In Vitro* Peptida Antimikroba terhadap Performa Pertumbuhan pada Ayam Broiler dan Anak Babi”.

Dana penelitian berasal dari Direktorat Jenderal Sumber Daya Iptek dan Dikti, Kementerian Riset dan Teknologi, Republik Indonesia melalui skema hibah penelitian Program Magister Menuju Doktor untuk Sarjana Unggul tahun 2018 dan 2019 dengan nomer kontrak 3/E1/KP.PTNBH/2018 dan 3/E1/KP.PTNBH/2019.

Terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya penulis ucapan kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Nahrowi, M.Sc., Bapak Dr. Anuraga Jayanegara, S.Pt., M.Sc., dan Bapak Prof. Dr. Aris Tri Wahyudi, M.Si. yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada moderator seminar, dan penguji luar komisi pembimbing selaku pembimbing, yang telah banyak memberikan bimbingan, masukan, saran, dan motivasi sejak persiapan proposal, pelaksanaan penelitian, publikasi sampai penyusunan Disertasi. Terima kasih penulis ucapan kepada Bapak Dr. Ir. Suryahadi, DEA dan Ibu Prof. Dr. Ir. Sumiati, M.Sc. selaku dosen penguji pada Ujian Kualifikasi atas saran dan masukannya. Terima kasih penulis ucapan kepada Bapak Dr. Cahyo Budiman, S.Pt. M.Eng. dan Ibu Dr. Dilla Mareistia Fassah, S.Pt. M.Sc. selaku dosen penguji luar komisi pada Ujian Tertutup, Dr. Cahyo Budiman, S.Pt. M.Eng. dan Drh. Desianto Budi Utomo, Ph.D. selaku dosen penguji luar komisi pada Ujian Terbuka atas saran dan masukan konstruktif yang diberikan turut menambah nilai Disertasi ini. Terima kasih kepada segenap pimpinan, dosen, dan staf Program Studi Pascasarjana Ilmu Nutrisi dan Pakan (INP) dan Departemen Ilmu Nutrisi dan Teknologi Peternakan (INTP), Fakultas Peternakan IPB atas ilmu, motivasi, bantuan, dan pelayanan akademik selama penulis menempuh pendidikan program doktor. Di samping itu, penghargaan penulis sampaikan kepada Prof Jun Nomur, MD yang telah membantu selama penelitian dan pengumpulan data.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan.

Bogor, Mei 2021

Mohammad Miftakhus Sholikin

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	vii
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	5
1.4 Manfaat	5
1.5 Ruang Lingkup	5
1.6 Kebaruan	7
1.7 Hipotesis	7
1.8 Tahapan Penelitian	8
II TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1 Antibiotik Imbuhan Pakan	9
2.2 Alternatif Antibiotik Imbuhan Pakan	9
2.3 Peptida Antimikroba asal <i>Hermetia illucens</i>	10
2.4 Performa Pertumbuhan	11
2.5 Morfologi Saluran Cerna	11
2.6 Imunitas	11
2.7 Ekosistem Saluran Cerna	12
III KARAKTERISTIK PEPTIDA ANTIMIKROBA ASAL SERANGGA: PENDEKATAN MULTIVARIAT	13
3.1 Pendahuluan	13
3.2 Bahan dan Metode	14
3.3 Hasil dan Pembahasan	16
3.4 Simpulan	23
IV KAJIAN PEPTIDA ANTIMIKROBA ASAL MAGGOT DAN EKTRAK ANTIKANKER MAGGOT	24
4.1 Pendahuluan	24
4.2 Bahan dan Metode	25
4.3 Hasil dan Pembahasan	29
4.4 Simpulan	34
V PENGARAUH PEMBERIAN PEPTIDA ANTIMIKROBA TERHADAP PERFORMA PERTUMBUHAN AYAM BROILER: META-ANALISIS	35
5.1 Pendahuluan	35
5.2 Bahan dan Metode	36
5.3 Hasil dan Pembahasan	39
5.4 Simpulan	52





Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbarui sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University

VI	PENGARUH PEMBERIAN PEPTIDA ANTIMIKROBA TERHADAP PERFORMA PERTUMBUHAN DARI ANAK BABI: META-ANALISIS	53
6.1	Pendahuluan	53
6.2	Bahan dan Metode	54
6.3	Hasil dan Pembahasan	55
6.4	Simpulan	62
VII	PEMBAHASAN UMUM	63
VIII	SIMPULAN DAN SARAN	68
8.1	Simpulan	68
8.2	Saran	69
	DAFTAR PUSTAKA	70
	LAMPIRAN	100
	RIWAYAT HIDUP	124

DAFTAR TABEL

3.1	Rangkuman data peptida antimikroba asal serangga	15
3.2	Korelasi Pearson's peptida antimikroba asal serangga	17
3.3	Karakteristik komponen utama peptida antimikroba asal serangga	18
3.4	<i>Factor loading</i> tiap variabel pada komponen utama peptida antimikroba asal serangga	19
4.1	Primer peptida antimikroba maggot	26
4.2	Rancangan primer cDNA CLP1 maggot	27
5.1	Literatur meta-analisis peptida antimikroba pada ayam broiler	37
5.2	Efek peptida antimikroba terhadap performa broiler	40
5.3	Efek peptida antimikroba terhadap kecernaan dan morfologi usus halus broiler	44
5.4	Efek peptida antimikroba terhadap kecernaan serum darah broiler	47
5.5	Efek peptida antimikroba terhadap jumlah bakteri broiler	48
5.6	Efek peptida antimikroba terhadap respons imun dan aktivitas antioksidan broiler	51
6.1	Literatur meta-analisis peptida antimikroba pada anak babi	56
6.2	Efek peptida antimikroba terhadap performa pertumbuhan anak babi	58

DAFTAR GAMBAR

1.1 Skema rumusan masalah penelitian	6
3.1 Biplot hubungan antar jenis peptida antimikroba asal serangga	20
3.2 Model tiga dimensi peptida antimikroba	21
4.1 Urutan cDNA DLP4, attacin, CLP3, CLP1, dan CLP2	29
4.2 Produk PCR dari cDNA peptida antimikroba maggot	30
4.3 Deteksi CLP1 menggunakan SDS-PAGE, dot blot, dan mikroskop fluoresen	31
4.4 Model tiga dimensi CLP1 maggot	32
4.5 Sitotoksitas ekstrak etanol dan akuades maggot	33
4.6 IC50 ekstrak etanol dan akuades maggot	34
5.1 Alur seleksi literatur meta-analisis ayam broiler	38
6.1 Alur seleksi literatur meta-analisis anak babi	57
7.1 Model penghambatan peptida antimikroba terhadap bakteri patogen	64
7.2 Mekanisme PAM dalam meningkatkan performa pertumbuhan	66

DAFTAR LAMPIRAN

1. <i>Script</i> ekstraksi data sekuen peptida antimikroba	101
2. Metadata karakteristik peptida antimikroba berdasarkan bobot molekul, sekuen, dan konsentrasi hambat minimal	102
3. Hasil pengurutan asam amino peptida antimikroba β -defensin, attacin-A, cecropin like-peptide, dan apidaecin	111
4. Prosedur ekstraksi RNA dari maggot dan hasil uji nano drop	112
5. Penggabungan cDNA CLP1 dengan fragmen T7-IRES-Kozak	113
6. Prosedur ekstraksi maggot menggunakan pelarut etanol dan akuades	116
7. Uji sitotoksitas eksrak etanol dan akuades maggot	117
8. Hasil pengurutan basa nukleotida peptida antimikroba defensin like-peptide, attacin, cecropin like-peptide 1, 2, dan 3	118
9. Perhitungan nilai IC50 ekstrak etanol dan akuades dari maggot	121
10. Ekstrak etanol dan akuades maggot terhadap sel leukemia MOLT4	122
11. Ekstrak etanol dan akuades maggot terhadap sel leukemia K562	123





Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Antibiotik imbuhan pakan (AIP) merupakan antibiotik yang ditambahkan di dalam pakan guna memacu pertumbuhan dari ternak. Mekanisme AIP sebagai pemacu pertumbuhan adalah memperbaiki status imunitas dan ekosistem saluran cerna. FAO, Uni Eropa, dan WHO membatasi dan/atau melarang penggunaan AIP karena menimbulkan resistensi dan residu antibiotik (FAO dan IFIF 2010; Anom 2019; Bronzwaer *et al.* 2019). Resistensi adalah kebalnya mikroorganisme patogen terhadap antibiotik sehingga efektifitas antibiotik berkurang (Kementerian 2017; Bronzwaer *et al.* 2019; Van den Meersche *et al.* 2019). Residu antibiotik pada ternak atau manusia memicu reaksi alergi, kanker, dan efek merugikan lainnya (Beyene dan Tesega 2014; Zaman *et al.* 2017; Hamid *et al.* 2019). Pemerintah Indonesia melarang penggunaan AIP khususnya pada ayam dan babi (Kementerian 2017). Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengganti AIP, salah satu alternatif adalah penggunaan peptida antimikroba (PAM). Kelebihan PAM dibandingkan dengan AIP antara lain memiliki aktivitas antimikroba spektrum luas, tidak menimbulkan resistensi, tahan suhu tinggi (lebih dari 90°C), memperbaiki respons imunitas, meningkatkan penyerapan nutrien, dan menurunkan rasio konversi pakan (Li *et al.* 2012; Choi *et al.* 2013a; 2013b; Hao Xiao *et al.* 2015; Park dan Yoe 2017a; 2017b).

PAM memiliki karakteristik sebagai berikut polipeptida dengan 12-100 residu asam amino, bersifat amfipatik, berukuran 4-12 kDa, bersifat bakteriostatik dan/atau bakterisidal (Park *et al.* 2015; Wang *et al.* 2016; Gadde *et al.* 2017). Struktur peptida antimikroba dihubungkan dengan ikatan hidrogen, akibatnya polipeptida tersebut membentuk struktur sekunder berupa α -heliks dan β -sheet. Kemudian struktur sekunder membentuk struktur tersier dan diperkuat dengan ikatan disulfida (Soares dan Mello 2004). Fungsi biologis PAM adalah menghambat pertumbuhan mikroba patogen melalui mekanisme penghambatan sistem transpor dan aktivitas intersel. Penghambatan sistem transpor adalah penurunan transpor nutrien ke dalam sel menurut model *barrel-stave*, *toroidal carpet*, dan *aggregate channel* (Hao Xiao *et al.* 2015). Penghambatan aktivitas intersel berupa menghambat sintesis protein serta menginduksi pembentukan oksida radikal. Oksida radikal yang terbentuk mengganggu transpor elektron dari mitokondria sehingga patogen akan menurunkan kecepatan pertumbuhan karena kekurangan energi (Tang *et al.* 2012). PAM berperan dalam memicu sistem kekebalan bawaan, seperti memodulasi sitokin dan menghambat faktor nekrosis tumor- α melalui siklooksigenase-2 dan fosfodiesterase (Rajanbabu *et al.* 2010; Schroeder dan Cavacini 2010; Pan *et al.* 2011). Organisme uniseluler dan multiseluler menghasilkan PAM sebagai bentuk pertahanan diri. Sumber PAM asal serangga telah lama diteliti, maggot (*Hermetia illucens*) dilaporkan memiliki lebih dari empat jenis PAM (Park *et al.* 2015; Vogel *et al.* 2018).

Potensi maggot sebagai peptida antimikroba tidak bisa lepas dari ketersediaan bahan tersebut. Periode ini, maggot bayak dipergunakan untuk mendegradasi sampah organik baik pada skala rumah tangga maupun industri.

PAM maggot teridentifikasi menjadi lima kelompok yaitu defensin like-protein (DLP), cecropin like-peptide (CLP), attacin like-peptide (ALP), diptericin like-peptide (DipLP), dan knottin like-peptide (KLP) (Vogel *et al.* 2018). Menurut Park *et al.* (2015), cecropin dan defensin merupakan dua jenis PAM asal maggot yang memiliki konsentrasi dan aktivitas tertinggi. Cecropin terekspresikan empat kali lebih tinggi pada kompartemen lemak tubuh dibandingkan kalenjar tiroid dari maggot (Park dan Yoe 2017b). Defensin merupakan komponen PAM yang diekspresikan oleh gen terbanyak ketika *Hermetia illucens* terpapar *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Vogel *et al.* 2018). Cecropin memiliki aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif (Pöppel *et al.* 2015). Sedangkan defensin sebagai salah satu materi biokimia yang berperan sebagai respon imun humorai (Li *et al.* 2017).

Sampai saat ini, industri peternakan ayam broiler dan anak babi bergantung pada antibiotik imbuhan pakan. Hal tersebut tak lepas dari faktor produktivitas dan kesehatan akibat menggunakan AIP. Fase pembesaran broiler dan anak babi adalah fase yang rentan akan gangguan penyakit, juga pada fase ini kerangka dan massa tubuh dipacu untuk berkembang dengan cepat agar efisiensi produksi tercapai. Dilaporkan bahwa penurunan pertambahan bobot badan dari 422 g e⁻¹ h⁻¹ menjadi 415 g e⁻¹ h⁻¹ dan peningkatan kematian menjadi 3,7% dari peternakan babi akibat tidak menggunakan AIP (Dibner dan Richards 2005). Penelitian terkini mulai melakukan upaya penggantian AIP dengan produk lain seperti PAM. Kajian *in vivo* penggunaan PAM pada ayam broiler dan anak babi telah banyak dilakukan. Data dari kajian tersebut dapat dipergunakan untuk menentukan efektifitas penggunaan PAM, akan tetapi, terdapat perbedaan dari tiap data penelitian sehingga kesimpulan umum sulit dijelaskan.

Pemanfaatan PAM pada ayam broiler meningkatkan efektivitas penggunaan pakan dan memperbaiki performa pertumbuhan. PAM-A3 sebesar 60-90 mg kg⁻¹ memiliki dampak signifikan terhadap performa pertumbuhan, status imunitas, komposisi mikroorganisme, dan morfologi usus broiler (Choi *et al.* 2013a). Peptida PAM-A3 sebesar 90 mg kg⁻¹ jika dibandingkan dengan kontrol, nyata menurunkan populasi koliform di usus (Choi *et al.* 2013b). PAM pada unggas juga meningkatkan imunoglobulin, jumlah sel goblet, dan serum lisozim pada mukosa usus (Bao *et al.* 2009; Oblakova *et al.* 2015). Penggunaan PAM pada anak babi bertujuan untuk memperbaiki performa pertumbuhan, kecernaan nutrien, dan kesehatan usus (Devillers *et al.* 2011; Yoon *et al.* 2012; 2013; 2014). Lebih lanjut, dilaporkan pada penelitian H. Xiao *et al.* (2015) dan Hao Xiao *et al.* (2015), penggunaan PAM pada anak babi signifikan menurunkan rasio konversi pakan. Selain itu, hasil dari penelitian H. Xiao *et al.* (2015), penggunaan PAM pada anak babi meningkatkan sintesis imunoglobulin dan memperbaiki morfologi saluran cerna, akan tetapi, Geier *et al.* (2011) melaporkan bahwa PAM dari laktoperin hanya memiliki sedikit efek positif terhadap performa pertumbuhan dan organ imunitas dari broiler. Temuan lainnya dari Huguet *et al.* (2006) dan Huguet *et al.* (2012), menyatakan bahwa peptida antimikroba dari kolostrum tidak nyata meningkatkan performa pertumbuhan dari anak babi. Kontradiksi ini menyebabkan kesulitan dalam menentukan dampak positif dari peptida antimikroba terhadap performa pertumbuhan dari ayam broiler dan anak babi.



Oleh karena itu, kajian analisis mendalam seperti meta-analisis diperlukan untuk mengkonfirmasi dampak peptida antimikroba secara obyektif.

Untuk merangkum dan membandingkan hasil temuan dari berbagai sumber bahasan peptida antimikroba dapat dilakukan dengan kajian *in silico*. Kajian *in silico* merupakan kajian biologi menggunakan perangkat komputer atau melalui simulasi komputer. Salah satu jenis kajian *in silico* adalah pemodelan matematika. Pemodelan matematika terdiri dari pemodelan empiris dan pemodelan dinamik (Lee *et al.* 2020). Pemodelan empiris adalah pembuatan model matematika dari data berdasarkan observasi dan penelitian. Pemodelan dinamis merupakan teknik pemodelan matematika dengan membangun sebuah simulasi yang dipengaruhi oleh waktu (Jiménez *et al.* 2020; Russell *et al.* 2021). Akhir-akhir ini, kajian *in silico* banyak dipergunakan untuk penemuan baru terkait desain obat atau *molecular docking* dengan menggabungkan beberapa teknik pemodelan dan komputasi (Lee *et al.* 2020). Salah satu kajian *in silico* yang merangkum hasil penelitian terdahulu secara sistematis dan statistik adalah meta-analisis (Shamseer *et al.* 2015).

Meta-analisis adalah analisis statistik dengan menggabungkan berbagai hasil dari penelitian ilmiah. Meta-analisis menghasilkan rata-rata tertimbang dari hasil penelitian, juga dapat dihitung nilai ketidakpastian dari estimasi persamaannya (St-Pierre 2001; Sauvant *et al.* 2008). Manfaat meta-analisis adalah memberikan perkiraan kebenaran umum dan celah dari penelitian. Terlebih lagi, meta-analisis memiliki kapasitas untuk membandingkan perbedaan hasil penelitian dan mengidentifikasi pola diantaranya, sumber perbedaan di antara hasil tersebut, atau hubungan menarik lainnya yang mungkin terungkap didalamnya. Teknik analisis lainnya seperti analisis komponen utama (AKU) digunakan untuk mengetahui karakteristik data. AKU memiliki kemampuan untuk menyederhanakan data multivariat. Penyederhanaan ini dilakukan dengan cara merubah bentuk data ke dalam beberapa komponen utama (Jolliffe dan Cadima 2016). Perubahan ini menyebabkan penurunan variasi data sehingga pola keterhubungan data dapat dijelaskan dengan lebih mudah. Meta-analisis dan analisis komponen utama digunakan untuk menelaah data hasil dari kajian *in vivo* dan *in vitro* peptida antimikroba. Fokus utama telaah menggunakan kedua metode tersebut adalah menghasilkan kajian komprehensif, memprediksi pola linear atau kuadratik dari efek biologisnya, menentukan level optimal, mengetahui pola keterhubungan antar jenis peptida dengan aktivitas antimikroba, dan menentukan komponen asam amino dari peptida antimikroba. Level optimal pemberian peptida antimikroba berdasarkan parameter rasio konversi pakan. Rasio konversi pakan merupakan nilai yang menyatakan seberapa efektifnya pakan untuk dikonversi menjadi produk ternak (seperti daging, susu, dan telur). Parameter ini dipergunakan untuk menelaah level optimal pemberian PAM karena rasio konversi pakan dapat menggambarkan efisiensi produksi dari ternak. Tambahan lagi, rasio konversi pakan dipengaruhi oleh faktor genetik, umur, kualitas pakan, dan manajemen pemeliharaan dari ternak (Losinger 1998).

Pengertian kajian *in vitro* adalah kajian biologi tentang sel atau molekul biologis di luar konteks biologis normalnya (Weston *et al.* 2020). Analisis *in vitro* digunakan untuk mengkaji suatu sistem yang rumit jika diaplikasikan secara *in vivo*. Selain hal tersebut, rekayasa *in vitro* lebih beragam sehingga dapat

digunakan untuk berbagai rancangan penelitian, akan tetapi, hasil yang diperoleh dari *in vitro* tidak sepenuhnya akurat untuk memprediksi efek pada seluruh organisme (Pitzurra *et al.* 2020). Kajian *in vitro* peptida antimikroba dilakukan untuk identifikasi, sintesis, dan pengujian sifat antikanker peptida asal maggot (*Hermetia illucens*). Peptida asal maggot ini diproduksi melalui sistem IVT (*in vitro translation system* atau sistem translasi *in vitro*) menggunakan lisat sel epitelium. Kelebihan dari mekanisme ini adalah produk peptida dapat langsung dipergunakan untuk analisis lanjutnya tanpa prosedur purifikasi. Selain itu, dilakukan pengujian antikanker dari ekstrak maggot, menurut berbagai sumber cecropin peptida asal maggot memiliki aktivitas antikanker (Suttmann *et al.* 2008; Brady *et al.* 2019; Sharma *et al.* 2019; Muchintala *et al.* 2020).

Penelusuran terkini terkait kajian analisis komponen utama peptida antimikroba, sistem translasi *in vitro* peptida CLP1 asal maggot, dan meta-analisis peptida antimikroba pada ayam broiler dan anak babi belum ada sama sekali. Penelitian serupa tentang meta-analisis aditif antimikroba telah dilaporkan oleh Vanrolleghem *et al.* (2019) dan Xu *et al.* (2021) pada ternak babi, akan tetapi, kajian spesifik penggunaan aditif PAM masih belum ada, baik pada ayam broiler dan anak babi. Kajian PAM saat ini berupa kajian eksperimental yang mengkaji efek penambahannya pada pakan ataupun artikel *review*. Berdasarkan pencarian literatur pada basis data pubmed dalam kurun waktu 2010 sampai 2021, jumlah artikel *review* terkait PAM pada ayam broiler dan anak babi sebanyak 6 dan 31 artikel, masing-masing secara berurutan. Sedangkan, artikel *review* tentang peptida antimikroba secara umum sebanyak 4093 artikel pada kurun waktu yang sama. Lainnya, sebanyak 82 dan 584 artikel tentang penggunaan PAM pada ayam broiler dan anak babi. Peptida cecropin asal maggot merupakan temuan dari Park dan Yoe (2017b) selanjutnya peneliti dalam kajian ini melakukan sintesis CLP1 dengan sistem IVT memanfaatkan lisat sel epitelium. Sampai saat ini, kajian statistik dan penentuan level optimal menggunakan meta-analisis dan analisis komponen utama belum ada yang melakukannya. Selain itu, perancangan dan uji antikanker peptida antimikroba asal maggot juga belum ditelaah.

1.2 Rumusan Masalah

Perumusan masalah dari peptida antimikroba sebagai alternatif antibiotik imbuhan pakan merujuk pada pertanyaan dan pernyataan berikut. Peptida antimikroba asal serangga merupakan peptida aktif untuk melawan infeksi akibat kuman atau penyakit. Peptida ini memiliki keberagaman dari aspek struktur dan aktivitas antimikroba. Apakah ada keterhubungan antara struktur sekunder, bobot molekul, sekuen asam amino, dan aktivitas antimikroba dari tiap jenis PAM tersebut. Lalu jika ada bagaimanakah sifat-sifat PAM dari setiap jenis peptida jika dibandingkan dengan jenis lainnya. PAM bersumber dari berbagai organisme sebagai contohnya adalah maggot, serangga ini memiliki lebih dari empat jenis PAM yang berhasil teridentifikasi. CLP1 adalah salah satu jenis PAM dari maggot. CLP1 asal maggot telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi, akan tetapi, apakah peptida ini bisa disintesis menggunakan sistem IVT atau translasi *in vitro*. Bagaimanakah sifat-sifat CLP1 yang berhasil ditranslasikan. Lalu, apakah teknik



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

translasi menggunakan IVT efektif untuk produksi CLP1. Selain itu, beberapa temuan menyatakan bahwa cecropin asal serangga memiliki aktivitas antikanker. Apakah sifat antikanker juga teramat dari ekstrak etanol dan akuades maggot. Jika CLP1 dan ekstrak antikanker maggot teramat, apakah bisa disimpulkan jika peptida tersebut memiliki sifat antikanker ataukah antikanker tersebut berasal dari bahan aktif lainnya. Dampak biologis peptida antimikroba pada ayam broiler dan anak babi dapat dijelaskan melalui meta-analisis. Sebagai alternatif AIP dapatkah PAM memperbaiki performa pertumbuhan dari ayam broiler dan anak babi. Jika pertanyaan tersebut benar adakah level optimal pemberian PAM untuk ayam broiler dan anak babi ditinjau dari parameter rasio konversi pakan. Secara keseluruhan bagaimanakah mekanisme PAM dalam memperbaiki performa pertumbuhan dari ayam broiler dan anak babi.

1.3 Tujuan

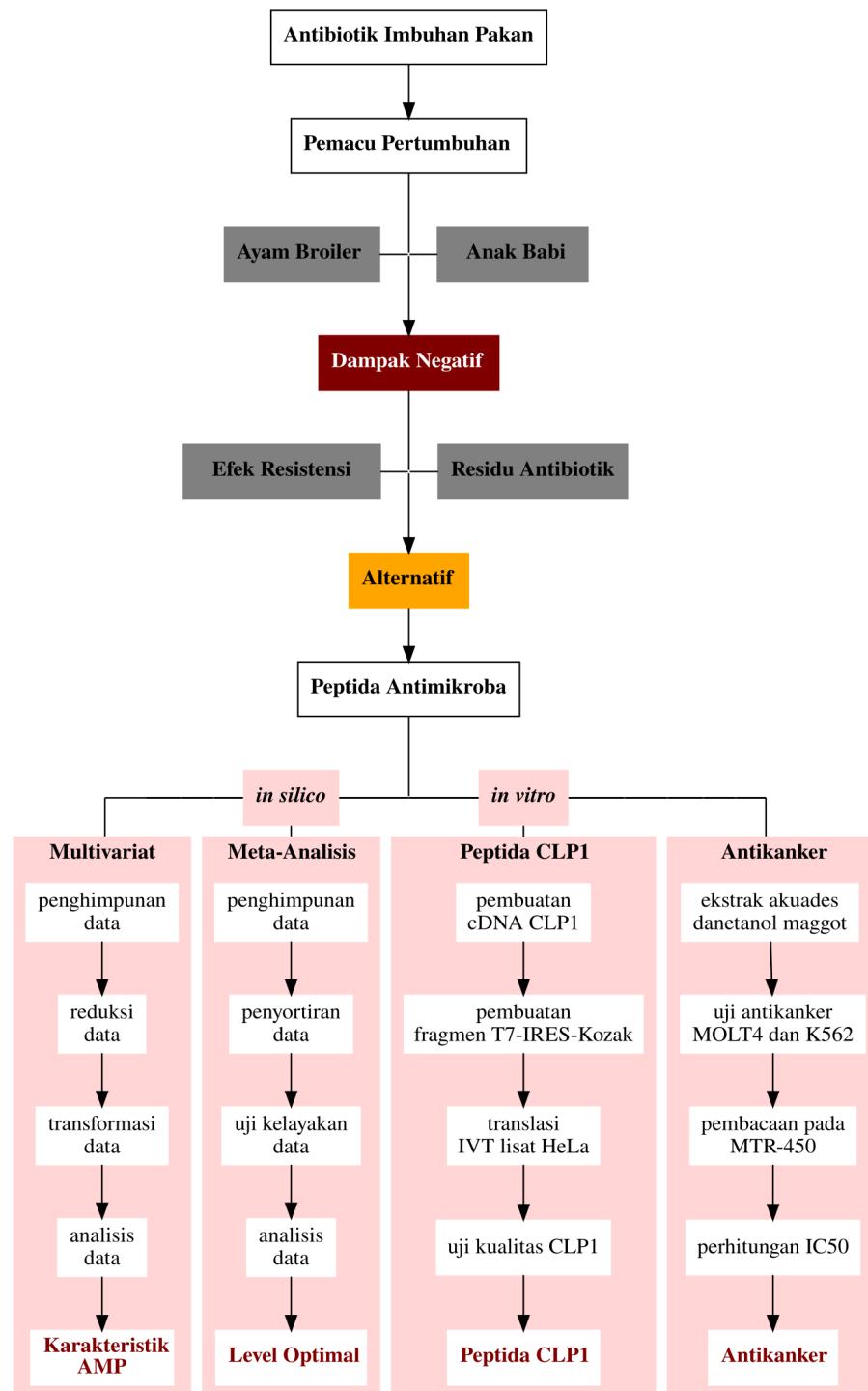
Tujuan umum penelitian ini adalah mengkaji peptida antimikroba menggunakan metode *in silico* dan *in vitro* terhadap performa pertumbuhan dari ayam broiler dan anak babi. Tujuan khusus penelitian ini sebagai berikut (i) mengkaji karakteristik biologis peptida antimikroba, (ii) mengevaluasi produk rekombinan CLP1 dari maggot serta mengevaluasi ekstrak maggot terhadap aktivitas antikanker, (iii) merangkum pengaruh pemberian peptida antimikroba dan level optimal pemberiannya pada ayam broiler menggunakan meta-analisis, dan (iv) menentukan efek peptida antimikroba terhadap performa pertumbuhan dan level optimalnya pada anak babi berdasarkan kajian meta-analisis.

1.4 Manfaat

Perancangan peptida CLP1 menggunakan prosedur translasi *in vitro* dapat memberikan informasi tentang manfaat biologis dari peptida antimikroba seperti cecropin. Selain hal itu, juga dapat melakukan sintesis protein dengan modifikasi pra translasi, meningkatkan akurasi dari proses translasi, dan penerjemahan protein dioptimalkan dengan IRES (*internal ribosome entry site*) sebagai elemen penstabil. Pemodelan yang dilakukan berguna untuk memetakan jenis PAM beserta fungsi biologisnya, juga memberikan informasi yang komprehensif terkait dampak positif dan level optimal penggunaanya pada ayam broiler dan anak babi.

1.5 Ruang Lingkup

Ruang lingkup dalam kajian ini mengarah pada analisis *in vitro* dan *in silico*, terkait peptida antimikroba sebagai alternatif antibiotik imbuhan pakan (Gambar 1.1). Sumber data PAM dalam analisis komponen utama berasal dari peptida serangga. PAM asal serangga ini memiliki keberagaman jenis dan efek biologisnya, maka dapat dilakukan analisis metadata dengan lebih akurat jika dibandingkan sumber organisme lain.



Gambar 1.1 Kajian *in silico* dan *in vitro* peptida antimikroba pada ayam broiler dan anak babi, kotak merah muda merupakan area atau fokus kajian dari penelitian



Sedangkan, kajian meta-analisis pemanfaatan PAM pada ayam broiler dan anak babi menggunakan berbagai jenis sumber PAM tidak hanya PAM asal serangga. Hal tersebut didasari oleh keterbatasan sumber literatur kajian *in vivo* pemanfaatan PAM sebagai tambahan pakan. Perancangan model dan prosedur pengumpulan data mengacu pada protokol meta-analisis (PRISMA-P tahun 2015) dan model matematika mengikuti *linear mixed model* sesuai Sauvant dkk. yang telah dimodifikasi (St-Pierre 2001; Sauvant *et al.* 2008; Gałecki dan Burzykowski 2013; Shamseer *et al.* 2015; Kassambara dan Mundt 2020).

1.6 Kebaruan

Kebaruan penelitian yakni analisis komponen utama karakteristik PAM, meta-analisis efek penggunaan PAM, rekomendasi level penggunaan PAM pada ayam broiler dan anak babi, produk protein ribosomal CLP1, dan ekstrak maggot yang bersifat antikanker presuntif.

1.7 Hipotesis

Analisis komponen utama dapat menjelaskan pola keterhubungan antara jenis peptida antimikroba asal serangga dengan karakteristik biologis dan kimia. Keberagaman metadata dapat direduksi sehingga interpretasi hasil menjadi akurat, selain hal tersebut pola keterhubungan antagonistik juga dapat dijelaskan. Meta-analisis pemberian peptida antimikroba terhadap performa pertumbuhan, morfologi saluran cerna, mikrobiologi, serum darah, dan status imunitas dari ayam broiler dan anak babi menghasilkan validasi hasil penelitian terdahulu berdasarkan metode statistik. Metode statistik ini menggunakan ukuran baku yang telah terkoreksi margin erornya dari perbedaan waktu dan jenis penelitian. Tambahan pula, jika level optimal pemberian PAM dapat ditentukan berdasarkan persamaan kuadratik dari model matematikanya.

Kajian *in vitro* melalui sintesis protein CLP1 asal maggot akan menghasilkan peptida antimikroba. Metode translasi peptida menggunakan sistem IVT dengan lisat sel epithelium dapat menghasilkan peptida termodifikasi. Ekstrak etanol dan akuades dari maggot memiliki aktivitas antikanker, sesuai dengan temuan sebelumnya bahwa peptida cecropin memiliki aktivitas antikanker. Ekstraksi ini digunakan untuk menduga jika CLP1 merupakan peptida yang larut salah satu pelarut, maka produk ekstraksi tersebut memiliki sifat antikanker. Ekstraksi menggunakan pelarut etanol dan akuades.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

1.8 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dalam empat tahap. Penelitian tahap pertama yakni melakukan analisis komponen utama terhadap metadata PAM berdasarkan parameter sekuen asam amino, bobot molekul, konsentrasi hambat minimum, dan struktur primer peptida. Tahap ini menghasilkan reduksi dimensi data sehingga variasi antar data berkurang. Karakteristik peptida antimikroba dijelaskan menggunakan nilai korelasi Pearson's, nilai *faktor loading*, dan grafik biplot (X = komponen utama pertama dan Y = komponen utama kedua). Tahap kedua adalah rekayasa dan sintesis peptida asal maggot (*Hermetia illucens*) ialah CLP1 mengikuti sistem IVT menggunakan lisat sel epithelium dan uji antikanker ekstrak maggot dengan sel uji leukemia antara lain MOLT4 dan K562. Tahap kedua ini menghasilkan peptida dan cDNA dari CLP1 yang digabungkan dengan fragmen T7-IRES-Kozak dari vektor pT7CFE1, serta nilai laju sitotoksitas sel kanker terhadap konsentrasi ekstrak dan nilai *inhibition concentration 50%* (IC50). Tahap ketiga, meta-analisis efek PAM pada ayam broiler. Tahap terakhir, meta-analisis PAM terhadap performa pertumbuhan anak babi. Tahap keempat dan kelima diperoleh level rekomendasi penggunaan PAM berdasarkan parameter rasio konversi pakan.

II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Antibiotik Imbuhan Pakan

Antibiotik adalah senyawa kimia yang dihasilkan dari bahan alam atau sintetik, memiliki aktivitas penghambatan atau membunuh aktivitas biokimia dari bakteri patogen. Antibiotik digunakan sebagai antibakteri dalam pengobatan penyakit karena infeksi, oleh karena itu, penggunaan antibiotik sangat diawasi penggunaannya (McDonald *et al.* 2017; World Health Organization 2017). Antibiotik imbuhan pakan adalah antibiotik yang dipergunakan sebagai imbuhan pakan pada level tertentu baik sebagai penghambat pertumbuhan bakteri ataupun sebagai pembunuh aktivitas biokimianya guna memacu pertumbuhan dari ternak (Leeson dan Summers 2008). Pemanfaatan AIP sebagai kontrol ekosistem saluran cerna memberikan dampak positif terhadap efisiensi penggunaan pakan dan peningkatan produktivitas ternak (Bird 1968; Begin 1971; Morrison *et al.* 1974). menyatakan bahwa penggunaan AIP pada ternak babi dan unggas 20-40 mg kg⁻¹, dapat meningkatkan pertambahan bobot badan 4-16% dan meningkatkan efisiensi pakan 2-7% dibandingkan dengan kontrol negatif. Sodium monensin pada ternak ruminan sebanyak 20-30 mg kg⁻¹ mampu meningkatkan konversi pakan dibanding kontrol negatif. Pemanfaatan AIP sebagai imbuhan pakan memiliki banyak keuntungan secara ekonomi, namun dampak negatif akan terlihat ketika bakteri patogen menjadi resisten terhadap antibiotik. Selain itu, dampak lainnya jika *withdrawal period* yang tidak tepat dapat meninggalkan residu antibiotik dalam produk hasil ternak (World Health Organization 2017).

Berdasarkan WHO menyatakan bahwa bakteri resisten dari saluran cerna dapat bertukar materi genetik dengan bakteri patogen, sehingga pemberian antibiotik sebagai pengobatan tidak lagi efektif (World Health Organization 2017; Anom 2019; Bronzwaer *et al.* 2019). Resistensi juga dapat terjadi antar spesies seperti ternak dan manusia, di mana penggunaan antibiotik yang sama akan memicu ketidak efektifan penggunaanya. Akibat dampak tersebut (World Health Organization 2017) melarang penggunaan AIP. Di lain pihak, FDA membatasi penggunaan AIP di dalam pakan, berdasarkan kesepakatan yang tertuang dalam *Code of Federation Regulations* hanya beberapa jenis AIP yang boleh dipergunakan dengan level tertentu (CFR 2012). Kementrian pertanian menetapkan bahwa penggunaan antibiotik sebagai imbuhan pakan dilarang (Kementerian 2017). Oleh karena itu, diperlukan sumber bahan aktif baru yang memiliki mekanisme kerja serupa dengan AIP namun memiliki dampak yang lebih ramah terhadap produk ternak dan konsumen.

2.2 Alternatif Antibiotik Imbuhan Pakan

Pendapat dari Gadde *et al.* (2017), terdapat delapan jenis bahan, senyawa, dan mikroorganisme aktif yang mampu mengantikan peran AGP. Bahan tersebut antara lain probiotik, prebiotik, simbiotik, asam organik, fitobiotik (minyak esensial dan oleoresin), enzim, hiperimun, silika dioksida, dan peptida



antimikroba. Salah satu alternatif AIP adalah peptida antimikroba (Wang *et al.* 2016). Peptida antimikroba (PAM) merupakan polipeptida aktif, terdiri dari beberapa sekuen asam amino, dan memiliki sifat germisidal terhadap bakteri gram positif, bakteri gram negatif, fungi, virus, faga, dan endoparasit (Li *et al.* 2012; Kim *et al.* 2016). PAM merupakan pengertian secara luas untuk semua polipeptida aktif yang bersifat germisidal, sumber PAM adalah maggot *Hermetia illucens*.

Beberapa jenis struktur dari PAM maggot dihubungkan dengan ikatan hidrogen, akibatnya polipeptida tersebut membentuk struktur sekunder berupa α -helical dan β -sheet. Struktur sekunder tersebut diperkuat dengan ikatan disulfida antara gugus amin dengan hidroksil (Nelson dan Cox 2017). Fungsi biologis PAM sebagai antimikroba adalah menghambat aktivitas mikroba patogen melalui sistem transport membran dan aktivitas intersel. Penghambatan sistem transport membran berdasarkan mekanisme penghambatan transport nutrien sel menurut model *barrel-stave*, *toroidal*, *carpet*, dan *aggregate channel* (Hao Xiao *et al.* 2015). Penghambatan aktivitas intersel berupa menghambat sintesis DNA, RNA, dan sintesis protein serta menginduksi pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS). ROS mampu menghambat mekanisme transport elektron dari mitokondria, sehingga bakteri patogen akan menurunkan kecepatan pertumbuhan karena kekurangan energi (Tang *et al.* 2012).

PAM-A3 dan CAMA (cecropin A(1-8)-magainin 2(1-12)) dalam pakan broiler (Ross 308) sebesar 60-90 mg kg⁻¹ mampu meningkatkan performa, retensi nutrien, morfologi saluran cerna, dan mengurangi mikroorganisme patogen (Choi *et al.* 2013a). CADN (cecropin A(1-11)-D(12-37)-Asn) dalam pakan unggas mampu meningkatkan bobot badan, konsumsi pakan, tinggi villus, menurunkan konversi pakan, dan menurunkan populasi bakteri aerobik (Wen dan He 2012). PAM yang diisolasi dari serangga mampu meningkatkan imunitas broiler berupa peubah limfosit intraepital dan sekresi IgA jika dibandingkan dengan kontrol (Bao *et al.* 2009; Wang *et al.* 2011). Cecropin merupakan salah satu PAM yang disolusi pertama kali dari pupa *Hyalophora cecropia* (Hultmark *et al.* 1980).

2.3 Peptida Antimikroba asal *Hermetia illucens*

CLP larva *Hermetia illucens* memiliki bobot molekul 4840 Da, sekuen asam amino GWRKRVFKPVEKFGQRVRDAGVQGIAIAQQGANVLATARGGPPQQG, bersifat kationik, berstruktur sekunder, α -helik, dan ampifatik polipeptida. CLPs memiliki aktivitas penghambatan terhadap bakteri gram negatif (Park dan Yoe 2017a). Adanya residu asam amino yang bersifat kationik menyebabkan CLP efektif menghambat bakteri gram negatif. CLP dan Sotomoxyn dari larva *Lucilia sericata* memiliki efek sinergistik dalam menghambat *E. coli* dan *M. luteus* (Pöppel *et al.* 2015). DLP memiliki bobot molekul 4247,37 Da dan memiliki residu asam amino (Gly-10, Val-18, Met-23, Arg-25, Asp-32, Arg-40) yang berkaitan erat dengan aktivitas penghambatan terhadap bakteri gram negatif (Park dan Yoe 2017b). Asam glutamat, histidina, dan asam aspartat terlibat dalam fungsi sistem kekebalan tubuh dengan meningkatkan produksi imunoglobulin dan pembentukan antibodi. Asam aspartat bersama histidina membentuk struktur

heavy chain domains (seperti VH, CH1, dan CH3 atau CH4) dalam subunit imunoglobulin (Batista dan Neuberger 1998; Busch *et al.* 1998). DLP merupakan komponen PAM yang diekspresikan oleh gen terbanyak ketika larva *Hermetia illucens* terpapar patogen *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (Vogel *et al.* 2018).

2.4 Performa Pertumbuhan

Performa pertumbuhan dari ternak ditentukan oleh konsumsi pakan, bobot badan, dan konversi pakan. Konsumsi adalah jumlah pakan yang dikonsumsi oleh ternak digunakan untuk mencukupi kebutuhan pokok dan produksi (Tillman 1991). Pertambahan bobot badan adalah selisih dari bobot akhir dengan bobot badan awal dalam satuan waktu tertentu (Leeson dan Summers 2008; NRC 2012). Bobot badan adalah bobot hidup yang diukur pada waktu tertentu, biasanya pada awal dan akhir pemeliharaan. Rasio konversi pakan atau *feed conversion ratio* (FCR) adalah perbandingan antara jumlah konsumsi dengan pertambahan bobot badan dalam satuan waktu tertentu (Anggorodi 1994). Semakin kecil nilai FCR maka semakin sedikit pula jumlah pakan yang dikonversi menjadi produk ternak seperti daging dan telur.

2.5 Morfologi Saluran Cerna

Lenhardt dan Mozeš (2003) mengungkapkan bahwa semakin tinggi permukaan dan semakin rapat villus maka zat makanan yang diserap semakin banyak. Ketinggian dan kerapan villus pada dasarnya merupakan mekanisme perluasan saluran cerna, mekanisme ini menyebabkan proses penyerapan berlangsung lebih optimal. Penambahan PAM asal usus babi, cecropin, PAM-P5 pada ayam broiler dan anak babi mampu meningkatkan tinggi villus dan kedalaman kripta di duodenum dan jejunum (Bao *et al.* 2009; Wen dan He 2012; Choi *et al.* 2013a; He *et al.* 2020).

2.6 Imunitas

Immunoglobulin A (IgA) adalah immunoglobulin yang banyak mengandung kerangka karbon dan terdapat sebanyak 10-15% dari total serum. IgA merupakan immunoglobulin yang berperan untuk perlindungan saluran-saluran intestinal, respirasi, dan urogenital, serta kelenjar susu dan mata terhadap invasi mikroba. Mekanisme kerja IgA adalah mencegah melekatnya antigen pada permukaan tubuh dengan terlebih dahulu mengintervensi antigen tersebut (Fagarasan dan Honjo 2003). Immunoglobulin M (IgM) merupakan antibodi yang dihasilkan dalam sistem kekebalan primer dan sekunder, serta IgM hanya dihasilkan 5-10% dari total serum dengan rata-rata konsentrasi $1,5 \text{ mg ml}^{-1}$. IgM berbentuk pentamer dan berukuran besar yaitu 900 kDa sehingga tidak berdifusi dengan baik dalam jaringan interseluler (Schroeder dan Cavacini 2010).

PAM yang diisolasi dari serangga dapat menjaga imunitas ayam broiler dan anak babi yang terinfeksi patogen dengan meningkatnya respon limfosit, jumlah sel goblet, dan sekresi IgA jika dibandingkan dengan kontrol (Wang *et al.* 2006; Bao *et al.* 2009). IgA merupakan imunoglobulin yang banyak disekresikan pada mukosa dan berfungsi sebagai agen pembunuh mikroba, demikian pula dengan limfosit yang memiliki peranan yang sama. Limfosit merupakan sel darah putih yang menjaga kekebalan tubuh dan aktif di pembuluh darah. Kedua parameter tersebut menjadi kriteria kondisi imunitas dari ayam broiler dan anak babi.

2.7 Ekosistem Saluran Cerna

Saluran cerna broiler bagian atas (duodenum, jejunum, dan ileum) didominasi oleh bakteri *Lactobacilli* dan minoritas populasi *Bifidobacterium*, *E. coli*, dan *Clostridium*. *Lactobacilli* terdeteksi secara konsisten di semua daerah usus halus (duodenum, jejunum, dan ileum) (Amit-Romach *et al.* 2004). Proporsi *Lactobacilli* berubah sedikit di sepanjang usus halus pada broiler umur 4 sampai 25 hari. Analisis metagenomik pada usus besar broiler umur 4 hari menunjukkan proporsi relatif *Lactobacilli* sekitar 25%, *Salmonella* 40%, dan *Campylobacter* 2%. Pada umur 14 hari proporsi relatif *Lactobacilli* dan *Bifidobacterium* meningkat dan mencapai 40% dari total bakteri. Sebaliknya, proporsi relatif *Salmonella* berkurang sekitar 10%. *E. coli* dan *Clostridium* berubah sedikit sedangkan *Campylobacter* tidak terdeteksi. Pada umur 25 hari, hampir setengah bakteri di ceca broiler adalah spesies *Lactobacilli* dan *Bifidobacterium*. Proporsi relatif *Salmonella* telah menurun sekitar 50% dibandingkan dengan umur 4 hari. Proporsi *Campylobacter* tetap kecil, sedangkan proporsi *E. coli* dan *Clostridium* sekitar 30% (Amit-Romach *et al.* 2004; Gong *et al.* 2017; Shang *et al.* 2018a).

Kondisi umum antimikrobaial peptida terhadap mikroflora usus broiler adalah dapat menurunkan populasi bakteri aerob, anaerob, koliform, dan *Clostridium* spp. di usus halus (Ohh *et al.* 2009; Wen dan He 2012; Choi *et al.* 2013b). Selain itu, menurut (S. Wang *et al.* 2015), pemberian antimikrobaial peptida (sublancin) 11,52 mg aktivitas L⁻¹ mampu menghambat pertumbuhan infeksi *Clostridium perfringens* didalam saluran cerna anak babi. Penambahan PAM lisozim dapat menurunkan populasi *E. coli* di ileum dibandingkan dengan virginiamycin sebesar $7,4 \times 10^4$ cfu g⁻¹ pada broiler umur 1-35 hari (Gong *et al.* 2017). Pemberian PAM pada anak babi mampu mencegah diare yang diakibatkan oleh *E. coli* (Spranghers *et al.* 2017; Spranghers *et al.* 2018).

III KARAKTERISTIK PEPTIDA ANTIMIKROBA ASAL SERANGGA: PENDEKATAN MULTIVARIAT

3.1 Pendahuluan

Peptida antimikroba merupakan komponen yang terdapat pada sistem imun bawaan dan berfungsi untuk membunuh mikroba patogen. Peptida ini ditemukan disetiap organisme seluler, baik uniseluler dan multiseluler. Insekta dilaporkan memiliki banyak jenis peptida antimikroba yang berhasil diisolasi (Wu *et al.* 2018). Peptida antimikroba tidak menyebabkan efek resistensi dan tidak menimbulkan residu (Lai dan Gallo 2009). Peptida ini menonaktifkan patogen dengan mengganggu membran seluler dan memicu kerusakan di dalam sel (Hao Xiao *et al.* 2015). Peptida antimikroba asal serangga misalnya, attacin, cecropin, defensin, diptericin, hymenoptaecin, dan sarcotoxin (Wu *et al.* 2012; Park dan Yoe 2017a; Brady *et al.* 2019). Peptida antimikroba asal serangga saat ini banyak diteliti karena keberagamanya sebagai antibakteri, antifungi, antiviral, dan juga meningkatkan respons imun (Brady *et al.* 2019).

Kajian *in vitro* tentang konsentrasi hambat minimum (KHM) peptida antimikroba asal serangga antara lain sebagai berikut. Produk rekombinan GWLK-lusilin-CPD-histidin-8 dari *Lucilia sericata* menunjukkan KHM terhadap bakteri resistensi antibiotik yaitu *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi* dengan nilai sebesar 0,2 hingga 1,7 μM . Produk rekombinan ini tidak toksik terhadap sel eritrosit dan vero pada manusia (Téllez dan Castaño-Osorio 2014). Peptida mirip defensin asal *Hermetia illucens* L. yaitu DLP-2 dan DLP-4 menghambat bakteri resisten antibiotik seperti *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus suis*, *Listeria ivanovii*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, dan *S. enteritidis* (Li *et al.* 2017). Selanjutnya, trx-stomoxynZH1 asal *Hermetia illucens* L. menghambat bakteri tahan antibiotik seperti *E. coli* dan *Staphylococcus aureus* masing-masing sebesar 15-30 dan 27-54 μM (Elhag *et al.* 2017).

Analisis komponen utama (AKU) merupakan teknik statistik untuk mereduksi dimensi suatu data (tersusun dari banyak variabel) karena sumber keberagaman tinggi (Jolliffe dan Cadima 2016). Teknik ini berguna untuk mengidentifikasi hubungan antar variabel dengan cara mentransformasikannya ke dalam kelompok-kelompok kecil berupa komponen utama (Morton dan Altschul 2019). Selain hal tersebut, AKU juga berguna untuk mengkaji pola keterhubungan tiap data dalam variabel maupun antar variabel. Pola hubungan ini digambarkan menggunakan grafik biplot dari komponen utama. Kajian *in vitro* peptida antimikroba asal serangga sudah banyak menghasilkan data, tetapi kajian reviewnya masih sedikit dan belum menyajikan kajian yang komprehensif. Keberagaman sifat dan karakteristik peptida antimikroba menyebabkan tumpang tindih informasi sehingga kajian terdahulu kurang mampu menjawab deduksinya. Oleh sebab itu, tujuan penelitian ini adalah mengkaji karakteristik peptida antimikroba asal serangga berdasarkan struktur, sekuen asam amino, dan konsentrasi hambat minimum melalui pendekatan analisis komponen utama.



3.2 Bahan dan Metode

3.2.1 Tabulasi Data

Data dibangun dari 55 literatur penelitian dengan topik “Efek peptida antimikroba asal serangga terhadap parameter konsentrasi hambat minimum”. Cakupan peptida yang ditabulasikan dalam data adalah ribosomal peptida. Data KHM terdiri dari bakteri gram-positif, bakteri gram-negatif, fungi, dan khamir. Literatur diperoleh dari halaman mesin pencari google scholar, open science, pubmed, dan science direct dengan kata kunci “bakteri gram-positif” “bakteri gram-negatif”, “fungi”, “khamir”, “konsentrasi hambat minimum”, “peptida antimikroba”, dan “serangga”. Sumber literatur merupakan penelitian yang dilakukan dalam kurun waktu 1988 sampai 2017. Kriteria literatur yakni artikel ilmiah terindeks scopus, mencantumkan konsentrasi hambat minimum terhadap mikroba uji spesifik, satuan konsentrasi hambat minimum (μM atau $\mu\text{g } \mu\text{l}^{-1}$) dicantumkan, struktur, dan sumber peptida dijelaskan.

Data ditabulasikan pada Tabel 3.1. Tabel tersebut merupakan rangkuman dari 29 variabel (24 variabel asam amino dan senyawa tambahan, empat variabel dari konsentrasi hambat minimum, dan satu variabel bobot molekul) yang dikategorikan ke dalam lima jenis peptida antimikroba (Bulet dan Stocklin 2005; Yi *et al.* 2014; Wu *et al.* 2018). Data sekuen asam amino dipecah dan dikelompokkan berdasarkan asam amino kemudian dihitung jumlah asam amino penyusunya, script R yang digunakan terlampir pada Lampiran 1. Sumber literatur yang digunakan antara lain Matsuyama dan Natori (1988), Casteels *et al.* (1990), Chernysh *et al.* (1996), Ehret-Sabatier *et al.* (1996), Fehlbaum *et al.* (1996), Cudic *et al.* (1999), Lamberty *et al.* (1999), Haeberli *et al.* (2000), Silva *et al.* (2000), Vizioli *et al.* (2000), Urban *et al.* (2001), Gobbo *et al.* (2002), Kuhn-Nentwig *et al.* (2002), Moerman *et al.* (2002), Giacometti *et al.* (2003), Skosyrev *et al.* (2003a), Boulanger *et al.* (2004), Y.S. Lee *et al.* (2004), K. Lee *et al.* (2004), Rabel *et al.* (2004), Jin *et al.* (2006), Podda *et al.* (2006), Shlyapnikov *et al.* (2008), Stensvåg *et al.* (2008), Dang *et al.* (2009), Feng *et al.* (2009), Sperstad *et al.* (2009), Yuan *et al.* (2010), Ursic-Bedoya *et al.* (2011), Almaaytah *et al.* (2012), Cao *et al.* (2012), Ramírez-Carreto *et al.* (2012), Krizsan *et al.* (2014), Pei *et al.* (2014), Téllez dan Castaño-Osorio (2014), Chernysh *et al.* (2015), Jayamani *et al.* (2015), Park *et al.* (2015), Pöppel *et al.* (2015), Rajamuthiah *et al.* (2015), Tonk *et al.* (2015a), Tonk *et al.* (2015b), J. Wang *et al.* (2015), Wei *et al.* (2015), Kaushal *et al.* (2016), Knappe *et al.* (2016), Xu *et al.* (2016), Elhag *et al.* (2017), Kwong *et al.* (2017), Li *et al.* (2017), Park dan Yoe (2017a), Park dan Yoe (2017b), Sun *et al.* (2017), Toro Segovia *et al.* (2017), dan Zheng *et al.* (2017). Metadata terlampir pada Lampiran 2.

3.2.2 Analisis Data

Karakteristik peptida antimikroba dianalisis menggunakan korelasi Pearson’s dan analisis komponen utama (AKU). Analisis korelasi Pearson’s digunakan untuk mengetahui hubungan linier setiap variabel.

Tabel 3.1 Rangkuman data karakteristik dari lima jenis peptida antimikroba asal serangga

No.	G1	G2	G3	G4	G5	\bar{x}	s	Mak	Min
Asam Amino									
1. Alanin (A)	3.76	2.58	2.7	0.17	1.93	2.23	1.32	3.76	0.17
2. Arginin (R)	2.18	2.4	1.73	3.27	0.88	2.09	0.88	3.27	0.88
3. Asam aspartat (D)	0.92	0.63	0.82	0.24	0.54	0.63	0.26	0.92	0.24
4. Asam glutamat (E)	1.37	0.31	1.03	0.07	0.51	0.66	0.53	1.37	0.07
5. Asam piroglutamat (Z)	-	0.02	0.03	-	-	0.03	0.01	0.03	0.02
6. Asparagin (N)	0.97	1.04	1.06	0.76	0.51	0.87	0.23	1.06	0.51
7. Fenilalanin (F)	0.95	0.48	0.61	0.29	1.17	0.7	0.36	1.17	0.29
8. Glisin (G)	3.29	2.71	4.03	0.66	2.07	2.55	1.28	4.03	0.66
9. Glutamin (Q)	1.66	0.5	1.67	0.22	0.46	0.9	0.7	1.67	0.22
10. Histidin (H)	0.63	1.21	1.48	0.53	0.34	0.84	0.48	1.48	0.34
11. Isoleusin (I)	1.89	0.75	1.82	0.8	1.29	1.31	0.54	1.89	0.75
12. L-ornitin (O)	-	-	-	0.24	-	0.24	-	0.24	0.24
13. L-tert-leusin (J)	-	-	-	0.03	-	0.03	-	0.03	0.03
14. Leusin (L)	1.68	1.6	1.58	0.68	1.59	1.43	0.42	1.68	0.68
15. Lisin (K)	4.03	1.35	2.55	0.39	2.88	2.24	1.41	4.03	0.39
16. Metionin (M)	0.18	0.23	-	0.03	0.22	0.17	0.09	0.23	0.03
17. Prolin (P)	0.39	0.4	2.09	5.03	0.12	1.61	2.07	5.03	0.12
18. Serin (S)	0.92	1.35	1.09	0.66	0.76	0.96	0.27	1.35	0.66
19. Sistein (C)	0.05	3.15	0.21	0.17	0.27	0.77	1.33	3.15	0.05
20. Tirosin (Y)	0.26	0.71	0.94	0.69	0.44	0.61	0.26	0.94	0.26
21. THL-prolin (X)	-	-	-	0.07	0.1	0.09	0.02	0.1	0.07
22. Treonin (T)	1.39	1.02	1.3	0.31	0.44	0.89	0.49	1.39	0.31
23. Triptofan (W)	0.61	0.19	0.27	0.1	0.24	0.28	0.19	0.61	0.1
24. Valin (V)	2.89	1.52	2.24	0.68	1.15	1.7	0.88	2.89	0.68
Konsentrasi Hambat Minimum									
25. KHM fungi (μM)	1,91	4,8	10	0,71	-	4,36	4,15	10	0,71
26. KHM gram- (μM)	70,7	33,6	33,9	32,8	69,1	48	20	70,7	32,8
27. KHM gram+ (μM)	106	32,9	59,9	35,9	34,3	53,7	31,1	106	32,9
28. KHM khamir (μM)	1,41	3,32	13,9	3,36	-	5,51	5,69	13,9	1,41
Bobot Molekul									
29. Bobot molekul (kDa)	4,88	2,25	3,36	4,5	1,4	3,28	1,47	4,88	1,4

gram+ = bakteri gram-positif, gram- = bakteri gram-negatif, G1 = peptida α -heliks, G2 = peptida kaya sistein, G3 = polipeptida kaya glisin, G4 = peptida kaya prolin, G5 = lain, KHM = konsentrasi hambat minimum, Mak = maksimum, Min = minimum, THL-prolin = trans-4-hidroksi-prolin, \bar{x} = rataan, dan s = standar deviasi.

Kriteria korelasi yakni tidak memiliki korelasi (0-0,10); lemah (0,1-0,39); sedang (0,4-0,69); kuat (0,7-0,89); dan sangat kuat (0,9-1) (Schober *et al.* 2018). Selanjutnya analisis multivariat menggunakan AKU untuk mengurangi dimensi dari data dengan cara mengubah nilai linier setiap variabel menjadi komponen utama dengan varian maksimum (Kassambara 2017). Pengurangan dimensi data dapat menjelaskan pola keterkaitan antar variabel dan data dengan lebih sederhana. Kriteria Keiser's seperti nilai eigen lebih dari 1 digunakan untuk memilih banyaknya komponen utama (KU) (Kaiser 1960; Braeken dan van Assen 2017; Naraei dan Street 2017). Nilai absolut *factor loading* (fl) dari tiap variabel yang bernilai kurang dari 0,4 menjadi kurang bermakna (Maskey *et al.* 2018). Grafik biplot digunakan untuk menjelaskan pola hubungan antar variabel, antar jenis peptida antimikroba, dan antar individu peptida antimikroba. Analisis AKU dilakukan menggunakan program R versi 3.6.3 dengan library tambahan “factoextra” (Kassambara 2017; Kassambara dan Mundt 2020; R Core Team 2020).

3.3 Hasil dan Pembahasan

3.3.1 Korelasi antara Asam Amino dengan Konsentrasi Hambat Minimum dan Bobot Molekul dari Peptida Antimikroba Asal Serangga

Hasil korelasi Pearson's antara asam amino dengan aktivitas antimikroba dan bobot molekul dari peptida antimikroba asal serangga disajikan pada Tabel 3.2. Asam glutamat dan glisin berkorelasi lemah positif terhadap bobot molekul, sedangkan prolin berkorelasi lemah negatif ($P<0,05$). Penghambatan bakteri gram-positif memiliki hubungan lemah positif dengan isoleusin ($P<0,1$) dan prolin ($P<0,05$) serta berhubungan lemah positif dengan asam amino asparagin, asam aspartat, sistein, dan serin ($P<0,05$). Asam amino asparagin ($P<0,1$), sistein, glisin, histidin, leusin, lisin, metionin, fenilalanin ($P<0,1$), serin, dan tirosin ($P<0,05$ kecuali asparagin dan fenilalanin) berhubungan lemah positif terhadap penghambatan bakteri gram-negatif, sebaliknya l-ornitin berhubungan lemah negatif ($P<0,05$). KHM fungi memiliki korelasi lemah positif terhadap asam amino sistein ($P<0,05$), asam piroglutamat, trans-4-hidroksi-l-prolin, dan tirosin ($P<0,1$ kecuali sistein), sedangkan fenilalanin ($P<0,1$) dan prolin ($P<0,05$) berkorelasi lemah negatif. KHM khamir berkorelasi lemah positif dengan asam amino sistein, glisin ($P<0,1$), dan asam piroglutamat ($P<0,05$ kecuali glisin).

3.3.2 Karakteristik Komponen Utama dari Data Peptida Antimikroba Asal Serangga

Hasil analisis AKU disajikan berupa proporsi dari varian, proporsi kumulatif, dan nilai eigen pada Tabel 3.3. Komponen utama yang diambil berdasarkan nilai eigen (lebih dari 1) sebanyak 9 KU. Proporsi kumulatif dari KU1 dan KU2 menjelaskan 33% dari data dengan perincian sebagai berikut KU1 menjelaskan 24% dan KU2 menjelaskan 9% data. *Factor loading* tiap variabel

pada komponen utama disajikan pada Tabel 3.4. KU1 asam amino alanin, asam aspartat, asam glutamat, fenilalanin, glisin, histidin, isoleusin, lisin, leusin, asparagin, glutamin, arginin, serin, treonin, valin, dan triptofan memiliki *factor loading* negatif ($fl>0,4$). Tambahan lagi, pada KU2 asam amino prolin, arginin, dan tirosin memiliki *factor loading* negatif ($fl>0,4$). KU3, asam amino sistein, KHM fungi, dan KHM khamir memiliki keterhubungan negatif ($fl>0,4$), tetapi asam amino l-ornitin dan prolin bernilai positif ($fl>0,4$).

Tabel 3.2 Korelasi Pearson's antara asam amino dengan konsentrasi hambat minimum dan bobot molekul dari peptida antimikroba asal serangga

No. Asam amino	BM		KHM gram+		KHM gram-		KHM fungi		KHM khamir	
	r ^a	P ^b	r	P	r	P	r	P	r	P
1. Alanin	0.094	0.311	-0.009	0.897	0.077	0.259	-0.117	0.084	-0.026	0.697
2. Arginin	-0.15	0.102	-0.027	0.688	0.051	0.455	-0.012	0.858	-0.008	0.912
3. A aspartat	0.005	0.955	-0.180	0.007	0.04	0.557	-0.058	0.393	-0.042	0.534
4. A glutamat	0.189	0.039	-0.064	0.344	-0.031	0.644	-0.055	0.418	-0.011	0.877
5. A piroglu	-0.055	0.552	0.007	0.923	0.043	0.524	0.119	0.078	0.195	0.004
6. Asparagin	-0.019	0.837	-0.135	0.047	0.112	0.099	0.058	0.392	0.01	0.883
7. Fenilalanin	0.04	0.665	-0.066	0.331	0.117	0.083	-0.113	0.096	0.037	0.582
8. Glinin	0.214	0.02	-0.024	0.724	0.141	0.038	-0.024	0.728	0.119	0.079
9. Glutamin	0.133	0.148	0.079	0.242	-0.018	0.792	-0.088	0.194	-0.031	0.654
10. Histidin	0.101	0.273	0.002	0.981	0.171	0.011	-0.058	0.396	-0.019	0.776
11. Isoleusin	-0.088	0.342	0.132	0.051	0.023	0.738	-0.037	0.582	0.09	0.183
12. L-ornitin	-0.146	0.114	0.002	0.973	-0.134	0.048	-0.077	0.259	-0.053	0.432
13. L-tert-leusin	-0.066	0.477	0.022	0.744	0.040	0.56	-0.036	0.599	-0.025	0.714
14. Leusin	-0.016	0.862	-0.07	0.303	0.202	0.003	-0.103	0.128	0.102	0.133
15. Lisin	0.061	0.507	0.009	0.894	0.077	0.257	-0.06	0.374	-0.038	0.573
16. Metionin	-0.026	0.782	0.103	0.130	0.199	0.003	0.097	0.153	-0.005	0.941
17. Prolin	-0.194	0.034	0.139	0.039	0.021	0.752	-0.141	0.038	-0.09	0.182
18. Serin	0.084	0.364	-0.2	0.003	0.226	0.001	0.015	0.829	0.063	0.353
19. Sistein	-0.002	0.985	-0.334	0.001	0.217	0.001	0.275	0.001	0.21	0.002
20. THL-prolin	-0.061	0.513	0.048	0.481	0.069	0.308	0.13	0.055	-0.029	0.672
21. Tirosin	-0.028	0.764	-0.059	0.386	0.224	0.001	0.126	0.062	0.101	0.138
22. Treonin	0.065	0.486	-0.039	0.565	0.024	0.726	0.001	0.997	0.068	0.319
23. Triptofan	-0.001	0.995	-0.041	0.549	-0.05	0.462	0.004	0.955	-0.01	0.884
24. Valin	0.105	0.256	0.014	0.840	0.015	0.826	-0.053	0.432	-0.038	0.577

a Nilai korelasi Pearson's. b Nilai P dengan taraf signifikansi sebesar 5%.

A = asam, A piroglu = asam piroglutamat, BM = bobot molekul, gram+ = bakteri gram-positif, gram- = bakteri gram-negatif, KHM = konsentrasi hambat minimum, dan THL-prolin = trans-4-hidroksi-prolin.

Tabel 3.3 Proporsi varian, proporsi kumulatif, dan nilai eigen setiap paket komponen utama dari peptida antimikroba asal serangga

No.	Komponen utama	PV (%)	PK (%)	Nilai eigen ^a
1.	KU1	24	24	2.64
2.	KU2	9	33	1.58
3.	KU3	7	40	1.44
4.	KU4	6	46	1.28
5.	KU5	5	51	1.26
6.	KU6	5	56	1.22
7.	KU7	5	61	1.19
8.	KU8	4	65	1.08
9.	KU9	4	69	1.01
10.	KU10	3	72	0.97
11.	KU11	3	75	0.94
12.	KU12	3	78	0.94
13.	KU13	3	81	0.88
14.	KU14	3	83	0.86
15.	KU15	2	86	0.84
16.	KU16	2	87	0.74
17.	KU17	2	89	0.73
18.	KU18	2	91	0.68
19.	KU19	1	92	0.65
20.	KU20	1	94	0.61
21.	KU21	1	95	0.59
22.	KU22	1	96	0.56
23.	KU23	1	97	0.52
24.	KU24	1	98	0.47
25.	KU25	1	98	0.43
26.	KU26	1	99	0.39
27.	KU27	0	99	0.37
28.	KU28	0	100	0.34
29.	KU29	0	100	0.32

^a Nilai eigen yang lebih dari 1 akan dipilih berdasarkan kriteria Keiser's.

KU = komponen utama, PK = proporsi kumulatif, dan PV = proporsi varian.

KU4 asam amino leusin dan metionin memiliki *factor loading* positif ($fl>0,4$). Asam amino l-tert-leusin dan trans-4-hidroksi-l-prolin pada KU5 memiliki *factor*

loading negatif ($fl>0,4$). KU6 KHM bakteri gram-positif dan gram-negatif memiliki nilai *factor loading* negatif ($fl>0,4$). Sedangkan pada KU7 asam amino metionin dan penghambatan bakteri gram-positif memiliki *factor loading* negatif ($fl>0,4$) sementara asam amino histidin dan bobot molekul positif ($fl>0,4$). KU9, l-ornitin memiliki *factor loading* positif ($fl>0,4$).

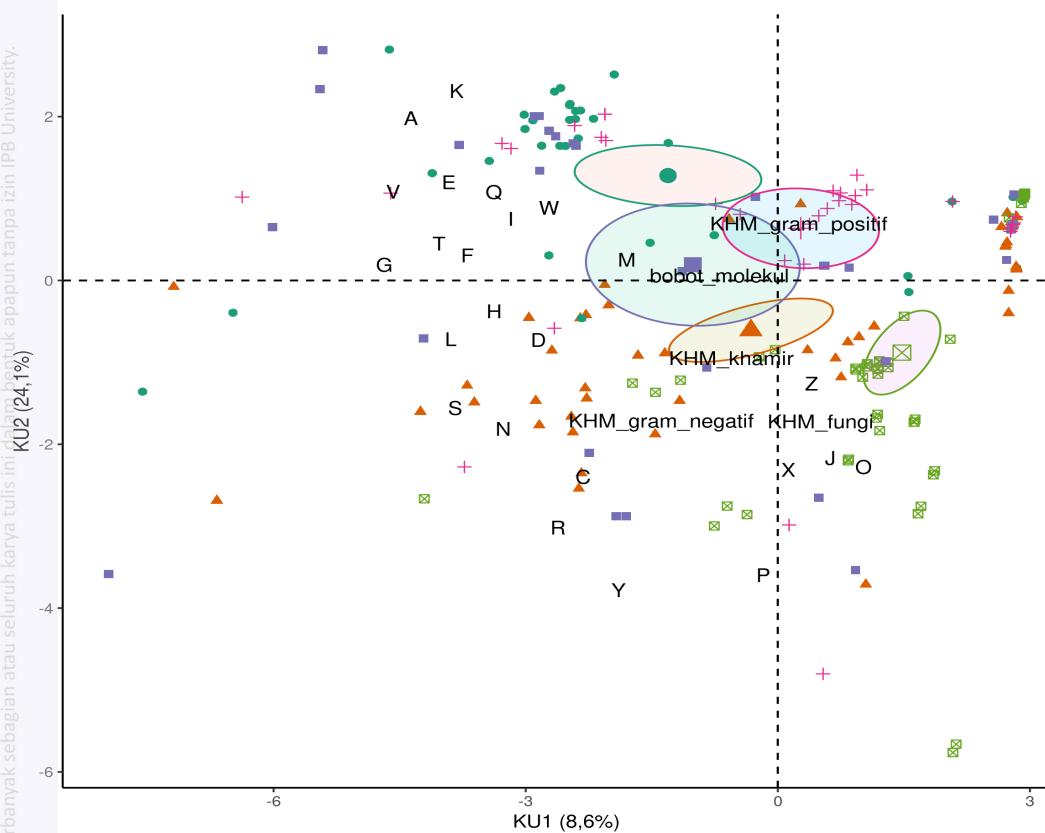
Tabel 3.4 Nilai *factor loading* tiap variabel pada komponen utama dari peptida antimikroba asal serangga

No.	KU1	KU2	KU3	KU4	KU5	KU6	KU7	KU8	KU9
1. A	-0.78	0.31	-0.02	0.02	-0.1	0.18	-0.12	-0.23	0.16
2. BM	-0.28	-0.02	0.06	-0.04	-0.1	-0.19	0.41	0.23	0.25
3. C	-0.36	-0.38	-0.58	-	0.14	0.23	0.03	-0.3	0.12
4. D	-0.52	-0.1	-0.06	-0.33	0.19	0.2	0.06	0.19	-0.32
5. E	-0.64	0.23	0.13	-0.04	-0.08	-	0.24	0.28	-0.03
6. F	-0.6	0.08	-0.03	-0.39	0.03	-0.28	-0.1	0.29	0.06
7. G	-0.84	-	0.02	0.17	-0.11	-0.14	0.18	-0.02	-0.13
8. H	-0.54	-0.04	0.06	0.14	-0.15	-0.3	0.48	-0.35	0.09
9. I	-0.57	0.11	0.25	0.33	-0.03	0.05	-0.36	0.12	-0.02
10. J	0.08	-0.35	0.33	-0.3	-0.54	0.36	0.04	0.03	-0.05
11. K	-0.69	0.37	0.05	-0.17	-0.22	0.01	-0.14	0.14	0.21
12. KF	0.04	-0.26	-0.57	0.25	-0.33	0.12	-0.12	0.09	-0.06
13. KG-	-0.16	-0.26	-0.31	-0.11	-0.32	-0.41	-0.19	-0.26	-0.27
14. KG+	0.08	0.15	0.38	0.1	-0.27	-0.41	-0.43	-0.17	-0.06
15. KK	-0.06	-0.19	-0.48	0.32	-0.24	-0.03	-0.12	0.39	0.15
16. L	-0.64	-0.1	-0.13	-0.41	0.13	-0.09	-0.15	0.23	-0.01
17. M	-0.27	0.07	-0.23	-0.45	-0.14	-0.21	-0.4	-0.13	0.06
18. N	-0.59	-0.34	-0.03	-0.07	0.17	0.22	-0.01	-0.18	0.04
19. O	0.14	-0.36	0.4	-0.17	-0.03	0.22	0.07	0.01	0.42
20. P	-	-0.59	0.49	0.06	0.35	-0.26	-0.22	0.04	0.05
21. Q	-0.54	0.19	0.31	0.38	-0.15	-0.09	0.14	0.03	-0.28
22. R	-0.48	-0.54	0.24	0.1	0.29	0.01	-0.27	-0.06	0.04
23. S	-0.69	-0.29	-0.16	-0.09	0.13	-0.18	0.25	0.01	-0.14
24. T	-0.71	0.04	-0.01	0.33	0.04	0.3	-0.17	-0.19	0.05
25. V	-0.75	0.21	0.08	-0.04	-0.13	0.09	-0.04	-0.21	0.35
26. W	-0.5	0.12	0.08	0.17	0.18	0.38	-0.15	0.19	-0.32
27. X	0.06	-0.37	0.26	-0.17	-0.62	0.32	-0.01	0.02	-0.18
28. Y	-0.36	-0.67	0.1	0.15	-0.13	-0.21	0.14	0.07	-0.04
29. Z	0.04	-0.22	-0.13	0.36	-0.12	-0.12	-0.15	0.34	0.32

A = alanin, BM = bobot molekul, C = sistein, D = asam aspartat, E = asam glutamat, F = fenilalanin, G = glisin, H = histidin, I = isoleusin, J = l-tert-leusin, K = kisin, KF = KHM fungi, KG- = KHM bakteri gram-negatif, KG+ = KHM bakteri gram-positif, KK = KHM khamir, KHM = konsentrasi hambat minimum, KU = komponen utama, L = leusin, M = metionin, N = asparagin, O = l-ornitin, P = prolin, Q = glutamin, R = arginin, S = serin, T = treonin, V = valin, W = triptofan, X = trans-4-hidroksi-l-prolin, Y = tirosin, dan Z = asam piroglutamat.

3.3.3 Grafik Biplot Data Peptida Antimikoba

Grafik biplot antar variabel (asam amino, konsentrasi hambat minimum, dan bobot molekul) dan antar jenis peptida antimikroba disajikan pada Gambar 3.1. Kuadran III, peptida antimikroba kelompok peptida kaya sistein dan sebagian polipeptida kaya glisin memiliki sekuen asam amino penyusun seperti tirosin, arginin, sistein, asparagin, serin, l-tert-leusin, asam aspartat, dan histidin menghambat bakteri gram-negatif dan khamir serta memiliki keterkaitan dengan bobot molekul.

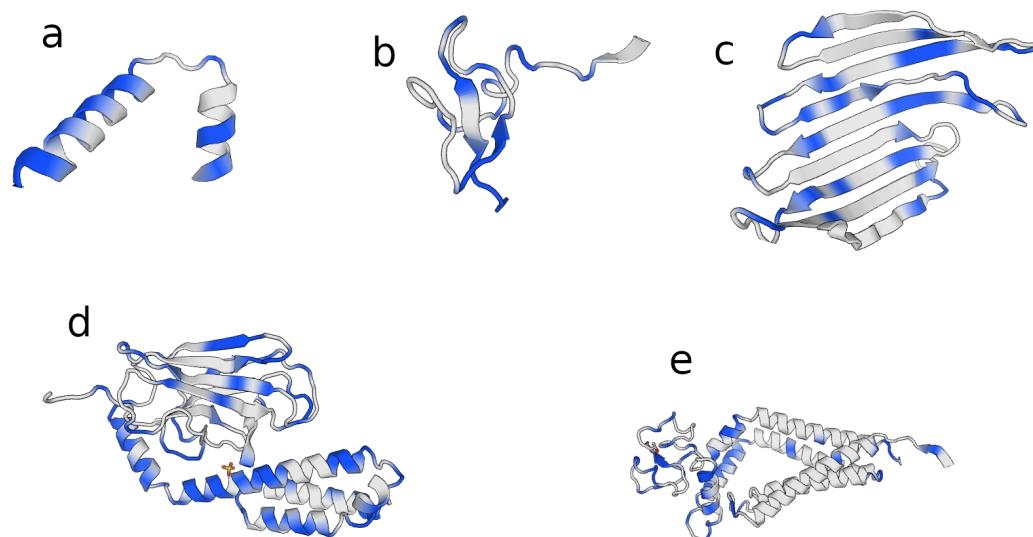


Gambar 3.1 Biplot hubungan antar variabel dan antar jenis peptida antimikroba asal serangga KU1 (x) dan KU2 (y), lingkaran (●) = peptida α -heliks, segitiga (▲) = peptida kaya sistein, persegi (■) = polipeptida kaya glisin, persegi dengan tanda tambah (田) = peptida kaya prolin, tanda tambah (+) = lain, A = alanin, C = sistein, D = asam aspartat, E = asam glutamat, F = fenilalanin, G = glisin, H = histidin, I = isoleusin, J = l-tert-leusin, K = lisin, L = leusin, M = metionin, N = asparagin, O = l-ornitin, P = prolin, Q = glutamin, R = arginin, S = serin, T = treonin, V = valin, W = triptofan, X = trans-4-hidroksi-l-prolin, Y = tirosin, Z = asam piroglutamat

Kuadran IV, peptida antimikroba jenis peptida kaya prolin dan sebagian peptida kaya sistein tersusun dari asam amino asam piroglutamat, l-ornitin, l-tert-leusin, trans-4-hidroksi-l-prolin, dan prolin memiliki kemampuan menghambat fungi. Kuadran I, peptida antimikroba jenis lain menghambat bakteri gram-positif. Kuadran II, peptida antimikroba jenis peptida α -heliks, sebagian polipeptida kaya glisin, dan sebagian peptida antimikroba jenis lain strukturnya tersusun dari asam amino metionin, triptofan, isoleusin, glutamin, fenilalanin, asam glutamat, treonin, glisin, valin, alanin, dan lisin.

3.3.4 Sifat Peptida Antimikroba

Berdasarkan struktur dan sekuen asam amino peptida antimikroba asal serangga digolongkan menjadi tiga kelompok utama yaitu (i) kelompok peptida α -heliks adalah peptida linier yang memiliki struktur α -heliks yang kekurangan residu sistein, (ii) kelompok peptida kaya sistein yang tersusun dari 6-8 residu sistein, memiliki jembatan disulfida, dan tiga domain yang terdiri dari amino-terminal fleksibel, dan (iii) peptida dengan residu prolin dan/atau glisin yang berlebihan (Otvos, Jr 2000; Yi *et al.* 2014; Mylonakis *et al.* 2016; Toro Segovia *et al.* 2017; Wu *et al.* 2018; Brady *et al.* 2019). Sampai saat ini masih ada temuan baru peptida antimikroba asal serangga yang tidak termasuk ketiga kelompok utama tersebut. Model tiga dimensi peptida antimikroba ditampilkan pada Gambar 3.2.



Gambar 3.2 Cecropin like-peptide 1 (a = peptida α -heliks), β -defensin (b = peptida kaya sistein), attacin-A (c = polipeptida kaya glisin), apidaecins tipe 73 (d = peptida kaya prolin), dan (e = peptida lain), warna biru merupakan bagian polar, sekuen peptida antimikroba tersebut terlampir pada Lampiran 3 (Dushay *et al.* 2000; Harder *et al.* 2001; Czihal *et al.* 2012; Park dan Yoe 2017b)

Kelompok peptida α -heliks yakni cecropin dan peptida mirip cecropin (mis., sarcotoxin, hyphancin, dan enbocin) memiliki struktur linier karena kekurangan asam amino sistein yang berfungsi membentuk jembatan disulfida (Yi *et al.* 2014; Wu *et al.* 2018; Brady *et al.* 2019; Shrestha *et al.* 2019). Peptida antimikroba kationik ini memiliki aktivitas penghambatan untuk melawan bakteri gram-positif dan gram-negatif demikian pula dengan fungi (Park *et al.* 2015; Park dan Yoe 2017b; Romoli *et al.* 2019; Shrestha *et al.* 2019; Muchintala *et al.* 2020). Mirip dengan pernyataan tersebut sesuai dengan grafik biplot (Gambar 3.1) peptida α -heliks (yang berada pada kuadran II) tidak memiliki keterkaitan dengan residu sistein (yang berbeda pada kuadran III). Namun, α -heliks tidak memperlihatkan aktivitas penghambatan bakteri maupun fungi pada grafik biplot. Asam amino yang menyusun peptida α -heliks yaitu metionin, triptofan, glisin, treonin, fenilalanin, asam glutamat, glutamin, valin, alanin, dan lisin. Sebagian asam amino tersebut seperti glisin, metionin, dan fenilalanin memiliki korelasi lemah positif terhadap penghambatan bakteri gram-negatif, glisin juga berkorelasi lemah positif terhadap penghambatan khamir.

Peptida kaya sistein dari serangga seperti defensin, drosomisin, dan thanatin memiliki bobot molekul sekitar 3-6 kDa dengan struktur β -sheet globular yang diseimbangkan oleh tiga sampai empat jembatan disulfida (Y.S. Lee *et al.* 2004; Tonk *et al.* 2015a; Mylonakis *et al.* 2016; Park dan Yoe 2017a). Asam amino penyusun jembatan disulfida ini adalah sistein (Y.S. Lee *et al.* 2004; Park dan Yoe 2017a). Peptida antimikroba kelompok ini aktif menghambat bakteri gram-positif dan sebagian juga menghambat bakteri gram-negatif serta fungi (Y.S. Lee *et al.* 2004; Park dan Yoe 2017a). Agak berbeda dengan pemaparan sebelumnya bahwa peptida kaya sistein pada kuadran III memiliki aktivitas penghambatan bakteri gram-negatif dan khamir. Temuan lainnya dari Y.S. Lee *et al.* (2004), mengungkapkan bahwa defensin dari *Galleria mellonella* menghambat khamir dan fungi. Grafik biplot peptida kaya sistein memiliki keeratan hubungan dengan asam amino sistein, pada KU2 sistein memiliki aktivitas penghambatan fungi dan khamir. Asam amino lainnya yang kemungkinan berkaitan dengan struktur peptida kaya sistein adalah asam aspartat, histidin, isoleusin, serin, asparagin, arginin, dan tirosin. Sistein sendiri memiliki korelasi lemah positif terhadap penghambatan bakteri gram-negatif, fungi, dan khamir. Asam amino penyusun peptida kaya sistein seperti tirosin memiliki korelasi lemah positif terhadap penghambatan fungi dan bakteri gram-negatif. Tambahan pula, asam amino asparagin, histidin, dan serin berkorelasi lemah positif terhadap penghambatan bakteri gram-negatif.

Polipeptida kaya glisin asal serangga seperti attacin, sarcotoxin, hymenoptaecin, coleoptericin, holotricin, tenecin, hemiptericin, gloverin, dan diptericin merupakan peptida yang memiliki sekitar 18% residu glisin dengan bobot molekul 8 sampai 30 kDa (Bulet *et al.* 1999; Y.S. Lee *et al.* 2004; Bulet dan Stocklin 2005). Polipeptida kaya glisin kebanyakan menghambat bakteri gram-negatif, tetapi sebagian temuan melaporkan bahwa peptida antimikroba ini menghambat bakteri gram-positif dan khamir. Grafik biplot polipeptida kaya glisin yang sebagian besar berada pada kuadran II dan sebagian di kuadran III, hal ini menyebabkan kemiripan struktur dan sekuen asam amino dengan peptida α -

heliks dan peptida kaya sistein. Polipeptida kaya glisin memiliki struktur linier seperti peptida α -heliks dengan masih adanya residu asam amino bersulfur seperti pada diptesisin (Bulet *et al.* 1999; Wu *et al.* 2012; Wu *et al.* 2018). Asam amino glisin merupakan salah satu komponen polipeptida kaya glisin yang berada pada kuadran II. Glisin memiliki aktivitas penghambatan bakteri gram-negatif dan khamir.

Struktur dari peptida kaya prolin adalah linier dengan 15 sampai 39 residu asam amino dan terdapat sekitar 25% residu prolin (Bulet *et al.* 1999; Bulet dan Stocklin 2005; Wu *et al.* 2018). Beberapa contoh peptida kaya prolin yang diisolasi dari serangga yakni apidaecin, abaecin, drosocin, pyrrhocoricin, lebocin, dan metchnikowin (Hara dan Yamakawa 1995; Levashina *et al.* 1995; Rees *et al.* 1997; Mackintosh *et al.* 1998; Bulet *et al.* 1999). Peptida kaya prolin aktif menghambat bakteri gram-negatif serta minoritas bakteri gram-positif dan fungi, misalnya metchnikowin (Levashina *et al.* 1995). Hal ini selaras dengan temuan ini, peptida kaya prolin yang berada pada kuadran IV memiliki posisi yang sama dengan asam amino prolin dan memiliki aktivitas penghambatan fungi (Gambar 3.1).

Beberapa peptida antimikroba yang tidak tergolong dari keempat kelompok tersebut berada pada kuadran I yang aktif menghambat bakteri gram-positif. Seperti halnya arasin 1 yang ditemukan pada *Hyas araneus* menghambat bakteri gram-positif (*Corynebacterium glutamicum*). Selanjutnya, arasin 1 memiliki dua jembatan disulfida yang kaya akan residu prolin dan arginin (Stensvåg *et al.* 2008). Grafik biplot peptida antimikroba jenis lain tidak memiliki kecenderungan terhadap asam amino manapun walaupun sebagian kecil peptida antimikroba jenis lain berada pada kuadran II sehingga memiliki kemiripan dengan peptida α -heliks dan polipeptida kaya glisin.

3.4 Simpulan

Karakteristik peptida antimikroba asal serangga yang sebagian besar termasuk kelompok peptida α -heliks cenderung tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap mikroba apapun, kelompok peptida kaya sistein dan polipeptida kaya glisin sebagian besar aktif menghambat bakteri gram-negatif dan khamir, kelompok peptida kaya prolin aktif menghambat fungi, dan kelompok peptida antimikroba jenis lain aktif menghambat bakteri gram-positif. Asam amino sistein sebagai penyeimbang struktur β -sheet dari peptida kaya sistein memiliki hubungan lemah terhadap penghambatan bakteri gram-negatif, fungi, dan khamir.

IV KAJIAN PEPTIDA ANTIMIKROBA ASAL MAGGOT DAN EKTRAK ANTIKANKER MAGGOT

24

4.1 Pendahuluan

Maggot dari *Hermetia illucens* memiliki berbagai macam peptida antimikroba (PAM) yang dapat dijadikan alternatif antibiotik imbuhan pakan (Park dan Yoe 2017a; 2017b; Vogel *et al.* 2018). Salah satu PAM yang terdapat pada maggot adalah cecropin, peptida ini sering dijumpai pada insekta dan berperan aktif dalam sistem kekebalan tubuh. Cecropin diisolasi pertama kali dari pupa *Hyalophora cecropia* (Brady *et al.* 2019). Cecropin terdiferensiasi menjadi lepidopterin, sarcotoxin, dan peptida mirip cecropin (Li *et al.* 2012; Gadde *et al.* 2017; Wu *et al.* 2018). Peptida mirip cecropin dari maggot atau cecropin like-peptide (misalnya CLP1, CLP2, dan CLP3) telah teridentifikasi dan memiliki kemampuan menghambat dan/atau membunuh bakteri seperti *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* dan *Pseudomonas aeruginosa* (Park dan Yoe 2017b). Peptida ini memiliki jumlah ekspresi terbanyak kedua setelah defensin berdasarkan kajian transkriptomik dari Vogel *et al.* (2018). Level ekspresi dari cecropin dipengaruhi oleh komposisi nutrien dari substrat (Vogel *et al.* 2018). Oleh karena itu, untuk memperoleh produk PAM dari maggot maka dilakukan pembuatan rekombinan DNA dan sintesis peptida tersebut. Selain hal tersebut, telaah tentang antikanker maggot asal *Hermetia illucens* juga dapat dikaji. Hal ini disebabkan karena organisme tersebut dilaporkan memiliki komponen ekstrak kasar dan cecropin sebagai antikanker (Hasaballah *et al.* 2019; Sharma *et al.* 2019).

Rekombinan DNA merupakan teknik biologi molekuler dengan jalan menggabungkan dua atau lebih sekuen DNA tertentu yang berguna untuk memproduksi antibiotik (Fodor *et al.* 1999). Cara sintesis protein dari rekombinasi DNA dapat menggunakan plasmid bakteri dan/atau mekanisme translasi *in vitro* menggunakan oranel sel (mis., ribosom) dari manusia. Mekanisme *in vitro* ini menggunakan asam amino serta bahan sintesis protein lain untuk membentuk protein target dari rekombinan DNA. Metode *in vitro* ini banyak digunakan untuk mensintesis protein tertentu yang memiliki sifat biologis seperti antikanker, antimikroba, antitumor, dan antiviral (Zhou *et al.* 2010; Yadavalli *et al.* 2012). Keunggulan teknik ini adalah rekayasa yang relatif cepat dan proses purifikasi yang mudah. Produk peptida hasil rekombinan dan sintesis *in vitro* ini dapat ditambahkan pada pakan dengan memperhatikan suhu pembuatan pakan, jika proses *pelleting* pakan menggunakan suhu tinggi maka penambahan cecropin dapat diberikan setelah proses tersebut menggunakan metode penyemprotan.

Antikanker adalah bahan aktif yang menekan pertumbuhan sel-sel kanker dan/atau membunuhnya. Cecropin dilaporkan memiliki aktivitas penghambatan sel kanker leukimia dan tumor kantong kemih (Suttmann *et al.* 2008; Gaspary *et al.* 2017). Sel MOLT4 dan K562 merupakan sel kanker yang lazim digunakan untuk uji coba senyawa antikanker (Karwati *et al.* 2015; Huang *et al.* 2016; Priyanto *et al.* 2017). Sel-sel tersebut merupakan diferensiasi dari kanker leukimia, MOLT4 bersifat lebih ganas dibandingkan K562 (Huang *et al.* 2016).





Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a.

b.

Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah

K562 berasal dari sel kanker eritrosit yang tergolong eritroleukemia (Klein *et al.* 1976). Cecropin yang ditranslasikan dengan sistem IVT (*in vitro translation system* atau sistem translasi *in vitro*) menggunakan lisat sel epitelium belum pernah dilakukan oleh peneliti lain. Ekstrak maggot sebagai antikanker leukemia kajiannya belum pernah ada sebelumnya sehingga menjadi kebaruan dari penelitian ini. Tujuan dari penelitian ini adalah mengeksplorasi dan mengevaluasi produk rekombinan PAM jenis CLP1 dari maggot serta mengevaluasi ekstrak maggot yang bersifat antikanker.

4.2 Bahan dan Metode

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium ilmu dan teknologi pakan (IPB University, Bogor, Indonesia) dan laboratorium biologi molekuler (Chiba University, Chiba, Jepang). Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2019 sampai Februari 2020. Kegiatan penelitian ini dilaksanakan di laboratorium biologi molekuler, sampel maggot yang diperoleh dari PT BioCycle (Bogor, Indonesia), dan preparasinya dilakukan di laboratorium ilmu dan teknologi pakan. Bahan dan peralatan dalam penelitian ini semuanya didanai oleh program kerja sama IPB University dan Chiba University sesuai dengan kesepakatan.

Langkah sintesis peptida CLP1 asal maggot dilakukan dengan urutan sebagai berikut (1) ekstraksi RNA, (2) pembuatan komplemen DNA (cDNA), (3) penggabungan cDNA CLP1 dengan fragmen T7-IRES-Kozak dari vektor pT7CFE1, dan (4) sintesis CLP1 menggunakan sistem *in vitro*. Langkah uji antikanker ekstrak maggot yakni (1) ekstraksi maggot menggunakan etanol dan akuades dan (2) uji antikanker ekstrak maggot menggunakan sel leukemia MOLT4 dan K562. Urain dari langkah kerja tersebut sesuai dengan pemaparan berikut ini.

4.2.1 Sampel dan Ekstraksi RNA dari Maggot

Sampel maggot yang diambil merupakan sampel yang dipelihara pada substrat bungkil sawit selama 3 minggu pemeliharaan. Kemudian sampel dipanen dan dipuaskan selama 24 jam untuk mengurangi residu substrat dan bahan makanan yang tercerna. Selanjutnya maggot dikeringkan menggunakan *freeze dryer*. Pengeringan dilakukan di laboratorium BB Litbang Pascapanen (Bogor, Indonesia). Lalu, sampel maggot disimpan pada suhu -20°C.

Sampel maggot diekstraksi menggunakan kit ekstraksi RNA dari FastGene (FG-81006) (FastGene® 2017). Sampel ditimbang sebesar 20 mg, kemudian ditambahkan 600 µL buffer lisis dan dihomogenisasi menggunakan vortex. Kemudian, lisat difiltrasi menggunakan kolom filter dan disentrifugasi (1 menit; 20-25°C; ≥ 10.000 g). Langkah sebelumnya diulang dengan menambahkan 600 µL etanol (70%). Proses selanjutnya adalah pengikatan RNA, 700 µL lisat diambil menggunakan kolom pengikat RNA dan disentrifugasi (1 menit; 20-25°C; ≥ 10.000 g). Berikutnya proses eliminasi protein, lisat ditambahkan buffer pencuci dan disentrifugasi (0,5 menit; 20-25°C; ≥ 10.000 g). Tahap akhir adalah desalinasi dan pencucian menggunakan buffer pencuci, yang diikuti dengan elusi RNA.

Kualitas dari RNA yang diperoleh diuji menggunakan spektrofotometer nano drop dengan membandingkan panjang gelombang 260 dan 280 nm. RNA yang memiliki kualitas baik memiliki rasio sebesar 2,0-2,1 (A260/A280). Skema ekstraksi RNA dan hasil uji nano drop terlampir pada Lampiran 4.

4.2.2 Pembuatan cDNA Attacin, CLP1, CLP2, CLP3, dan DLP4

RNA hasil ekstraksi digunakan untuk penggandaan menggunakan *polymerase chain reaction* (PCR). Primer dari CLP1 yang memiliki sekuen 5' GGT TGG CGG AAG AGG GTC TTC dan 3' TTA TCC TTG TTG TGG TGG TCC ACC TCG (Park dan Yoe 2017b). Program PCR diatur sebagai berikut transkripsi (30 menit; 50°C), denaturasi (2 menit; 94°C), *annealing* (0,5 menit; 55°C), ekstensi (0,5 menit; 72°C), dan 30 kali siklus. Hasil dari PCR kemudian dilakukan elektroforesis menggunakan gel agarosa 21 dan dimurnikan, sebelum disimpan pada -20°C. Langkah di atas diulang untuk peptida lain attacin, CLP2, CLP3, dan DLP4. Primer yang digunakan termaktub pada Tabel 4.1. Setelah diperoleh seluruh produk cDNA peptida tersebut, selanjutnya diuji ekspresi dan kelayakannya menggunakan gel agarosa S, produk cDNA yang bagus memiliki segaris pita yang jelas dan tak bertumpuk.

Tabel 4.1 Primer Attacin, CLP1, CLP2, CLP3, dan DLP4

No.	Peptida	Primer
1.	Attacin*	5' ATGGCATCGAAATTCTTAGGAAACCCC 3' 3' AAACCTATGGCTAAATCCTAACCTGC 5'
2.	CLP1**	5' GGTTGGCGGAAGAGGGTCTTC 3' 3' TTATCCTTGTGTGGTGGTCCACCTCG 5'
3.	CLP2**	5' GTTGGTGGAAAGAGGGTTTCAAGCCAG 3' 3' ATTATCCTTGTGTGGTGGTCCACCTC 5'
4.	CLP3**	5' TGGTTGGTGGAAAGAGAGTCTTCAAACC 3' 3' TATCCTTGTGTGGTGGTCCACCTCGA 5'
5.	DLP4*	5' GCAACCTGTGACCTGTTGAGCCCTTT 3' 3' CTATTCCGGCAGTTGCAAACAGCTCT 5'

Sumber: *Park *et al.* (2015) dan **(Park dan Yoe 2017b).

CLP = *cecropin-like peptide* dan DLP = *defensin-like peptide*.

Prosedur pembuatan primer pada Lampiran 5.



4.2.3 Penggabungan cDNA CLP1 dengan Fragmen T7-IRES-Kozak dari Vektor pT7CFE1

cDNA dari CLP1 yang terpilih digabungkan dengan fragmen T7-IRES-Kozak. Penggabungan ini dilakukan dengan melakukan tumpang tindih pada fragmen T7-IRES-Kozak pada daerah *overlapping* (Kozak 2005). Rancangan sense dan antisense di dalam Tabel 4.2 merupakan rekombinan cDNA CLP1 yang akan digabungkan dengan fragmen T7-IRES-Kozak, dengan area *overlapping* sebagai area tumpang tindihnya. Program PCR yang digunakan untuk mengamplifikasi rekombinan cDNA CLP1 sesuai Tabel 4.2 adalah sebagai berikut denaturasi (0,5 menit; 94°C), *annealing* (0,5 menit; 55°C), ekstensi (1 menit; 68°C), final ekstensi (5 menit; 72°C), dan 30 kali siklus. Fragmen T7-IRES-Kozak dibuat dengan primer T7 dan IRES pada Tabel 4.2. Kemudian, diamplifikasi menggunakan program PCR yakni denaturasi (0,5 menit; 95°C), *annealing* (0,5 menit; 48-68°C), ekstensi (1 menit; 68°C), final ekstensi (5 menit; 72°C), dan 30 kali siklus. Setelah itu, kualitas rekombinan CLP1 dan fragmen T7-IRES-Kozak diuji dengan gel agarosa S. Kemudian, kedua produk PCR tersebut digabungkan.

Penggabungan rekombinan CLP1 dan fragmen T7-IRES-Kozak dilakukan dalam dua tahapan PCR. Rekombinan CLP1 diamplifikasi pertama kali menggunakan PCR yang diatur sebagai berikut denaturasi (0,5 menit; 95°C), *annealing* (0,5 menit; 45-68°C), ekstensi (1 menit; 68°C), final ekstensi (5 menit; 68°C), dan sebanyak 10 kali siklus. Selanjutnya, fragmen T7-IRES-Kozak ditambahkan dan dijalankan pada program PCR yang sama dengan 30 kali siklus tambahan (Lampiran 5). Produk akhir berupa fragmen T7-IRES-Kozak-CLP1 yang langsung diaplikasikan untuk ekspresi peptida menggunakan *1-step in vitro translation system* (sistem IVT).

Tabel 4.2 Rancangan primer CLP1 yang akan disisipkan pada dengan fragmen T7-IRES- Kozak

No. Bagian	Sekuen	Keterangan
1. Sense	5' GATGATAATATGCCACCACCCAT ATG GGTGGCGGAAGAGGG 3'	Area <i>overlapping</i> kodon start CLP1
2. Antisense	5' TTTTTTTTTTT TTTTTTTT ATGGTGATGGTGATGATG CTATCCTTGTTGTGGTGGTCC 3'	Sekuen poli A <i>His-tagged</i> CLP1
3. T7	5' AACGACGGCCAGTGAATTGTAATA	
4. IRES <i>reverse</i>	5' ATG GTGGTGGCCATATTATCATC	



4.2.4 Ekspresi Peptida Menggunakan Sistem 1-Step IVT - DNA

Prosedur ekspresi peptida menggunakan sistem *1-step IVT* (*1-step in vitro protein expression systems*) sebagai berikut (ThermoFisher 2014). Sebanyak 2 μ L cDNA CLP1 dicampurkan dengan lisat sel HeLa (epitel manusia) 12,5 μ L, bahan sintesis protein 2,5 μ L, dan akuades bebas nuklease 3 μ L. Kemudian, campuran direaksikan pada 30°C selama 90 menit. Produk protein target yang diperoleh selanjutnya dapat disimpan pada -20°C sebelum dilakukan uji kualitatif penentuan ekspresi protein tersebut atau langsung dilakukan pengujian tersebut. Selanjutnya, ekspresi protein diuji menggunakan SDS-PAGE, dot blot, dan mikroskop fluoresen. Sebagai kontrol positif digunakan *green fluorescent protein*, kontrol negatif tanpa produk rekombinan protein, dan perlakuan yaitu peptida CLP1 asal maggot.

Ekspresi protein diuji menggunakan *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis* (SDS-PAGE). Sebesar 1 μ L protein CLP1 ditambahkan buffer SDS 9 μ L dan diinjeksikan pada kolom SDS-PAGE. Sampel dijalankan selama 25 menit pada alat elektroforesis. Setelah proses elektroforesis selesai, kemudian gel diambil dan diberi pewarna *Commasie Brilliat Blue*. Terakhir gel dibilas menggunakan akuades dan diamati hasilnya. Prosedur lain untuk melihat ekspresi protein dengan menggunakan mikroskop fluoresen. Sampel peptida CLP1 diambil dan diletakkan pada preparat, kemudian diamati pada ruangan gelap. Dot blot juga digunakan untuk mengamati ekspresi protein. Dot blot atau slot blot dilakukan dengan menambahkan his-antibodi 1 μ L mL⁻¹ sampel protein CLP1. Langkah selanjutnya dengan inkubasi selama 1 jam pada membran polivinilidena fluorida. Perubahan warna menjadi biru terhadap reagen *western blue* mengindikasikan ekspresi protein dapat dideteksi. Hasil ketiga pengujian tersebut diolah datanya menggunakan imageJ. interpretasi yang dilakukan merupakan interpretasi kualitatif terhadap ketiga hasil uji tersebut.

4.2.5 Ekstraksi Maggot dengan Etanol dan Akuades

Maggot diekstrak menggunakan pelarut etanol dan akuades. Sebanyak 1:1 (b/v) maggot diekstrak menggunakan pelarut etanol dan akuades secara terpisah. Prosedur ekstraksi adalah sampel yang telah dicampurkan pelarut dihancurkan dan dilumatkan menggunakan pin. Selanjutnya sampel dihomogenisasi dengan vortex. Ekstrak dipisahkan dengan endapan dengan jalan sentrifugasi pada 5.000 g selama 2 menit untuk ekstrak etanol dan 1 menit untuk ekstrak akuades. Selanjutnya, ekstrak dikeringkan menggunakan metode refluks untuk ekstrak etanol selama 6-8 jam dan penerangan beku untuk ekstrak akuades selama 24 jam. Prosedur ekstraksi maggot terlampir pada Lampiran 6. Hasil kedua ekstrak kemudian digunakan untuk analisis antikanker.

4.2.6 Uji Antikanker Menggunakan Sel Leukimia MOLT4 dan K562

Sel kanker yang digunakan dalam penelitian ini adalah MOLT4 (leukemia limfoblastik akut) dan K562 (leukemia myelogenous kronis). Uji antikanker ini

menggunakan 96 *cell wall counting*. Sebanyak 1×10^4 sel dalam 50 μL dicampurkan dengan 50 μL Roswell Park Memorial Institute medium (RPMI) 1640 dan ekstrak (1:4 v/v) ke dalam 2 % *fetal bovine serum* (FBS). Setelah inkubasi 48 jam, diukur densitas optik (OD) pada panjang gelombang 450 nm menggunakan pembaca pelat mikro MTP-450 (Corona Electric, Jepang). Gambaran uji sitotoksitas pada Lampiran 7. Penghambatan pertumbuhan sel ditentukan dengan menggunakan rumus berikut:

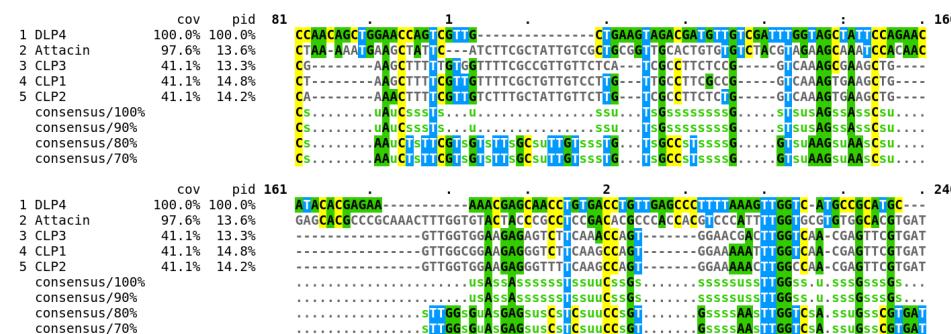
$$1) \quad Penghambatan(\%) = \left| \frac{OD \text{ Kontrol} - OD \text{ Perlakuan}}{OD \text{ Kontrol}} \right|$$

Nilai IC50 ditentukan dengan regresi linier antara (X) konsentrasi ekstrak dan (Y) penghambatan pada saat 50% populasi sel mati (Karwati *et al.* 2015; Priyanto *et al.* 2017). Perlakuan uji antikanker terdiri dari antikanker ekstrak etanol terhadap (i) MOLT4 dan (ii) K562 dan ekstrak akuades terhadap (i) MOLT4 dan (ii) K562, masing-masing perlakuan diulang sebanyak tiga kali.

4.3 Hasil dan Pembahasan

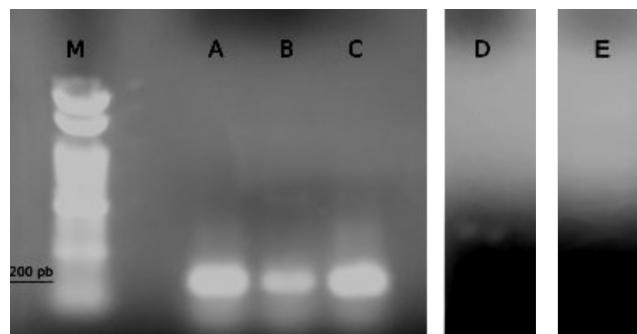
4.3.1 Produk Rekombinan CLP1

Pengurutan berganda antar cDNA peptida attacin, CLP1, CLP2, CLP3, dan DLP4 menggunakan CLUSTAL O versi 1.2.4 tertera pada Gambar 4.1 dan lengkapnya pada Lampiran 8 (Park *et al.* 2015; Park dan Yoe 2017b). Peptida attacin memiliki 971 pb dengan komposisi tiamin (T), sitosin (S), adenin (A), dan guanin (G) sebesar 25,1; 22,9; 27,6; dan 24,4% masing-masing secara berurutan. CLP1 terdiri dari T=26,7; S=21; A=23,8; dan G=28,6% dengan 210 pb. CLP2 tersusun atas T=27,1; S=20,5; A=26,7; dan G=25,7% yang membentuk 210 pb.



Gambar 4.1 Urutan cDNA DLP4, attacin, CLP3, CLP1, dan CLP2 (Park *et al.* 2015; Park dan Yoe 2017b)

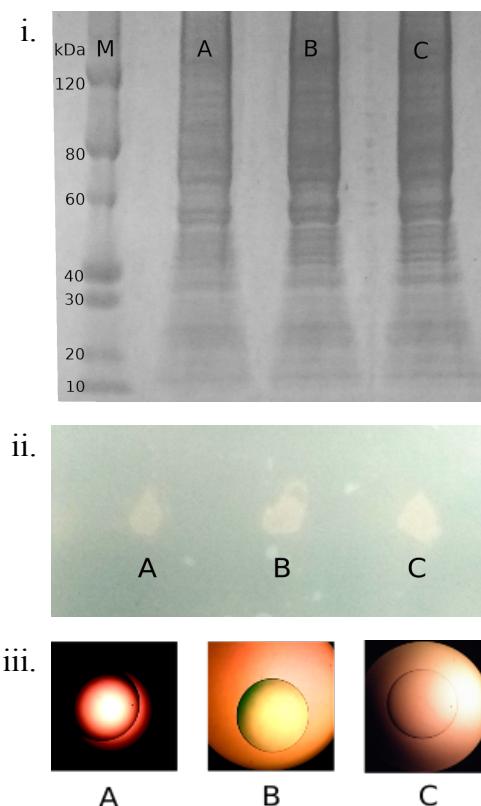
CLP3 memiliki komponen T=25,2; S=21,9; A=26,2; dan G=26,7% dan membentuk untaian sepanjang 210 pb. Terakhir, DLP4 terbentuk dari T=22; S=22; A=28; dan G=27,2% sepanjang 246 pb. Hasil penggandaan cDNA attacin, CLP1, CLP2, CLP3, dan DLP4 dari maggot disajikan pada Gambar 4.2. Ketiga jenis cecropin terdeteksi sedangkan attacin dan DLP4 tidak terdeteksi.



Gambar 4.2 Produk PCR dari cDNA CLP1 (A), CLP2 (B), CLP3 (C), Attacin (D), dan DLP4 (E) dan marker ladder (M)

Cecropin memiliki pita yang jelas, hal ini mengindikasikan bahwa peptida tersebut terekspresikan pada maggot. Sampel maggot yang dipelihara pada substrat bungkil sawit memicu terbentuknya cecropin. Peptida antimikroba ekspresinya dipengaruhi oleh lingkungan, maggot yang dipelihara pada substrat yang berbeda menyebabkan keragaman ekspresi peptida antimikroba (Vogel *et al.* 2018). Perbedaan lingkungan juga menyebabkan perbedaan kuantitas ekspresi dari PAM. Substrat kaya minyak meningkatkan ekspresi cecropin sebanyak 178 kali pada maggot (Vizioli *et al.* 2000; Park dan Yoe 2017b; Vogel *et al.* 2018). Temuan dari penelitian ini agaknya berbeda dari temuan terdahulu bahwa maggot yang dipelihara pada substrat kaya serat seperti kitin, selulosa, dan lignin meningkatkan ekspresi defensin dan attacin (Vogel *et al.* 2018).

Hasil sintesis protein CLP1 tertera pada Gambar 4.3, bahwa CLP1 tidak terdeteksi berdasarkan metode SDS-PAGE, mikroskop fluoresen, dan dot blot. Kondisi ini memiliki arti jika kadar sintesis protein yang dilakukan tidak sesuai dengan dugaan awal. Beberapa faktor yang mempengaruhi kondisi ini adalah bahan metode deteksi yang kurang sensitif, oleh karena itu, dapat dilakukan modifikasi penggunaan gel, kuat arus listrik, lama paparan arus listrik terhadap gel, alternatif antibodi *his-tagged*, dan faktor lainnya pada SDS-PAGE dan dot blot. Ukuran peptida CLP1 sebesar 4,84 kDa (Park dan Yoe 2017b). *Green fluorescent* protein sebagai kontrol positif berhasil terekspresi dengan adanya warna hijau jika diamati dengan mikroskop fluoresen. Uji dot blot CLP1 juga tidak terdeteksi, walaupun cDNA CLP1 telah disisipkan *his-tagged*, tetapi his-antibodi tidak berubah menjadi biru. Kemungkinan disebabkan oleh ekspresi dari CLP1 yang sedikit ataupun memang *his-tagged* tidak bereaksi dengan antibodi (Debeljak *et al.* 2006). Tindak lanjut yang dilakukan jika kondisi ini terjadi adalah dengan melakukan modifikasi *his-tagged* atau mencari alternatif marker lainnya.

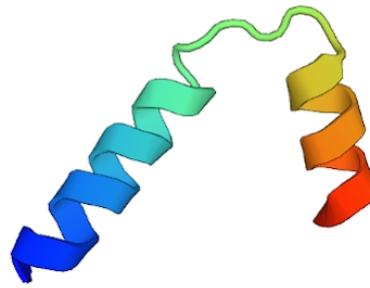


Gambar 4.3 Deteksi peptida CLP1 menggunakan SDS-PAGE (i), dot blot (ii), dan mikroskop fluoresen (iii, perbesaran 100 kali) dengan perlakuan (A) kontrol negatif, (B) *green fluorescent* protein, dan peptida CLP1

Peptida CLP1 termasuk dalam α -heliks peptida (Gambar 4.4). Peptida ini memiliki dua gugus α -heliks yang memiliki sekuen sebagai berikut gugus pertama (RKRVFKPVEKFGQRVRDAGVQ) dan gugus kedua (GIAIAQQGANV). CLP1 memiliki konsentrasi hambat minimum terhadap *Escherichia coli* (KCCM 11234) 0,52–1,03 μ M, *Enterobacter aerogenes* (KCCM 12177) 1,03–2,07 μ M, dan *Pseudomonas aeruginosa* (KCCM 11328) 1,03–2,07 μ M (Guex *et al.* 2009; Park dan Yoe 2017b).

Fragmen T7-IRES-Kozak merupakan bagian dari vektor pT7CFE1 (3627 pb) yang berguna untuk mengoptimalkan translasi protein (Mizuguchi *et al.* 2000). T7 adalah polimerase RNA dari bakteriofag. Polimerase RNA bakteriofag ideal untuk reaksi transkripsi *in vitro* karena efisiensinya yang tinggi dan strukturnya yang relatif sederhana (de Felipe *et al.* 2006). *Internal ribosome entry site* (IRES) berasal dari virus Encephalomyocarditis (EMCV). Struktur sekunder dari IRES memungkinkan pengikatan ribosom yang efisien ke mRNA dan inisiasi translasi. Properti ini memungkinkan tingkat ekspresi protein yang tinggi dari mRNA yang mengandung IRES. Semua mRNA polimerase dari T7 akan ditingkatkan tingkat ekspresi proteinnya oleh IRES. Fragmen Kozak dalam mRNA eukariotik memainkan peran utama dalam proses inisiasi translasi. Jika

IRES berfungsi sebagai tempat pengikatan ribosom, sedangkan Kozak membantu mengarahkan ribosom ke kodon ATG yang benar untuk inisiasi translasi (Trichas *et al.* 2008). Frama CLP1 yang digabungkan dengan T7-IRES-Kozak disajikan pada Lampiran 5 bagian b.



Gambar 4.4 Model tiga dimensi CLP1 maggot, warna biru ke warna merah merupakan N-terminal dan C-terminal (Park dan Yoe 2017b)

4.3.2 Aktivitas Antikanker Ekstrak Maggot

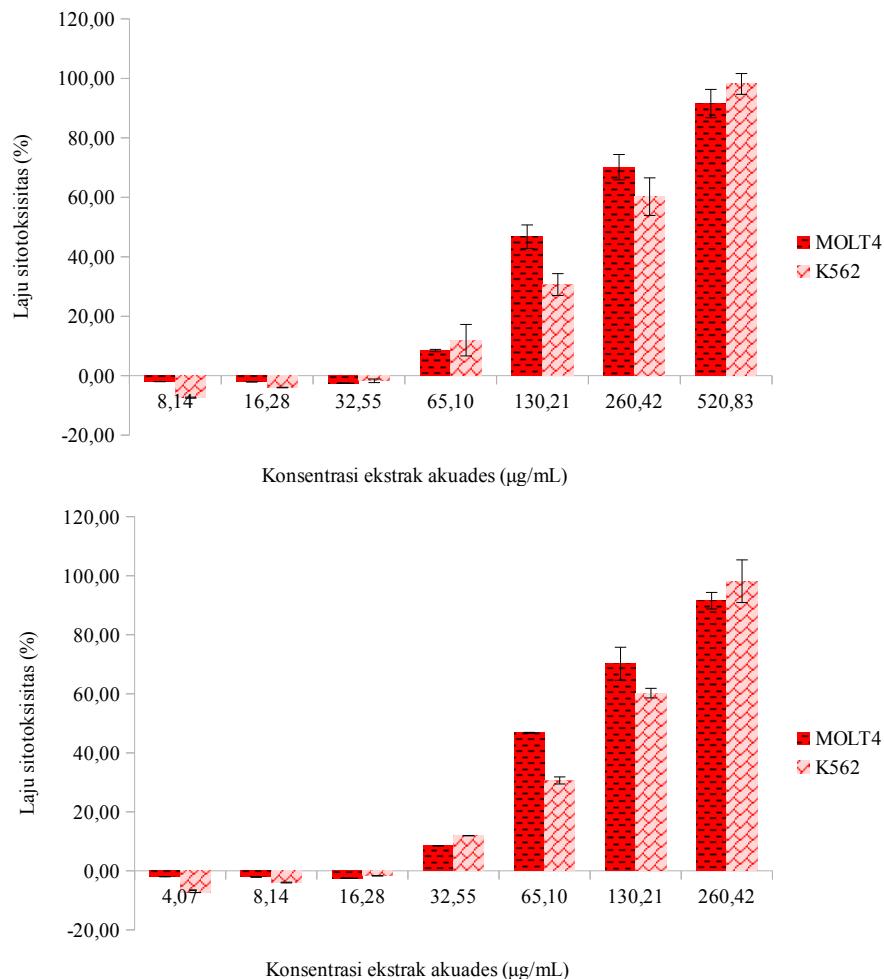
Aktivitas antikanker cecropin serangga telah banyak dilaporkan di beberapa artikel. Peptida antimikroba lainnya yang memiliki aktivitas antikanker adalah defensin dan golongan peptida kaya prolin (Li *et al.* 2012; Hao Xiao *et al.* 2015; Gadde *et al.* 2017; Li *et al.* 2017; Wu *et al.* 2018). Demikian pula dengan ekstrak kasar maggot yang memiliki aktivitas antikanker sesuai dengan Gambar 4.5 dan 3.6, nilai IC₅₀ sebesar 123; 114; 204; dan 246 µg mL⁻¹ masing-masing untuk ekstrak akuades (MOLT4 dan K562) dan ekstrak etanol MOLT4 dan K562 secara berurutan. Produk ekstrak kasar bakteri yang berasosiasi dengan spons laut memiliki IC₅₀ berkisar 300 µg mL⁻¹ terhadap sel MOLT4 (Karwati *et al.* 2015; Priyanto *et al.* 2017).

Ekstrak akuades maggot dapat menekan pertumbuhan sel MOLT4 dan K562 lebih dari 90% pada konsentrasi 260 µg mL⁻¹. Sifat beberapa protein dari maggot yang larut akuades merupakan senyawa PAM yang bersifat antimikroba dan bersifat antikanker (Li *et al.* 2012). Produk ekstrak etanol dari maggot merupakan senyawa yang bersifat seperti lemak berupa lipida-lipida. Ekstrak etanol menekan pertumbuhan sel kanker lebih dari 90% (MOLT4 dan K562) dengan konsentrasi 521 dan 260 µg mL⁻¹. Hal ini mengindikasikan bahwa peptida cecropin yang terkonfirmasi sebelumnya diduga juga memiliki peran sitotoksitas tersebut. Sesuai temuan terdahulu jika cecropin merupakan peptida yang bersifat hidrofobik dan lebih banyak berada pada bagian lemak tubuh dari serangga (Park dan Yoe 2017b; Brady *et al.* 2019; Zdybicka-Barabas *et al.* 2019).

Nilai IC₅₀ menggambarkan 50% sel kanker yang tertekan pertumbuhannya akibat interaksinya dengan senyawa antikanker. Sitotoksitas dikelompokkan menjadi tiga yaitu sitotoksik potensial jika IC₅₀ < 100 µg mL⁻¹, sitotoksik moderat jika 100 µg mL⁻¹ < IC₅₀ < 1000 µg mL⁻¹ dan tidak toksik jika IC₅₀ > 1000 µg mL⁻¹.

IRES berfungsi sebagai tempat pengikatan ribosom, sedangkan Kozak membantu mengarahkan ribosom ke kodon ATG yang benar untuk inisiasi translasi (Trichas *et al.* 2008). Frama CLP1 yang digabungkan dengan T7-IRES-Kozak disajikan pada Lampiran 5 bagian b.

(Yun *et al.* 2017). Perhitungan Nilai IC50 terlampir pada Lampiran 9. Ekstrak etanol menyebabkan penghambatan terhadap mitosis sel kanker dan dikategorikan sebagai sitotoksitas moderat (Lampiran 10 dan 11 bagian a.). Senyawa dalam kategori sitotoksitas moderat dimanfaatkan sebagai kemoprevensi untuk mencegah dan menghambat pertumbuhan sel kanker (Mishra *et al.* 2011; Saboo *et al.* 2012).

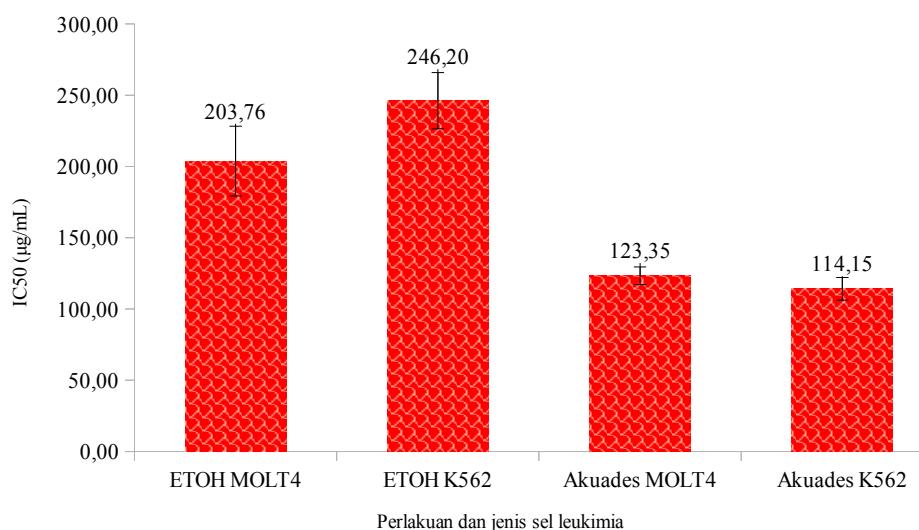


Gambar 4.5 Sitotoksitas ekstrak etanol dan aquades maggot

Terlihat bahwa plak lemak menyebar pada medium dan menghambat pergerakan sel sekaligus menghalangi mekanisme transfer nutrien dari medium ke dalam sel. Ekstrak aquades tidak memiliki mekanisme yang sama dengan ekstrak etanol terlihat pada Lampiran 10 dan 11 bagian b., tetapi mekanisme yang menjadi sebab terhambatnya pertumbuhan sel kanker tidak begitu jelas teramat.

Ekstrak kasar maggot memiliki aktivitas antikanker leukemia. Walaupun tidak dapat dijelaskan secara terperinci bahwa ekstrak ini berasosiasi kuat dengan cecropin. Penjabaran lainnya dari literatur bahwa cecropin berasosiasi dengan lemak tubuh maggot sehingga dapat diduga jika PAM ini memiliki aktivitas

antikanker (Sharma *et al.* 2019). Selain cecropin, dapat diduga pula jika peptida lain yang larut akuades juga memberikan sumbangsih terhadap aktivitas antikanker. Peptida antimikroba BMAP-28, beta defensin, lakoferisin B, LL-37, magainin-2, melittin, dan tachyplesin I dilaporkan memiliki aktivitas antikanker (Hoskin dan Ramamoorthy 2008).



Gambar 4.6 Nilai IC50 ekstrak etanol dan akuades maggots

Tachyplesin I ($\text{KWC}_1\text{FRVC}_2\text{YRGIC}_2\text{YRRC}_1\text{R}$; β -sheet) mengikat hyaluronan dan mengaktifkan komplemen (C1q) antiangiogenik serta mencegah menginduksi diferensiasi sel kanker (Hoskin dan Ramamoorthy 2008; Yun *et al.* 2017). Temuan lain bahwa melittin ($\text{GIGAVLKVLTTGLPALISWIKRKRQQ}$; α -heliks) mengaktivasi fosfolipase A2, D, dan bersifat membranolitik.

4.4 Simpulan

Peptida hasil rekombinan tidak terdeteksi menggunakan SDS-PAGE, dot blot, dan mikroskop fluoresen. Ekstrak etanol maggots memiliki IC50 sebesar 204 dan $246 \mu\text{g mL}^{-1}$ masing-masing pada sel leukemia MOLT4 dan K562. Ekstrak akuades maggots memiliki IC50 sebesar 123 dan $114 \mu\text{g mL}^{-1}$ masing-masing pada sel leukemia MOLT4 dan K562. Ekstrak akuades dari maggots merupakan ekstrak terbaik sebagai bahan antikanker. Selain itu, kedua ekstrak ini diduga memiliki kandungan peptida antimikroba, sehingga dapat digunakan sebagai alternatif antibiotik imbuhan pakan.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

V PENGARUH PEMBERIAN PEPTIDA ANTIMIKROBA TERHADAP PERFORMA PERTUMBUHAN AYAM BROILER: META-ANALISIS

5.1 Pendahuluan

Antibiotik imbuhan pakan (AIP) banyak digunakan di industri perunggasan karena meningkatkan efisiensi pakan, tetapi bahan tersebut menimbulkan resistensi dan residu pada broiler (FAO dan IFIF 2010; Anom 2019; Bronzwaer *et al.* 2019). Oleh sebab itu, diperlukan alternatif baru seperti peptida antimikroba (PAM) (Hao Xiao *et al.* 2015; Wang *et al.* 2016). PAM adalah peptida yang tersusun dari 4 hingga 99 asam amino, kebanyakan kationik kuat, tahan panas (100 °C, 15 menit), bobot molekul (mulai dari 2,5 kDa atau bahkan lebih dari 10 kDa seperti attacin), tidak menimbulkan residu, dan tidak berpengaruh terhadap sel eukariota (Li *et al.* 2012; Bahar dan Ren 2013; Hao Xiao *et al.* 2015).

PAM memiliki sifat germisidal terhadap bakteri gram positif, bakteri gram negatif, fungi, virus, faga, dan endoparasit (Kim *et al.* 2016; Li *et al.* 2017). Interaksi dan aksi PAM dengan mikroba patogen adalah disintegrasi permukaan sel melalui perusakan membran sel dan sistem transpor nutrien ke dalam sel. Selain itu, PAM juga merusak mekanisme di dalam sel dengan mengganggu proses transkripsi DNA, translasi RNA, sintesis protein, dan oksidasi tingkat sel (Lai dan Gallo 2009; Hao Xiao *et al.* 2015; Wang *et al.* 2016). PAM memberikan pertahanan yang efektif, namun tidak spesifik terhadap infeksi (Wang *et al.* 2016). Sumber PAM berasal dari mamalia (mis., defensin, kolostrum, laktiferin), amfibi (mis., magainin), serangga (mis., cecropin dan deptirisin), tanaman (mis., thionin), mikroba (mis., gramisidin dan nisin), dan produk rekombinan (mis., mikrosin J25, cecropinA(1-8)-magainin2(1-12), dan Sarkotosin IA) (Skosyrev *et al.* 2003b; Hao Xiao *et al.* 2015). Sampai saat ini lebih dari 22,533 PAM yang berhasil diidentifikasi (berdasarkan residu asam amino) dari berbagai sumber data penelitian (Bahar dan Ren 2013; Zhao *et al.* 2013; Li *et al.* 2017).

PAM pada broiler diberikan melalui campuran pakan, air minum, dan injeksi melalui darah. Pengaplikasian PAM pada pakan berupa campuran (mis., bioaktif peptida sesame dan protein kentang) ataupun senyawa murni (mis., PAM-P3; PAM-A3; cecropi) (Ohh *et al.* 2009; Wen dan He 2012; Choi *et al.* 2013A; 2013b; Salavati *et al.* 2019). PAM memberikan efek yang signifikan terhadap performa broiler pada fase starter dan finisher (Choi *et al.* 2013a). Temuan lainnya PAM memperbaiki morfologi usus halus dari broiler sehingga kecernaan dan transpor nutrien meningkat (Wen dan He 2012; Choi *et al.* 2013b; Abdel-Latif *et al.* 2017). Namun, terdapat pula hasil penelitian yang tidak selaras dengan temuan sebelumnya, perbedaan inilah yang harus diverifikasi menggunakan meta-analisis (St-Pierre 2001; Sauvant *et al.* 2008). Oleh sebab itu, tujuan penelitian ini untuk merangkum dan menentukan pengaruh pemberian peptida antimikroba terhadap performa, kecernaan nutrien, morfologi usus halus, serum darah, jumlah bakteri, respons imun, dan aktivitas antioksidan dari broiler melalui kajian meta-analisis dari berbagai sumber publikasi ilmiah.

5.2 Bahan dan Metode

5.2.1 Tabulasi Data

Topik literatur yang terangkum dalam data adalah pengaruh penambahan PAM (mg kg^{-1} dari pakan) terhadap performa pertumbuhan, kecernaan, morfologi usus halus, dan serum darah broiler. Tahun literatur yang digunakan dibatasi antara 2005 sampai 2020. Peptida yang termaktub dalam meta-analisis adalah peptida ribosomal termasuk lakoferin, lisozim, potamin, dan peptida lain seperti (kanola, kedelai, racun lebah, dan biji sesame). Pencarian dan penghimpunan literatur dilakukan menggunakan mesin pencari google scholar, pubmed, dan science direct serta menggunakan kombinasi kata kunci “aktivitas antioksidan”, “broiler”, “jumlah bakteri”, “kecernaan”, “morfologi usus halus”, “peptida antimikroba”, “performa”, “respons imun”, dan “serum darah”. Terhimpun sebanyak 15.669 artikel dalam keempat mesin pencari. Temuan dari science direct dan pubmed ada sebanyak 174 artikel *review*, 428 artikel ilmiah, 178 buku, dan 577 artikel lainnya. Setelah melakukan seleksi, maka diperoleh 43 artikel yang relevan. Kriteria dari literatur yang termasuk dalam data ini adalah dilaporkannya aktivitas antioksidan, pengukuran dan perhitungan jumlah bakteri, kecernaan nutrien, level penambahan PAM, performa pertumbuhan, morfologi usus halus, atau serum darah dari broiler. Selanjutnya dilakukan evaluasi abstrak dan evaluasi keseluruhan artikel, sebanyak 29 artikel (yang terdiri dari 36 percobaan dan 111 data) memenuhi kriteria tersebut (Tabel 5.1). Kajian meta-analisis ini mengikuti protokol PRISMA-P untuk tinjauan sistematis dan meta-analisis (Gambar 5.1) (Shamseer *et al.* 2015).

Seperti yang terangkum pada Tabel 5.1, level penambahan PAM berkisar antara 0 (kontrol) sampai 600 mg kg^{-1} dari pakan. PAM berasal dari purifikasi jaringan hewan (seperti peptida usus babi, lakoferin dan racun lebah), produk rekombinan (seperti mikrosin J25, PAM-A3 dan PAM-P5) dan ekstrak protein tumbuhan (seperti bioaktif peptida dari kanola, sesame, dan kedelai). Fase pemeliharaan terdiri dari starter (kisaran antara 1-21 hari) dan finisher (kisaran antara 22-42 hari), juga dilaporkan total pemeliharaan dari broiler. Jenis broiler yang termasuk dalam data ini yaitu Arbor Acres, Cobb 500, Lingnan, Lohmann, Hubbard, dan ROSS 308.

Parameter dalam data ini antara lain performa (mis., bobot badan (BB), pertambahan bobot badan harian (PBBH), konsumsi pakan harian (KPH), *feed conversion ratio* (FCR), dan mortalitas), kecernaan (mis., kecernaan bahan kering (KBK), kecernaan protein kasar (KPK), *apparent metabolizable energy* (AME), dan kecernaan lemak kasar (KLK)), morfologi usus halus (mis., ketebalan mukosa, tinggi villus, kedalaman kripta, dan ratio tinggi villus per kedalaman kripta (RTVK)), serum darah (mis., total protein, albumin, globulin, rasio albumin-globulin (RAG), kolesterol, triglicerol, kreatinin, dan asam urat), jumlah bakteri (mis., *Clostridium* spp., koliform, *Escherichia coli*, bakteri asam laktat (BAL), dan total bakteri aerob (TAB)), respons imun (mis., imunoglobulin A (IgA), imunoglobulin M (IgM), CD3, CD4, titer antibodi, indeks bursal, indeks limpa, indeks timus), dan aktivitas antioksidan (mis., total superoksida dismutase (TSOD), total aktivitas antioksidan (TAA), dan superoksida dismutase (SOD)).

Tabel 5.1 Literatur yang dipergunakan dalam meta-analisis dari efek pemberian peptida antimikroba (mg kg^{-1} dari pakan) terhadap performa, kecernaan, morfologi usus halus, dan serum darah broiler

No.	Literatur	Peptida antimikroba	Level	Starter	Finisher
1.	Abdel-Latif <i>et al.</i> (2017)	Lisozim	0-120	1-21	22-35
2.	Aguirre <i>et al.</i> (2015)	Laktoferin sapi	0-520	1-28	29-42
3.	Ali dan Mohanny (2014)	Racun lebah	0-1,5	1-21	22-42
4.	Bai <i>et al.</i> (2019)	Cecropin	0-600	1-21	22-42
5.	Bao <i>et al.</i> (2009)	Peptida usus babi	0-200	1-21	22-42
6.	Choi <i>et al.</i> (2013a)	PAM-A3	0-90	1-21	22-35
7.	Choi <i>et al.</i> (2013b)	PAM-P5	0-60	1-21	22-35
8.	Daneshmand <i>et al.</i> (2019a)	Laktoferin unta	0-20	1-10	11-24
9.	Daneshmand <i>et al.</i> (2019b)	Laktoferin unta-36	0-20	1-22	-
10.	Enany <i>et al.</i> (2017)	Laktoferin	0-250	-	-
11.	Geier <i>et al.</i> (2011)	Laktoferin sapi	0-500	1-24	25-32
12.	Gong <i>et al.</i> (2017)	Lisozim	0-100	1-24	25-35
13.	Han <i>et al.</i> (2010)	Racun lebah	0-1	1-28	-
14.	Hu <i>et al.</i> (2010)	Glukagon-2	0-0,33	1-21	-
15.	Jiang <i>et al.</i> (2009)	Peptida kedelai	0-200	1-28	29-49
16.	Karimzadeh <i>et al.</i> (2016)	Peptida kanola	0-250	1-28	29-42
17.	Karimzadeh <i>et al.</i> (2017a)	Peptida	0-250	1-28	29-42
18.	Karimzadeh <i>et al.</i> (2017b)	Peptida kanola	0-250	1-28	29-42
19.	Kim <i>et al.</i> (2018)	Racun lebah	0-0,5	1-21	-
20.	Liu <i>et al.</i> (2010)	Lisozim	0-40	1-14	15-28
21.	Ohh <i>et al.</i> (2009)	Potamin-1	0-600	1-21	22-42
22.	Ma <i>et al.</i> (2020)	Rekombinan plectasin	0-200	1-21	22-42
23.	Salavati <i>et al.</i> (2019)	Peptida sesame	0-150	1-24	25-35
24.	Torki <i>et al.</i> (2018)	Lisozim	0-40	14-28	29-33
25.	Wang <i>et al.</i> (2009)	Peptida usus babi	0-0,1	-	-
26.	Wang <i>et al.</i> (2015)	Sublancin	0-11,52	1-21	22-28
27.	Wang <i>et al.</i> (2020)	Mikrosin J25	0-1	1-21	22-42
28.	Wen dan He (2012)	Cecropin AD-asp	0-8	14-28	29-42
29.	Zhang <i>et al.</i> (2010)	Lisozim	0-200	1-28	-

PAM = peptida antimikroba.

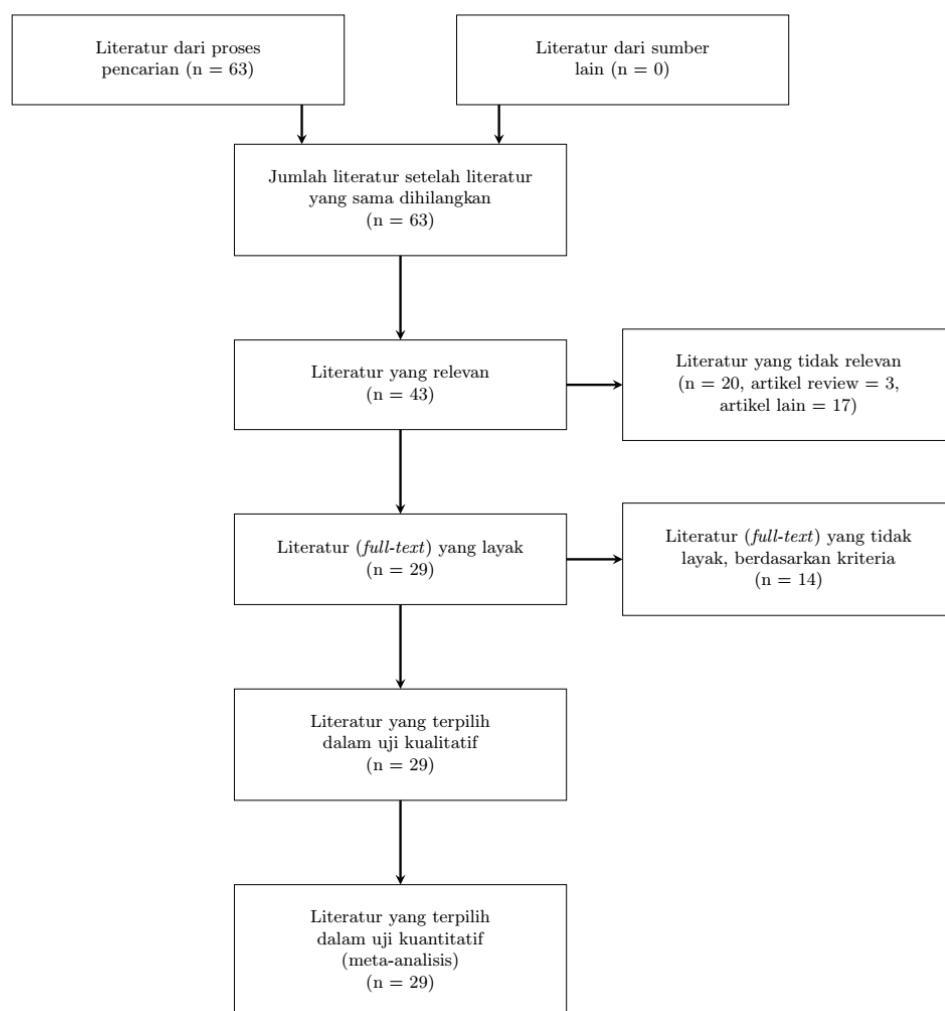
5.2.2 Analisis Data

Model matematika dari *linier mixed model* (LMM) (St-Pierre 2001; Sauvant *et al.* 2008) adalah sebagai berikut.

$$2) Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 Level_{ij} + Eksperimen_i + Eksperimen_i Level_{ij} + e_{ij}$$

$$3) Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 Level_{ij} + \beta_2 Level_{ij}^2 + Eksperimen_i + Eksperimen_i Level_{ij} + e_{ij}$$

Keterangan simbol 1) model matematika LMM orde 1, 2) model matematika LMM orde 2, efek tetap = $\beta_0 + \beta_1 Level_{ij}$ (ordo 1) dan $\beta_0 + \beta_1 Level_{ij} + \beta_2 Level_{ij}^2$ (ordo 2), efek acak = $Eksperimen_i + Eksperimen_i Level_{ij}$ (ordo 1 dan 2), Y_{ij} = variabel terikat, β_0 = nilai ketika level berpotongan dengan sumbu Y untuk semua kombinasi efek acak, β_1 = koefisien level orde 1, β_2 = koefisien level orde 2, $Level_{ij}$ = penambahan level terhadap efek acak, $Eksperimen_i$ = percobaan ke-i, e_{ij} = galat model. Metode estimasi parameter konstanta menggunakan metode *maximum likelihood*.



Gambar 5.1 Skema pemilihan dan seleksi literatur untuk meta-analisis (Shamseer et al. 2015)

Perbedaan percobaan dikelompokkan menjadi efek acak dan level penambahan PAM sebagai efek tetap. Model statistik yang digunakan adalah nilai

P, *root mean square errors* (RMSE), dan *akaike information criterion* (AIC). Pernyataan signifikan jika nilai P kurang dari sama dengan 0,05, jika nilai P antara 0,05 dan 0,1, maka memiliki kecenderungan signifikan. Data dianalisis menggunakan script yang dibangun dengan software R versi 3.6.3 serta library “nlme” (Gałecki dan Burzykowski 2013; Pinheiro *et al.* 2020; R Core Team 2020). Jumlah data observasi dari tiap parameter jika kurang dari 5, maka akan dieliminasi.

5.3 Hasil dan Pembahasan

5.3.1 Pengaruh Penambahan PAM terhadap performa dari Broiler

Efek PAM terhadap performa dari broiler disajikan di Tabel 5.2. performa dari broiler pada semua fase seperti BB, PBBH, dan FCR nyata diperbaiki dengan peningkatan level PAM ($P<0,05$; Tabel 5.2). Efek PAM tersebut mengikuti pola kuadratik. Broiler starter, level PAM untuk menghasilkan performa optimum (seperti BB, PBBH, dan FCR) secara berurutan adalah 337; 346; dan 337 mg kg⁻¹ dengan prediksi produktivitas sebesar 960 g; 40,6 g e⁻¹ h⁻¹; dan 1,43 secara berurutan ($P<0,05$). Broiler finisher, level PAM dan produktivitas optimum untuk BB, PBBH, dan FCR adalah (Level: 352 mg kg⁻¹; Hasil: 2260 g), (360 mg kg⁻¹; 76,6 g e⁻¹ h⁻¹), dan (359 mg kg⁻¹; 1,96), secara berurutan ($P<0,05$). Sedangkan pada total fase adalah 351; 412; dan 371 mg kg⁻¹ dengan perkiraan produktivitas sebesar 1935 g; 60 g e⁻¹ h⁻¹; dan 1,73 ($P<0,05$). Total fase KPH cenderung meningkat ($P<0,1$) dan mortalitas nyata turun ($P<0,05$). Peningkatan level PAM tidak signifikan meningkatkan KPH pada broiler starter dan finisher.

Sebagai gambaran umum PAM memperbaiki performa (mis., BB, PBBH, FCR, dan mortalitas) dari broiler di semua fase (Tabel 5.2). Sesuai dengan temuan terdahulu PAM seperti ceropin, PAM-A3, dan PAM-P5 memberikan efek positif terhadap BB, PBBH, KPH, dan mortalitas pada semua fase pemeliharaan (Choi *et al.* 2013a; 2013b; Bai *et al.* 2019; Kierończyk *et al.* 2020). Ternak monogastrik lainnya seperti anak babi memberikan respons yang serupa, misalnya peptida PAM-A3 dan PAM-P5 memperbaiki PBBH dan FCR (Yoon *et al.* 2012; 2013; 2014). PAM memiliki peranan sebagai agen antimikroba yang menghambat dan/atau membunuh mikroba patogen serta memperbaiki morfologi usus halus broiler sehingga pencernaan dan penyerapan nutrien berlangsung optimal (S. Wang *et al.* 2015; Hao Xiao *et al.* 2015).

PAM asal serangga seperti cecropin (*Hyalophora cecropia*) memiliki efek linier negatif, kuadratik positif, dan linier negatif terhadap KPH, PBBH, dan FCR, masing-masing secara berurutan (Wen dan He 2012). PAM yang berasal dari jaringan hewan seperti peptida usus babi (200 mg kg⁻¹) meningkatkan BB di tiap fase pertumbuhan (Bao *et al.* 2009). PAM dari tumbuhan seperti kanola meal bioactive peptide, pemberiannya dalam pakan sebesar 200 mg kg⁻¹ memberikan dampak positif terhadap PBBH dan FCR broiler (Karimzadeh *et al.* 2017a). PAM asal hewan dan tumbuhan memberikan efek positif terhadap performa dari broiler.

Tabel 5.2 Persamaan regresi dari penambahan peptida antimikroba (level dalam mg kg⁻¹ dari pakan) terhadap performa dari broiler

No.	Parameter respons	Model	N	Parameter				Estimasi model			Interpretasi	
				Int	SE Int	Slope	SE Slope	Nilai P	RMSE	AIC ^a	Tren	X ^b
Performa, Fase Starter												
1.	BB (gram)	K	82	912	43,6	0,286	0,085	0,001	1,82	942	Mak	337
						-0,000424	0,0002	0,007				960
2.	PBBH (g e ⁻¹ h ⁻¹)	K	82	38,5	1,9	0,012361	0,0043	0,006	1,99	446	Mak	346
						-0,000018	7,75E-6	0,025				40,6
3.	KPH (g e ⁻¹ h ⁻¹)	L	82	57,1	2,66	0,000392	0,0015	0,792	1,75	449	Pos	
4.	FCR	K	82	1,52	0,0396	-0,000546	0,0002	0,002	1,71	-118	Min	337
						0,000001	3,03E-7	0,01				1,43
Performa, Fase Finisher												
5.	BB (gram)	K	73	2,102	98,4	0,898	0,146	<0,001	1,64	927	Mak	352
						-0,00128	0,0003	<0,001				2,260
6.	PBBH (g e ⁻¹ h ⁻¹)	K	73	70,7	2,61	0,0327	0,006	<0,001	1,31	442	Mak	360
						-0,000045	1,08E-5	<0,001				76,6
7.	KPH (g e ⁻¹ h ⁻¹)	L	73	150	4,27	0,0027	0,0029	0,357	1,68	486	Pos	
8.	FCR	K	73	2,15	0,0674	-0,0011	0,0002	<0,001	1,83	-47,1	Min	359
						0,000001	4,36E-7	0,001				1,96

Tabel 5.2 Persamaan regresi dari penambahan peptida antimikroba (level dalam mg kg⁻¹ dari pakan) terhadap performa dari broiler (*lanjutan*)

No.	Parameter respons	Model	N	Parameter				Estimasi model			Interpretasi	
				Int	SE Int	Slope	SE Slope	Nilai P	RMSE	AIC ^a	Tren	X ^b
Performa, Total Fase												
9.	BB (gram)	K	101	1.752	115	1.04	0.145	<0,001	1,63	1.330	Mak	351
						-0.00148	0,0003	<0,001				1.935
10.	PBBH (g e ⁻¹ h ⁻¹)	K	106	54,4	4,46	0,027	0,0039	<0,001	1,45	657	Mak	412
						-0,000033	7,37E-6	<0,001				60
11.	KPH (g e ⁻¹ h ⁻¹)	L	104	102	8,77	0,0028	0,0015	0,071	1,77	677	Pos	
12.	FCR	K	104	1,9	0,0585	-0,000933	0,0002	<0,001	1,69	-107	Min	371
						0,000001	2,88E-7	0,000				1,73
13.	Mortalitas (%)	L	17	12,2	4,56	-0,045	0,0157	0,017	1,08	123	Neg	

^a AIC adalah nilai estimasi kebaikan dari model. ^b X = Level (mg kg⁻¹ dari pakan). ^c Y = nilai optimal dari variabel respons.

AIC = *akaike information criterion*, K = kuadratik, KPH = konsumsi pakan harian, FCR = *feed conversion ratio*, Int = perpotongan, L = linier, Mak = maksimum, Min = minimum, N = number of data, Neg = negatif, PBBH = pertambahan bobot badan harian, Pos = positif, RMSE = *root mean square errors*, SE = standar eror, dan Slope = gradien garis.

5.3.2 Pengaruh Penambahan PAM terhadap Kecernaan dan Morfologi Usus Halus Broiler

Pengaruh penambahan PAM terhadap kecernaan dan morfologi usus halus ditampilkan di Tabel 5.3. Kecernaan KLK linier naik dan kuadratik turun masing-masing untuk fase starter dan finisher ($P<0,05$; Tabel 5.3). Kecernaan minimum KLK broiler finisher sebesar 74.3% ketika level PAM sebesar 106 mg kg^{-1} . Kecernaan KPK pada broiler starter cenderung turun ($P<0,1$) dan AME nyata turun pada broiler finisher ($P<0,05$). Kenaikan level PAM tidak mempengaruhi kecernaan KBK dan AME pada broiler starter serta KBK dan KPK pada broiler finisher. Morfologi usus halus di duodenum seperti tinggi villus, kedalaman kripta, dan RTVK (RTVK) signifikan dipengaruhi oleh level penambahan PAM ($P<0,05$), sedangkan ketebalan mukosa tidak terpengaruh. Sementara itu di jejunum ketebalan mukosa kuadratik naik ($P<0,05$) dan kedalaman kripta cenderung turun ($P<0,1$) sedangkan tinggi villus dan RTVK tidak nyata meningkat. Di jejunum, ketebalan mukosa memiliki ketebalan maksimum sebesar $668 \mu\text{m}$ saat level PAM sebesar 102 mg kg^{-1} . Morfologi usus halus di ileum tidak terpengaruh oleh level penambahan PAM.

Penambahan PAM memiliki dampak positif terhadap KLK, namun tidak pada KPK. Kecernaan KLK juga meningkat seiring penambahan cecropin (Wen dan He 2012). Kecernaan KLK yang meningkat disebabkan kinerja tidak langsung PAM dalam memicu imunitas dan morfologi usus halus sehingga proses penyerapan nutrien teroptimalkan (Feingold dan Grunfeld 2000). Efek protein kentang terfortifikasi terhadap penurunan kecernaan KPK dilaporkan oleh (Ohh *et al.* 2009). Namun, temuan tersebut, berbeda dengan penelitian Choi *et al.* (2013a), level PAM-A3 sebesar $0-90 \text{ mg kg}^{-1}$ linier meningkatkan kecernaan KPK. Penurunan kecernaan protein kemungkinan disebabkan oleh kurang spesifiknya kerja PAM, peptida kationik ini akan berinteraksi dengan asam amino yang bermuatan negatif dan membentuk senyawa kelat (D'Mello 2003; Selle *et al.* 2007).

Pada broiler finisher, PAM berdampak negatif terhadap KLK dan positif terhadap AME. Bertentangan dengan temuan Wen and He (2012), bahwa cecropin linier meningkatkan kecernaan KLK. Penurunan kecernaan KLK kemungkinan disebabkan oleh terbentuknya senyawa kelat antara PAM (kationik) dan asam lemak (anionik) (Hurwitz *et al.* 1973; Hao Xiao *et al.* 2015). Selaras dengan penelitian Wen dan He (2012) dan Aguirre *et al.* (2015), cecropin memberikan efek linier positif terhadap AME pada broiler finisher. Seperti pada penjelasan sebelumnya, bahwa PAM mungkin memberikan efek tidak langsung terhadap peningkatan AME dengan memperbaiki kesehatan dan morfologi usus halus.

Pada penelitian ini, PAM berdampak positif terhadap morfologi saluran cerna di duodenum. Temuan ini sama dengan temuan dari Wang *et al.* (2006) dan Jin *et al.* (2008), bahwa PAM (mis., protein kentang dan laktiferin) linier positif terhadap tinggi villus dan RTVK sedangkan kedalaman kripta linier negatif. PAM dari serangga seperti cecropin menghambat bakteri patogen seperti *Escherichia coli*, koliform, dan *M. luteus*, terhambatnya perkembangan bakteri patogen meningkatkan tinggi villus dan menurunkan kedalaman kripta (H. Xiao *et al.* 2013; Yi *et al.* 2014). Tinggi villus merupakan salah satu faktor yang

mempengaruhi luas bidang villi di usus halus selain jumlah villus, peningkatan tinggi villus di duodenum bermanfaat bagi kontak enzim pencernaan dengan nutrien sehingga mengoptimalkan proses degradasi nutrien dan penyalurannya ke jejunum (Scanes dan Pierzchala-Koziec 2014; Svihus 2014). Pengaruh positif juga ditemukan morfologi usus halus di jejunum. Sedikit berbeda dengan temuan Bao *et al.* (2009), peptida usus babi menyebabkan ketebalan mukosa dan tinggi villus nyata lebih tinggi dibanding kontrol. Sama seperti anak babi pemberian laktoperin signifikan meningkatkan tinggi villus dan menurunkan kedalaman kripta (Wang *et al.* 2006). Sebagian besar proses pencernaan lemak dan penyerapan (mis., kolesterol, asam lemak, triglycerol) terjadi di jejunum dengan epitel mukosa dan villus berperan penting dalam proses tersebut (Borgstrom *et al.* 1962; Jersild dan Clayton 1971; Hurwitz *et al.* 1973; Scanes dan Pierzchala-Koziec 2014; Svihus 2014).

Hasil penelitian ini PAM tidak mempengaruhi morfologi ileum (mis., tinggi villus, kedalaman kripta, dan RTVK). Hal ini bertentangan dengan temuan King *et al.* (2005), bahwa kolostrum nyata meningkatkan tinggi villus dan menurunkan kedalaman kripta. Didukung juga dengan temuan Jin *et al.* (2008) dan H Xiao *et al.* (2013), bahwa penambahan campuran peptida antimikroba dalam pakan anak babi signifikan meningkatkan tinggi villus dan menurunkan kedalaman kripta. Walaupun tidak nyata penambahan PAM memiliki pola positif terhadap morfologi ileum. Fungsi ileum penting untuk penyerapan kembali garam empedu dan vitamin B12 (Hurwitz *et al.* 1973; Svihus 2014).

PAM memiliki fungsi sebagai antimikroba yang mengahambat dan/atau merusak integritas membran sel mikroba dan/atau integritas aktivitas intraselulernya (Hao Xiao *et al.* 2015; Wang *et al.* 2016). Menurunnya populasi mikroba patogen berdampak terhadap peningkatan bakteri menguntungkan seperti bakteri asam laktat. Bakteri asam laktat di dalam saluran pencernaan dapat memperbaiki morfologi usus halus dengan meningkatkan luas bidang penyerapan seperti meningkatkan tinggi villus, memperbanyak jumlah villus, dan menurunkan kedalaman kripta (Samli *et al.* 2007; Thanh *et al.* 2009; Aliakbarpour *et al.* 2012). Hasil dari penelitian ini adalah peningkatan level PAM dapat memperbaiki morfologi usus halus seperti ketebalan mukosa, tinggi villus, dan kedalaman kripta dengan mekanisme yang telah dijelaskan sebelumnya. Perbaikan morfologi usus halus tersebut berdampak positif terhadap kecernaan dan metabolisme nutrien. Namun, masih adanya parameter kecernaan seperti kecernaan KPK dan KLK yang turun. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kurang spesifiknya kerja PAM sehingga nutrien (mis., amino, asam lemak, vitamin, dan mineral) lainnya terikat dan membentuk senyawa kompleks (PAM-nutrien) yang sukar larut. Kecernaan nutrien juga dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti ukuran partikel, kelarutan, interaksinya dengan enzim, viskositas, suhu, derajat keasaman, komposisi mikroba cerna dan lainnya (Leeson dan Summers 2008).



Tabel 5.3 Persamaan regresi dari pemberian peptida antimikroba (level dalam mg kg^{-1} dari pakan) terhadap kecernaan dan morfologi usus halus broiler

No.	Parameter respons	Model	N	Parameter				Estimasi model			Interpretasi	
				Int	SE Int	Slope	SE Slope	Nilai P	RMSE	AIC ^a	Tren	X ^b
Kecernaan dan Energi Metabolis, Fase Starter												
1.	KBK (%)	L	10	77,3	0,8642	0,000782	0,0022	0,733	1,00	40,5	Pos	
2.	KPK (%)	L	19	66	3,7089	-0,0075	0,0042	0,099	1,11	113	Neg	
3.	KLK (%)	L	5	86,4	0,0616	0,495	0,0126	<0,001	1	-5,67	Pos	
4.	AME (kcal kg^{-1})	L	9	2882	156,7032	-0,209	0,3745	0,598	0,94	126	Neg	
Kecernaan dan Energi Metabolis, Fase Finisher												
5.	KBK (%)	L	15	74,4	1,39	0,000749	0,0038	0,847	1,27	76,1	Pos	
6.	KPK (%)	L	20	68,1	1,17	-0,00208	0,0062	0,742	1,26	121	Neg	
7.	KLK (%)	K	10	81,2	9,03	-0,131	0,0472	0,032	0,93	64,6	Min	106
						0,00062	0,0002	0,015				74,3
8.	AME (kcal kg^{-1})	L	5	2,986	14,8	32,4	3,02	0,002	1	49,1	Pos	
Morfologi Saluran Cerna, Duodenum												
9.	Ketebalan mukosa (μm)	L	6	708	52,2	0,270	0,506	0,630	1,02	77,6	Pos	
10.	Tinggi villus (μm)	L	49	1,048	120	0,562	0,188	0,005	1,63	651	Pos	
11.	Kedalaman kripta (μm)	L	43	229	49,5	-0,0921	0,0437	0,044	1,90	454	Neg	

Tabel 5.3 Persamaan regresi dari pemberian peptida antimikroba (level dalam mg kg^{-1} dari pakan) terhadap kecernaan dan morfologi usus halus broiler (*lanjutan*)

No.	Parameter respons	Model	N	Parameter				Estimasi model			Interpretasi	
				Int	SE Int	Slope	SE Slope	Nilai P	RMSE	AIC ^a	Tren	X ^b
12.	RTVK	L	47	5,99	823.000	0,00472	0,0019	0,016	1,58	179	Pos	
Morfologi saluran cerna, Jejunum												
13.	Ketebalan mukosa (μm)	K	6	439,9	19,5	4,48	0,876	0,036	0,97	64,2	Mak	102
						-0,022	0,0045	0,039				668
14.	Tinggi villus (μm)	L	32	1.138	324	1,23	3,93	0,757	2,4	566	Pos	
15.	Kedalaman kripta (μm)	L	26	208	38,6	-0,126	0,0613	0,057	0,99	261	Neg	
16.	RTVK	L	30	6,87	2,1	0,000507	0,0249	0,984	2,3	225	Pos	
Morfologi Saluran Cerna, Ileum												
17.	Tinggi villus (μm)	L	30	678	138	0,304	0,209	0,160	1,64	394	Pos	
18.	Kedalaman kripta (μm)	L	30	151	20,9	0,00962	0,0504	0,851	1,49	302	Pos	
19.	RTVK	L	34	4,6	0,773	0,00151	0,0025	0,547	1,73	135	Pos	

^a AIC adalah nilai estimasi kebaikan dari model. ^bX = Level (mg kg^{-1} dari pakan). ^cY = nilai optimal dari variabel respons.

AIC = *akaike information criterion*, AME = *apparent metabolizable energy*, Int = perpotongan, K = kuadratik, KBK = kecernaan bahan kering, KPK = kecernaan protein kasar, KLK = kecernaan lemak kasar, L = linier, Mak = maksimum, Min = minimum, N = number of data, Neg = negatif, Pos = positif, RMSE = *root mean square error*, RTVK = rasio tinggi villus dan kedalaman kripta, SE = standar eror, dan Slope = gradien garis.



5.3.3 Pengaruh Penambahan PAM terhadap Serum Darah Broiler

Respons serum darah broiler starter dan finisher akibat penambahan level PAM dirangkum dalam Tabel 5.4. Broiler starter, RAG dan trigliserol nyata turun (linier; $P<0,05$). Sementara itu, globulin cenderung meningkat dan kolesterol cenderung turun ($P<0,1$). Sedangkan total protein dan albumin tidak nyata naik dan turun, secara berurutan. Broiler finisher, kreatinin kuadratik turun ($P<0,05$) akibat bertambahnya level PAM dengan titik puncak minimum sebesar $0,3 \text{ mg dL}^{-1}$ saat level PAM sebesar $80,9 \text{ mg kg}^{-1}$. Sedangkan total protein, albumin, globulin, RAG, kolesterol, trigliserol, dan asam urat tidak signifikan terhadap penambahan level PAM.

PAM pada broiler starter menyebabkan penurunan parameter serum darah (seperti kolesterol, RAG dan trigliserol). Sedikit berbeda dengan temuan H. Xiao *et al.* (2013); Abdel-Latif *et al.* (2017), dan Kim *et al.* (2018), bahwa penambahan level PAM nyata terhadap albumin, globulin, dan RAG dengan pola linier positif. Temuan lain di anak babi oleh Wang *et al.* (2011), penambahan peptida zink-antibakteri tidak mempengaruhi total kolesterol dan trigliserol. Penurunan total kolesterol dan trigliserol juga dilaporkan oleh Abdel-Latif *et al.* (2017), penambahan 90 mg kg^{-1} lisozim menurunkan kedua komponen tersebut pada broiler starter. Kolesterol dan trigliserol diangkut dalam darah dalam bentuk lipoprotein, penurunan kedua komponen tersebut kemungkinan disebabkan oleh proporsinya dalam lipoprotein yang lebih rendah mengingat pencernaan KLK pada broiler starter yang nyata lebih tinggi (Bauer *et al.* 2005). Jenis lipoprotein yang memiliki komponen kolesterol tertinggi adalah low density lipoprotein atau dalam istilah umum disebut lemak jahat Feingold and Grunfeld (2000).

PAM secara keseluruhan tidak mempengaruhi serum darah dari broiler finisher. Namun, kreatinin signifikan turun dengan pola kuadratik. Level minimum PAM sebesar $80,9 \text{ mg kg}^{-1}$ ketika kreatinin $0,3 \text{ mg dL}^{-1}$. Nilai ini pada kisaran yang sedikit lebih tinggi jika dibandingkan dengan temuan Kim *et al.* (2018), sebesar $0,21\text{-}0,239 \text{ mg dL}^{-1}$ ketika broiler finisher diberikan tambahan pakan PAM (mis., racun lebah) pada level $0\text{-}0,5 \text{ mg kg}^{-1}$. kreatinin disimpan dalam otot sebesar 95% (dalam bentuk kreatin fosfat) dan digunakan sebagai sumber energi utama otot terutama ketika melakukan pekerjaan berat seperti memperbaiki sel yang rusak, melakukan kerja, dan peningkatan massa otot. Penurunan kreatinin pada penelitian ini mengindikasikan penggunaan kreatinin untuk mekanisme tersebut menurun, juga kadar kreatinin yang tinggi dalam darah juga merupakan indikator kerusakan glomerulus. Secara keseluruhan PAM berdampak positif terhadap parameter serum darah broiler starter serta cenderung tidak berpengaruh pada broiler finisher. Efek yang ditimbulkan agaknya beragam hal ini kemungkinan disebabkan oleh kinerja PAM yang kurang spesifik ataupun karena mekanisme lainnya. Penambahan level PAM cenderung menurunkan kolesterol dan nyata menurunkan kreatinin, perubahan kedua parameter tersebut mengindikasikan bahwa PAM dapat memperbaiki kualitas produk asal ternak.

Tabel 5.4 Persamaan regresi dari penambahan peptida antimikroba (level dalam mg kg⁻¹ dari pakan) terhadap serum darah broiler

No.	Parameter respons	M	N	Parameter				Estimasi model		
				Int	SE Int	Slope	SE Slope	Nilai P	RMSE	AIC ^a
Serum darah, Fase Starter										
1.	TP (g dL ⁻¹)	L	13	4,47	0,501	0,0018	0,0014	0,223	0,96	21,7
2.	Alb (g dL ⁻¹)	L	8	3,23	0,258	-0,0019	0,0024	0,472	0,89	9,16
3.	Glb (g dL ⁻¹)	L	8	1,68	0,61	0,0057	0,0025	0,072	0,94	12,7
4.	RAG	L	8	2,57	1,09	-0,0172	0,0022	0,001	0,97	13,1
5.	Klst (mg dL ⁻¹)	L	13	121	4,61	-0,0888	0,0396	0,52	1,3	106
6.	Tgls (mg dL ⁻¹)	L	9	90,1	40,1	-0,0638	0,0196	0,017	0,94	70,3
Serum darah, Fase Finisher										
7.	TP (g dL ⁻¹)	L	18	17,8	13	-0,00414	0,0048	0,402	1,33	99,9
8.	Alb (g dL ⁻¹)	L	13	6,13	4	0,000099	0,0033	0,977	1,14	50,1
9.	Glb (g dL ⁻¹)	L	13	2,6	0,87	0,00272	0,0019	0,199	1,02	28,3
10.	RAG	L	13	1,75	0,62	-0,00265	0,0016	0,136	0,87	22
11.	Klst (mg dL ⁻¹)	L	18	106	25,5	-0,0794	0,076	0,317	1,17	179
12.	Tgls (mg dL ⁻¹)	L	14	85,7	18,6	0,0232	0,0196	0,266	1,04	110
13.	Krtn (mg dL ⁻¹)	K	9	0,326	0,09	-0,000735	0,0002	0,031	1	-31,6
						0,000005	1,57E-6	0,045		
14.	AU (mg dL ⁻¹)	L	9	6,68	0,416	-0,00382	0,0048	0,466	1,24	26,8

a AIC adalah nilai estimasi kebaikan dari model.

AIC = *akaike information criterion*, Alb = albumin, AU = asam urat, Glb = globulin, Int = perpotongan, K = kuadratik, Klst = kolesterol, Krtn = kreatinin, L = linier, M = model, N = number of data, RAG = rasio albumin dan globulin, RMSE = *root mean square error*, SE = standar eror, Slope = gradien garis, Tgls = triglicerol, dan TP = total protein.

5.3.4 Pengaruh PAM terhadap Jumlah Bakteri Saluran Cerna Broiler

Dampak penambahan level PAM ditinjau dari jumlah bakteri dari broiler ditampilkan dalam Tabel 5.5. Di ileum, akibat peningkatan level PAM, maka jumlah bakteri (seperti koliform dan TBA) linier turun ($P<0,05$) pada fase starter. Demikian pula pada fase finisher jumlah *Escherichia coli* signifikan turun (linier; $P<0,05$) dan TBA cenderung menurun secara linier ($P<0,1$). Di sekum, jumlah bakteri pada fase starter seperti *Clostridium spp.*, koliform, *Escherichia coli*, dan BAL menurun mengikuti pola linier ($P<0,05$; Tabel 5.5). Sementara itu pada fase finisher lactid acid bacteria cenderung linier meningkat ($P<0,1$). Di ekskreta, jumlah bakteri *Clostridium spp.* pada fase starter cenderung linier menurun ($P<0,1$). Jumlah bakteri lainnya di saluran cerna tidak terpengaruh akibat penambahan level PAM.

- Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penyusunan kritis atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tabel 5.5 Persamaan regresi dari pemberian PAM (level dalam mg kg⁻¹ dari pakan) terhadap jumlah bakteri (Log10 cfu gram⁻¹) dari broiler

No.	Response parameter	M	N	Estimasi parameter				Estimasi model		
				Int	SE Int	Slope	SE Slope	Nilai P	RMSE	AIC ^a
Mikroba di Ileum, Fase Starter										
1.	<i>Clostridium</i>	L	16	4,2	0,962	-0,004	0,0028	0,198	1,02	49,8
2.	Koliform	L	10	4,86	0,663	-0,00489	0,0004	<0,001	0,85	11,1
3.	<i>E. coli</i>	L	6	4,24	0,269	-9,87E-04	0,0024	0,715	0,79	9,52
4.	BAL	L	6	6,72	0,398	0,00181	0,0094	0,865	1,08	20,1
5.	TBA	L	11	7,73	0,45	-0,00416	0,0011	0,011	0,87	17,7
Mikroba di Ileum, Fase Finisher										
6.	Koliform	L	6	5,11	0,159	-0,000265	0,0002	0,184	0,88	-2,59
7.	<i>E. coli</i>	L	8	5,24	0,66	-0,00354	0,0009	0,015	0,97	10,4
8.	BAL	L	8	7,49	0,255	-8,60E-05	0,0034	0,981	1,18	17,8
9.	TBA	L	16	7,25	0,656	-0,00293	0,0014	0,059	1,07	42,7
Mikroba di Sekum, Fase Starter										
10.	<i>Clostridium</i>	L	6	7,24	0,0293	-0,00191	0,0003	0,007	0,85	-18,8
11.	Koliform	L	6	5,6	0,791	-0,0038	0,0011	0,038	0,82	5,35
12.	<i>E. coli</i>	L	18	6,96	0,482	-0,0012	0,0005	0,025	1,26	44
13.	BAL	L	15	7,05	0,0786	-0,00111	0,0002	0,002	1,38	3,33
14.	TBA	L	13	8,25	0,49	-0,00131	0,0008	0,131	1,07	13,4
Mikroba di Sekum, Fase Finisher										
15.	Koliform	L	6	3,62	0,818	-0,000808	0,0011	0,500	0,9	19,7
16.	<i>E. coli</i>	L	18	7,14	0,667	0,000421	0,0003	0,151	0,91	37,2
17.	BAL	L	15	7,57	0,282	0,000403	0,0002	0,083	1,08	15,9
18.	TBA	L	12	7,77	0,462	-0,00103	0,001	0,314	1,24	29,5
Mikroba di Ekskreta, Fase Starter										
19.	<i>Clostridium</i>	L	10	7,22	0,307	-0,00472	0,0021	0,070	0,88	14,4
20.	Koliform	L	10	6,7	0,317	-0,00351	0,0048	0,489	1,17	24,1
21.	TBA	L	14	7,6	0,747	-0,000238	0,0008	0,772	1,39	33,9
Mikroba di Ekskreta, Fase Finisher										
22.	<i>Clostridium</i>	L	10	7,72	0,334	-0,00195	0,0012	0,159	1,14	7,1
23.	Koliform	L	14	6,29	0,422	-0,000854	0,0009	0,363	1,35	31,8
24.	TBA	L	14	7,84	0,522	-0,000371	0,0007	0,599	1,36	27,9

a AIC adalah nilai estimasi kebaikan dari model.

AIC = *akaike information criterion*, BAL = bakteri asam laktat, Int = perpotongan, K = kuadratik, L = linier, M = model, N = jumlah data, RMSE = *root mean square error*, SE = standar eror, Slope = gradien garis, dan TBA = total bakteri aerobik.

Secara keseluruhan PAM menurunkan jumlah bakteri patogen di dalam saluran cerna broiler fase starter dan finisher. Bakteri patogen di dalam saluran cerna menimbulkan berbagai kerugian terutama kerusakan jaringan dan juga produksi senyawa toksik. Senyawa toksik yang terakumulasi menimbulkan berbagai jenis penyakit metabolismis dan menurunkan performa pertumbuhan, kecernaan nutrien, dan respons imun. Penjelasan efek PAM terhadap jumlah bakteri adalah sebagai berikut.

Clostridium spp. merupakan bakteri gram-positif yang menyebabkan botulisme (Chalk *et al.* 2019; Johnson 2019). Persentase bakteri ini di ileum dan sekum broiler sebesar 9,69% dan 39,26%, secara berurutan (Lu *et al.* 2003). Dari penelitian ini, jumlah *Clostridium* spp. mengalami penurunan. Hasil ini mirip dengan temuan dari Choi *et al.* (2013a), penambahan level PAM-A3 signifikan menurunkan jumlah *Clostridium* spp. di ekskreta pada broiler (fase starter dan finisher). Penurunan jumlah *Clostridium* spp. kemungkinan diakibatkan kemampuan PAM (mis., CAMA (cecropin-A-maganin-2)) dalam menghambat dan/atau membunuh bakteri gram-positif, CAMA memiliki terminal amfipatik basa CA dan N-terminal (daerah hidrofobik) MA yang efektif dalam merusak membran sel bakteri (Vizioli *et al.* 2000; Hao Xiao *et al.* 2015; Park dan Yoe 2017b; Zhang *et al.* 2017; Yue *et al.* 2020).

Bakteri *Escherichia coli* dan TBA termasuk dalam kelompok koliform, menurut pendapat Malcolm (1938), koliform memiliki ciri-ciri sebagai berikut bersifat aerob atau anaerob fakultatif, menggunakan laktosa sebagai sumber energi, dan tergolong gram-negatif. Bakteri dalam kelompok ini memproduksi berbagai jenis toksik seperti indole, skatole, dan etionin yang memicu kanker dan juga menimbulkan diare (Bueschkens dan Stiles 1984; Anabrees *et al.* 2013; Girard dan Bee 2020). Penelitian ini, penambahan PAM mengakibatkan penurunan jumlah koliform. Hal yang sama juga ditemukan oleh Choi *et al.* (2013b), penambahan PAM-A3 menurunkan jumlah koliform di ileum dan sekum. Temuan pada penelitian ini, jumlah *Escherichia coli* turun di ileum dan sekum. Sama seperti penelitian Gong *et al.* (2017) dan Salavati *et al.* (2019), PAM (mis., lisozim dan sesame meal bioactive peptide) nyata menurunkan jumlah *Escherichia coli*. Beberapa jenis PAM seperti cecropin (dari *Hermetia illucens*) dan lisozim efektif menghambat bakteri gram negatif seperti *Escherichia coli* (Pellegrini *et al.* 1992; Park dan Yoe 2017b). lisozim menghidrolisis dinding sel bakteri gram-positif dan gram negatif yang terbuat dari peptidoglikan (Ragland dan Criss 2017). Jumlah TBA menurun selaras dengan (Wen dan He 2012; Choi *et al.* 2013b; 2013a; Ma *et al.* 2020), TBA dilaporkan turun di saluran cerna dan feses akibat penambahan PAM (mis., PAM-A3, PAM-P5, cecropin, dan plektasin).

Penurunan jumlah BAL pada penelitian ini berbeda dengan temuan dari Salavati *et al.* (2019), bahwasannya lisozim meningkatkan jumlah lactic acid bacteria. Efek ini disebabkan oleh keberagaman interaksi antara PAM terhadap berbagai jenis BAL, lisozim juga dilaporkan memiliki aktivitas penghambatan terhadap beberapa jenis BAL (mis., *Lactobacillus brevis*) (Tribst *et al.* 2008). Pendapat lain dari Lüders *et al.* (2003), bahwa lactic acid bacteria seperti

Lactobacillus curvatus LTH1174 dan *Pediococcus acidilactici* LMG 2351 tahan dan dapat memproduksi PAM curvacin A dan pediocin PA-1.

Merujuk dari pemaparan di atas, penambahan level PAM mampu memperbaiki ekosistem saluran cerna dengan cara menekan pertumbuhan bakteri patogen. Komposisi bakteri patogen yang berkurang akan meningkatkan jumlah BAL (mis., *Lactobacillus* spp.). Sekuen 16S rDNA jumlah *Lactobacillus* spp. sebesar 67% di ileum broiler (Lu *et al.* 2003). *Lactobacillus* spp. memiliki kemampuan untuk menempel di dinding saluran cerna dan juga memproduksi asam organik seperti asam lemak rantai pendek (mis., butirat, propionat, dan asetat) dan juga asam laktat (Rowland *et al.* 2018). Asam organik ini memiliki kemampuan untuk menurunkan pH di saluran cerna dan memberikan energi tersedia pada sel-sel epitel (Krajmalnik-Brown *et al.* 2012; Shang *et al.* 2018b). Ketersediaan energi meningkatkan metabolisme sel sehingga morfologi usus halus dapat terjaga, juga probiotik dari BAL dan *Bacillus subtilis* dilaporkan meningkatkan ekspresi gen dari mucin yang berguna untuk menjaga ketebalan mucosa (Aliakbarpour *et al.* 2012).

5.3.5 Pengaruh PAM terhadap Respons Imun dan Aktivitas Antioksidan Broiler

Penambahan level PAM terhadap respons imun dan aktivitas antioksidan dari broiler secara global adalah meningkat mengikuti pola linier ($P<0,05$; $P<0,1$; Tabel 5.6). Fase starter, titer antibodi (ND) dan organ limpa (mis., bursal index, spleen index, dan thymus index) meningkat (linier; $P<0,05$). Sama halnya pada fase finisher, imunoglobulin dan komplemen (IgM; CD4), titer antibodi (ND), dan organ limpa (mis., bursal index, spleen index, dan thymus index) nyata meningkat (linier; $P<0,05$; Tabel 5.6). Sedangkan IgA dan CD3 tidak signifikan terpengaruh oleh penambahan level PAM. Fase finisher, efek penambahan level PAM terhadap SOD cenderung linier naik ($P<0,1$) dan TAA tidak nyata meningkat. Sedangkan PAM tidak mempengaruhi TSOD pada fase starter.

Umumnya PAM memiliki dampak positif terhadap respons imun seperti imunoglobulin, komplemen, titer antibodi (*Newcastle disease*), dan organ limfoid. Imunoglobulin merupakan produk dari sel B (imunitas humorai) untuk melawan antigen, IgA berperan penting dalam imunitas mukosa (di bagian organ sekresi tubuh, saluran pernafasan, saluran pencernaan, dan permukaan kulit), fungsinya sebagai pencegah penempelan bakteri dan virus ke membran mukosa (Fagarasan dan Honjo 2003; Macpherson dan Slack 2007; Bonner *et al.* 2009; Schat *et al.* 2014).

Sedangkan, IgM memiliki peranan sebagai pengikat bakteri yang menempel pada mukosa (Sharma 1991; Murguia-Favela *et al.* 2017; Jazayeri *et al.* 2020). Komplemen merupakan bagian dari imunitas seluler dan memiliki peran penting terhadap limfosit T, fungsi CD3 adalah mengaktivasi *cytotoxic T cell* dan *T helper cell* sedangkan CD4 merupakan ko-reseptor dari *T helper cells* yang berperan sebagai penanda atau marker (berkomunikasi dengan *antigen-presenting cells*) (Schat *et al.* 2014). Dari penelitian ini indeks organ limfoid dilaporkan meningkat, hal ini sama dengan temuan dari (Bai *et al.* 2019). Timus merupakan tempat diferensiasi limfosit T dan bursa merupakan tempat pematangan limfosit B (Schat *et al.* 2014). Selaras dengan perbaikan parameter serum imunoglobulin dan



complement, broiler yang di tantang virus *Newcastle disease* dan diberikan PAM, PAM dapat meningkatkan titer antibodi baik pada fase starter dan finisher.

Tabel 5.6 Persamaan regresi dari penambahan PAM (level dalam mg kg⁻¹ dari pakan) terhadap respons imun dan aktivitas antioksidan broiler

No.	Parameter respons	M	N	Estimasi parameter				Estimasi model		
				Int	SE Int	Slope	SE Slope	Nilai P	RMSE	AIC ^a
Serum Imunoglobulin dan Komplemen, Fase Finisher										
1.	IgA (g L ⁻¹)	L	8	0,657	0,38	6.00E-05	0,0001	0,689	1,06	-12
2.	IgM (g L ⁻¹)	L	8	0,58	0,13	0,000797	0,0003	0,037	0,95	-8,15
3.	CD3 (g L ⁻¹)	L	6	2,49	0,728	0,000775	0,0005	0,204	0,83	11,3
4.	CD4 (g L ⁻¹)	L	6	0,886	0,639	0,000698	0,0002	0,032	0,83	3,07
Titer Antibodi <i>Newcastle disease</i>, Fase Starter^b										
5.	TA (log2N)	L	13	2,71	0,799	0,00145	0,0003	0,002	1,13	29,4
6.	TA (%)	L	11	30,4	1,29	0,0114	0,0028	0,007	1,2	57,9
Titer Antibodi <i>Newcastle disease</i>, Fase Finisher^b										
7.	TA (log2N)	L	17	6,2	0,791	0,00122	0,0006	0,069	1,15	51,4
8.	TA (%)	L	11	33,6	1,5	0,0105	0,0033	0,019	1,23	61,3
Indeks Organ Limfoid, Fase Starter										
9.	Bursal	L	11	2,49	0,033	0,000318	0,0001	0,007	1,27	-21,9
10.	Limpa	L	11	0,94	0,0138	0,000151	<0,0001	0,004	1,3	-40,9
11.	Timus	L	11	4,76	0,233	0,00172	0,0005	0,019	1,22	20,8
Indeks Organ Limfoid, Fase Finisher										
12.	Bursal	L	11	1,6	0,0717	0,000509	0,0002	0,032	1,34	-4,31
13.	Limpa	L	11	1,26	0,0145	0,00014	<0,0001	0,006	1,27	-40,2
14.	Timus	L	11	5,07	0,0689	0,000721	0,0002	0,006	1,26	-5,37
Aktivitas Antioksidan, Fase Starter										
15.	TSOD (U mg ⁻¹)	L	6	43,8	15,8	0,0107	0,0272	0,720	0,84	48
Aktivitas Antioksidan, Fase Finisher										
16.	TAA (U mg ⁻¹)	L	8	1,81	0,53	0,000782	0,0012	0,538	0,94	8,57
17.	SOD (%)	L	5	9,35	2,47	0,0351	0,015	0,101	1	30,2

a AIC adalah nilai estimasi kebaikan dari model. ^b Titer antibodi terhadap penyakit *Newcastle disease*.

AIC = *akaike information criterion*, CD3 = *cluster of differentiation 3*, CD4 = *cluster of differentiation 4*, Int = perpotongan, L = pinier, M = model, N = jumlah data, RMSE = *root mean square error*, S = satuan, SE = standar eror, Slope = gradien garis, SOD = superoksid dismutase, TA = titer antibodi, TAA = total aktivitas antioksidan, dan TSOD = total superoksid dismutase.

Temuan serupa oleh Bai *et al.* (2019), bahwa titer antibodi meningkat akibat penambahan cecropin dan seaweed powder. Peningkatan IgM, CD4, indek organ limfoid, dan titer antibodi berdampak baik dengan status imunitas dari broiler. PAM meningkatkan imunitas bawaan dan adaptif dengan memperbaiki modulasi proinflamasi dan antiinflamasi, aktivitas kemotaksis, dan efek langsung pada imunitas adaptif (Wang *et al.* 2016). Temuan lainnya dari Ren *et al.* (2015) dan Yuan *et al.* (2015), bahwa PAM meningkatkan jumlah sel T dan poliferasnya di permukaan darah, serta meningkatkan IgG, M, dan A pada babi.

Aktivitas antioksidan seperti SOD dilaporkan meningkat, temuan yang sama juga dilaporkan oleh Karimzadeh *et al.* (2017), bahwa plektasin rekombinan meningkatkan aktivitas penghambatan SOD pada broiler umur 42 hari. SOD merupakan enzim yang dapat menetralkan aktivitas radikal bebas seperti peroksida dan superperoksida (Corpas *et al.* 2006). Menurut Ikeda (2001), PR-39 (PAM yang kaya prolin atau arginin) telah terbukti menghambat aktivitas *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase* (NADPH oksidase) dari leukosit polimorfonuklear dengan memblokir perakitan enzim tersebut, NADPH oksidase berperan sebagai sumber utama superperoksida. Kemampuan PAM dalam menekan radikal bebas dengan mekanisme meningkatkan kinerja enzim SOD dan katalse serta merusak integritas NADPH oksidase tidak terlepas akan aktivitas gugus N-terminal dan gugus asam karboksilat.

5.4 Simpulan

Peptida antimikroba berdampak positif terhadap performa pertumbuhan, kecernaan, morfologi usus halus, dan serum darah ayam broiler. Peptida ini menghambat kolonisasi bakteri kurang menguntungkan dan penyebab penyakit seperti *Clostridium* spp., koliform, dan *Escherichia coli*. Penurunan jumlah bakteri patogen meningkatkan kolonisasi bakteri asam laktat yang bermanfaat dalam menjaga kesehatan usus dan meningkatkan penyerapan nutrien. Pernyataan tersebut didukung dengan perbaikan nilai dari parameter bobot badan, pertambahan bobot badan, konsumsi pakan harian, *feed conversion ratio*, mortalitas, kecernaan lemak kasar, *apparent metabolizable energy*, ketebalan mukosa, tinggi villus, kedalaman kripta, rasio tinggi villus dan kedalaman kripta, globulin, kolesterol, kreatinin, jumlah bakteri *Clostridium* spp., koliform, *Escherichia coli*, dan TBA. Tambahan lagi, dari kajian ini juga diperoleh rekomendasi penggunaan peptida antimikroba berdasarkan FCR (337 mg kg^{-1}) fase starter, (359 mg kg^{-1}) fase finisher, dan (371 mg kg^{-1}) total fase.

VI PENGARUH PEMBERIAN PEPTIDA ANTIMIKROBA TERHADAP PERFORMA PERTUMBUHAN DARI ANAK BABI: META-ANALISIS

6.1 Pendahuluan

Antibiotik imbuhan pakan sudah lama digunakan oleh industri peternakan babi untuk memacu pertumbuhan guna meningkatkan efisiensi produksi. AIP sudah lebih dari 50 tahun digunakan, akan tetapi, penggunaannya yang masif menyebabkan berbagai permasalahan antara lain, residu antibiotik, efek resistensi, alergi, dan pemicu kanker (Cardinal *et al.* 2020). Namun, ketergantungan ini disebabkan oleh rentanya ternak terhadap penyakit misalnya diare. Pembesaran anak babi, memerlukan pengontrolan yang ketat terhadap diare agar kematian ternak dapat ditekan kurang dari 5% akibatnya industri peternakan bergantung pada penggunaan colistin. Diare disebabkan oleh enterotoksigenik dari *Escherichia coli* (*E. coli*) mudah menyerang ternak muda terutama babi (Rhouma *et al.* 2017). Penerapan biosekuriti mampu mencegah semua kerugian tersebut, tetapi industri peternakan di daerah tropis sulit mengurangi laju pertumbuhan penyakit. Kondisi lingkungan tropis yang lembab dan basah merupakan lingkungan ideal untuk perkembangan penyakit oleh sebab itu peternakan masih bergantung pada AIP. Selain untuk mengurangi penyakit, industri peternakan memanfaatkan AIP sebagai pemacu pertumbuhan. Contoh dari AIP antara lain avilamycin, bacitracin, enramycin, flavomycin, halquinol, lincomycin, narasin, salinomycin, tiamulin, tylosin, dan virginiamycin (Manafi *et al.* 2019; Cardinal *et al.* 2020). Sebagian AIP telah dilarang penggunaannya di dunia karena adanya temuan resistensi dan residu berlebihan pada produk hasil ternak (Dibner dan Richards 2005; Anom 2019; Bronzwaer *et al.* 2019).

Babi yang siap dijadikan bibit adalah babi yang telah mencapai bobot badan 90 kg atau berumur 165-180 hari. Maka dari itu, anak babi pra sapih harus memenuhi indeks seleksi minimum. Indeks seleksi ini dihitung dari *litter size* induk, bobot lahir, umur saat bobot 90 kg, rataan pertambahan bobot badan (selama dari 20 kg sampai 90 kg), rasio konversi pakan, efisiensi penggunaan ransum, dan tebal lemak punggung (SNI 2013a; 2013b; 2013c; 2013d). Babi muda yang berumur kurang dari 60 hari merupakan bakalan berkualitas. Periode penggemukan babi berkisar selama tiga sampai empat bulan dengan rataan bobot potong 120 kg (Czyżak-Runowska *et al.* 2015; Szulc *et al.* 2018). Babi untuk bibit dan penggemukan memerlukan babi pra sapih yang sehat. Anak babi yang berumur kurang dari 50 hari merupakan periode yang rentan terhadap diare, dilaporkan bahwa kematian babi akibat penyakit ini sangat tinggi di masa ini (Gomez *et al.* 1998; Rhouma *et al.* 2017; Girard dan Bee 2020).

Penelitian terkini menyatakan bahwa pemberian PAM mampu memperbaiki performa pertumbuhan, kecernaan nutrien, dan kesehatan usus (Yoon *et al.* 2012; 2013). Temuan lainnya, dilaporkan pada penelitian H. Xiao *et al.* (2013) dan H. Xiao *et al.* (2015), PAM pada anak babi dapat memperbaiki rasio konversi pakan dan sistem kekebalan tubuh. Namun, ada temuan lain yang berbeda. Pemberian PAM tidak nyata memperbaiki rasio konversi pakan dan performa pertumbuhan

anak babi (Wang *et al.* 2008; Oliver dan Wells 2015; Yuan *et al.* 2015). Perbedaan hasil penelitian ini menyebabkan kesulitan dalam menentukan kebenaran dampak PAM tersebut. Oleh sebab itu, perangkuman metadata dan analisis statistika lanjutan perlu dilakukan. Meta-analisis merupakan analisis yang tepat agar kajian lebih obyektif serta dapat ditentukan level optimal pemberian PAM (St-Pierre 2001; Sauvant *et al.* 2008; Stegenga 2011). Oleh sebab itu, tujuan penelitian ini untuk merangkum dan menentukan pengaruh pemberian peptida antimikroba terhadap performa pertumbuhan dari anak babi melalui kajian meta-analisis dari berbagai sumber publikasi yang telaahnya sama.

6.2 Bahan dan Metode

6.2.1 Tabulasi Data

Topik yang digunakan untuk pencarian data adalah pengaruh pemberian PAM pada performa pertumbuhan anak babi. Literatur yang termasuk dalam kajian ini dibatasi dalam kurun waktu 15 tahun terakhir. Sumber peptida yang dipergunakan dalam penyusunan meta-analisis adalah peptida ribosomal termasuk laktoferin dan lisozim. Pencarian literatur menggunakan mesin pencari google scholar, open science, pubmed, dan science direct. Mekanisme penelusuran literatur sebagai berikut pencarian dengan kata kunci (“peptida antimikroba” dan/atau “anak babi” dan/atau “performa pertumbuhan”), pencarian dari pustaka artikel *review*, dan pencarian dari pustaka artikel yang sejenis.

Sebanyak 20.444 artikel terhimpun dalam keempat mesin pencari. Science direct dan pubmed menemukan 539 artikel *review*, 559 artikel ilmiah, 592 buku, dan 447 lainnya. Artikel ini kemudian diseleksi berdasarkan kesesuaian dari judul. Jurnal yang dijadikan rujukan pencarian artikel terkait adalah Hao Xiao *et al.* (2015). Jurnal ini juga digunakan sebagai rujukan pencarian pustaka yang sejenis. Akhirnya, pencarian tersebut menghasilkan 109 artikel yang lolos seleksi kesesuaian abstrak dengan topik penelitian. Artikel selanjutnya diseleksi dengan alur proses seperti pada Gambar 6.1. Kriteria seleksi untuk penyusunan data adalah sebagai berikut (a) artikel ilmiah yang bereputasi, (b) dilaporkannya pemberian level PAM, dan (c) juga dilaporkan parameter performa pertumbuhan (Moher *et al.* 2015; Tawfik *et al.* 2019). Terkumpul sebanyak 21 artikel dengan jumlah data sebanyak 123 baris. Ringkasan literatur yang dipergunakan berada dalam Tabel 6.1.

Parameter performa pertumbuhan terdiri dari bobot badan, pertambahan bobot badan harian (PBBH), konsumsi pakan harian (KPH), rasio konversi pakan atau *feed conversion ratio* (FCR), rasio diare, dan angka harapan hidup pada setiap fase pemeliharaan (yakni fase 1 (rataan 1-14 hari), fase 2 (rataan 15-28 hari), dan total). Nilai dari tiap data dikonversi pada satu satuan baku yang sama. Satuan tiap data merujuk pada satuan internasional dan penyajian data menggunakan kaidah angka penting (Rabinowitz dan Vogel 2009).

6.2.2 Analisis Data

Data dianalisis menggunakan *linier mixed model*, perbedaan eksperimen dianggap sebagai efek acak dan faktor terkait PAM (level dan bentuk) dimasukkan dalam efek tetap (Sauvant *et al.* 2008). Pengaruh penambahan PAM terhadap performa pertumbuhan diestimasi menggunakan persamaan berikut ini.

$$4) \quad Y_{ijk} = \mu + s_i + \tau_j + s\tau_{ij} + B_1 X_{ij} + B_2 X_{ij}^2 + b_i X_{ij} + B_j X_{ij} + e_{ijk}$$

Keterangan: Y_{ijk} = variabel dependen, μ = rata-rata keseluruhan, s_i = efek acak dari eksperimen ke-i, τ_j = efek tetap dari tingkat ke-j faktor τ , $s\tau_{ij}$ = interaksi acak antara eksperimen ke-i dan tingkat ke-j dari faktor τ , B_1 = koefisien regresi linier Y pada X (efek tetap), B_2 = koefisien regresi kuadratik Y pada X (efek tetap), X_{ij} = nilai variabel prediktor kontinu (level PAM), b_i = efek acak eksperimen i pada koefisien regresi Y pada X dalam eksperimen i, B_j = pengaruh tingkat j dari faktor diskrit τ pada koefisien regresi (efek tetap), dan e_{ijk} = kesalahan residual yang tidak dapat dijelaskan.

Variabel bentuk PAM dinyatakan dalam bentuk kelas (kualitatif). Nilai kebaikan model yang digunakan adalah *akaike information criterion* (AIC) dan *residual mean standard error* (RMSE). Serta nilai statistika uji nilai P untuk menguji efektivitas level PAM, signifikan jika $P<0,05$ dan jika $P<0,1$ maka cenderung signifikan. Analisis statistik dilakukan dengan perangkat lunak R versi 3.6.3 dan paket tambahan nlme (Pinheiro *et al.* 2020; R Core Team 2020).

6.3 Hasil dan Pembahasan

Pada fase 1, parameter performa pertumbuhan (seperti, bobot badan, PBBH, dan KPH) signifikan meningkat ($P<0,05$; kuadratik) dan FCR nyata menurun ($P<0,05$; kuadratik) akibat pemberian PAM (Tabel 6.2). Fase 2, bertambahnya level PAM signifikan ($P<0,05$; kuadratik) meningkatkan bobot badan dan PBBH sedangkan FCR nyata turun ($P<0,05$; kuadratik). Total fase, bobot badan signifikan meningkat ($P<0,05$) mengikuti pola kuadratik sejalan dengan peningkatan level PAM. Beberapa parameter performa pertumbuhan dari fase 2 (seperti, FCR) dan dari total fase (seperti, PBBH, KPH, dan FCR) tidak nyata akibat penambahan PAM. Level optimal PAM sebesar 213 dan 221 mg kg⁻¹ dari pakan, untuk fase 1 dan fase 2 secara berurutan. Nilai FCR yang dicapai pada level optimal tersebut adalah 1,39 dan 1,54 untuk fase 1 dan fase 2 secara berurutan.

Tabel 6.1 Literatur yang dipergunakan dalam meta-analisis efek pemberian peptida antimikroba (mg kg^{-1} dari pakan) pada anak babi

No.	Literatur	PAM	Level	Umur ^a	Fase 1	Fase 2	BBA
1.	Berding <i>et al.</i> (2016)	Laktoferin	0-300	2	1-15	16-30	1.51
2.	Boudry <i>et al.</i> (2008)	Laktoferin	0-320	40	1-14	15-28	8.33
3.	Cutler <i>et al.</i> (2007)	Colicin E1	0-16,5	23	-	-	-
4.	Lee <i>et al.</i> (2010)	Laktoferin	0-50	21	-	-	5.9
5.	Long <i>et al.</i> (2016)	Lisozim	0-120	25	1-14	15-28	7.76
6.	May <i>et al.</i> (2012)	Lisozim	0-100	10	1-14	-	4.12
7.	Oliver dan Wells (2013)	Lisozim	0-100	24	1-14	15-28	7.85
8.	Oliver <i>et al.</i> (2014)	Lisozim	0-100	26	1-14	15-28	8.65
9.	Shan <i>et al.</i> (2007)	Laktoferin	0-1000	28	-	-	7.1
10.	Tang <i>et al.</i> (2009)	Laktoferisin	0-98	21	-	-	5.44
11.	Tang <i>et al.</i> (2012)	Laktoferisin	0-98	21	-	-	5.9
12.	Tang <i>et al.</i> (2016)	β -defensin 2	0-1	21	-	-	5.83
13.	Wan <i>et al.</i> (2016)	Plectasin	0-60	24	-	-	7.67
14.	Wang <i>et al.</i> (2011)	Peptide	0-10	28	-	-	8.4
15.	Wu <i>et al.</i> (2012)	Cecropin AD	0-400	21	1-12	13-19	6.76
16.	Xiong <i>et al.</i> (2019)	Lisozim	0-100	7	1-14	-	1.2
17.	Yoon <i>et al.</i> (2012)	PAM-A3	0-90	21	1-14	15-28	5.76
18.	Yoon <i>et al.</i> (2013)	PAM-P5	0-60	21	1-14	15-28	6.22
19.	Yoon <i>et al.</i> (2014)	PAM-A3, -P5	0-60	21	1-14	15-28	5.9
20.	Yu <i>et al.</i> (2017)	Mikrosin J25	0-2	25	1-15	16-28	7.98
21.	Zou <i>et al.</i> (2019)	Lisozim	0-100	-	-	-	19.8

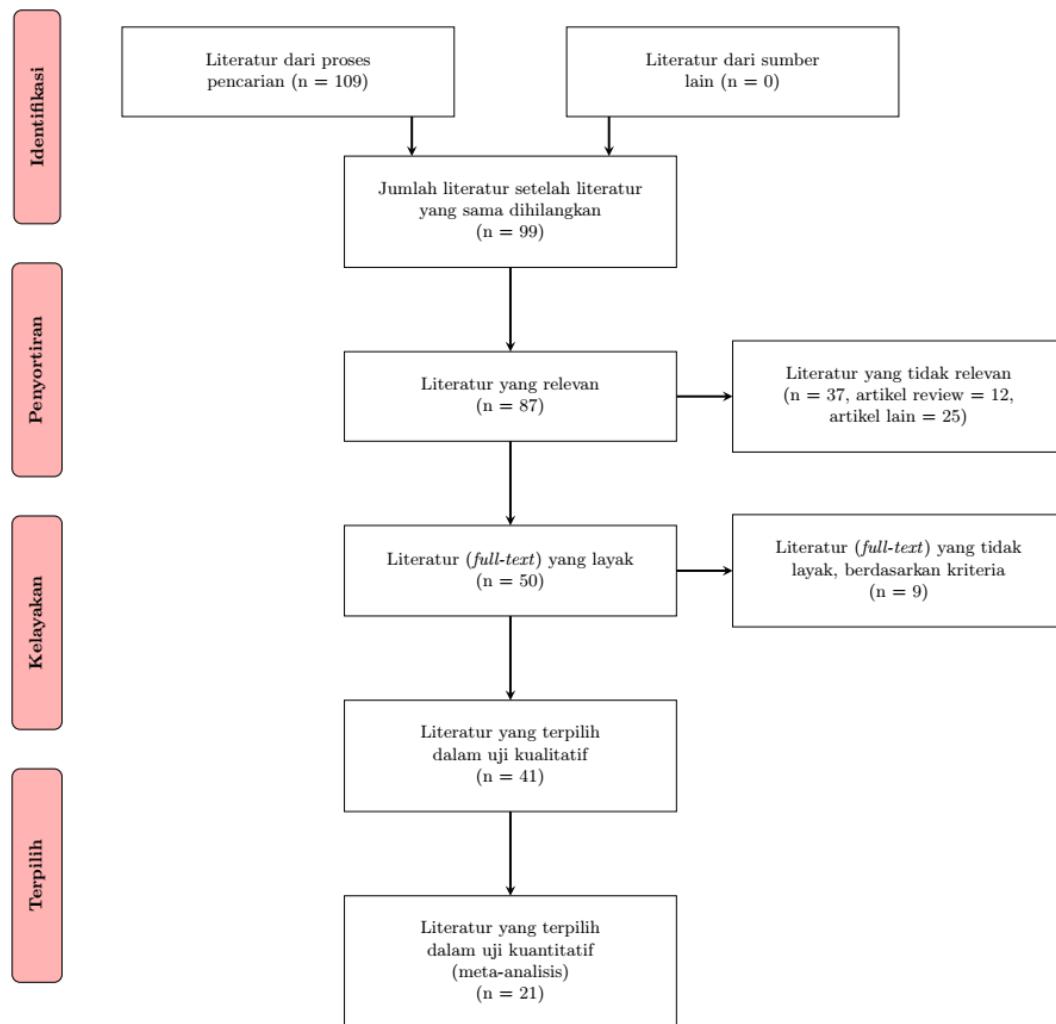
a Umur pada saat perlakuan (hari).

PAM = peptida antimikroba dan BBA = bobot badan awal (kg).

6.3.1 Pengaruh PAM terhadap Bobot Badan Anak Babi

Penggunaan peptida antimikroba signifikan memperbaiki bobot badan pada anak babi di tiap fase pertumbuhan. Hal ini konsisten dengan penelitian Cutler *et al.* (2007) dan Berding *et al.* (2016) pada setiap fase pemeliharaan. Seiring dengan meningkatnya level PAM, maka meningkat pula bobot badan anak babi. Penggunaan PAM pada anak babi membantu meningkatkan populasi bakteri asam laktat di organ pencernaan sehingga kesehatan usus terjaga dan perbanyak sel pada usus meningkat. Kondisi usus yang sehat mampu meningkatkan penyerapan nutrien. Penggunaan PAM mulai stabil ketika memasuki minggu ketiga pemberian dengan seiring peningkatan level pemberian (Boudry *et al.* 2007). PAM konsisten memberikan efek positif dalam meningkatkan pertumbuhan dari

anak babi (Berding *et al.* 2016). Hasil positif juga dilaporkan pada penelitian Long *et al.* (2016), penggunaan lisozim stabil meningkatkan pertambahan bobot badan, namun FCR tidak nyata.



Gambar 6.1 Alur seleksi literatur untuk meta-analisis (Shamseer *et al.* 2015).

Rata-rata bobot badan indukan babi yang berumur 180 hari adalah 90 kg. Agar target bobot badan tercapai maka ukuran kerangka tubuh harus dioptimalkan, periode awal pertumbuhan dari babi menentukan pembentukan volume dan massa tubuh. Beberapa mekanisme PAM dalam menjaga kesehatan lumen usus yakni bersifat antagonistik dengan mikroba patogen, memacu kinerja sistem imun, merangsang sekresi dari mukosa usus halus, dan menekan aktivitas sel kanker (Bahar dan Ren 2013; Park dan Yoe 2017b; Wang *et al.* 2020). Mekanisme tersebut bermanfaat untuk menjaga kesehatan dan ekosistem di dalam usus halus sehingga proses penyerapan nutrien dapat berlangsung secara optimal. PAM memiliki mekanisme tak langsung dalam mengoptimalkan pembentukan volume dan massa tubuh anak babi.

6.3.1 Pengaruh PAM terhadap PBBH Anak Babi

PAM memberikan hasil yang signifikan pada rata-rata pertambahan bobot badan harian pada anak babi. Penelitian yang dilakukan Tang *et al.* (2009), memberikan hasil yang positif pada rata-rata pertambahan bobot badan harian anak babi pada fase 1 dan 2. Jika PAM bersinergi dengan sel epitel, maka konsentrasi dari mikroba patogen dapat ditekan (Tang *et al.* 2016). Penelitian Tang *et al.* (2012), bahwa peningkatan level pemberian PAM meningkatkan rata-rata pertambahan bobot badan sebanyak 13,3% (fase 1) dan 29,3% (fase 2). Selain itu, semakin meningkatnya rata-rata pertambahan bobot badan, cenderung mengefisiensikan rasio konversi pakan sebanyak 11,5% pada fase 1 dan fase 2 sebanyak 15,3% dibandingkan kontrol.

Pertambahan bobot badan anak babi pada umur 2 minggu awal kelahiran sebesar 204 gram ekor⁻¹ hari⁻¹ (Bunok *et al.* 2020). PBBH ini akan meningkat ketika umur 8 minggu hingga umur 24 minggu, pertumbuhan babi mencapai fase logaritmik pada umur tersebut. Rataan pertambahan bobot badan harian babi pada fase logaritmik untuk jenis Landrace, Yorkshire, Duroc, dan Hampshire sebesar 730; 785; 765; dan 740 gram ekor⁻¹ hari⁻¹ secara berurutan (SNI 2013a; 2013b; 2013c; 2013d). Data penelitian ini memiliki rataan umur babi sekitar 4 sampai 8 minggu dengan rataan pertambahan bobot badan harian sekitar 457 gram ekor⁻¹ hari⁻¹. Laju pertumbuhan babi periode penggemukan dipengaruhi oleh bobot lahir dan bobot sapih. Oleh karena itu, pemacu pertumbuhan pada masa awal pertumbuhan diperlukan untuk mencapai bobot potong yang optimal.

6.3.3 Pengaruh PAM terhadap Konsumsi Pakan Harian Anak Babi

Penelitian terdahulu PAM secara konsistensi meningkatkan rata-rata konsumsi pakan harian pada fase 1 dan 2 (Yoon *et al.* 2012; 2014). PAM mendukung saluran usus anak babi untuk meningkatkan sistem imun tubuh, anak babi rentan terhadap stres dan penyakit pada masa pemeliharaan awal. Dilaporkan dalam Zhou *et al.* (2010), bahwa penggunaan PAM mampu meningkatkan rata-rata konsumsi pakan harian sebanyak 18; 25; dan 38%. Ternak monogastrik energi lebih banyak digunakan dalam penyusunan pakan oleh karena itu penting dalam mengoptimalkan jumlah energi yang diberikan. Dilaporkan lebih lanjut oleh Peng *et al.* (2016), penggunaan PAM konsisten membantu meningkatnya rata-rata konsumsi pakan harian pada anak babi.

Hasil dari penelitian ini konsumsi pakan anak babi berkisar antara 427-457 gram ekor⁻¹ hari⁻¹. Konsumsi anak babi dipengaruhi oleh kebutuhan pertumbuhan dan perkembangan tubuhnya. Awal fase pertumbuhan nutrien dipergunakan untuk pembentukan kerangka tubuh, perkembangan kerangka tubuh yang baik menentukan pertumbuhan dan perkembangan massa otot. Anak babi yang memiliki kerangka tubuh besar cocok digunakan sebagai bakalan. Ternak babi yang mencapai umur 24 minggu memiliki bobot badan sekitar 90 kg. Masa tersebut merupakan waktu penggemukan babi hingga mencapai bobot 160 kg selama 3-4 bulan. Faktor kebutuhan pertumbuhan dan perkembangan anak babi menentukan konsumsi pakan.



Tabel 6.2 Persamaan regresi dari pemberian peptida antimikroba (mg kg^{-1} dari pakan) terhadap performa pertumbuhan dari anak babi

No.	Parameter respons	M	N	Estimasi parameter				Estimasi model			Interpretasi	
				Int	SE Int	Slope	SE Slope	Nilai P	RMSE	AIC ^a	Tren	X ^b
Performa Pertumbuhan, Fase 1												
1.	Bobot badan (g)	Q	42	10,272	720	8,23	1,5	<0,001	1,33	686	Mak	211 11.139
						-0,0195	0,00452	<0,001				
2.	PBBH ($\text{g e}^{-1}\text{h}^{-1}$)	Q	42	243	22,4	0,544	0,108	<0,001	1,27	454	Mak	217 302
						-0,0013	0,0003	<0,001				
3.	KPH ($\text{g e}^{-1}\text{h}^{-1}$)	Q	40	388	28,5	0,360	0,111	0,004	1	439	Mak	230 429
						-0,0008	0,000329	0,027				
4.	FCR	Q	40	1,61	0,0845	-0,00203	0,000633	0,004	1,35	37,5	Min	213 1,39
						0,00000476	0,00000187	0,018				
Performa Pertumbuhan, Fase 2												
5.	Bobot badan (g)	Q	35	16,134	998	16,7	3,21	<0,001	1,08	604	Mak	214 17.922
						-0,0389	0,0107	0,002				
6.	PBBH ($\text{g e}^{-1}\text{h}^{-1}$)	Q	35	389	30,4	0,588	0,124	<0,001	0,96	390	Mak	230 457
						-0,0013	0,000412	0,006				
7.	KPH ($\text{g e}^{-1}\text{h}^{-1}$)	L	33	715	42	0,162	0,126	0,215	1,12	392	Pos	
						0,0469	0,000626	0,008	1,3	20	Min	221 1,54
8.	FCR	Q	33	1,74	4,22E-06	-0,00186	1,99E-06	0,048				

Tabel 6.2 Persamaan regresi dari pemberian peptida antimikroba (mg kg^{-1} dari pakan) terhadap performa pertumbuhan dari anak babi (*lanjutan*)

No.	Parameter respons	M	N	Estimasi parameter				Estimasi model			Interpretasi	
				Int	SE Int	Slope	SE Slope	Nilai P	RMSE	AIC ^a	Tren	X ^b
Performa Pertumbuhan, Total Fase												
9.	Bobot badan (g)	Q	59	16.198	1.420	15,9	4,6	0,001	1,99	1.091	Mak	212 17.892
						-0,0375	0,0156	0,022				
10.	PBBH ($\text{g e}^{-1} \text{h}^{-1}$)	L	62	344	29.5	0,206	0,146	0,166	2,26	772	Pos	
11.	KPH ($\text{g e}^{-1} \text{h}^{-1}$)	L	60	609	58.1	0,166	0,137	0,233	1,66	768	Pos	
12.	FCR	L	60	1.76	0.0603	-0,00078	0,000585	0,192	2,75	71	Neg	

a AIC adalah nilai taksiran dari kebaikan model. ^bX = Level (mg kg^{-1} dari pakan). ^cY = nilai optimal dari variabel respons.

AIC = *akaike information criterion*, FCR = *feed conversion ratio*, Int = perpotongan, KPH = konsumsi pakan harian, K = kuadratik, L = linier, M = Model, Mak = maksimum, Min = minimum, N = Jumlah data, Neg = Negatif, PBBH = pertambahan bobot badan harian, Pos = positif, RMSE = *root mean square errors*, SE = standar eror, dan Slope = gradien garis.

6.3.4 Pengaruh PAM terhadap Konversi Pakan Anak Babi

Penggunaan PAM tidak hanya mempengaruhi penurunan FCR pada fase awal, namun juga pada fase lanjutnya. Peptida antimikroba nyata menurunkan FCR pada fase kedua. Beberapa kinerja PAM untuk mengefisiensikan pakan seperti yang dilaporkan oleh Boudry *et al.* (2008), adanya efek antimikroba dapat mengobati diare yang disebabkan oleh *E. coli*. Kondisi ini menyebabkan IgG yang juga bertindak sebagai komponen antimikroba juga meningkat. Selain mencegah pertumbuhan bakteri patogen, IgG dalam kolostrum juga meningkatkan rasio pertumbuhan anak babi setelah masa sapih (Pierce *et al.* 2005). Kondisi ini mengimplikasikan adanya peningkatan aktivitas pada saluran pencernaan dan proses penyerapan protein pada pakan Sun *et al.* (2009) sehingga ketersediaan asam amino pada dinding usus akan meningkat dan kebal terhadap mikroorganisme *E. coli* dan patogen lainnya (van Dijk *et al.* 2001).

Peptida antimikroba lain seperti cecropin aktivitas mengahambat mikroba resisten antibiotik *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Bakteri tersebut sering menyebabkan masalah di dalam saluran cerna. Penurunan populasi bakteri patogen meningkatkan poliferasi jaringan usus halus sehingga terjadi penambahan tinggi villus (Joerger 2003). Perbaikan morfologi usus halus menjadi salah satu indikator bahwa proses pencernaan dan penyerapan berlangsung optimal. Selain itu, penempelan dinding usus halus oleh bakteri asam laktat akan lebih banyak. Bakteri asam laktat berguna untuk memecah bahan makanan yang tidak tercerna oleh enzim pencernaan. Mekanisme-mekanisme tersebut menyebabkan dampak makro berupa perbaikan performa pertumbuhan anak babi, khususnya rasio konversi pakan.

6.3.5 Pengaruh PAM terhadap Rasio Diare dan Angka Harapan Hidup Anak Babi

Diare merupakan salah satu penyakit yang menyebabkan kerugian ekonomi pada industri babi (Martínez-Alvarez *et al.* 2015). Diare terjadi di tiap tahap perkembangan babi, mulai dari fase lahir hingga siap dipotong. Penambahan PAM dalam pakan dilaporkan oleh Wang *et al.* (2016), bahwa terjadi peningkatan performa pertumbuhan, pengurangan bakteri patogen usus, penurunan frekuensi diare dan pengayaan bakteri menguntungkan dari perlakuan lakoferin sebanyak 1 g kg⁻¹. PAM diduga berinteraksi dengan membran sel bakteri target yang mengakibatkan gangguan jalur biosintesis mikroba. PAM ini juga dapat meningkatkan respons imun seluler dan humorale dan ditemukan bersifat kemotaktik untuk monosit, limfosit T, dan sel dendritik. Sifat protein PAM membuat mereka rentan terhadap degradasi oleh enzim proteolitik, namun modifikasi kimia dari peptida ini membuatnya lebih tahan terhadap proteolisis atau enkapsulasi dapat melindungi peptida dari degradasi enzimatik.

Perkembangan ternak babi ditentukan pada awal pertumbuhan yaitu periode pra dan pasca sapih atau ketika berumur 10-60 hari. Saat periode ini, pembentukan kerangka dan perkembangan organ tubuh sedang berlangsung. Imunitas dari anakan babi yang baru lahir rentan karena organ imunitas masih belum berkembang dengan sempurna dan keterbatasan sel B dalam memproduksi antibodi. Anak babi bergantung dengan asupan imun dari luar tubuh seperti



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

kolostrum dari susu induknya. Peran imunomodulator pada pakan atau asupan lain dibutuhkan untuk menjaga daya tahan tubuh. Sehingga pada fase ini anak babi rentan mengalami gangguan penyakit dan menyebabkan penurunan angka harapan hidup. PAM dilaporkan mampu memicu aktivitas sitokin pada sistem kekebalan tubuh (Pan *et al.* 2011; Schober *et al.* 2018). Sitokin berperan dalam reaksi inflamasi, menangkal infeksi, dan menjinakkan sel kanker.

6.4 Simpulan

Peptida antimikroba nyata memperbaiki performa pertumbuhan dari anak babi umur 21-50 hari. Rasio diare yang berkurang memberikan peningkatan angka harapan hidup anak babi. Level optimal pemberian peptida antimikroba yaitu, 213 dan 221 mg kg⁻¹ masing-masing pada fase 1 dan 2 secara berurutan.

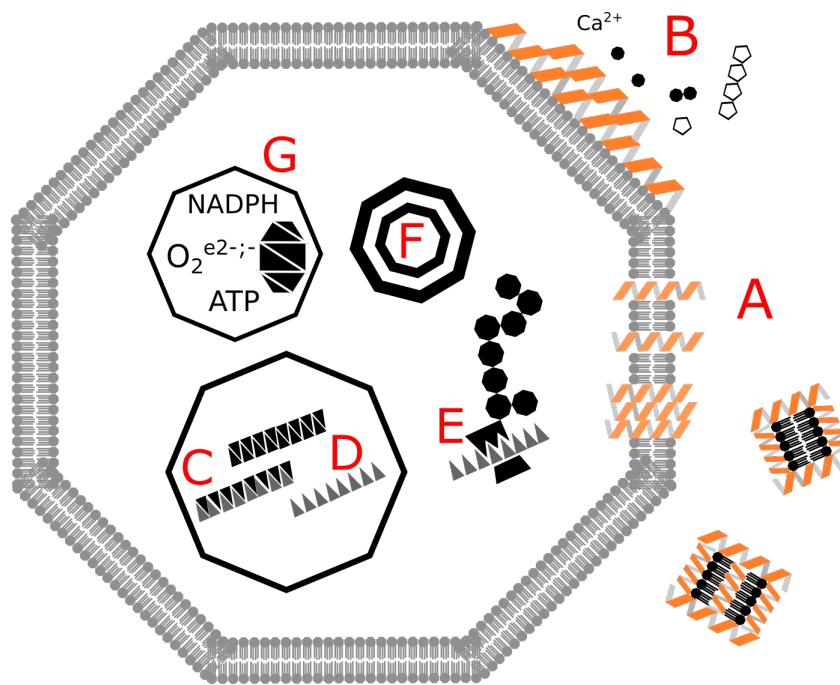
VII PEMBAHASAN UMUM

Peptida antimikroba sebagai aditif pakan memiliki fungsi yang sama dengan antibiotik imbuhan pakan. Senyawa ini meningkatkan efisiensi produksi dengan cara menekan pertumbuhan penyakit dan memperbaiki status imunitas sehingga nutrien dapat diserap seoptimal mungkin. PAM berperan aktif mengeliminasi mikroba patogen yang berasosiasi pada vilus usus halus (Oliver *et al.* 2020). Peptida ini dapat mengaktifkan dan memodulasi sistem imun pada tubuh ternak (Ma dan Dilger 2018). Sebagai bentuk pertahanan pertama melawan penyakit dan infeksi di saluran cerna, PAM mampu menghambat berbagai jenis mikroba patogen dari kelompok bakteri, fungi, dan khamir. Peran lain dari PAM adalah mengurangi toksin, mencegah penyakit metabolismis, dan mendukung poliferasi mikroba baik (Law *et al.* 2018). Secara alami peptida antimikroba juga disekresikan dari lumen usus halus.

PAM memiliki gugus kationik ataupun anionik serta bersifat amfipatik (Gadde *et al.* 2017). Gugus ini berfungsi sebagai penghubung PAM dengan mikroba patogen. Mikroba patogen dapat terikat oleh PAM dikarenakan interaksi muatan elektrostatik dengan sel bakteri. Mekanisme hidrofobik dan interaksi elektrostatik diperlukan PAM untuk mendekati dinding sel bakteri. Dinding luar bakteri tersusun dari asam teikoat untuk bakteri gram-positif dan lipopolisakarida pada gram-negatif. Ketika PAM berada pada jarak yang lebih dekat, maka ikatan hidrogen dapat meningkatkan adhesi antara peptida dan dinding bakteri (Strauss *et al.* 2010; Pardoux *et al.* 2020). Setelah PAM terikat pada dinding sel bakteri, maka beberapa mekanisme pelisisan sel dapat berlangsung. Seperti memicu lisis bakteri akibat produksi oksida reaktif (Ziaja *et al.* 2020). Mekanisme peptida antimikroba merusak sel bakteri pada Gambar 7.1.

Pengelompokan peptida antimikroba didasarkan pada struktur sekunder peptida dan jumlah asam amino tertentu (seperti glisin, prolin, dan sistein). Terdapat empat jenis PAM asal serangga yaitu peptida α -heliks (mis., cecropin), peptida kaya glisin (mis., attacin), peptida kaya prolin (mis., apidaecin), dan peptida kaya sistein (mis., defensin) (Yi *et al.* 2014; Chernysh *et al.* 2015; Wu *et al.* 2018). CLP1 adalah peptida kationik memiliki 2 gugus α -heliks. CLP1 diisolasi pertama kali dari maggot (*Hermetia illucens*) (Park dan Yoe 2017b). Muatan kationik dipengaruhi oleh asam amino arginin dan lisin. Sebagai amfoter cecropin memiliki bagian polar dan nonpolar, bagian polar terbentuk dari asam amino arginin, asam glutamat, asam asparta, asparagin, glutamin, dan lisin. Sedangkan, bagian nonpolar yaitu alanin, fenilalanin, glisin, prolin, dan valin. CLP1 bersifat antibakteri dan antikanker. Selain itu, ekstrak etanol dan akuades maggot memiliki aktivitas antikanker. Aktivitas antikanker ini tergolong sedang sehingga dapat dimanfaatkan sebagai obat terapi kanker (Mishra *et al.* 2011). Selain CLP1 peptida lain dari maggot dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri gram-positif dan gram-negatif. Peptida seperti attacin, defensin, knottin, dan lisozim efektif dalam melisiskan sel prokariota seperti bakteri. Selain itu, peptida aktif ini dilaporkan tidak memiliki sifat auto imunitas sehingga tidak menimbulkan kerusakan pada tubuh inang.





Gambar 7.1 Model penghambatan peptida antimikroba (A) aktivitas perusakan dinding sel dengan model *barrel-stave*, *toroidal*, *carpet*, dan *aggregate channel*, (B) penghambatan sistem transpor dari dan ke dalam sel, (C) penghambatan transkripsi DNA, (D) penghambatan translasi RNA, (E) perusakan ribosom dan penghambatan sintesis protein, dan (F) pemblokiran protein *chaperone*, protein ini diperlukan untuk melipat protein dengan benar, (G) penghambatan respirasi seluler melalui induksi pembentukan ROS dan kerusakan integritas mitokondria akibat kegagalan pembentukan ATP dan NADH (modifikasi Hao Xiao *et al.* 2015)

Mikroba di saluran cerna bagian atas monogastrik seperti ayam broiler dan anak babi didominasi oleh bakteri asam laktat. Bagian usus halus (yaitu duodenum, jejunum, dan ileum) didominasi oleh bakteri *Lactobacilli* dan minoritas populasi *Bifidobacterium*, *E. coli*, dan *Clostridium*. *Lactobacilli* terdeteksi secara konsisten di semua daerah usus halus (duodenum, jejunum, dan ileum) (Amit-Romach *et al.* 2004). Analisis metagenomik pada usus besar menunjukkan proporsi relatif *Lactobacilli* sekitar 25%, *Salmonella* 40%, dan *Campylobacter* 2%. Proporsi relatif *Lactobacilli* dan *Bifidobacterium* meningkat dan mencapai 40% dari total bakteri seiring dengan pertambahan umur ternak. Sebaliknya, proporsi relatif *Salmonella* berkurang sekitar 10%. *E. coli* dan *Clostridium* berubah sedikit sedangkan *Campylobacter* tidak terdeteksi. Fase akhir pertumbuhan, hampir setengah bakteri di ceca broiler adalah spesies *Lactobacilli* dan *Bifidobacterium*. Proporsi relatif *Salmonella* telah menurun sekitar 50% dibandingkan dengan awal pertumbuhan ternak. Proporsi *Campylobacter* tetap kecil, sedangkan proporsi *E. coli* dan *Clostridium* sekitar 30% (Amit-Romach *et al.* 2004; Shang *et al.* 2018a; Xiong *et al.* 2019).

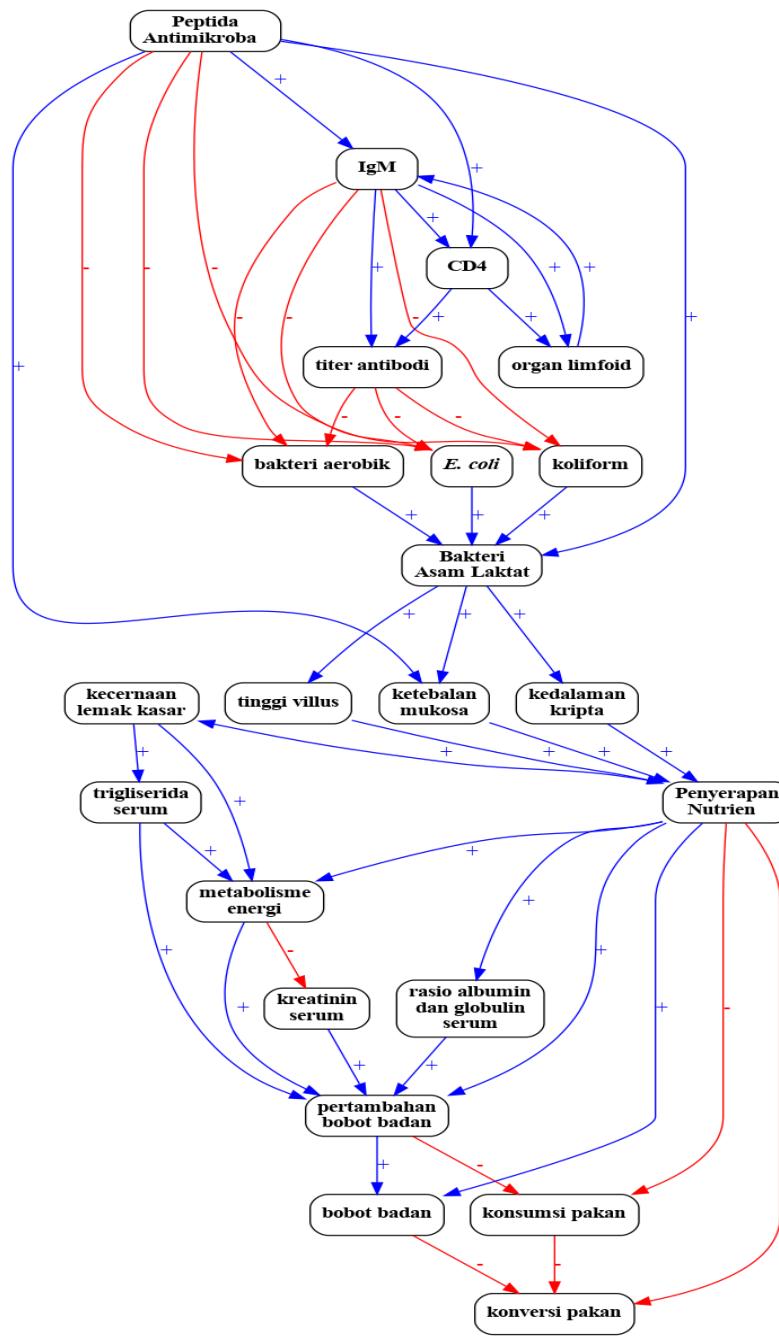
Kondisi umum PAM terhadap mikroflora usus broiler adalah dapat menurunkan populasi bakteri aerob, koliform, dan *Clostridium* spp. di usus halus (Ohh *et al.* 2009; Wen dan He 2012; Choi *et al.* 2013a). Selain itu, menurut Wang *et al.* (2006), pemberian sublancin $11,52 \text{ mg L}^{-1}$ mampu menghambat pertumbuhan *Clostridium perfringens*. Penambahan lisozim dapat menurunkan populasi *E. coli* di ileum dibandingkan dengan virginiamycin sebesar $7,4 \times 10^4 \text{ cfu g}^{-1}$ pada broiler umur 1-35 hari (Gong *et al.* 2017). PAM pada anak babi memiliki efek menekan rasio diare yang diakibatkan oleh *E. coli* (Shi *et al.* 2017). Demikian pula dengan komposisi bakteri menguntungkan seperti *Lactobacilli* di usus halus konsisten meningkat di semua periode pemeliharaan (Yoon *et al.* 2012; 2013; 2014). Akibatnya, angka harapan hidup anak babi meningkat sehingga produktivitas ternak babi dapat tercapai (Wang *et al.* 2008; Martínez-Alvarez *et al.* 2015).

Level optimal pemberian PAM pada anak babi lebih rendah dari pada ayam broiler. Hal ini disebabkan oleh perbedaan umur ternak. Kisaran umur ayam broiler dari meta-analisis berkisar antara 1 sampai 35 hari sedangkan anak babi berumur 20 sampai 50 hari. Perkembangan umur ternak meningkatkan status fisiologi dan imunitas. Status fisiologi dan imunitas dari anak babi yang lebih baik mengakibatkan kebutuhan PAM berkurang. Akan tetapi, hasil meta-analisis memperlihatkan hasil yang berkebalikan. Kondisi seperti ini diduga disebabkan oleh kebutuhan pertumbuhan yang meningkat mengakibatkan kebutuhan dasar untuk hidup pokok juga meningkat, selain itu nilai atau besaran antara level optimal fase pertumbuhan awal dan akhir berbeda nyata. Usia lebih dari dua pekan anak babi mampu memproduksi imunitas sendiri terutama sistem imun seluler (Ma dan Dilger 2018). Salah satu produk imunitas seluler adalah PAM. PAM juga disekresikan dari lumen saluran cerna ternak sebagai bentuk sistem kekebalan nonspesifik (Hao Xiao *et al.* 2015; Gadde *et al.* 2017). Pendapat lain dari hasil meta-regresi menyatakan bahwa massa tubuh mempengaruhi imunitas, hewan dengan massa tubuh lebih kecil membutuhkan imunitas lebih tinggi (Brace *et al.* 2017).

Mekanisme peptida ini dalam memperbaiki performa pertumbuhan tercantum pada Gambar 7.2. PAM mengeliminasi bakteri patogen (seperti bakteri aerobik, *E. coli*, dan koliform) yang menutupi dinding usus halus sehingga poliferasi bakteri asam laktat meningkat. PAM memperbaiki status imunitas lumen usus dengan menginduksi pembentukan senyawa imunostimulan (yakni sitokin). Senyawa imunostimulan aktif mempengaruhi kinerja organ limfoid. Akibatnya, jumlah IgM yang terekspresikan pada lumen usus halus meningkat. Mekanisme antara IgM dan aktivitas organ limfoid merupakan hubungan yang saling mempengaruhi, oleh karena itu, sekresi IgM juga mempengaruhi kerja organ limfoid. Fungsi utama IgM adalah menghalang masuknya bakteri patogen dari usus halus yang ikut dalam penyerapan nutrien. Selain itu, IgM juga mampu menginduksi serangkaian sistem imun seperti pembentukan CD4, meningkatkan ketebalan mukosa, dan titer antibodi oleh sel B. Peranan PAM baik secara tak langsung maupun langsung melalui induksi IgM mampu menekan aktivitas bakteri patogen mengakibatkan jumlah bakteri menguntungkan dan bakteri oportunistis menjadi dominan. Lebih jauh lagi, ekosistem usus halus menjadi seimbang atau dalam kondisi yang sehat. Ekosistem yang seimbang menyebabkan



peningkatan perkembangan morfologi vilus usus halus. Oleh sebab itu, rasio vilus terhadap kedalaman kripta meningkat pula.



Gambar 7.2 Mekanisme peptida antimikroba dalam meningkatkan performa pertumbuhan dari ayam broiler dan anak babi, anak panah berwarna biru merupakan hubungan yang meningkatkan, dan anak panah berwarna merah adalah penurunan (hasil kajian meta-analisis)



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

Perpustakaan IPB University

Luas bidang penyerapan dipengaruhi oleh jumlah dan panjang vilus. Akibatnya, penyerapan di usus halus meningkat. Nutrien yang terserap dalam darah dipengaruhi oleh penyerapan nutrien tersebut. Misalnya, protein dan lemak dalam bentuk albumin dan trigliserida meningkat jumlahnya dalam plasma darah. Peningkatan jumlah nutrien tersebut dapat memacu aktivitas metabolisme sel dalam menghasilkan energi. Kelebihan energi ini akan disimpan untuk pertumbuhan sel sehingga jaringan tubuh ternak mampu tumbuh dan berkembang dengan optimal. Dampaknya secara makro parameter performa pertumbuhan meningkat (yakni bobot badan dan pertambahan bobot badan). Ketika efektivitas penyerapan terjadi maka jumlah konsumsi pakan akan menurun dan rasio konversi pakan juga menurun.

VIII SIMPULAN DAN SARAN

8.1 Simpulan

1. Karakteristik biologis dari lima jenis peptida antimikroba sebagai berikut (i) peptida α -heliks cenderung tidak memiliki aktivitas penghambatan terhadap mikroba apapun, (ii) peptida kaya sistein dan (iii) polipeptida kaya glisin aktif menghambat bakteri gram-negatif dan khamir, (iv) peptida kaya prolin aktif menghambat fungi, dan (v) jenis lainnya aktif menghambat bakteri gram-positif.
2. Produk rekombinan CLP1 asal maggot diperoleh dengan menggabungkan cDNA CLP1 dengan fragmen T7-IRES-Kozak, namun produk rekombinan peptida CLP1 tidak terdeteksi menggunakan SDS-PAGE, dot blot, dan mikroskop fluoresen. Cecropin adalah peptida yang memiliki aktivitas antikanker, peptida ini banyak disintesis pada lemak tubuh serangga. Ekstrak etanol dan akuades maggot dipergunakan untuk mengkonfirmasi aktivitas antikanker dari peptida tersebut. Ekstrak etanol maggot memiliki IC₅₀ sebesar 204 dan 246 $\mu\text{g mL}^{-1}$ masing-masing pada sel leukemia MOLT4 dan K562. Ekstrak aquades maggot memiliki IC₅₀ sebesar 123 dan 114 $\mu\text{g mL}^{-1}$ masing-masing pada sel leukemia MOLT4 dan K562. Ekstrak aquades merupakan ekstrak terbaik sebagai persumbuhan antikanker.
3. Pengaruh peptida antimikroba terhadap performa pertumbuhan ayam broiler dan anak babi konsisten meningkat, hal ini diindikasikan dengan peningkatan bobot badan, pertambahan bobot badan, dan penurunan rasio konversi pakan di tiap fase pertumbuhan. Peptida antimikroba juga berperan dalam menurunkan rasio diare pada anak babi. Level optimal peptida antimikroba pada ayam broiler adalah 337 dan 359 mg kg⁻¹ masing-masing pada fase starter dan finisher secara berurutan. Level optimal untuk anak babi yaitu, 213 dan 221 mg kg⁻¹ masing-masing pada fase 1 dan 2 secara berurutan.
4. Performa pertumbuhan dari ayam broiler dan anak babi terjadi akibat mekanisme langsung dan tidak langsung dari peptida antimikroba dalam memperbaiki ekosistem saluran cerna dan status imunitas di dalam usus halus. Lingkup mikro, PAM menghambat bakteri tidak menguntungkan dan menginduksi sistem imunitas sehingga jumlah bakteri yang menguntungkan meningkat akibatnya penyerapan nutrien menjadi optimal. Peningkatan penyerapan nutrien diiringi dengan peningkatan pertambahan bobot badan dan penurunan rasio konversi pakan.





Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

8.2 Saran

Metode sintesis peptida CLP1 menggunakan sistem IVT dapat dimanfaatkan untuk produksi peptida antimikroba. Penelitian ini menghasilkan temuan level optimal penggunaan peptida antimikroba. Level rekomendasi tersebut perlu diverifikasi dan divalidasi menggunakan metode *in vivo*. Walaupun model yang dibangun dari kajian meta-analisis ini merupakan representatif dari penelitian-penelitian yang telah terseleksi dengan baik, tetapi perlu adanya verifikasi *in vivo* untuk memastikan jika benar rekomendasi tersebut dapat diterapkan.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilengkapi dengan surat izin dalam bentuk atau surat izin dalam bentuk elektronik yang diberikan oleh penulis.

DAFTAR PUSTAKA

- [CFR] Code of Federal Regulations. 2012. *Food and Drugs*. Washington (DC): Federal Register National Archives.
- [FAO] Food and Agriculture Organization, [IFIF] International Feed Industry Federation. 2010. *Good Practices for The Feed Industry - Implementing the Codex Alimentarius Code of Practice on Good Animal Feeding*. Rome (RM): FAO.
- [Kementerian] Kementerian Pertanian. 2017. Peraturan Menteri Pertanian Republik Indonesia Nomor 14/PERMENtan/PK.350/5/2017. Jakarta (JKT): Kementerian.
- [NRC] National Research Council. 2012. *Nutrient Requirements of Swine*. Washington (DC): National Academies Press.
- [SNI] Standar Nasional Indonesia. 2013a. *Bibit Babi - Bagian 1: Landrace*. 7855.1:201. Jakarta (JKT): Badan Standardisasi Nasional.
- [SNI] Standar Nasional Indonesia. 2013b. *Bibit Babi - Bagian 2: Yorkshire*. 7855.2:201. Jakarta (JKT): Badan Standardisasi Nasional.
- [SNI] Standar Nasional Indonesia. 2013c. *Bibit Babi - Bagian 3: Duroc*. 7855.3:201. Jakarta (JKT): Badan Standardisasi Nasional.
- [SNI] Standar Nasional Indonesia. 2013d. *Bibit Babi - Bagian 4: Hampshire*. 7855.4:201. Jakarta (JKT): Badan Standardisasi Nasional.
- Abdel-Latif M, El-Far A, Elbestawy A, Ghanem R, Mousa S, Abd El-Hamid H. 2017. Exogenous dietary lysozyme improves the growth performance and gut microbiota in broiler chickens targeting the antioxidant and non-specific immunity mRNA expression. *PLoS One*. 12(10):1–17. doi:10.1371/journal.pone.0185153.
- Aguirre A, Acda S, Angeles A, Oliveros M, Merca F, Cruz F. 2015. Effect of bovine lactoferrin on growth performance and intestinal histologic features of broilers. *Philipp J Vet Anim Sci*. 41(1):12–20.
- Ali A, Mohanny K. 2014. Effect of injection with bee venom extract on productive performance and immune response of broiler chicks. *J Anim Poult Prod*. 5(5):237–246. doi:10.21608/jappmu.2014.69561.
- Aliakbarpour H, Chamani M, Rahimi G, Sadeghi A, Qujeq D. 2012. The *Bacillus subtilis* and lactic acid bacteria probiotics influences intestinal mucin gene

- expression, histomorphology and growth performance in broilers. *Asian-Australasian J Anim Sci.* 25(9):1285–1293. doi:10.5713/ajas.2012.12110.
- Almaaytah A, Zhou M, Wang L, Chen T, Walker B, Shaw C. 2012. Antimicrobial cytolytic peptides from the venom of the North African scorpion, *Androctonus amoreuxi*: Biochemical and functional characterization of natural peptides and a single site-substituted analog. *Peptides.* 35(2):291–299. doi:10.1016/j.peptides.2012.03.016.
- Amit-Romach E, Sklan D, Uni Z. 2004. Microflora ecology of the chicken intestine using 16S ribosomal DNA primers. *Poult Sci.* 83(7):1093–1098. doi:10.1093/ps/83.7.1093.
- Anabrees J, Indrio F, Paes B, AlFaleh K. 2013. Probiotics for infantile colic: a systematic review. *BMC Pediatr.* 13(1):186. doi:10.1186/1471-2431-13-186.
- Anggorodi R. 1994. *Ilmu Makanan Ternak Umum.* Jakarta: Gramedia.
- Anom. 2019. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. *EFSA J.* 17(2). doi:10.2903/j.efsa.2019.5598.
- Bahar A, Ren D. 2013. Antimicrobial peptides. *Pharmaceuticals.* 6(12):1543–1575. doi:10.3390/ph6121543.
- Bai J, Wang R, Yan L, Feng J. 2019. Co-supplementation of dietary seaweed powder and antibacterial peptides improves broiler growth performance and immune function. *Brazilian J Poult Sci.* 21(2):1–9. doi:10.1590/1806-9061-2018-0826.
- Bao H, She R, Liu T, Zhang Y, Peng K, Luo D, Yue Z, Ding Y, Hu Y, Liu W, et al. 2009. Effects of pig antibacterial peptides on growth performance and intestine mucosal immune of broiler chickens. *Poult Sci.* 88(2):291–297. doi:10.3382/ps.2008-00330.
- Batista FD, Neuberger MS. 1998. Affinity dependence of the B cell response to antigen: A threshold, a ceiling, and the importance of off-rate. *Immunity.* 8(6):751–759. doi:10.1016/S1074-7613(00)80580-4.
- Bauer E, Jakob S, Mosenthin R. 2005. Principles of physiology of lipid digestion. *Asian-Australasian J Anim Sci.* 18(2):282–295. doi:10.5713/ajas.2005.282.
- Begin JJ. 1971. The effect of antibiotic supplementation on growth and energy utilization of chicks. *Poult Sci.* 50(5):1496–1500. doi:10.3382/ps.0501496.





Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa izin IPB University.

- Berding K, Wang M, Monaco MH, Alexander LS, Mudd AT, Chichlowski M, Waworuntu R V., Berg BM, Miller MJ, Dilger RN, *et al.* 2016. Prebiotics and bioactive milk fractions affect gut development, microbiota, and neurotransmitter expression in piglets. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 63(6):688–697. doi:10.1097/MPG.0000000000001200.
- Beyene T, Tesega B. 2014. Rational veterinary drug use: Its significance in public health. *J Vet Med Anim Heal.* 6(12):302–308. doi:10.5897/JVMAH2014.0332.
- Bird HR. 1968. Effectiveness of antibiotics in broiler feeds. *Worlds Poult Sci J.* 24(4):309–312. doi:10.1079/WPS19680030.
- Bonner A, Almogren A, Furtado PB, Kerr MA, Perkins SJ. 2009. Location of secretory component on the Fc edge of dimeric IgA1 reveals insight into the role of secretory IgA1 in mucosal immunity. *Mucosal Immunol.* 2(1):74–84. doi:10.1038/mi.2008.68.
- Borgstrom B, Dahlqvist A, Lundh G. 1962. On the site of absorption of fat from the human small intestine. *Gut.* 3(4):315–317. doi:10.1136/gut.3.4.315.
- Boudry C, Buldgen A, Portetelle D, Collard A, Théwis A, Dehoux J-P. 2007. Effects of oral supplementation with bovine colostrum on the immune system of weaned piglets. *Res Vet Sci.* 83(1):91–101. doi:10.1016/j.rvsc.2006.11.003.
- Boudry C, Dehoux J-P, Wavreille J, Portetelle D, Théwis A, Buldgen A. 2008. Effect of a bovine colostrum whey supplementation on growth performance, faecal *Escherichia coli* population and systemic immune response of piglets at weaning. *Animal.* 2(5):730–737. doi:10.1017/S175173110800164X.
- Boulanger N, Lowenberger C, Volf P, Ursic R, Sigutova L, Sabatier L, Svobodova M, Beverley SM, Späth G, Brun R, *et al.* 2004. Characterization of a defensin from the sand fly *Phlebotomus duboscqi* induced by challenge with bacteria or the protozoan parasite *Leishmania major*. *Infect Immun.* 72(12):7140–7146. doi:10.1128/IAI.72.12.7140-7146.2004.
- Brace AJ, Lajeunesse MJ, Ardia DR, Hawley DM, Adelman JS, Buchanan KL, Fair JM, Grindstaff JL, Matson KD, Martin LB. 2017. Costs of immune responses are related to host body size and lifespan. *J Exp Zool Part A Ecol Integr Physiol.* 327(5):254–261. doi:10.1002/jez.2084.
- Brady D, Grapputo A, Romoli O, Sandrelli F. 2019. Insect cecropins, antimicrobial peptides with potential therapeutic applications. *Int J Mol Sci.* 20(23):1–22. doi:10.3390/ijms20235862.

- Braeken J, van Assen MALM. 2017. An empirical Kaiser criterion. *Psychol Methods*. 22(3):450–466. doi:10.1037/met0000074.
- Bronzwaer S, Kass G, Robinson T, Tarazona J, Verhagen H, Verloo D, Vrbos D, Hugas M. 2019. Food safety regulatory research needs 2030. *EFSA J*. 17(7). doi:10.2903/j.efsa.2019.e170622.
- Bueschkens DH, Stiles ME. 1984. *Escherichia coli* variants for gas and indole production at elevated incubation temperatures. *Appl Environ Microbiol*. 48(3):601–5. doi:PMC241573.
- Bulet P, Hetru C, Dimarcq J, Hoffmann D. 1999. Antimicrobial peptides in insects: Structure and function. *Dev Comp Immunol*. 23(4–5):329–344. doi:10.1016/S0145-305X(99)00015-4.
- Bulet P, Stocklin R. 2005. Insect antimicrobial peptides: Structures, properties and gene regulation. *Protein Pept Lett*. 12(1):3–11. doi:10.2174/0929866053406011.
- Bunok DKI, Lapian MTR, Rawung VRW, Rembet GDG. 2020. Hubungan bobot lahir anak babi dengan pertambahan bobot badan, bobot sapih, mortalitas, dan litter size sapihan pada peternakan PT. karya prospek satwa. *ZOOTEC*. 40(1):260270. doi:10.35792/zot.40.1.2020.27181.
- Busch DH, Pilip IM, Vijh S, Pamer EG. 1998. Coordinate regulation of complex T cell populations responding to bacterial infection. *Immunity*. 8(3):353–62. doi:10.1016/s1074-7613(00)80540-3.
- Cao L, Li Z, Zhang R, Wu Y, Li W, Cao Z. 2012. StCT2, a new antibacterial peptide characterized from the venom of the scorpion *Scorpiops tibetanus*. *Peptides*. 36(2):213–220. doi:10.1016/j.peptides.2012.04.010.
- Cardinal KM, Pires PG da S, Ribeiro AMLR. 2020. Growth promoter in broiler and pig production Kátia. *Pubvet*. 14(3):1–6. doi:10.31533/pubvet.v14n3a532.1-11.
- Casteels P, Ampe C, Riviere L, Damme J, Elicone C, Fleming M, Jacobs F, Tempst P. 1990. Isolation and characterization of abaecin, a major antibacterial response peptide in the honeybee (*Apis mellifera*). *Eur J Biochem*. 187(2):381–386. doi:10.1111/j.1432-1033.1990.tb15315.x.
- Chalk CH, Benstead TJ, Pound JD, Keezer MR. 2019 Apr 17. Medical treatment for botulism. *Cochrane Database Syst Rev*., siap terbit.
- Chernysh S, Cociancich S, Briand J-P, Hetru C, Bulet P. 1996. The inducible antibacterial peptides of the hemipteran insect *Palomena prasina*:



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Identification of a unique family of proline rich peptides and of a novel insect defensin. *J Insect Physiol.* 42(1):81–89. doi:10.1016/0022-1910(95)00085-2.

Chernysh S, Gordya N, Suborova T. 2015. Insect antimicrobial peptide complexes prevent resistance development in bacteria. *PLoS One.* 10(7):1–15. doi:10.1371/journal.pone.0130788.

Choi S, Ingale S, Kim J, Park Y, Kwon I, Chae B. 2013a. An antimicrobial peptide-A3: effects on growth performance, nutrient retention, intestinal and faecal microflora and intestinal morphology of broilers. *Br Poult Sci.* 54(6):738–746. doi:10.1080/00071668.2013.838746.

Choi S, Ingale S, Kim J, Park Y, Kwon I, Chae B. 2013b. Effects of dietary supplementation with an antimicrobial peptide-P5 on growth performance, nutrient retention, excreta and intestinal microflora and intestinal morphology of broilers. *Anim Feed Sci Technol.* 185:78–84. doi:10.1016/j.anifeedsci.2013.07.005.

Corpas FJ, Fernández-Ocaña A, Carreras A, Valderrama R, Luque F, Esteban FJ, Rodríguez-Serrano M, Chaki M, Pedrajas JR, Sandalio LM, et al. 2006. The Expression of different superoxide dismutase forms is cell-type dependent in olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Plant Cell Physiol.* 47(7):984–994. doi:10.1093/pcp/pcj071.

Cudic M, Bulet P, Hoffmann R, Craik DJ, Otvos Jr L. 1999. Chemical synthesis, antibacterial activity and conformation of diptericin, an 82-mer peptide originally isolated from insects. *Eur J Biochem.* 266(2):549–558. doi:10.1046/j.1432-1327.1999.00894.x.

Cutler SA, Lonergan SM, Cornick N, Johnson AK, Stahl CH. 2007. Dietary inclusion of colicin E1 is effective in preventing postweaning diarrhea caused by F18-positive *Escherichia coli* in pigs. *Antimicrob Agents Chemother.* 51(11):3830–3835. doi:10.1128/AAC.00360-07.

Czihal P, Knappe D, Fritzsche S, Zahn M, Berthold N, Piantavigna S, Müller U, Van Dorpe S, Herth N, Binas A, et al. 2012. Api88 is a novel antibacterial designer peptide to treat systemic infections with multidrug-resistant gram-negative pathogens. *ACS Chem Biol.* 7(7):1281–1291. doi:10.1021/cb300063v.

Czyżak-Runowska G, Wojtczak J, Łyczyński A, Wójtowski J, Markiewicz-Kęszycka M, Stanisławski D, Babicz M. 2015. Meat Quality of Crossbred

- Porkers without the Gene RYR1T Depending on Slaughter Weight. *Asian-Australasian J Anim Sci.* 28(3):398–404. doi:10.5713/ajas.14.0518.
- D'Mello J. 2003. *Amino Acids in Animal Nutrition*. Edisi Kedu. Edinburgh (EB): CABI Internasional.
- Daneshmand A, Kermanshahi H, Sekhavati M, Javadmanesh A, Ahmadian M. 2019a. Antimicrobial peptide, cLF36, affects performance and intestinal morphology, microflora, junctional proteins, and immune cells in broilers challenged with *E. coli*. *Sci Rep.* 9:1–9. doi:10.1038/s41598-019-50511-7.
- Daneshmand A, Kermanshahi H, Sekhavati M, Javadmanesh A, Ahmadian M, Alizadeh M, Aldavoodi A. 2019b. Effects of cLFchimera, a recombinant antimicrobial peptide, on intestinal morphology, microbiota, and gene expression of immune cells and tight junctions in broiler chickens challenged with *C. perfringens*. *bioRxiv*, siap terbit.
- Dang X, Tian J-H, Yang W-Y, Wang W, Ishibashi J, Asaoka A, Yi H-Y, Li Y-F, Cao Y, Yamakawa M, et al.. 2009. Bactrocerin-1: A novel inducible antimicrobial peptide from pupae of oriental fruit fly Bactrocera dorsalis hendel. *Arch Insect Biochem Physiol.* 71(3):117–129. doi:10.1002/arch.20308.
- Debeljak N, Feldman L, Davis KL, Komel R, Sytkowski AJ. 2006. Variability in the immunodetection of His-tagged recombinant proteins. *Anal Biochem.* 359(2):216–223. doi:10.1016/j.ab.2006.09.017.
- Devillers N, Le Dividich J, Prunier A. 2011. Influence of colostrum intake on piglet survival and immunity. *Animal.* 5(10):1605–1612. doi:10.1017/S175173111100067X.
- Dibner JJ, Richards JD. 2005. Antibiotic growth promoters in agriculture: history and mode of action. *Poult Sci.* 84(4):634–643. doi:10.1093/ps/84.4.634.
- van Dijk AJ, Everts H, Nabuurs MJA, Margry RJCF, Beynen AC. 2001. Growth performance of weanling pigs fed spray-dried animal plasma: a review. *Livest Prod Sci.* 68:263–274. doi:10.1016/S0301-6226(00)00229-3.
- Dushay MS, Roethle JB, Chaverri JM, Dulek DE, Syed SK, Kitami T, Eldon ED. 2000. Two attacin antibacterial genes of *Drosophila melanogaster*. *Gene.* 246(1–2):49–57. doi:10.1016/S0378-1119(00)00041-X.
- Ehret-Sabatier L, Loew D, Goyffon M, Fehlbaum P, Hoffmann JA, van Dorsselaer A, Bulet P. 1996. Characterization of novel cysteine-rich

- antimicrobial peptides from scorpion blood. *J Biol Chem.* 271(47):29537–29544. doi:10.1074/jbc.271.47.29537.
- Elhag O, Zhou D, Song Q, Soomro AA, Cai M, Zheng L, Yu Z, Zhang J. 2017. Screening, expression, purification and functional characterization of novel antimicrobial peptide genes from *Hermetia illucens* (L.). *PLoS One.* 12(1):1–15. doi:10.1371/journal.pone.0169582.
- Enany M, Algammal A, Solimane R, El-Sissi A, Hebashy A. 2017. Evaluation of lactoferrin immunomodulatory effect on the immune response of broiler chickens. *Suez Canal Vet Med J.* 22(1):135–146. doi:10.21608/scvmj.2017.62452.
- Fagarasan S, Honjo T. 2003. Intestinal IgA synthesis: regulation of front-line body defences. *Nat Rev Immunol.* 3(1):63–72. doi:10.1038/nri982.
- FastGene®. 2017. *RNA Premium Kit Protocol: Purification of Total RNA from Cultured Cells and Tissues*. FastGene®, editor. Tokyo: Nippon Genetics.
- Fehlbaum P, Bulet P, Chernysh S, Briand JP, Roussel JP, Letellier L, Hetru C, Hoffmann JA. 1996. Structure-activity analysis of thanatin, a 21-residue inducible insect defense peptide with sequence homology to frog skin antimicrobial peptides. *Proc Natl Acad Sci.* 93(3):1221–1225. doi:10.1073/pnas.93.3.1221.
- Feingold K, Grunfeld C. 2000. *Introduction to Lipids and Lipoproteins*. South Dartmouth, MA: MDText.com Inc. <http://europepmc.org/books/NBK305896>.
- de Felipe P, Luke GA, Hughes LE, Gani D, Halpin C, Ryan MD. 2006. E unum pluribus: multiple proteins from a self-processing polyprotein. *Trends Biotechnol.* 24(2):68–75. doi:10.1016/j.tibtech.2005.12.006.
- Feng Z, Liu H, Lang J, Li Y, Shu M, Chen Z. 2009. SK66-his, a novel glycine-rich peptide derived from drosophila with antibacterial activity. *Biosci Biotechnol Biochem.* 73(3):769–771. doi:10.1271/bbb.80756.
- Fodor E, Devenish L, Engelhardt OG, Palese P, Brownlee GG, García-Sastre A. 1999. Rescue of Influenza A Virus from Recombinant DNA. *J Virol.* 73(11):9679–9682. doi:10.1128/JVI.73.11.9679-9682.1999.
- Gadde U, Kim WH, Oh ST, Lillehoj HS. 2017. Alternatives to antibiotics for maximizing growth performance and feed efficiency in poultry: a review. *Anim Heal Res Rev.* 18(1):26–45. doi:10.1017/S1466252316000207.

- Gałecki A, Burzykowski T. 2013. *Linear Mixed-Effects Models Using R*. New York, NY: Springer.
- Gaspary OM, Murugan S, Joram B, Bernadether TR, Douglas RC. 2017. A systematic review of antibiotic-resistant *Escherichia coli* and *Salmonella* data obtained from Tanzanian healthcare settings (2004-2014). *African J Microbiol Res.* 11(2):45–54. doi:10.5897/AJMR2016.8282.
- Geier M, Torok V, Guo P, Allison G, Boulianee M, Janardhana V, Bean A, Hughes R. 2011. The effects of lactoferrin on the intestinal environment of broiler chickens. *Br Poult Sci.* 52(5):564–572. doi:10.1080/00071668.2011.607429.
- Giacometti A, Cirioni O, Kamysz W, D'Amato G, Silvestri C, Del Prete MS, Lukasiak J, Scalise G. 2003. Comparative activities of cecropin A, melittin, and cecropin A–melittin peptide CA(1–7)M(2–9)NH₂ against multidrug-resistant nosocomial isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Peptides.* 24(9):1315–1318. doi:10.1016/j.peptides.2003.08.003.
- Girard M, Bee G. 2020. Invited review: Tannins as a potential alternative to antibiotics to prevent coliform diarrhea in weaned pigs. *Animal.* 14(1):95–107. doi:10.1017/S1751731119002143.
- Gobbo M, Biondi L, Filira F, Gennaro R, Benincasa M, Scolaro B, Rocchi R. 2002. Antimicrobial peptides: Synthesis and antibacterial activity of linear and cyclic drosocin and apidaecin 1b Analogues. *J Med Chem.* 45(20):4494–4504. doi:10.1021/jm020861d.
- Gomez GG, Phillips O, Goforth RA. 1998. Effect of immunoglobulin source on survival, growth, and hematological and immunological variables in pigs. *J Anim Sci.* 76(1):1. doi:10.2527/1998.7611.
- Gong M, Anderson D, Rathgeber B, MacIsaac J. 2017. The effect of dietary lysozyme with EDTA on growth performance and intestinal microbiota of broiler chickens in each period of the growth cycle. *J Appl Poult Res.* 26(1):1–8. doi:10.3382/japr/pfw041.
- Guex N, Peitsch MC, Schwede T. 2009. Automated comparative protein structure modeling with SWISS-MODEL and Swiss-PdbViewer: A historical perspective. *Electrophoresis.* 30(S1):S162–S173. doi:10.1002/elps.200900140.
- Haeberli S, Kuhn-Nentwig L, Schaller J, Nentwig W. 2000. Characterisation of antibacterial activity of peptides isolated from the venom of the spider



- Cupiennius salei* (Araneae: Ctenidae). *Toxicon.* 38(3):373–380. doi:10.1016/S0041-0101(99)00167-1.
- Hamid H, Zhao LH, Ma GY, Li WX, Shi HQ, Zhang JY, Ji C, Ma QG. 2019. Evaluation of the overall impact of antibiotics growth promoters on broiler health and productivity during the medication and withdrawal period. *Poult Sci.* 98(9):3685–3694. doi:10.3382/ps/pey598.
- Han S, Lee K, Yeo J, Oh B, Kim B, Lee W, Baek H, Kim S, Hwang SJ, Pak SC. 2010. Effects of honeybee venom supplementation in drinking water on growth performance of broiler chickens. *Poult Sci.* 89(11):2396–2400. doi:10.3382/ps.2010-00915.
- Hara S, Yamakawa M. 1995. A novel antibacterial peptide family isolated from the silkworm, *Bombyx mori*. *Biochem J.* 310(2):651–656. doi:10.1042/bj3100651.
- Harder J, Bartels J, Christophers E, Schröder J-M. 2001. Isolation and characterization of human μ -Defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem.* 276(8):5707–5713. doi:10.1074/jbc.M008557200.
- Hasaballah A, Shehata A, Shehab A. 2019. Antioxidant and anticancer activities of some maggots methanol extracts. *Egypt Acad J Biol Sci A, Entomol.* 12(1):111–119. doi:10.21608/eajbsa.2019.26722.
- He Y, Kim K, Kovanda L, Jinno C, Song M, Chase J, Li X, Tan B, Liu Y. 2020. *Bacillus subtilis*: a potential growth promoter in weaned pigs in comparison to carbadox. *J Anim Sci.* 98(9). doi:10.1093/jas/skaa290.
- Hoskin DW, Ramamoorthy A. 2008. Studies on anticancer activities of antimicrobial peptides. *Biochim Biophys Acta - Biomembr.* 1778(2):357–375. doi:10.1016/j.bbamem.2007.11.008.
- Hu X, Guo Y, Huang B, Bun S, Zhang L, Li J, Liu D, Long F, Yang X, Jiao P. 2010. The effect of glucagon-like peptide 2 injection on performance, small intestinal morphology, and nutrient transporter expression of stressed broiler chickens. *Poult Sci.* 89(9):1967–1974. doi:10.3382/ps.2009-00547.
- Huang X, Xiong M, Jin Y, Deng C, Xu H, An C, Hao L, Yang X, Deng X, Tu Z, et al. 2016. Evidence that high-migration drug-surviving MOLT4 leukemia cells exhibit cancer stem cell-like properties. *Int J Oncol.* 49(1):343–351. doi:10.3892/ijo.2016.3526.
- Huguet A, Le Dividich J, Le Huérou-Luron I. 2012. Improvement of growth performance and sanitary status of weaned piglets fed a bovine colostrum-

- supplemented diet1. *J Anim Sci.* 90(5):1513–1520. doi:10.2527/jas.2011-3941.
- Huguet A, Sèvre B, Le Dividich J, Le Huërou-Luron I. 2006. Effects of a bovine colostrum-supplemented diet on some gut parameters in weaned piglets. *Reprod Nutr Dev.* 46(2):167–178. doi:10.1051/rnd:2006006.
- Hultmark D, Steiner H, Rasmussen T, Boman HG. 1980. Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*. *Eur J Biochem.* 106(1):7–16. doi:10.1111/j.1432-1033.1980.tb05991.x.
- Hurwitz S, Bar A, Katz M, Sklan D, Budowski P. 1973. Absorption and secretion of fatty acids and bile acids in the intestine of the laying fowl. *J Nutr.* 103(4):543–547. doi:10.1093/jn/103.4.543.
- Ikeda Y. 2001. PR-39, a proline/arginine-rich antimicrobial peptide, exerts cardioprotective effects in myocardial ischemia–reperfusion. *Cardiovasc Res.* 49(1):69–77. doi:10.1016/S0008-6363(00)00226-1.
- Jayamani E, Rajamuthiah R, Larkins-Ford J, Fuchs BB, Conery AL, Vilcinskas A, Ausubel FM, Mylonakis E. 2015. Insect-derived cecropins display activity against *Acinetobacter baumannii* in a whole-animal high-throughput *Caenorhabditis elegans* model. *Antimicrob Agents Chemother.* 59(3):1728–1737. doi:10.1128/AAC.04198-14.
- Jazayeri MH, Sadri M, Mostafaie A, Nedaeinia R. 2020. Identification of an immunoglobulin M (IgM) antibody against enolase 1 protein (ENO1) derived from HEK-293 cells in patients with kidney failure. *Int J Pept Res Ther.* 26(3):1251–1257. doi:10.1007/s10989-019-09919-y.
- Jersild R, Clayton R. 1971. A comparison of the morphology of lipid absorption in the jejunum and ileum of the adult rat. *Am J Anat.* 131(4):481–503. doi:10.1002/aja.1001310408.
- Jiang Y, Yin Q, Yang Y. 2009. Effect of soybean peptides on growth performance, intestinal structure and mucosal immunity of broilers. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl).* 93(6):754–760. doi:10.1111/j.1439-0396.2008.00864.x.
- Jiménez MJ, Díaz JA, Alonso AJ, Castaño S, Pérez M. 2020. Non-intrusive measurements to incorporate the air renovations in dynamic models assessing the in-situ thermal performance of buildings. *Energies.* 14(1):37. doi:10.3390/en14010037.



- Jin F, Xu X, Zhang W, Gu D. 2006. Expression and characterization of a housefly cecropin gene in the methylotrophic yeast, *Pichia pastoris*. *Protein Expr Purif.* 49(1):39–46. doi:10.1016/j.pep.2006.03.008.
- Jin Z, Yang Y, Choi J, Shinde P, Yoon S, Hahn T, Lim H, Park Y, Hahm K, Joo J, et al. 2008. Effects of potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Golden valley) protein having antimicrobial activity on the growth performance, and intestinal microflora and morphology in weanling pigs. *Anim Feed Sci Technol.* 140(1–2):139–154. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.12.006.
- Joerger R. 2003. Alternatives to antibiotics: bacteriocins, antimicrobial peptides and bacteriophages. *Poult Sci.* 82(4):640–647. doi:10.1093/ps/82.4.640.
- Johnson EA. 2019. Clostridium botulinum. Di dalam: *Food Microbiology*. Washington, DC, USA: ASM Press. hlm 487–512.
- Jolliffe IT, Cadima J. 2016. Principal component analysis: a review and recent developments. *Philos Trans R Soc A Math Phys Eng Sci.* 374:1–16. doi:10.1098/rsta.2015.0202.
- Kaiser HF. 1960. The application of electronic computers to factor analysis. *Educ Psychol Meas.* 20(1):141–151. doi:10.1177/001316446002000116.
- Karimzadeh S, Rezaei M, Teimouri Yansari A. 2016. Effects of canola bioactive peptides on performance, digestive enzyme activities, nutrient digestibility, intestinal morphology and gut microflora in broiler chickens. *Poult Sci J.* 4(1):27–36. doi:10.22069/PSJ.2016.2969.
- Karimzadeh S, Rezaei M, Teimouri Yansari A. 2017a. Effects of different levels of canola meal peptides on growth performance and blood metabolites in broiler chickens. *Livest Sci.* 203:37–40. doi:10.1016/j.livsci.2017.06.013.
- Karimzadeh S, Rezaei M, Teimouri Yansari A. 2017b. Effect of canola peptides, antibiotic, probiotic and prebiotic on performance, digestive enzymes activity and some ileal aerobic bacteria in broiler chicks. *Iran J Anim Sci.* 48(7):129–139. doi:10.22059/ijas.2017.221313.653481.
- Karwati A, Nomura J, Ramli N, Wahyudi AT. 2015. Cytotoxicity of crude extract from sponge-associated bacteria against MOLT4 leukemic cell lines through apoptosis. *Int J Pharm Pharm Sci.* 7(12):246–249.
- Kassambara A. 2017. *Practical Guide to Principal Component Methods in R*. STHDA.
- Kassambara A, Mundt F. 2020. *Extract and Visualize The Results of Multivariate Data Analyses*. CRAN.

- Kaushal A, Gupta K, van Hoek ML. 2016. Characterization of *Cimex lectularius* (bedbug) defensin peptide and its antimicrobial activity against human skin microflora. *Biochem Biophys Res Commun.* 470(4):955–960. doi:10.1016/j.bbrc.2016.01.100.
- Kierończyk B, Rawski M, Mikołajczak Z, Świątkiewicz S, Józefiak D. 2020. Nisin as a novel feed additive: the effects on gut microbial modulation and activity, mistological parameters, and growth performance of broiler chickens. *Animals.* 10(1):1–15. doi:10.3390/ani10010101.
- Kim D, Han S, Keum M, Lee S, An B, Lee SR, Lee K. 2018. Evaluation of bee venom as a novel feed additive in fast-growing broilers. *Br Poult Sci.* 59(4):435–442. doi:10.1080/00071668.2018.1476675.
- Kim W, Lillehoj H, Gay C. 2016. Using genomics to identify novel antimicrobials. *Rev Sci Tech l’OIE.* 35(1):95–103. doi:10.20506/rst.35.1.2420.
- King M, Ravindran V, Morel P, Thomas D, Birtles M, Pluske J. 2005. Effects of spray-dried colostrum and plasmas on the performance and gut morphology of broiler chickens. *Aust J Agric Res.* 56(8):811–817. doi:10.1071/AR04324.
- Klein E, Vánky F, Ben-Bassat H, Neumann H, Ralph P, Zeuthen J, Polliack A. 1976. Properties of the K562 cell line, derived from a patient with chronic myeloid leukemia. *Int J Cancer.* 18(4):421–431. doi:10.1002/ijc.2910180405.
- Knappe D, Kabankov N, Herth N, Hoffmann R. 2016. Insect-derived short proline-rich and murine cathelicidin-related antimicrobial peptides act synergistically on Gram-negative bacteria in vitro. *Future Med Chem.* 8(10):1035–1045. doi:10.4155/fmc-2016-0083.
- Kozak M. 2005. Regulation of translation via mRNA structure in prokaryotes and eukaryotes. *Gene.* 361:13–37. doi:10.1016/j.gene.2005.06.037.
- Krajmalnik-Brown R, Ilhan Z, Kang D, DiBaise JK. 2012. Effects of gut microbes on nutrient absorption and energy regulation. *Nutr Clin Pract.* 27(2):201–214. doi:10.1177/0884533611436116.
- Krizsan A, Volke D, Weinert S, Sträter N, Knappe D, Hoffmann R. 2014. Insect derived proline-rich antimicrobial peptides kill bacteria by inhibiting bacterial protein translation at the 70S ribosome. *Angew Chemie Int Ed.* 53(45):12236–12239. doi:10.1002/anie.201407145.

- Kuhn-Nentwig L, Müller J, Schaller J, Walz A, Dathe M, Nentwig W. 2002. Cupiennin 1, a new family of highly basic antimicrobial peptides in the venom of the spider *Cupiennius salei* (Ctenidae). *J Biol Chem.* 277(13):11208–11216. doi:10.1074/jbc.M111099200.
- Kwong WK, Mancenido AL, Moran NA. 2017. Immune system stimulation by the native gut microbiota of honey bees. *R Soc Open Sci.* 4(2):1–9. doi:10.1098/rsos.170003.
- Lai Y, Gallo R. 2009. AMPed up immunity: How antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense. *Trends Immunol.* 30(3):131–141. doi:10.1016/j.it.2008.12.003.
- Lamberty M, Ades S, Uttenweiler-Joseph S, Brookhart G, Bushey D, Hoffmann JA, Bulet P. 1999. Insect immunity: Isolation from the lepidopteran *Heliothis virescens* of a novel insect defensin with potent antifungal activity. *J Biol Chem.* 274(14):9320–9326. doi:10.1074/jbc.274.14.9320.
- Law IKM, Cheng MW, Shih DQ, McGovern DPB, Koon HW. 2018. The Roles of Antimicrobial Peptides in the Regulation of Gastrointestinal Microbiota and Innate Immunity. Di dalam: *Antimicrobial Peptides in Gastrointestinal Diseases*. Elsevier. hlm 35–60.
- Lee K, Shin SY, Kim K, Lim SS, Hahm K, Kim Y. 2004. Antibiotic activity and structural analysis of the scorpion-derived antimicrobial peptide IsCT and its analogs. *Biochem Biophys Res Commun.* 323(2):712–719. doi:10.1016/j.bbrc.2004.08.144.
- Lee T-T, Chang C-C, Juang R-S, Chen R-B, Yang H-Y, Chu L-W, Wang S-R, Tseng T-H, Wang C-S, Chen L-J, et al. 2010. Porcine lactoferrin expression in transgenic rice and its effects as a feed additive on early weaned piglets. *J Agric Food Chem.* 58(8):5166–5173. doi:10.1021/jf903904s.
- Lee VS, Chong WL, Sukumaran SD, Nimmanpipug P, Letchumanan V, Goh B-H, Lee L-H, Zain SM, Rahman NA. 2020. Computational screening and identifying binding interaction of anti-viral and anti-malarial drugs: Toward the potential cure for SARS-CoV-2. *Prog Drug Discov Biomed Sci.* 3(1):a0000065. doi:10.3687/pddbs.a0000065.
- Lee YS, Yun EK, Jang WS, Kim I, Lee JH, Park SY, Ryu KS, Seo SJ, Kim CH, Lee IH. 2004. Purification, cDNA cloning and expression of an insect defensin from the great wax moth, *Galleria mellonella*. *Insect Mol Biol.* 13(1):65–72. doi:10.1111/j.1365-2583.2004.00462.x.

- Leeson S, Summers JDJ. 2008. *Commercial Poultry Nutrition*. Edisi Keti. Nottingham (NG): Nottingham University Press.
- Lenhardt L, Mozeš Š. 2003. Morphological and functional changes of the small intestine in growth-stunted broilers. *Acta Vet Brno*. 72(3):353–358. doi:10.2754/avb200372030353.
- Levashina EA, Ohresser S, Bulet P, Reichhart J, Hetru C, Hoffmann JA. 1995. Metchnikowin, a novel immune-inducible proline-rich peptide from drosophila with antibacterial and antifungal properties. *Eur J Biochem*. 233(2):694–700. doi:10.1111/j.1432-1033.1995.694_2.x.
- Li Y, Xiang Q, Zhang Q, Huang Y, Su Z. 2012. Overview on the recent study of antimicrobial peptides: Origins, functions, relative mechanisms and application. *Peptides*. 37(2):207–215. doi:10.1016/j.peptides.2012.07.001.
- Li Z, Mao R, Teng D, Hao Y, Chen H, Wang XX, Wang XX, Yang N, Wang J. 2017. Antibacterial and immunomodulatory activities of insect defensins-DLP2 and DLP4 against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Sci Rep*. 7(1):1–16. doi:10.1038/s41598-017-10839-4.
- Liu D, Guo Y, Wang Z, Yuan J. 2010. Exogenous lysozyme influences *Clostridium perfringens* colonization and intestinal barrier function in broiler chickens. *Avian Pathol*. 39(1):17–24. doi:10.1080/03079450903447404.
- Long Y, Lin S, Zhu J, Pang X, Fang Z, Lin Y, Che L, Xu S, Li J, Huang Y, et al. 2016. Effects of dietary lysozyme levels on growth performance, intestinal morphology, non-specific immunity and mRNA expression in weanling piglets. *Anim Sci J*. 87(3):411–418. doi:10.1111/asj.12444.
- Losinger WC. 1998. Feed-conversion ratio of finisher pigs in the USA. *Prev Vet Med*. 36(4):287–305. doi:10.1016/S0167-5877(98)00094-4.
- Lu J, Idris U, Harmon B, Hofacre C, Maurer JJ, Lee MD. 2003. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Appl Environ Microbiol*. 69(11):6816–6824. doi:10.1128/AEM.69.11.6816-6824.2003.
- Lüders T, Birkemo GA, Fimland G, Nissen-Meyer J, Nes IF. 2003. Strong synergy between a eukaryotic antimicrobial peptide and bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 69(3):1797–1799. doi:10.1128/AEM.69.3.1797-1799.2003.
- Ma J, Zhao L, Sun D, Zhang J, Guo Y, Zhang Z, Ma Q, Ji C, Zhao L. 2020. Effects of dietary supplementation of recombinant plectasin on growth

- performance, intestinal health and innate immunity response in broilers. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 12(1):214–223. doi:10.1007/s12602-019-9515-2.
- Ma L, Dilger JP. 2018. Antimicrobial peptides as potential therapy for gastrointestinal cancers: Opportunities and challenges. *Antimicrob Pept Gastrointest Dis.,* 3(1):77-86. doi:10.1016/B978-0-12-814319-3.00005-2.
- Mackintosh JA, Veal DA, Beattie AJ, Gooley AA. 1998. Isolation from an ant Myrmecia gulosa of two inducible o-glycosylated proline-rich antibacterial peptides. *J Biol Chem.* 273(11):6139–6143. doi:10.1074/jbc.273.11.6139.
- Macpherson AJ, Slack E. 2007. The functional interactions of commensal bacteria with intestinal secretory IgA. *Curr Opin Gastroenterol.* 23(6):673–678. doi:10.1097/MOG.0b013e3282f0d012.
- Malcolm JF. 1938. The classification of coliform bacteria. *Epidemiol Infect.* 38(4):395–423. doi:10.1017/S0022172400011281.
- Manafi M, Hedayati M, Pirany N, Omede AA. 2019. Comparison of performance and feed digestibility of the non-antibiotic feed supplement (Novacid) and an antibiotic growth promoter in broiler chickens. *Poult Sci.* 98(2):904–911. doi:10.3382/ps/pey437.
- Martínez-Alvarez O, Chamorro S, Brenes A. 2015. Protein hydrolysates from animal processing by-products as a source of bioactive molecules with interest in animal feeding: A review. *Food Res Int.* 73(1069):204–212. doi:10.1016/j.foodres.2015.04.005.
- Maskey R, Fei J, Nguyen H. 2018. Use of exploratory factor analysis in maritime research. *Asian J Shipp Logist.* 34(2):91–111. doi:10.1016/j.ajsl.2018.06.006.
- Matsuyama K, Natori S. 1988. Purification of three antibacterial proteins from the culture medium of NIH-Sape-4, an embryonic cell line of *Sarcophaga peregrina.* *J Biol Chem.* 263(32):17112–17116. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3182836>.
- May KD, Wells JE, Maxwell C V., Oliver WT. 2012. Granulated lysozyme as an alternative to antibiotics improves growth performance and small intestinal morphology of 10-day-old pigs. *J Anim Sci.* 90(4):1118–1125. doi:10.2527/jas.2011-4297.
- McDonald P, Edwards R, Greenhalgh J. 2017. *Animal Nutrition.* Edisi Ketua. New York (NY): Prentice Hall.





Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

- Van den Meersche T, Rasschaert G, Haesebrouck F, Van Coillie E, Herman L, Van Weyenberg S, Daeseleire E, Heyndrickx M. 2019. Presence and fate of antibiotic residues, antibiotic resistance genes and zoonotic bacteria during biological swine manure treatment. *Ecotoxicol Environ Saf.* 175:29–38. doi:10.1016/j.ecoenv.2019.01.127.
- Mishra T, Khullar M, Bhatia A. 2011. Anticancer potential of aqueous ethanol seed extract of *Ziziphus mauritiana* against cancer cell lines and ehrlich ascites carcinoma. *Evidence-Based Complement Altern Med.* 2011:1–11. doi:10.1155/2011/765029.
- Mizuguchi H, Xu Z, Ishii-Watabe A, Uchida E, Hayakawa T. 2000. IRES-dependent second gene expression is significantly lower than cap-dependent first gene expression in a bicistronic vector. *Mol Ther.* 1(4):376–382. doi:10.1006/mthe.2000.0050.
- Moerman L, Bosteels S, Noppe W, Willems J, Clynen E, Schoofs L, Thevissen K, Tytgat J, Van Eldere J, van der Walt J, et al. 2002. Antibacterial and antifungal properties of α -helical, cationic peptides in the venom of scorpions from southern Africa. *Eur J Biochem.* 269(19):4799–4810. doi:10.1046/j.1432-1033.2002.03177.x.
- Moher D, Shamseer L, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, Shekelle P, Stewart LA. 2015. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015 statement. *Syst Rev.* 4(1):1–9. doi:10.1186/2046-4053-4-1.
- Morrison WD, Tremere AW, Standish JF. 1974. Response of broiler chicks to various combinations of furazolidone and novastat. *Poult Sci.* 53(3):1106–1110. doi:10.3382/ps.0531106.
- Morton FB, Altschul D. 2019. Data reduction analyses of animal behaviour: Avoiding Kaiser's criterion and adopting more robust automated methods. *Anim Behav.* 149:89–95. doi:10.1016/j.anbehav.2019.01.003.
- Muchintala D, Suresh V, Raju D, Sashidhar RB. 2020. Synthesis and characterization of cecropin peptide-based silver nanocomposites: Its antibacterial activity and mode of action. *Mater Sci Eng C.* 110:1–32. doi:10.1016/j.msec.2020.110712.
- Murguia-Favela L, Sharfe N, Karanxha A, Bates A, Dadi H, Cimpean L, Roifman CM. 2017. CD40 deficiency: a unique adult patient with hyper immunoglobulin M syndrome and normal expression of CD40. *LymphoSigin J.* 4:lymphosign-2017-0004. doi:10.14785/lymphosign-2017-0004.

- Mylonakis E, Podsiadlowski L, Muhammed M, Vilcinskas A. 2016. Diversity, evolution and medical applications of insect antimicrobial peptides. *Philos Trans R Soc B Biol Sci.* 371:1–11. doi:10.1098/rstb.2015.0290.
- Naraei P, Street V. 2017. A PCA based feature reduction in intracranial hypertension analysis. Di dalam: *Canadian Conference on Electrical and Computer Engineering*. hlm 1–6.
- Nelson D, Cox M. 2017. *Principles of Biochemistry*. Edisi Ketua. New York (NY): WH Freeman and Company.
- Oblakova M, Sotirov L, Lalev M, Hristakieva P, Mincheva N, Ivanova I, Bozakova N, Koynarski T. 2015. Growth performance and natural humoral immune status in broiler chickens treated with the immunomodulator natstim. *IntJCurrMicrobiolAppSci.* 4(11):1–7.
- Ohh S, Shinde P, Jin Z, Choi J, Hahn T, Lim H, Kim G, Park Y, Hahm K, Chae B. 2009. Potato (*Solanum tuberosum* L. cv. Gogu valley) protein as an antimicrobial agent in the diets of broilers. *Poult Sci.* 88(6):1227–1234. doi:10.3382/ps.2008-00491.
- Oliver JP, Gooch CA, Lansing S, Schueler J, Hurst JJ, Sassoubre L, Crossette EM, Aga DS. 2020. Invited review: Fate of antibiotic residues, antibiotic-resistant bacteria, and antibiotic resistance genes in US dairy manure management systems. *J Dairy Sci.* 103(2):1051–1071. doi:10.3168/jds.2019-16778.
- Oliver WT, Wells JE. 2013. Lysozyme as an alternative to antibiotics improves growth performance and small intestinal morphology in nursery pigs. *J Anim Sci.* 91(7):3129–3136. doi:10.2527/jas.2012-5782.
- Oliver WT, Wells JE. 2015. Lysozyme as an alternative to growth promoting antibiotics in swine production. *J Anim Sci Biotechnol.* 6(1):35. doi:10.1186/s40104-015-0034-z.
- Oliver WT, Wells JE, Maxwell C V. 2014. Lysozyme as an alternative to antibiotics improves performance in nursery pigs during an indirect immune challenge. *J Anim Sci.* 92(11):4927–4934. doi:10.2527/jas.2014-8033.
- Otvos, Jr L. 2000. Antibacterial peptides isolated from insects. *J Pept Sci.* 6(10):497–511. doi:10.1002/1099-1387(200010)6:10<497::AID-PSC277>3.0.CO;2-W.
- Pan C-Y, Wu J-L, Hui C-F, Lin C-H, Chen J-Y. 2011. Insights into the antibacterial and immunomodulatory functions of the antimicrobial peptide,

- epinecidin-1, against *Vibrio vulnificus* infection in zebrafish. *Fish Shellfish Immunol.* 31(6):1019–1025. doi:10.1016/j.fsi.2011.09.001.
- Pardoux É, Boturyn D, Roupiez Y. 2020. Antimicrobial Peptides as Probes in Biosensors Detecting Whole Bacteria: A Review. *Molecules.* 25(8):1–20. doi:10.3390/molecules25081998.
- Park S, Yoe SM. 2017a. Defensin-like peptide3 from black solder fly: Identification, characterization, and key amino acids for anti-Gram-negative bacteria. *Entomol Res.* 47(1):41–47. doi:10.1111/1748-5967.12214.
- Park S, Yoe SM. 2017b. A novel cecropin-like peptide from black soldier fly, *Hermetia illucens*: Isolation, structural and functional characterization. *Entomol Res.* 47(2):115–124. doi:10.1111/1748-5967.12226.
- Park SI, Kim JW, Yoe SM. 2015. Purification and characterization of a novel antibacterial peptide from black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae. *Dev Comp Immunol.* 52(1):98–106. doi:10.1016/j.dci.2015.04.018.
- Pei Z, Sun X, Tang Y, Wang K, Gao Y, Ma H. 2014. Cloning, expression, and purification of a new antimicrobial peptide gene from *Musca domestica* larva. *Gene.* 549(1):41–45. doi:10.1016/j.gene.2014.07.028.
- Pellegrini A, Thomas U, von Fellenberg R, Wild P. 1992. Bactericidal activities of lysozyme and aprotinin against Gram-negative and Gram-positive bacteria related to their basic character. *J Appl Bacteriol.* 72(3):180–187. doi:10.1111/j.1365-2672.1992.tb01821.x.
- Peng Z, Wang A, Xie L, Song W, Wang J, Yin Z, Zhou D, Li F. 2016. Use of recombinant porcine β -defensin 2 as a medicated feed additive for weaned piglets. *Sci Rep.* 6(1):1–8. doi:10.1038/srep26790.
- Pierce JL, Cromwell GL, Lindemann MD, Russell LE, Weaver EM. 2005. Effects of spray-dried animal plasma and immunoglobulins on performance of early weaned pigs. *J Anim Sci.* 83(12):2876–2885. doi:10.2527/2005.83122876x.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, EISPACK, Heisterkamp S, Van Willigen B, R-core, Authors E, Heisterkamp S, et al. 2020. *Linear and Nonlinear Mixed Effects Models.* CRAN.
- Pitzurra L, Jansen IDC, Vries TJ, Hoogenkamp MA, Loos BG. 2020. Effects of L-PRF and A-PRF+ on periodontal fibroblasts in in vitro wound healing experiments. *J Periodontal Res.* 55(2):287–295. doi:10.1111/jre.12714.
- Podda E, Benincasa M, Pacor S, Micali F, Mattiuzzo M, Gennaro R, Scocchi M. 2006. Dual mode of action of Bac7, a proline-rich antibacterial peptide.

- Perpustakaan IPB University
- Biochim Biophys Acta - Gen Subj.* 1760(11):1732–1740.
doi:10.1016/j.bbagen.2006.09.006.
- Pöppel A, Vogel H, Wiesner J, Vilcinskas A. 2015. Antimicrobial peptides expressed in medicinal maggots of the blow fly *Lucilia sericata* show combinatorial activity against bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 59(5):2508–2514. doi:10.1128/AAC.05180-14.
- Priyanto JA, Astuti RI, Nomura J, Wahyudi AT. 2017. Bioactive compounds from sponge associated bacteria: Anticancer activity and NRPS-PKS gene expression in different carbon sources. *Am J Biochem Biotechnol.* 13(4):148–156. doi:10.3844/ajabssp.2017.148.156.
- R Core Team. 2020. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. CRAN.
- Rabel D, Charlet M, Ehret-Sabatier L, Cavicchioli L, Cudic M, Otvos L, Bulet P. 2004. Primary structure and in vitro antibacterial properties of the *Drosophila melanogaster* attacin c pro-domain. *J Biol Chem.* 279(15):14853–14859. doi:10.1074/jbc.M313608200.
- Rabinowitz H, Vogel S. 2009. *The Manual of Scientific Style*. Rabinowitz H, Vogel S, editor. Elsevier.
- Ragland SA, Criss AK. 2017. From bacterial killing to immune modulation: Recent insights into the functions of lysozyme. *PLoS Pathog.* 13(9):e1006512. doi:10.1371/journal.ppat.1006512.
- Rajamuthiah R, Jayamani E, Conery AL, Fuchs BB, Kim W, Johnston T, Vilcinskas A, Ausubel FM, Mylonakis E. 2015. A Defensin from the model beetle *Tribolium castaneum* acts synergistically with telavancin and daptomycin against multidrug resistant *Staphylococcus aureus*. *PLoS One.* 10(6):1–14. doi:10.1371/journal.pone.0128576.
- Rajanbabu V, Pan C-Y, Lee S-C, Lin W-J, Lin C-C, Li C-L, Chen J-Y. 2010. Tilapia Hepcidin 2-3 Peptide Modulates Lipopolysaccharide-induced Cytokines and Inhibits Tumor Necrosis Factor- α through Cyclooxygenase-2 and Phosphodiesterase 4D*. *J Biol Chem.* 285(40):30577–30586. doi:10.1074/jbc.M110.137935.
- Ramírez-Carreto S, Quintero-Hernández V, Jiménez-Vargas JM, Corzo G, Possani LD, Becerril B, Ortiz E. 2012. Gene cloning and functional characterization of four novel antimicrobial-like peptides from scorpions of the family *Vaejovidae*. *Peptides.* 34(2):290–295. doi:10.1016/j.peptides.2012.02.002.

- Rees J, Moniatte M, Bulet P. 1997. Novel antibacterial peptides isolated from a European bumblebee, *Bombus pascuorum* (Hymenoptera, apoidea). *Insect Biochem Mol Biol.* 27(5):413–422. doi:10.1016/S0965-1748(97)00013-1.
- Ren ZH, Yuan W, Deng HD, Deng JL, Dan QX, Jin HT, Tian CL, Peng X, Liang Z, Gao S, et al.. 2015. Effects of antibacterial peptide on cellular immunity in weaned piglets. *J Anim Sci.* 93(1):127–134. doi:10.2527/jas.2014-7933.
- Rhouma M, Fairbrother JM, Beaudry F, Letellier A. 2017. Post weaning diarrhea in pigs: risk factors and non-colistin-based control strategies. *Acta Vet Scand.* 59(1):31. doi:10.1186/s13028-017-0299-7.
- Romoli O, Mukherjee S, Mohid SA, Dutta A, Montali A, Franzolin E, Brady D, Zito F, Bergantino E, Rampazzo C, et al. 2019. Enhanced silkworm cecropin B antimicrobial activity against *Pseudomonas aeruginosa* from single amino acid variation. *ACS Infect Dis.* 5(7):1200–1213. doi:10.1021/acsinfecdis.9b00042.
- Rowland I, Gibson G, Heinken A, Scott K, Swann J, Thiele I, Tuohy K. 2018. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *Eur J Nutr.* 57(1):1–24. doi:10.1007/s00394-017-1445-8.
- Russell LB, Kim SY, Toscano C, Cosgriff B, Minamisawa R, Lucia Andrade A, Sanderson C, Sinha A. 2021. Comparison of static and dynamic models of maternal immunization to prevent infant pertussis in Brazil. *Vaccine.* 39(1):158–166. doi:10.1016/j.vaccine.2020.09.006.
- Saboo SS, Khadabadi S, Tapadiya GG. 2012. In vitro evaluation of antimitotic, antiproliferative, DNA fragmentation and anticancer activity of chloroform and ethanol extracts of *Revia hypocarteriformis*. *Asian Pacific J Trop Dis.* 2:S503–S508. doi:10.1016/S2222-1808(12)60211-4.
- Salavati M, Rezaeipour V, Abdollahpour R, Mousavi N. 2019. Effects of graded inclusion of bioactive peptides derived from sesame meal on the growth performance, internal organs, gut microbiota and intestinal morphology of broiler chickens. *Int J Pept Res Ther.* 26(3):1541–1548. doi:10.1007/s10989-019-09947-8.
- Samli H, Senkoylu N, Koc F, Kanter M, Agma A. 2007. Effects of *Enterococcus faecium* and dried whey on broiler performance, gut histomorphology and intestinal microbiota. *Arch Anim Nutr.* 61(1):42–49. doi:10.1080/17450390601106655.

- Sauvant D, Schmidely P, Daudin J, St-Pierre N. 2008. Meta-analyses of experimental data in animal nutrition. *Animal*. 2(8):1203–1214. doi:10.1017/S1751731108002280.
- Scanes C, Pierzchala-Koziec K. 2014. Biology of the gastrointestinal tract in poultry. *Avian Biol Res*. 7(4):193–222. doi:10.3184/175815514X14162292284822.
- Schat KA, Kaspers B, Kaiser P. 2014. *Avian Immunology*. Edisi Kedu. Cambridge (CAM): Academic Press.
- Schober P, Boer C, Schwarte LA. 2018. Correlation coefficients: Appropriate use and interpretation. *Anesth Analg*. 126(5):1763–1768. doi:10.1213/ANE.0000000000002864.
- Schroeder HW, Cavacini L. 2010. Structure and function of immunoglobulins. *J Allergy Clin Immunol*. 125(2):S41–S52. doi:10.1016/j.jaci.2009.09.046.
- Selle P, Ravindran V, Ravindran G, Bryden W. 2007. Effects of dietary lysine and microbial phytase on growth performance and nutrient utilisation of broiler chickens. *Asian-Australasian J Anim Sci*. 20(7):1100–1107. doi:10.5713/ajas.2007.1100.
- Shamseer L, Moher D, Clarke M, Ghersi D, Liberati A, Petticrew M, Shekelle P, Stewart LA. 2015. Preferred reporting items for systematic review and meta-analysis protocols (PRISMA-P) 2015: elaboration and explanation. *BMJ*. 349:1–25. doi:10.1136/bmj.g7647.
- Shan T, Wang Y, Wang Y, Liu J, Xu Z. 2007. Effect of dietary lactoferrin on the immune functions and serum iron level of weanling piglets. *J Anim Sci*. 85(9):2140–2146. doi:10.2527/jas.2006-754.
- Shang Y, Kumar S, Oakley B, Kim WK. 2018a. Chicken gut microbiota: Importance and detection technology. *Front Vet Sci*. 5. doi:10.3389/fvets.2018.00254.
- Shang Y, Kumar S, Oakley B, Kim WK. 2018b. Chicken gut microbiota: Importance and detection technology. *Front Vet Sci*. 5:1–11. doi:10.3389/fvets.2018.00254.
- Sharma JM. 1991. *Avian Cellular Immunology*. CRC Press.
- Sharma RD, Jain J, Khosa RL. 2019. Short chain linear and cyclic cationic peptide designed from cecropin B: Synthesis and anticancer activity. *J Appl Pharm Sci*. 9(8):1–10. doi:10.7324/JAPS.2019.90801.

- Shi J, Zhang P, Xu M meng, Fang Z, Lin Y, Che L, Feng B, Li J, Li G, Wu D, *et al.*. 2017. Effects of composite antimicrobial peptide on growth performance and health in weaned piglets. *Anim Sci J.* 89(2):397–403. doi:10.1111/asj.12933.
- Shlyapnikov YM, Andreev YA, Kozlov SA, Vassilevski AA, Grishin E V. 2008. Bacterial production of latarcin 2a, a potent antimicrobial peptide from spider venom. *Protein Expr Purif.* 60(1):89–95. doi:10.1016/j.pep.2008.03.011.
- Shrestha A, Duwadi D, Jukosky J, Fiering SN. 2019. Cecropin-like antimicrobial peptide protects mice from lethal *E. coli* infection. *PLoS One.* 14(7):1–13. doi:10.1371/journal.pone.0220344.
- Silva PI, Daffre S, Bulet P. 2000. Isolation and characterization of gomesin, an 18-residue cysteine-rich defense peptide from the spider *Acanthoscurria gomesiana* hemocytes with sequence similarities to horseshoe crab antimicrobial peptides of the tachyplesin family. *J Biol Chem.* 275(43):33464–33470. doi:10.1074/jbc.M001491200.
- Skosyrev VVS, Kulesskiy EAE, Yakhnin AA V., Temirov YY V., Vinokurov LML. 2003a. Expression of the recombinant antibacterial peptide sarcotoxin IA in *Escherichia coli* cells. *Protein Expr Purif.* 28(2):350–356. doi:10.1016/S1046-5928(02)00697-6.
- Skosyrev VVS, Kulesskiy EAE, Yakhnin AA V., Temirov YY V., Vinokurov LML. 2003b. Expression of the recombinant antibacterial peptide sarcotoxin IA in *Escherichia coli* cells. *Protein Expr Purif.* 28(2):350–356. doi:10.1016/S1046-5928(02)00697-6.
- Soares JW, Mello CM. 2004. Antimicrobial peptides: a review of how peptide structure impacts antimicrobial activity. *Monit Food Safety, Agric Plant Heal.* 5271:20–27. doi:10.1117/12.516171.
- Sperstad S V, Haug T, Vasskog T, Stensvåg K. 2009. Hyastatin, a glycine-rich multi-domain antimicrobial peptide isolated from the spider crab (*Hyas araneus*) hemocytes. *Mol Immunol.* 46(13):2604–2612. doi:10.1016/j.molimm.2009.05.002.
- Spranghers T, Michiels J, Vrancx J, Ovyn A, Eeckhout M, De Clercq P, De Smet S. 2018. Gut antimicrobial effects and nutritional value of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) prepupae for weaned piglets. *Anim Feed Sci Technol.* 235:33–42. doi:10.1016/j.anifeedsci.2017.08.012.

- Spranghers T, Ottoboni M, Klootwijk C, Ovyn A, Deboosere S, De Meulenaer B, Michiels J, Eeckhout M, De Clercq P, De Smet S. 2017. Nutritional composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) prepupae reared on different organic waste substrates. *J Sci Food Agric.* 97(8):2594–2600. doi:10.1002/jsfa.8081.
- St-Pierre N. 2001. Invited review: Integrating quantitative findings from multiple studies using mixed model methodology. *J Dairy Sci.* 84(4):741–755. doi:10.3168/jds.S0022-0302(01)74530-4.
- Stegenga J. 2011. Is meta-analysis the platinum standard of evidence? *Stud Hist Philos Sci Part C Stud Hist Philos Biol Biomed Sci.* 42(4):497–507. doi:10.1016/j.shpsc.2011.07.003.
- Stensvåg K, Haug T, Sperstad S V, Rekdal Ø, Indrevoll B, Styrvold OB. 2008. Arasin 1, a proline-arginine-rich antimicrobial peptide isolated from the spider crab, *Hyas araneus*. *Dev Comp Immunol.* 32(3):275–285. doi:10.1016/j.dci.2007.06.002.
- Strauss J, Kadilak A, Cronin C, Mello CM, Camesano TA. 2010. Binding, inactivation, and adhesion forces between antimicrobial peptide cecropin P1 and pathogenic *E. coli*. *Colloids Surfaces B Biointerfaces.* 75(1):156–164. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.08.026.
- Sun T, Pan W, Song Y, Zhang J, Wang J, Dai J. 2017. Functional characterization of two defensins, HIDFS1 and HIDFS2, from the hard tick *Haemaphysalis longicornis*. *Parasit Vectors.* 10(1):1–8. doi:10.1186/s13071-017-2397-9.
- Sun Z, Ma Q, Li Z, Ji C. 2009. Effect of partial substitution of dietary spray-dried porcine plasma or fishmeal with soybean and shrimp protein hydrolysate on growth performance, nutrient digestibility and serum biochemical parameters of weanling piglets. *Asian-Australasian J Anim Sci.* 22(7):1032–1037. doi:10.5713/ajas.2009.70107.
- Suttmann H, Retz M, Paulsen F, Harder J, Zwerger U, Kamradt J, Wullich B, Unteregger G, Stöckle M, Lehmann J. 2008. Antimicrobial peptides of the Cecropin-family show potent antitumor activity against bladder cancer cells. *BMC Urol.* 8(1):1–7. doi:10.1186/1471-2490-8-5.
- Svihus B. 2014. Function of the digestive system. *J Appl Poult Res.* 23(2):306–314. doi:10.3382/japr.2014-00937.
- Szulc K, Nowaczewski S, Skrzypczak E, Szyndler-Nędza M. 2018. Effect of slaughter weight and sex on slaughter traits and meat quality of Polish



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

a. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

- ZLotnicka spotted pigs crossbred with Duroc. *Ann Anim Sci.* 18(1):225–237. doi:10.1515/aoas-2017-0020.
- Tang X, Fatufe AA, Yin Y, Tang Z, Wang S, Liu Z, Xinwu, Li T-J. 2012. Dietary supplementation with recombinant lactoferrampin-lactoferricin improves growth performance and affects serum parameters in piglets. *J Anim Vet Adv.* 11(14):2548–2555. doi:10.3923/javaa.2012.2548.2555.
- Tang Z, Xu L, Shi B, Deng H, Lai X, Liu J, Sun Z. 2016. Oral administration of synthetic porcine beta-defensin-2 improves growth performance and cecal microbial flora and down-regulates the expression of intestinal toll-like receptor-4 and inflammatory cytokines in weaned piglets challenged with enterotoxigeni. *Anim Sci J.* 87(10):1258–1266. doi:10.1111/asj.12540.
- Tang Z, Yin Y, Zhang Y, Huang R, Sun Z, Li T, Chu W, Kong X, Li L, Geng M, et al. 2009. Effects of dietary supplementation with an expressed fusion peptide bovine lactoferricin–lactoferrampin on performance, immune function and intestinal mucosal morphology in piglets weaned at age 21 d. *Br J Nutr.* 101(7):998–1005. doi:10.1017/S0007114508055633.
- Tawfik GM, Dila KAS, Mohamed MYF, Tam DNH, Kien ND, Ahmed AM, Huy NT. 2019. A step by step guide for conducting a systematic review and meta-analysis with simulation data. *Trop Med Health.* 47(1):1–9. doi:10.1186/s41182-019-0165-6.
- Téllez GA, Castaño-Osorio JC. 2014. Expression and purification of an active cecropin-like recombinant protein against multidrug resistance *Escherichia coli*. *Protein Expr Purif.* 100:48–53. doi:10.1016/j.pep.2014.05.004.
- Thanh N, Loh T, Foo H, Hair-Bejo M, Azhar B. 2009. Effects of feeding metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, faecal microbial population, small intestine villus height and faecal volatile fatty acids in broilers. *Br Poult Sci.* 50(3):298–306. doi:10.1080/00071660902873947.
- ThermoFisher. 2014. *Instructions: 1-Step Human Coupled IVT Kit – DNA.* Illinois: Thermo Fisher Scientific.
- Tillman A. 1991. *Ilmu Makanan Ternak Dasar.* Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Tonk M, Cabezas-Cruz A, Valdés JJ, Rego ROM, Grubhoffer L, Estrada-Peña A, Vilcinskas A, Kotsyfakis M, Rahnamaeian M. 2015a. *Ixodes ricinus* defensins attack distantly-related pathogens. *Dev Comp Immunol.* 53(2):358–365. doi:10.1016/j.dci.2015.08.001.

- Tonk M, Knorr E, Cabezas-Cruz A, Valdés JJ, Kollewe C, Vilcinskas A. 2015b. *Tribolium castaneum* defensins are primarily active against Gram-positive bacteria. *J Invertebr Pathol.* 132:208–215. doi:10.1016/j.jip.2015.10.009.
- Torki M, Schokker D, Duijster-Lensing M, Van Krimpen M. 2018. Effect of nutritional interventions with quercetin, oat hulls, β -glucans, lysozyme and fish oil on performance and health status related parameters of broilers chickens. *Br Poult Sci.* 59(5):579–590. doi:10.1080/00071668.2018.1496402.
- Toro Segovia LJ, Téllez Ramírez GA, Henao Arias DC, Rivera Duran JD, Bedoya JP, Castaño Osorio JC. 2017. Identification and characterization of novel cecropins from the *Oxysternon conspicillatum* neotropic dung beetle. *PLoS One.* 12(11):1–17. doi:10.1371/journal.pone.0187914.
- Tribst AAL, Franchi MA, Cristianini M. 2008. Ultra-high pressure homogenization treatment combined with lysozyme for controlling *Lactobacillus brevis* contamination in model system. *Innov Food Sci Emerg Technol.* 9(3):265–271. doi:10.1016/j.ifset.2007.07.012.
- Trichas G, Begbie J, Srinivas S. 2008. Use of the viral 2A peptide for bicistronic expression in transgenic mice. *BMC Biol.* 6(1):40. doi:10.1186/1741-7007-6-40.
- Urban C, Mariano N, Rahal JJ, Tay E, Ponio C, Koprivnjak T, Weiss J. 2001. Polymyxin b-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolate susceptible to recombinant BPI21 and cecropin P1. *Antimicrob Agents Chemother.* 45(3):994–995. doi:10.1128/AAC.45.3.994-995.2001.
- Ursic-Bedoya R, Buchhop J, Joy JB, Durvasula R, Lowenberger C. 2011. Prolixicin: a novel antimicrobial peptide isolated from *Rhodnius prolixus* with differential activity against bacteria and *Trypanosoma cruzi*. *Insect Mol Biol.* 20(6):775–786. doi:10.1111/j.1365-2583.2011.01107.x.
- Vanrolleghem W, Tanghe S, Verstringe S, Bruggeman G, Papadopoulos D, Trevisi P, Zentek J, Sarrazin S, Dewulf J. 2019. Potential dietary feed additives with antibacterial effects and their impact on performance of weaned piglets: A meta-analysis. *Vet J.* 249:24–32. doi:10.1016/j.tvjl.2019.04.017.
- Vizioli J, Bulet P, Charlet M, Lowenberger C, Blass C, Muller H-M, Dimopoulos G, Hoffmann J, Kafatos FC, Richman A. 2000. Cloning and analysis of a cecropin gene from the malaria vector mosquito, *Anopheles gambiae*. *Insect Mol Biol.* 9(1):75–84. doi:10.1046/j.1365-2583.2000.00164.x.

- Vogel H, Müller A, Heckel DG, Gutzeit H, Vilcinskas A. 2018. Nutritional immunology: Diversification and diet-dependent expression of antimicrobial peptides in the black soldier fly *Hermetia illucens*. *Dev Comp Immunol.* 78:141–148. doi:10.1016/j.dci.2017.09.008.
- Wan J, Li Y, Chen D, Yu B, Chen G, Zheng P, Mao X, Yu J, He J. 2016. Recombinant plectasin elicits similar improvements in the performance and intestinal mucosa growth and activity in weaned pigs as an antibiotic. *Anim Feed Sci Technol.* 211:216–226. doi:10.1016/j.anifeedsci.2015.12.003.
- Wang D, Ma W, She R, Sun Q, Liu Y, Hu Y, Liu L, Yang Y, Peng K. 2009. Effects of swine gut antimicrobial peptides on the intestinal mucosal immunity in specific-pathogen-free chickens. *Poult Sci.* 88(5):967–974. doi:10.3382/ps.2008-00533.
- Wang G, Song Q, Huang S, Wang Y, Cai S, Yu H, Ding X, Zeng X, Zhang J. 2020. Effect of antimicrobial peptide microcin J25 on growth performance, immune regulation, and intestinal microbiota in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* and *Salmonella*. *Animals.* 10(2):1–12. doi:10.3390/ani10020345.
- Wang J, Bian G, Pan W, Feng T, Dai J. 2015. Molecular characterization of a defensin gene from a hard tick, *Dermacentor silvarum*. *Parasit Vectors.* 8(1):25. doi:10.1186/s13071-014-0625-0.
- Wang J, Wu C, Feng J. 2011. Effect of dietary antibacterial peptide and zinc-methionine on performance and serum biochemical parameters in piglets. *Czech J Anim Sci.* 56(1):30–36. doi:10.17221/341/2009-CJAS.
- Wang S, Zeng X, Wang Q, Zhu J, Peng Q, Hou C, Thacker P, Qiao S. 2015. The antimicrobial peptide sublancin ameliorates necrotic enteritis induced by *Clostridium perfringens* in broilers. *J Anim Sci.* 93(10):4750–4760. doi:10.2527/jas.2015-9284.
- Wang S, Zeng X, Yang Q, Qiao S. 2016. Antimicrobial peptides as potential alternatives to antibiotics in food animal industry. *Int J Mol Sci.* 17(5):1–12. doi:10.3390/ijms17050603.
- Wang Y, Shan T, Xu Z, Liu J, Feng J. 2006. Effect of lactoferrin on the growth performance, intestinal morphology, and expression of PR-39 and protegrin-1 genes in weaned piglets. *J Anim Sci.* 84(10):2636–2641. doi:10.2527/jas.2005-544.

- Wang YZ, Xu CL, An ZH, Liu JX, Feng J. 2008. Effect of dietary bovine lactoferrin on performance and antioxidant status of piglets. *Anim Feed Sci Technol.* 140(3–4):326–336. doi:10.1016/j.anifeedsci.2007.02.006.
- Wei L, Mu L, Wang Y, Bian H, Li J, Lu Y, Han Y, Liu T, Lv J, Feng C, et al. 2015. Purification and characterization of a novel defensin from the salivary glands of the black fly, *Simulium bannaense*. *Parasit Vectors.* 8(71):1–11. doi:10.1186/s13071-015-0669-9.
- Wen L, He J. 2012. Dose–response effects of an antimicrobial peptide, a cecropin hybrid, on growth performance, nutrient utilisation, bacterial counts in the digesta and intestinal morphology in broilers. *Br J Nutr.* 108(10):1756–1763. doi:10.1017/S0007114511007240.
- Weston S, Coleman CM, Haupt R, Logue J, Matthews K, Li Y, Reyes HM, Weiss SR, Frieman MB. 2020. Broad anti-coronavirus activity of food and drug administration-approved drugs against SARS-CoV-2 in vitro and SARS-CoV in vivo. *J Virol.* 94(21):1–13. doi:10.1128/JVI.01218-20.
- World Health Organization. 2017. *Guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals.* Geneva: World Health Organization.
https://www.who.int/foodsafety/publications/cia_guidelines/en/.
- Wu Q, Patočka J, Kuča K. 2018. Insect antimicrobial peptides, a mini review. *Toxins (Basel).* 10(11):461. doi:10.3390/toxins10110461.
- Wu S, Zhang F, Huang Z, Liu H, Xie C, Zhang J, Thacker PA, Qiao S. 2012. Effects of the antimicrobial peptide cecropin AD on performance and intestinal health in weaned piglets challenged with *Escherichia coli*. *Peptides.* 35(2):225–230. doi:10.1016/j.peptides.2012.03.030.
- Xiao Hao, Shao F, Wu M, Ren W, Xiong X, Tan B, Yin Y. 2015. The application of antimicrobial peptides as growth and health promoters for swine. *J Anim Sci Biotechnol.* 6(1):19. doi:10.1186/s40104-015-0018-z.
- Xiao H, Tan B, Wu M, Yin Y, Li T, Yuan D, Li L. 2013. Effects of composite antimicrobial peptides in weanling piglets challenged with deoxynivalenol: II. Intestinal morphology and function. *J Anim Sci.* 91(10):4750–4756. doi:10.2527/jas.2013-6427.
- Xiao H., Wu MM, Shao FY, Tan BE, Li TJ, Ren WK, Yin J, Wang J, He QH, Yin YL, et al. 2015. Metabolic profiles in the response to supplementation with composite antimicrobial peptides in piglets challenged with deoxynivalenol. *J Anim Sci.* 93(3):1114–1123. doi:10.2527/jas.2014-8229.

- Xiao H., Wu MM, Tan BE, Yin YL, Li TJ, Xiao DF, Li L. 2013. Effects of composite antimicrobial peptides in weanling piglets challenged with deoxynivalenol: I. Growth performance, immune function, and antioxidation capacity. *J Anim Sci.* 91(10):4772–4780. doi:10.2527/jas.2013-6426.
- Xiong X, Zhou J, Liu H, Tang Y, Tan B, Yin Y. 2019. Dietary lysozyme supplementation contributes to enhanced intestinal functions and gut microflora of piglets. *Food Funct.* 10(3):1696–1706. doi:10.1039/C8FO02335B.
- Xu B, Fu J, Zhu L, Li Z, Jin M, Wang Y. 2021. Overall assessment of antibiotic substitutes for pigs: a set of meta-analyses. *J Anim Sci Biotechnol.* 12(1):11–15. doi:10.1186/s40104-020-00534-2.
- Xu X-X, Zhang Y-Q, Freed S, Yu J, Gao Y-F, Wang S, Ouyang L-N, Ju W-Y, Jin F-L. 2016. An anionic defensin from *Plutella xylostella* with potential activity against *Bacillus thuringiensis*. *Bull Entomol Res.* 106(6):790–800. doi:10.1017/S0007485316000596.
- Yadavalli R, Ledger C, Sam-Yellowe TY. 2012. In vitro human cell-free expression system for synthesis of malaria proteins. *Parasitol Res.* 111(6):2461–2465. doi:10.1007/s00436-012-3014-7.
- Yi H, Chowdhury M, Huang Y, Yu X. 2014. Insect antimicrobial peptides and their applications. *Appl Microbiol Biotechnol.* 98(13):5807–5822. doi:10.1007/s00253-014-5792-6.
- Yoon J, Ingale S, Kim JS, Kim K, Lee S, Park Y, Kwon I, Chae B. 2012. Effects of dietary supplementation of antimicrobial peptide-A3 on growth performance, nutrient digestibility, intestinal and fecal microflora and intestinal morphology in weanling pigs. *Anim Feed Sci Technol.* 177(1–2):98–107. doi:10.1016/j.anifeedsci.2012.06.009.
- Yoon J, Ingale S, Kim JS, Kim K, Lee SH, Park Y, Lee S, Kwon IK, Chae B. 2014. Effects of dietary supplementation of synthetic antimicrobial peptide-A3 and P5 on growth performance, apparent total tract digestibility of nutrients, fecal and intestinal microflora and intestinal morphology in weanling pigs. *Livest Sci.* 159(1):53–60. doi:10.1016/j.livsci.2013.10.025.
- Yoon JH, Ingale SL, Kim JS, Kim KH, Lohakare J, Park YK, Park JC, Kwon IK, Chae BJ. 2013. Effects of dietary supplementation with antimicrobial peptide-P5 on growth performance, apparent total tract digestibility, faecal and intestinal microflora and intestinal morphology of weanling pigs. *J Sci Food Agric.* 93(3):587–592. doi:10.1002/jsfa.5840.



- Yu HT, Ding XL, Li N, Zhang XY, Zeng XF, Wang S, Liu HB, Wang YM, Jia HM, Qiao SY. 2017. Dietary supplemented antimicrobial peptide microcin J25 improves the growth performance, apparent total tract digestibility, fecal microbiota, and intestinal barrier function of weaned pigs^{1,2}. *J Anim Sci.* 95(11):5064–5076. doi:10.2527/jas2017.1494.
- Yuan W, Cao L, Ma Y, Mao P, Wang W, Zhao R, Wu Y, Cao Z, Li W. 2010. Cloning and functional characterization of a new antimicrobial peptide gene StCT1 from the venom of the scorpion *Scorpiops tibetanus*. *Peptides.* 31(1):22–26. doi:10.1016/j.peptides.2009.10.008.
- Yuan W, Jin HT, Ren ZH, Deng JL, Zuo ZC, Wang Y, Deng HD, Deng YT. 2015. Effects of antibacterial peptide on humoral immunity in weaned piglets. *Food Agric Immunol.* 26(5):682–689. doi:10.1080/09540105.2015.1007448.
- Yue S, Jie J, Xie L, Li Y, Zhang J, Lai X, Xie J, Guo X, Zhai Y. 2020. Antimicrobial peptide CAMA-syn expressed in pulmonary epithelium by recombination adenovirus inhibited the growth of intracellular bacteria. *J Gene Med.* 22(3):0–2. doi:10.1002/jgm.3149.
- Yun X, Rao W, Xiao C, Huang Q. 2017. Apoptosis of leukemia K562 and Molt-4 cells induced by emamectin benzoate involving mitochondrial membrane potential loss and intracellular calcium ion modulation. *Environ Toxicol Pharmacol.* 52:280–287. doi:10.1016/j.etap.2017.04.013.
- Zaman S Bin, Hussain MA, Nye R, Mehta V, Mamun KT, Hossain N. 2017. A review on antibiotic resistance: Alarm bells are ringing. *Cureus.* 9(6):1–9. doi:10.7759/cureus.1403.
- Żdąbicka-Barabas A, Stączek S, Pawlikowska-Pawlega B, Mak P, Luchowski R, Skrzypiec K, Mendyk E, Wydrych J, Gruszecki WI, Cytryńska M. 2019. Studies on the interactions of neutral *Galleria mellonella* cecropin D with living bacterial cells. *Amino Acids.* 51(2):175–191. doi:10.1007/s00726-018-2641-4.
- Zhang G, Mathis G, Hofacre C, Yaghmaee P, Holley R, Durance T. 2010. Effect of a radiant energy-treated lysozyme antimicrobial blend on the control of clostridial necrotic enteritis in broiler chickens. *Avian Dis Dig.* 5(4):1298–1300. doi:10.1637/9549-937010-DIGEST.1.
- Zhang J, Xie L, Xu D, Yue S, Li Y, Guo X, Lai X. 2017. Targeting expression of antimicrobial peptide CAMA-Syn by adenovirus vector in macrophages

- inhibits the growth of intracellular bacteria. *Gene.* 630 August:59–67. doi:10.1016/j.gene.2017.07.079.
- Zhao X, Wu H, Lu H, Li G, Huang Q. 2013. LAMP: A database linking antimicrobial peptides. *PLoS One.* 8(6):1–6. doi:10.1371/journal.pone.0066557.
- Zheng Z, Tharmalingam N, Liu Q, Jayamani E, Kim W, Fuchs BB, Zhang R, Vilcinskas A, Mylonakis E. 2017. Synergistic efficacy of *Aedes aegypti* antimicrobial peptide cecropin A2 and tetracycline against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 61(7):1–39. doi:10.1128/AAC.00686-17.
- Zhou SF, Sun ZW, Ma LZ, Yu JY, Ma CS, Ru YJ. 2010. Effect of feeding enzymolytic soybean meal on performance, digestion and immunity of weaned pigs. *Asian-Australasian J Anim Sci.* 24(1):103–109. doi:10.5713/ajas.2011.10205.
- Ziaja M, Dziedzic A, Szafraniec K, Piastowska-Ciesielska A. 2020. Cecropins in cancer therapies-where we have been? *Eur J Pharmacol.* 882. doi:10.1016/j.ejphar.2020.173317.
- Zou L, Xiong X, Liu H, Zhou J, Liu Y, Yin Y. 2019. Effects of dietary lysozyme levels on growth performance, intestinal morphology, immunity response and microbiota community of growing pigs. *J Sci Food Agric.* 99(4):1643–1650. doi:10.1002/jsfa.9348.



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

LAMPIRAN



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penyusunan kritis atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 1 Script R ekstraksi data dari sekuen peptida antimikroba

```
### Manajemen Data
## Data
data <- read_excel("nama-data.xlsx", sheet = "nama-sheet")

## Ekstraksi data
data-ekstrak <- strsplit(as.character(data$sekuen-asam-amino),
split = "", fixed = TRUE)
data-ekstrak <- reshape2::melt(data-ekstrak)

## Transformasi data
maksimal <- apply(data-ekstrak, 2, max)
minimal <- apply(data-ekstrak, 2, min)
data-akhir <- as.data.frame(scale(data-ekstrak, center=minimal,
scale=maksimal-minimal))
```

Lampiran 2 Metadata karakteristik peptida antimikroba berdasakan bobot molekul, sekuen, dan konsentrasi hambat minimal

No.	Literatur	Peptida antimikroba	Kelompok	Sumber	Bobot molekul	Sekuen	KHM gram+	KHM gram-	KHM fungi	KHM haminir
1.	Vizioli <i>et al.</i> 2000	CecropinA-Gly-extended	α-heliks	<i>Anopheles gambiae</i>	3,588	GRLKKGKKI	5,80	1,84	9,20	38,08
2.	Vizioli <i>et al.</i> 2000	Cecropin-1	α-heliks				5,25	3,31	7,13	
3.	Urban <i>et al.</i> 2001	RBP-1	α-heliks					3,00		
4.	Urban <i>et al.</i> 2001	Cecropin-P1-1	α-heliks					2,00		
5.	Giacometti <i>et al.</i> 2003	CecropinA2	α-heliks					49,56		
6.	Giacometti <i>et al.</i> 2003	CecropinA-(1,7-M)-(2,9-NH2)	α-heliks					24,26		
7.	Jin <i>et al.</i> 2006	Cecropin-Mdcec	α-heliks	<i>Musca domestica</i>	4,000	MNFKNVFVVALVLAVCIGQSE	21,55	1,31	24,67	
8.	Jin <i>et al.</i> 2006	Cecropin-Mdcec-6His	α-heliks	<i>Musca domestica</i>	5,000	MNFKNVFVVALVLAVCIGQSEHHHHHH	21,55	1,31	22,77	
9.	Tellez <i>et al.</i> 2014	GWLK-Lucilin-CPD-His8	α-heliks	<i>Lucilia sericata</i>	28,159			0,83		
10.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR001	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		KWKLFKKIEKVGNIRDGIIKA GPAAVAVVGQATQIAK		33,09		
11.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR002	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		GWLKKIGKKIERVGQHTRDATI QGLGIAQQAAANVAATAR		33,09		
12.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR003	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		GGLKLGKLEGAGKRVFNAAEKALPVVAGAKALRK	220,59	18,20		
13.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR005	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		RGFRKHFNKLVKVKVHTISETANVAKDTAVIAGSGAAVVAAT		66,18		
14.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR029	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		KWKIFKKIEKAGRGNIRDGIIKAG PAVSVVGEAATIYKTG		66,18		
15.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR030	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		KWKFYKKIERVGQHTRDATI GPAVQVVGQQPRYIKENRFYS		66,18		
16.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR033	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		GWLKKIGKKIERVGQHTRDATI QTIGVAQQAAANVAATLKG		66,18		
17.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR034	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		GWLKFGKKIERVGQHTRDATI QAIGVAQQAAANVAATLKG		66,18		
18.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR035	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		GWLKKIGKKIERVGQHTRASI QAIGIAQQAAANVAATARG		33,09		
19.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR036	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		GWLKKIGKKIERVGQHTRDATI QVLGVAQQAAANVAATARG		66,18		
20.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR037	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		GLVKKIGKKIERVGQHTRASI QAIGIAQQAAANVAATARG		66,18		
21.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR043	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		AGFRKRFNKLVKVKVHTIKETA NVSKDVAIVAGSGVAVGAAMG		66,18		
22.	Jayamani <i>et al.</i> 2015	CecropinA-BR044	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>		GFRKRFNKLVKVKVHTIKETAN VSKDVAIVAGSGVAVGAAMG		66,18		
23.	Park <i>et al.</i> 2017	CLP1	α-heliks	<i>Hermetia illucens</i>	4,840	GWRKRVFKPKVEKFQQRVRDAG VQGIAIAQQGANVLATARGPP QQG		11,02		

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 2 Metadata karakteristik peptida antimikroba berdasarkan bobot molekul, sekuen, dan konsentrasi hambat minimal (lanjutan)

No.	Literatur	Peptida antimikroba	Kelompok	Sumber	Bobot molekul	Sekuen	KHM gram+	KHM gram-	KHM fungi	KHM khamir
24.	Segovia <i>et al.</i> 2017	Oxysterlin-1	α-heliks	<i>Oxysternon conspicillatum</i>	4455	GSKRWRKFKEKVKKIFEETKEAL PVVQGVAVATAVGRR	588,24	36,76		
25.	Segovia <i>et al.</i> 2017	Oxysterlin-2	α-heliks	<i>Oxysternon conspicillatum</i>	6328	GSKRWRKFKEKKVKALEDAKEK LQEERVKIVEHTKEALPVKAV ATVVGVVGR	588,24	477,94		
26.	Segovia <i>et al.</i> 2017	Oxysterlin-3	α-heliks	<i>Oxysternon conspicillatum</i>	4449	GSKRWRKFKEKVKVFEHTKEA LPVIQGVATVGAVGRR	588,24	18,38		
27.	Segovia <i>et al.</i> 2017	Oxysterlin-4	α-heliks	<i>Oxysternon conspicillatum</i>	7439	GSKRWRKFKEKKVKALEDAKEK LQVSSSTIFFKLTFSGGILRK NEYRRSSNILKRLYR	588,24	588,24		
28.	Zheng <i>et al.</i> 2017	Cecropin-A3	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>			588,24	37,25		
29.	Zheng <i>et al.</i> 2017	Cecropin-A2-BR0021	α-heliks	<i>Aedes aegypti</i>			588,24	188,24		
30.	Boulanger <i>et al.</i> 2004	Defensin-1	Kaya sistein	<i>Phlebotomus duboscqi</i>	4096	ATCDLLSAFGVGHAACAAHCIG HGYRGGYCNSKAVCTCR	39,78		23,72	28,13
31.	Boulanger <i>et al.</i> 2004	Defensin-C	Kaya sistein	<i>Aedes aegypti</i>	4500	ATCDLLSGFGVGDSACAAHCiar GNRGGYCNSKKVCVRN	29,56		75,00	
32.	Boulanger <i>et al.</i> 2004	Defensin-2	Kaya sistein	<i>Anopheles gambiae</i>	4500	ATCDLASGFGVGSSLCAAHCIAR RYRGGYCNSKAVCVCRN	2,38		4,50	
33.	Lee <i>et al.</i> 2004	Galleria-defensin	Kaya sistein	<i>Galleria mellonella</i>	4717	DTLIGSCVVGATNYTSDCNAEC KRR			15,54	17,06
34.	Rajamuthiah <i>et al.</i> 2015	Defensin-3	Kaya sistein	<i>Tribolium castaneum</i>			111,11			
35.	Tonk <i>et al.</i> 2015	DefMT-2	Kaya sistein	<i>Ixodes ricinus</i>						
36.	Tonk <i>et al.</i> 2015	DefMT-3	Kaya sistein	<i>Ixodes ricinus</i>			31,60	30,00		
37.	Tonk <i>et al.</i> 2015	Gama-core-DefMt3	Kaya sistein	<i>Ixodes ricinus</i>			60,00			
38.	Tonk <i>et al.</i> 2015	DefMT-5	Kaya sistein	<i>Ixodes ricinus</i>			10,80	15,00		
39.	Tonk <i>et al.</i> 2015	DefMT-6	Kaya sistein	<i>Ixodes ricinus</i>			1,11	61,00		
40.	Tonk <i>et al.</i> 2015	Gama-core-DefMt6	Kaya sistein	<i>Ixodes ricinus</i>			30,00			
41.	Tonk <i>et al.</i> 2015	DefMT-7	Kaya sistein	<i>Ixodes ricinus</i>						
42.	Tonk <i>et al.</i> 2015	Gama-core-DefMt7	Kaya sistein	<i>Ixodes ricinus</i>						
43.	Tonk <i>et al.</i> 2015	DefI	Kaya sistein	<i>Tribolium castaneum</i>		RVRRVTCDLLSAEAKGVVNHA ACAHHCLLRKRGGYCNKRRIC VCRN	6,68			
44.	Tonk <i>et al.</i> 2015	Def2	Kaya sistein	<i>Tribolium castaneum</i>		RVKRFTCDVLSAEGSFRGVSVKL NHSACATHCLFLKKRGGYCNNK AICVC	4,68			
45.	Tonk <i>et al.</i> 2015	Def3	Kaya sistein	<i>Tribolium castaneum</i>		RVKRFTCDVLSAEGGFRGVSIKL NHAACAHCLYLKRGGYCNND KAVCVCRK	2,00			
46.	Wang <i>et al.</i> 2015	Ds-defensin	Kaya sistein	<i>Dermacentor silvarum</i>		MRGLICLVLFILVCGILLTATAAV PAESEAHHLRVRRGGCPNLNG ACHNHCRSIRRRGGYCSGIHQQT CTCYR	22,75	50,00		50,00
47.	Wei <i>et al.</i> 2015	SibaDef	Kaya sistein	<i>Simulium bannaense</i>	4795	ATCDLLSITPWGSVNHACAAH CLALNRGFRGGYCSSKAVCTCR	1,56			
48.	Kaushal <i>et al.</i> 2016	CL-Defensin	Kaya sistein	<i>Cimex lectularius</i>	4692	ATCDLFSFOSKWVTPNHAACAA HCTARGNRGGRCKKAVCHCRK	6,10			
49.	Xu <i>et al.</i> 2016	PxDefensin	Kaya sistein	<i>Plutella xylostella</i>	4200		3,10	32,00		
50.	Le <i>et al.</i> 2017	Csaβ-1	Kaya sistein	<i>Hermetia illucens</i>	4271	ATCDLLSPFKVGHAAICALHCIA MGRRGGWCDCRAVCNCRR	0,47	29,97		

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan kritis atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 2 Metadata karakteristik peptida antimikroba berdasakan bobot molekul, sekuen, dan konsentrasi hambat minimal (lanjutan)

No.	Literatur	Peptida antimikroba	Kelompok	Sumber	Bobot molekul	Sekuen	KHM gram+	KHM gram-	KHM fungi	KHM khamir
51.	Le <i>et al.</i> 2017	Cso β -2	Kaya sistein	<i>Hermetia illucens</i>	4269	ATCDLLSPFKVGHAAACAHCIAR GKRGGWCDKRAVCNCRK	0,85	29,98		
52.	Park and Yoe 2017	DLP3	Kaya sistein	<i>Hermetia illucens</i>	4247	ATCDLLSPFGVGHAAACAVHCIA MGRRGGWCDDRAVCNCRR	22,06	73,53		
53.	Sun <i>et al.</i> 2017	HDFS-1	Kaya sistein	<i>Haemaphysalis longicornis</i>		MKLLAVVLALVLVIGAVA	27,63	38,75		50,00
54.	Sun <i>et al.</i> 2017	HDFS-2	Kaya sistein	<i>Haemaphysalis longicornis</i>		MRVLVLSSLAVILLCGLMAGSAT A	25,38	13,67		
55.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Thr-11-drosocin	Kaya prolin		2199	GKPRPYSPRPTSHPRPIRVGKPRP YSPRPTSHPRPIRV	64,00	61,60		
56.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Des-Thr-11-drosocin	Kaya prolin		2099	GKPRPYSPRPSHPRPIRV	64,00	70,40		
57.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	GalNAcR-O-Thr-11-drosocin	Kaya prolin		2402	GKPRPYSPRPTSHPRPIRV	64,00	27,20		
58.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	GalR-O-Thr-11-drosocin	Kaya prolin		2362	GKPRPYSPRPTSHPRPIRV	64,00	34,40		
59.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Gal β -O-Thr-11-drosocin	Kaya prolin		2362	GKPRPYSPRPTSHPRPIRV	64,00	32,00		
60.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Ala-11-drosocin	Kaya prolin		2171	GKPRPYSPRPSHPRPIRV	64,00	72,00		
61.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	GalR-C-Ala-11-drosocin	Kaya prolin		2333	GKPRPYSPRASHPRPIRV	64,00	38,40		
62.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Cys-7-12-drosocin	Kaya prolin		2230	GKPRPYCPRPTCHPRPIRV	64,00	43,20		
63.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Apidaecin-Ib1	Kaya prolin		2108	GNNRPVYIPQPQRPHPRL	64,00	35,20		
64.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Endo-Thr-13a-apidaecin-Ib	Kaya prolin		2210	GNNRPVYIPQPQRPTPHPRL	64,00	128,00		
65.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Endo-GalNAcR-O-Thr-13a-apidaecin-Ib	Kaya prolin		2412	GNNRPVYIPQPRTPHPRL	64,00	83,20		
66.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Cyclo-N-C-drosocin	Kaya prolin		2181	GLPRPYSPRPTSHPRPIRV	64,00	115,20		
67.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Cyclo-N-C-apidaecin-Ib	Kaya prolin		2093	GNNRPVYIPQPQRPHPRL	64,00	64,00		
68.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Cyclo-N-C-drosocin-2	Kaya prolin		4363	GLPRPYCPRPTCHPRPIRV	64,00	76,80		
69.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Cyclo-N-C-apidaecin-Ib-2	Kaya prolin		4185	GLPRPYSPRPTSHPRPIRVGLPRP YSPRPTSHPRPIRV	64,00	49,60		
70.	Gobbo <i>et al.</i> 2002	Cyclo-SS-Cys-7-12-drosocin	Kaya prolin		2228	GNNRPVYIPQPQRPHPRLGNRP VYIPQPQRPHPRL	64,00	64,00		
71.	Casteels <i>et al.</i> 1990	Apidaecin-Ib2	Kaya glisin	<i>Apis mellifera</i>		GNNRPVYIPQPQRPHPRL	192,16	44,49		
72.	Casteels <i>et al.</i> 1990	Abaecin	Kaya glisin	<i>Apis mellifera</i>		YVPLPNVPQPGRRPFPTPGQGP NPKIKWPQGY	111,23	56,62		
73.	Rebel <i>et al.</i> 2004	MPAC	Kaya glisin	<i>Drosophila melanogaster</i>	2972	ZRPYTQPLIYYPPPPTPPRIYRA RR	200,00	200,00	200,00	200,00
74.	Rebel <i>et al.</i> 2004	CecA	Kaya glisin	<i>Drosophila melanogaster</i>		LPQRPYTQPLIYYPPPPTPPRIYRA RR	101,98	0,96	103,15	200,00
75.	Dang <i>et al.</i> 2009	Bactrocerin-1	Kaya glisin	<i>Bactrocera dorsalis</i>	2326	VGKTWIKVIRGIGKSJKWQ	6,53	78,10	22,70	
76.	Feng <i>et al.</i> 2009	SK-66-his	Kaya glisin	<i>Drosophila melanogaster</i>		SQVGDLGSGAGKGGGGGSIRE AGGAFCGLEAREEEYFYKKQR EQLDRLKNQIHQAEEFHQQIK	41,18			

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbaikinya sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 2 Metadata karakteristik peptida antimikroba berdasarkan bobot molekul, sekuen, dan konsentrasi hambat minimal (lanjutan)

No.	Literatur	Peptida antimikroba	Kelompok	Sumber	Bobot molekul	Sekuen	KHM gram+	KHM gram-	KHM fungi	KHM khamir
77.	Chernysh <i>et al.</i> 2015	Defensin4	Kaya sistein	<i>Calliphora vicina</i>	4032	ATCDLLSGTGANHSACAAHCLL RGNRGGYCNGKAVCVRN	283,00	20,00		
78.	Chernysh <i>et al.</i> 2015	Defensin5	Kaya sistein	<i>Calliphora vicina</i>	4032		254,00	20,00		
79.	Chernysh <i>et al.</i> 2015	Proline-rich-peptide-1	Kaya prolin	<i>Calliphora vicina</i>	2987					
80.	Chernysh <i>et al.</i> 2015	Proline-rich-peptide-2	Kaya prolin	<i>Calliphora vicina</i>	2987	FVDRNRIPRSNNGPKIPIIISNP	95,00	38,00		
81.	Chernysh <i>et al.</i> 2015	Diptericins-1	Kaya glisin	<i>Calliphora vicina</i>	8886	DSKPLNLVLPKEPP	50,00	95,00		
82.	Chernysh <i>et al.</i> 2015	Diptericins-2	Kaya glisin	<i>Calliphora vicina</i>	9000	NNPQTYYGGGGSRKDDFDVVLQ GAQEVE				
83.	Chernysh <i>et al.</i> 2015	Diptericins-3	Kaya glisin	<i>Calliphora vicina</i>			38,00	177,00		
84.	Chernysh <i>et al.</i> 2015	Diptericins-4	Kaya glisin	<i>Calliphora vicina</i>	8914					
85.	Chernysh <i>et al.</i> 2015	Diptericins-5	Kaya glisin	<i>Calliphora vicina</i>	9029					
86.	Chernysh <i>et al.</i> 2015	Diptericins-6	Kaya glisin	<i>Calliphora vicina</i>			20,00	133,00		
87.	Chernysh <i>et al.</i> 2015	Cecropin-2	α -heliks	<i>Calliphora vicina</i>	4156	GWLKKIGKKIGRVCQHTRDATIQ GLAVAQQAAANVAATAR	20,00	78,00		
88.	Chernysh <i>et al.</i> 2015	Cecropin-3	α -heliks	<i>Calliphora vicina</i>	4156			64,00		
89.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-PCecL-2	Kaya glisin	<i>Lucilia sericata</i>	5260	HHHHRFGKIGHELHKGVKKVEK VTHDVNVKVTSGVKVKAASSIEKA KNV	100,00	7,00		
90.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-PCecL-3	Kaya glisin	<i>Lucilia sericata</i>	6122	HHHFGRIGHELHKGVKKVEKVT SDVNKTNGVKQVANGIAKAKT VIEAGSIAAGAAA	100,00	7,60		
91.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-PCecL-4	Kaya glisin	<i>Lucilia sericata</i>	6664	HHLFKGKVGREIERSAHKVGHKLE HVRHEVSKTAKKVDKVKVGHIKT AKKVVAAAGAIAAGVAAA	70,00	3,60		
92.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-PCecL-5	Kaya glisin	<i>Lucilia sericata</i>	4546	HHHLFGHVGHVERSLLHKVGHK LEHACHEVHKTAKKVQK	100,00	18,00		
93.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-Cec-1	Kaya glisin	<i>Lucilia sericata</i>	4319	GWLKKIGKKIERVGQHTRDATIQ TIGVAQQAAANVAATLKG	100,00	0,20		
94.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-Cec-2	Kaya glisin	<i>Lucilia sericata</i>	4258	GWLRDFGKRIERVGQHTRDATIQ AIGVAQQAAANVAATVRG	100,00	5,00		
95.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-Cec-3	Kaya glisin	<i>Lucilia sericata</i>	4242	GWLKKIGKKIERVGQHTRDATIQ VLGVAAQQAAANVAATARG	80,50	1,20		
96.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-Cec-4	Kaya glisin	<i>Lucilia sericata</i>	4127	GWLKKIGKKIERVGQHTRDASIQ AIGIAQQAANVAATARG	112,00	1,10		
97.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-Cec-5	Kaya glisin	<i>Lucilia sericata</i>	4262	GLVKKIGKKIERVGQHTRDASIQ AIGIAQQAANVAATARG	100,00	3,40		
98.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-Cec-6	Kaya glisin	<i>Lucilia sericata</i>	4325	GWLKKIGKKIERVGQHTRDATI QAIGVAQQAAANVAATLKG	37,50	2,20		
99.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-PRP-1	Kaya prolin	<i>Lucilia sericata</i>	4322	EWRPHGSNNGSSLRPGRPQLPP QRPIQPDFNPRHRF	100,00	100,00		
100.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-PRP-2	Kaya prolin	<i>Lucilia sericata</i>	4371	EWRPHGSIGGSGLRPGRPQLPP FNPNARPAW	100,00	100,00		
101.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-PRP-3	Kaya prolin	<i>Lucilia sericata</i>	3945	SPFVDRPRRPIQHNGPKPRIITNPP	100,00	100,00		
102.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-PRP-4	Kaya prolin	<i>Lucilia sericata</i>	2758	SWIKKDKFPSSTGPYNPNPPPFR	100,00	100,00		
103.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	Lser-Stomox-1	Lainnya	<i>Lucilia sericata</i>	4455	AGFRKRFNKLVKKVHTIKETA NVSKDVAIVAGSGVAVGAMG	27,50	6,20		

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan karya ilmiah, penyusunan kritis atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 2 Metadata karakteristik peptida antimikroba berdasarkan bobot molekul, sekuen, dan konsentrasi hambat minimal (lanjutan)

No.	Literatur	Peptida antimikroba	Kelompok	Sumber	Bobot molekul	Sekuen	KHM gram+	KHM gram-	KHM fungi	KHM khamir
104.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	Lser-Stomox-2	Lainnya	<i>Lucilia sericata</i>	4384	GFRKRFNKLVKVKVHTIKETAN VSKDVAIVAGSGVAVGAAMG	37,50	6,20		
105.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-Def-1	Kaya sistein	<i>Lucilia sericata</i>	4077	ATCDLLSATFGSGTACAAHCLLI GHRRGGYCNTKSVCVRD	100,00	100,00		
106.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-Def-2	Kaya sistein	<i>Lucilia sericata</i>	4123	ATCDLLSGTGKVHSACAHHCLL RGNRGGYCNRAICVCRN	100,00	100,00		
107.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-Def-3	Kaya sistein	<i>Lucilia sericata</i>	4069	ATCDLLSGTGANHSACAHHCLL RGNRGGYCNNSKAVCVRN	16,40	100,00		
108.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-Def-4	Kaya sistein	<i>Lucilia sericata</i>	3959	LTCNIDRSFCLAHCLLRGYKRGF CTVKKICVCRH	38,80	100,00		
109.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-Def-6	Kaya sistein	<i>Lucilia sericata</i>	3742	GTCFSALCVHCRVRGYPDG YCSRKGICTRR	51,60	100,00		
110.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-Def-7	Kaya sistein	<i>Lucilia sericata</i>	3545	FTCNSYACKAHCILQGHKGSCA RINLCKQR	51,10	100,00		
111.	Pöppel <i>et al.</i> 2015	LSer-AFP	Kaya sistein	<i>Lucilia sericata</i>	8200	QHGYGAGGGHQOQGYGSQHSSH APOGGHVVRQQGFSGHVHEQQA GHHEAGHHEQAGHHEQSGQQ VHQQGHGKYKSHGY	100,00	100,00		
112.	Ehlang <i>et al.</i> 2017	Trx-stomoxyn-ZH-1	Lainnya	<i>Hermetia illucens</i>			66,71	51,62		
113.	Park <i>et al.</i> 2015	DLP-4	Kaya sistein	<i>Hermetia illucens</i>		ATCDLLSPFKVGHAACAAHCIAR GKRGGWCDKRAVCNCRK	21,17			
114.	Kwong <i>et al.</i> 2017	Apidaecin-Ia	Lainnya	<i>Apis mellifera</i>			147,06	4,59		
115.	Kwong <i>et al.</i> 2017	Apidaecin-Ib	Lainnya	<i>Apis mellifera</i>			147,06	4,59		
116.	Kwong <i>et al.</i> 2017	Hymenoptaecin	Lainnya	<i>Apis mellifera</i>			147,06	147,06		
117.	Lamberty <i>et al.</i> 1995	Heliomicin	Lainnya	<i>Heliothis virescens</i>	4785	DKLIGSCVWGAVNNTSDCNGEC KRRGYKGGHCGSFANVNCWCET		3,94	5,00	
118.	Lamberty <i>et al.</i> 1995	Defensin-6	Kaya glisin	<i>Heliothis virescens</i>		ATCDLLSGTGHNHSACAHHCLL GNRGGYCNKGVCVRN	0,75	25,00	5,00	
119.	Lamberty <i>et al.</i> 1995	Drosomycin	Kaya sistein	<i>Heliothis virescens</i>		DCLSGRYKGPACAVWDNETCRVV CKEEGRSSGHCPSPLKWCCEGC		9,41		
120.	Chernysh <i>et al.</i> 1996	Metalnikowin	Kaya prolin	<i>Palomena prasina</i>		VDKPDYRPRPPPNM		151,85		
121.	Fehlbaum <i>et al.</i> 1996	Thanatin	Kaya sistein	<i>Podisus maculiventris</i>		GSKKPVPIIYCNRRTGKCQRM	2,76	8,61	4,81	
122.	Fehlbaum <i>et al.</i> 1996	D-Thanatin	Kaya sistein	<i>Podisus maculiventris</i>			9,40	30,00	4,11	
123.	Fehlbaum <i>et al.</i> 1996	C-amidated-Thanatin	Kaya sistein	<i>Podisus maculiventris</i>			7,97	6,93	4,66	
124.	Fehlbaum <i>et al.</i> 1996	Thanatin-K18M	Kaya sistein	<i>Podisus maculiventris</i>		KPVPIIYCNRRTGKCQRM	9,33	346,43	9,07	
125.	Fehlbaum <i>et al.</i> 1996	Thanatin-V16M	Kaya sistein	<i>Podisus maculiventris</i>		VPIIYCNRRTGKCQRM	11,19	12,88	11,25	
126.	Fehlbaum <i>et al.</i> 1996	Thanatin-I14M	Kaya sistein	<i>Podisus maculiventris</i>		IIFYCNRRTGKCQRM	8,25	30,00	20,63	
127.	Fehlbaum <i>et al.</i> 1996	Thanatin-Y12M	Kaya sistein	<i>Podisus maculiventris</i>		YCNRRTGKCQRM	30,00			
128.	Fehlbaum <i>et al.</i> 1996	Thanatin-G20R	Kaya sistein	<i>Podisus maculiventris</i>			10,31	30,00	15,62	
129.	Fehlbaum <i>et al.</i> 1996	Thanatin-G19Q	Kaya sistein	<i>Podisus maculiventris</i>			6,25		10,00	
130.	Fehlbaum <i>et al.</i> 1996	Thanatin-G18C	Kaya sistein	<i>Podisus maculiventris</i>		GSKKPVPIIYCNRRTGKC	6,25		10,00	
131.	Podda <i>et al.</i> 2006	L-Bac-7-1-35	Kaya prolin			RRIRPRPPRLPRPRPRLPFPGP RPIPRLPLPFP	0,50			

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin.

Lampiran 2 Metadata karakteristik peptida antimikroba berdasarkan bobot molekul, sekuen, dan konsentrasi hambat minimal (*lanjutan*)

No.	Literatur	Peptida antimikroba	Kelompok	Sumber	Bobot molekul	Sekuen	KHM gram+	KHM gram-	KHM fungi	KHM khamir
132.	Podda <i>et al.</i> 2006	D-Bac7-1-35	Kaya prolin			RRIRPRPPRPLPRPRPRLPFPRPGP RPIPRPLPFP	40,00			
133.	Podda <i>et al.</i> 2006	L-Bac7-1-16	Kaya prolin			RRIRPRPPRPLPRPRPRLP		1,50		
134.	Podda <i>et al.</i> 2006	L-Bac7-5-35	Kaya prolin			PRPPRLPRPRPRLPFPRPGPRPIP RPLPFP	44,00			
135.	Stensvåg <i>et al.</i> 2008	Natural-Arasin-1	Kaya prolin	<i>Hyas araneus</i>		MERRTLLVVLVCSCVVAASAE	0,80	9,40		
136.	Stensvåg <i>et al.</i> 2008	Synthetic-Arasin-1	Kaya prolin	<i>Hyas araneus</i>			6,25	5,80		
137.	Stensvåg <i>et al.</i> 2008	Polymyxin-B	Lainnya				3,95	0,80		
138.	Stensvåg <i>et al.</i> 2008	Lactoferricin-B	Lainnya				3,95	3,10		
139.	Stensvåg <i>et al.</i> 2008	Cecropin-P1-2	Kaya glisin				7,05	1,20		
140.	Stensvåg <i>et al.</i> 2008	Cecropin-4	Kaya glisin				5,20	0,55		
141.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	Api-88	Kaya prolin					0,90		
142.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	Api-137	Kaya prolin					1,80		
143.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	Onc-72	Kaya prolin					6,90		
144.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	Onc-112	Kaya prolin					3,40		
145.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	D-Api-88	Kaya prolin					56,00		
146.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	D-Api-137	Kaya prolin					112,00		
147.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	D-Onc-72	Kaya prolin					112,00		
148.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	D-Onc-112	Kaya prolin					54,00		
149.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	D-Onc-72-K3A	Kaya prolin					56,00		
150.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	D-Onc-72-Y6a	Kaya prolin					112,00		
151.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	D-Onc-72-L7A	Kaya prolin					112,00		
152.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	D-Onc-72-R11A	Kaya prolin					56,00		
153.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	Api-137-R4A	Kaya prolin					1,80		
154.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	Api-137-P14A	Kaya prolin					14,00		
155.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	Api-137-P17A	Kaya prolin					112,00		
156.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	Api-137-1-16	Kaya prolin					253,00		
157.	Krizsan <i>et al.</i> 2014	Api-137-1-17	Kaya prolin					29,00		
158.	Knappe <i>et al.</i> 2016	PrAMP-Onc-72	Kaya prolin		2304	VDKPPYLPRPRPPIOYNO	188,24	97,24		
159.	Knappe <i>et al.</i> 2016	PrAMP-Onc-110	Kaya prolin		2319	VDKPPYLPRPRPXRXJYNO	188,24	73,29		

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 2 Metadata karakteristik peptida antimikroba berdasakan bobot molekul, sekuen, dan konsentrasi hambat minimal (lanjutan)

No.	Literatur	Peptida antimikroba	Kelompok	Sumber	Bobot molekul	Sekuen	KHM gram+	KHM gram-	KHM fungi	KHM khamir
160.	Knappe <i>et al.</i> 2016	PrAMP-Onc-112	Kaya prolin		2388	VDKPPYLPRPRPRPRRIYNR	29,41	24,59		
161.	Knappe <i>et al.</i> 2016	CRAMP-Onc-72	Kaya prolin		2304	VDKPPYLPRPRPRPROIYNO	41,18	90,00		
162.	Knappe <i>et al.</i> 2016	CRAMP-Onc-110	Kaya prolin		2319	VDKPPYLPRPRPRXRJYNO	41,18	87,65		
163.	Knappe <i>et al.</i> 2016	CRAMP-Onc-112	Kaya prolin		2388	VDKPPYLPRPRPRRIYNR	5,88	87,06		
164.	Knappe <i>et al.</i> 2016	PrAMP-Apil-88	Kaya prolin		2289	ONNRPVYIPRPRPHPRL		59,80		
165.	Knappe <i>et al.</i> 2016	PrAMP-Apil-134	Kaya prolin		2249	ONNRPVYIPRPRPHPOL		230,10		
166.	Knappe <i>et al.</i> 2016	PrAMP-Apil-137	Kaya prolin		2290	ONNRPVYIPRPRPHPRL		131,86		
167.	Knappe <i>et al.</i> 2016	CRAMP-Apil-88	Kaya prolin		2289	ONNRPVYIPRPRPHPRL		135,29		
168.	Knappe <i>et al.</i> 2016	CRAMP-Apil-134	Kaya prolin		2249	ONNRPVYIPRPRPHPOL		131,37		
169.	Knappe <i>et al.</i> 2016	CRAMP-Apil-137	Kaya prolin		2290	ONNRPVYIPRPRPHPRL		130,39		
170.	Haeberli <i>et al.</i> 2000	Peptide-1	Lainnya	<i>Cupiennius salei</i>			3,18	6,20		
171.	Haeberli <i>et al.</i> 2000	Peptide-3	Lainnya	<i>Cupiennius salei</i>			3,40	5,40		
172.	Haeberli <i>et al.</i> 2000	Peptide-5	Lainnya	<i>Cupiennius salei</i>			3,40	5,40		
173.	Haeberli <i>et al.</i> 2000	Peptide-7	Lainnya	<i>Cupiennius salei</i>			5,40	91,80		
174.	Haeberli <i>et al.</i> 2000	Peptide-8	Lainnya	<i>Cupiennius salei</i>			4,40	4,06		
175.	Silva <i>et al.</i> 2000	Gomesin	Kaya sistein	<i>Acanthoscurria gomesiana</i>	2270	ZCRRLCYKQRCVTYCRGR	10,28	23,19	4,37	7,05
176.	Silva <i>et al.</i> 2000	Gomesin-fa	Kaya sistein	<i>Acanthoscurria gomesiana</i>			13,15	8,53	7,48	7,05
177.	Silva <i>et al.</i> 2000	Androctonin-1	Lainnya	<i>Androctonus australis</i>		RCVCRQIKICRRRGCCYYKCTNPY	28,60	7,50	12,25	4,58
179.	Kuhn <i>et al.</i> 2002	Cupiennin-1a-1	Lainnya	<i>Cupiennius salei</i>	3799	GFGALFKFLAKKVAKTVAKQAA KQGAKYVVVNQ	10,41	15,82		
180.	Kuhn <i>et al.</i> 2002	Cupiennin-1a-2	Lainnya	<i>Cupiennius salei</i>	3800	GFGALFKFLAKKVAKTVAKQAA KQGAKYVVVNQ	8,91	14,32		
181.	Kuhn Nentwig <i>et al.</i> 2002	Cupiennin-1d-1	Lainnya	<i>Cupiennius salei</i>	3796	GFGSLFKFLAKKVAKTVAKQAA KQGAKYVANKHME	13,28	9,83		
182.	Kuhn Nentwig <i>et al.</i> 2002	Cupiennin-1d-2	Lainnya	<i>Cupiennius salei</i>	3796	GFGSLFKFLAKKVAKTVAKQAA KQGAKYVANKHMQ	14,78	15,82		
183.	Shlyapnikov <i>et al.</i> 2008	LtC-2a-Cs	Lainnya	<i>Lachesana tarabaevi</i>	2903	GLFGKLKKFGRKAISYAVKKAR GKHM	0,50	0,50		
184.	Shlyapnikov <i>et al.</i> 2008	LtC-2a-Rc	Lainnya	<i>Lachesana tarabaevi</i>			0,50	0,50		
185.	Shlyapnikov <i>et al.</i> 2008	LtC-2a-M	Lainnya	<i>Lachesana tarabaevi</i>	2986	GLFGKLKKFGRKAISYAVKKAR GKHM	0,50	0,50		
186.	Shlyapnikov <i>et al.</i> 2008	LtC-2a-6G-Ltc-2a	Lainnya	<i>Lachesana tarabaevi</i>	6213	GLFGKLKKFGRKAISYAVKKAR GKHGGGGGGGLFGKLKKFGRK AISYAVKKARGKHM	0,25	0,25		
187.	Shlyapnikov <i>et al.</i> 2008	LtC-2a-Pro	Lainnya	<i>Lachesana tarabaevi</i>	7084	YEVNEELENDDDDAALAV AEELQGEDFEESRGLFGKLKKF GRKAISYAVKKARGKHM	20,00	20,00		

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mendapat persetujuan dari pemilik hak cipta.

Lampiran 2 Metadata karakteristik peptida antimikroba berdasarkan bobot molekul, sekuen, dan konsentrasi hambat minimal (lanjutan)

No.	Literatur	Peptida antimikroba	Kelompok	Sumber	Bobot molekul	Sekuen	KHM gram+	KHM gram-	KHM fungi	KHM khamir
188.	Ramírez Carreto <i>et al.</i> 2012	VmCT-1	Lainnya	<i>Vaejovis mexicanus smith</i>	1450	FLGALWNVAKSVF	15,00	15,00		
189.	Ramírez Carreto <i>et al.</i> 2012	VmCT-2	Lainnya	<i>Vaejovis mexicanus smith</i>	1497	FLSTLWNAKSIF	15,00	15,00		
190.	Ramírez Carreto <i>et al.</i> 2012	VsCT-1	Lainnya	<i>Vaejovis mexicanus smith</i>	1505	FLKGIIIDTVSNWL				
191.	Ramírez Carreto <i>et al.</i> 2012	VsCT-2	Lainnya	<i>Vaejovis mexicanus smith</i>	1481	FLKGIIIDTVSKLF				
192.	Sperstad <i>et al.</i> 2009	Hyastatin	Kaya glisin	<i>Hyas araneus</i>	11715	ESFLKSKTGYQGVQTLPGFIGGS QPHLGGIGGGRPFISQPNLGGI GGGI	25,20	31,25		10,13
193.	Sperstad <i>et al.</i> 2009	R-hyastatin-N-term	Kaya glisin	<i>Hyas araneus</i>			37,50	50,00		50,00
194.	Ehret Sabatier <i>et al.</i> 1996	Androctonin-2	Lainnya	<i>Androctonus australis</i>	3077	RSVXRQIKIXRRGGYYKXTNR PY	7,34	3,94	13,00	
195.	Cao <i>et al.</i> 2012	StCT-2	α -heliks	<i>Scorpiops tibetanus</i>	1577	GKRSLRNQDQFDNMFDSDLSDA DLKLDDDFD	78,13	220,59		
196.	Moerman <i>et al.</i> 2002	Parabutoporin	α -heliks	<i>Opistophthalmus carinatus</i>	4836	FKLGSFLKKAWKSKLAKKLRAK GKEMLKDYAKGLLEGGSEEVPG Q	32,83	3,53		
197.	Moerman <i>et al.</i> 2002	Opistoporins	α -heliks	<i>Opistophthalmus carinatus</i>	4870	GKVWDWIKSTAKKLWNSEPVKE LKNTALNAAKNLVAEKIGATPS	31,25	14,08		
198.	Lee <i>et al.</i> 2004	IsCT	Lainnya	<i>Opisthacanthus m.</i>	1504	ILGKIWEGIKSLF	2,00	2,67		
199.	Lee <i>et al.</i> 2004	A6-IsCT	Lainnya	<i>Opisthacanthus m.</i>	1389	ILGKIAEGIKSLF	64,00	53,33		
200.	Lee <i>et al.</i> 2004	L6-IsCT	Lainnya	<i>Opisthacanthus m.</i>	1431	ILGKILEGIKSLF	32,00	16,00		
201.	Lee <i>et al.</i> 2004	K7 -IsCT	Lainnya	<i>Opisthacanthus m.</i>	1502	ILGKIWKIGIKSLF	1,00	1,67		
202.	Lee <i>et al.</i> 2004	L6	Lainnya	<i>Opisthacanthus madagascarie nsis</i>	1470	ILGKILKGKIKLF	1,00	1,67		
203.	Lee <i>et al.</i> 2004	K7	Lainnya	<i>Scorpiops tibetanus</i>	1584	ILGKIWKIKKL	1,00	1,67		
204.	Cao <i>et al.</i> 2010	StCT1	Lainnya	<i>Scorpiops tibetanus</i>	1549	GKRGRLNLDLDDLDLHLDFDS DVSDADRLLKQMFR	229,78	294,12		
205.	Almaaytah <i>et al.</i> 2012	Aam-AP1	Lainnya	<i>Androctonus amoreuxi</i>	1931	FLFSLIPHAIGGLISAFK	20,00	150,00		64,00
206.	Almaaytah <i>et al.</i> 2012	Aam-AP2	Lainnya	<i>Androctonus amoreuxi</i>	1881	FPPSLIPHAIGGLISA	48,00	120,00		64,00
207.	Cudic <i>et al.</i> 1999	Diptericin	Kaya glisin		8692	DEKPKLILPTAPPNLPQLVGGG GGNRKDGFGVGSVDAHQKVWTS DNGRHISIGVTPGYSOHLGGPYG NSRDPYRIGAGYSYNF	80,00	16,09		
208.	Cudic <i>et al.</i> 1999	Drosocin	Kaya prolin		2196	GKPRPYSPPRPTSHPRPIRV	2,50	22,00		
209.	Cudic <i>et al.</i> 1999	Diptericin-N-term-nG	Kaya glisin		2238	DEKPPLILPTAPPNLPQLVG	40,00	40,00		
210.	Cudic <i>et al.</i> 1999	Diptericin-N-term-G	Kaya glisin		2607	DEKPPLILPTAPPNLPQLVG	40,00	40,00		
211.	Cudic <i>et al.</i> 1999	Diptericin-C-term-nG	Kaya glisin		3882	RHSIGVTPGYSQHLLGGPYGNSRP DYRIGAGYSYNF	40,00	40,00		
212.	Cudic <i>et al.</i> 1999	Diptericin-C-term-G	Kaya glisin		4419	GRHSIGVTPGYSQHLLGGPYGNSR PDYRIGAGYSYNF	40,00	40,00		

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan kritis atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 2 Metadata karakteristik peptida antimikroba berdasarkan bobot molekul, sekuen, dan konsentrasi hambat minimal (lanjutan)

No.	Literatur	Peptida antimikroba	Kelompok	Sumber	Bobot molekul	Sekuen	KHM gram+	KHM gram-	KHM fungi	KHM khamir
213.	Skosyrev <i>et al.</i> 2003	Sarcotoxin-1A	Kaya glisin	<i>Sarcophaga peregrina</i>	4214				1,03	
214.	Ursic Bedoya <i>et al.</i> 2011	Prolixicin	α -heliks	<i>Rhodnius prolixus</i>		KNQGSASVDVQNERGE GTKVA RVRQELWRSDDGRTRAQAYGH WDRTYGGRNHGERSYGGGMRIE HTWGN	25,00		12,90	
215.	Pei <i>et al.</i> 2014	MDAP-2	Lainnya	<i>Musca domestica</i>	28000				0,29	
216.	Matsuyama and Natori 1988	Sapecin	Lainnya	<i>Sarcophaga peregrina</i>			44,31		229,41	
217.	Matsuyama and Natori 1988	CM-II-protein	Lainnya	<i>Sarcophaga peregrina</i>		GWLKKIGKKIERVGQHTRDATIQ GLGIAQQAAANVAATAR	294,12		18,53	

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penyusunan karya ilmiah, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University

Lampiran 3 Hasil pengurutan asam amino peptida antimikroba β -defensin, attacin-A, cecropin like-peptide, dan apidaecin

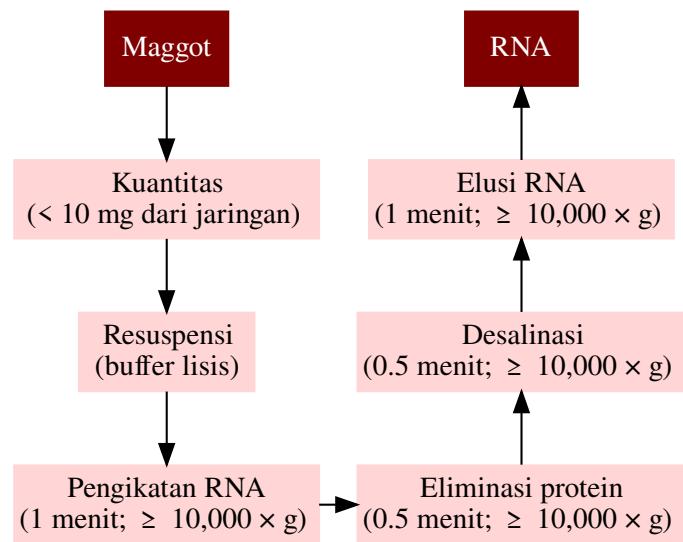
Reference sequence (1): Beta-defensin
 Identities normalised by aligned length.
 Colored by: identity

	cov	pid	1	80
1 Beta-defensin	100.0%	100.0%	----- GINTL -----	
2 Attacin-A	95.6%	7.1%	-----TGG T LAYNNAGHGASLTKTH-TPGVKDVFQ	QEAHANLFNNGRHNLDA--KVFASQ-
3 Cecropin-like	11.1%	0.0%	-----	--NK-
4 Apidaecins	66.7%	3.1%	VLLLVDVTPLSLGIETM G VM T LIA-----	-RKRVFKPVEKF-----GORVR-----D
consensus/100%			-----	
consensus/90%			-----	
consensus/80%			----- shsh. -----	
consensus/70%			-----+tp l E psscc-----up-----	
	cov	pid	81	160
1 Beta-defensin	100.0%	100.0%	----- KYYCRVRGERCAVL -----	----- CLKEEOIKKCSTRRKCC -----
2 Attacin-A	95.6%	7.1%	-----LANGFEFQRNGAGLD Y SHIN G HASLT-----	-----HSNF GICQ -----OLGLDERANLWSSPN-----RRKK-----
3 Cecropin-like	11.1%	0.0%	-----GIAIAQ-----	-----OGANV-----
4 Apidaecins	66.7%	3.1%	-----LGQQFNLDGINPAP-----	-----RGM QTE -----VTFDIDAD G ILHVSAKDKNSGKE X -----ITIKASSGLNEDEI-----
consensus/100%			----- phs. -----	
consensus/90%			----- phs. -----	
consensus/80%			----- phs. -----	
consensus/70%			----- phs. ----- t.t. ----- phshc ----- hhph. -----+tpp-----	
	cov	pid	161	240
1 Beta-defensin	100.0%	100.0%	-----	-----
2 Attacin-A	95.6%	7.1%	-----K-----	-----WTSGPFANQKPNFGAGLGLSH-----
3 Cecropin-like	11.1%	0.0%	-----	-----
4 Apidaecins	66.7%	3.1%	-----QKMVRDAEANAEADRKFEELVQTRNQGDHLLHSTRKQVEEAGDKLPADDKTAIESALTALETALKGEDKAAIEAKMQELA-----	-----
consensus/100%			-----	
consensus/90%			-----	
consensus/80%			-----	
consensus/70%			-----	
	cov	pid	241	250
1 Beta-defensin	100.0%	100.0%	-----	-----
2 Attacin-A	95.6%	7.1%	-----	-----
3 Cecropin-like	11.1%	0.0%	-----	-----
4 Apidaecins	66.7%	3.1%	-----QVSQKLMEIA-----	-----
consensus/100%			-----	
consensus/90%			-----	
consensus/80%			-----	
consensus/70%			-----	

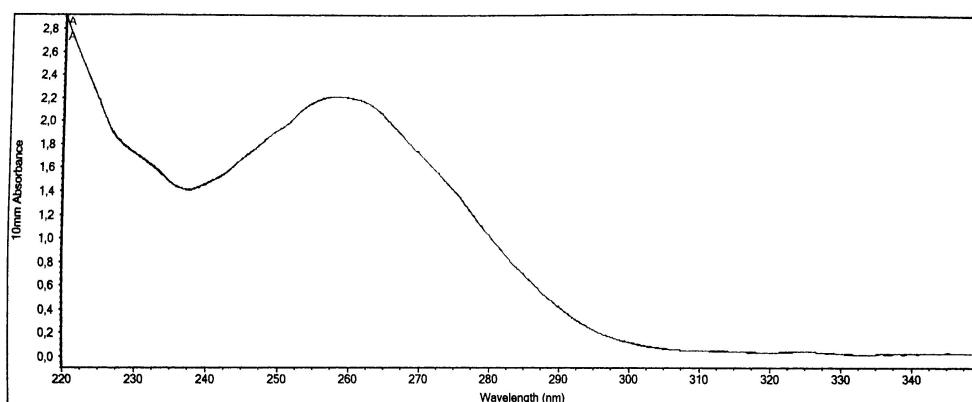
Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 4 Prosedur ekstraksi RNA (a) dan hasil uji nano drop (b, c) dari maggot (*Hermetia illucens*)

a. Prosedur ekstraksi RNA maggot *Hermetia illucens*



b. Grafik hasil uji nano drop



c. Tabel Rasio A260 dan A280 RNA maggot

RNA (duplo)	Konsentrasi asam nukleat	Satuan	A260	A280	Rasio
A	87.8	ng/uL	2.195	1.027	2.14
B	87.9	ng/uL	2.197	1.026	2.14

Lampiran 5 Pembuatan primer PAM asal maggot (a) dan penyisipan cDNA CLP1 pada plasmid pT7CFE1-CHis (b, c)

a. Pembuatan primer Attacin, CLP1, CLP2, CLP3, dan DLP4

No.	mRNA	Keterangan
1.	Attacin	<p>a. lokus GAKP01003453 974 bp RNA linear</p> <p>b. definisi <i>Bactrocera dorsalis</i> comp23040_c0_seq1 transcribed RNA sequence.</p> <p>c. origin</p> <pre> acgcgggagg caataatgtt aacatcatgg catcgaaatt cttaggaaac 1 cccaatcaca acattgggg aggagtttc gccgaggca acacacgatc 61 caatactcca tccttggag ctttggac tttaaaccta aaagaccata 121 gtttgggggt gtcgaaaacc attactccg gggtaagtga tacattcagt 181 caaaatgcac gactaaatat cctgaagact cctgatcatc gagtgacgc 241 gaacgtttc aatagtcatc caaggctgaa taatggatt gctttcgata 301 aacgaggccg tagtctggat tataccaca gggcaggaca tggctttct 361 ttgggagcca gtcatataccc taaatttggaa acgactgctg aattaacggg 421 caaagctaac ctctggagat cacccagtgg tctatcaact tttgatttaa 481 ctggaagtgc atcgagaac ttttgtggac caatggctgg tagaaataat 541 ttaggtgcag gtttaggatt tagccatagg tttacttgaa aatctataga 601 ataattcggtt attgttaaat tatttttaat acaacaaaag tctggagaat 661 atattgcata aaagatcaaa aaaaaaaaaaaaaaa aaaaaaaaaaa aaagt 721 </pre> <p>d. primer 5' atggcatcgaaattcttaggaaacccc 3' dan 3' aaacctatggctaaatcctaaacctgc 5'</p>
2.	CLP1	<p>a. lokus JX997953 387 bp mRNA linear</p> <p>b. definisi <i>Hermetia illucens</i> cecropin-like peptide 1 precursor mRNA, complete cds.</p> <p>c. origin</p> <pre> atcagttcag cattttacta gcaatcgctt tcaagcgaaa acaatcaaat tatattcaaa 1 gtcaaaatga atttcactaa gctttcggtt gtttcgctg ttgtccttgc tgccttcgccc 61 ggtaaaagtg aagctggttt gcgaaaggagg gtcttaagc cagtggaaaa atttggtaa 121 cgagttcgctg atgctgggggt tcagggaaatc gcaattgctc agcaaggago caatgttctg 181 gcaaccgctc gaggtggacc accacaacaa ggatacttgt gatagattag cttaaactgtt 241 tctaaatgtt atttattctc tataattttat tattgaagta aaacaaaaac gacaaaatgt 301 aaactcgaaa aataaacttg gtttatg 361 </pre> <p>d. primer 5' ggttggcggaaaggaggcttc 3' dan 3' ttatccttgtgtgggtccacctcg 5'</p>



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 5 Pembuatan primer PAM asal maggot (a) dan penyisipan cDNA CLP1 pada plasmid pT7CFE1-CHis (b, c) (lanjutan)

No.	mRNA	Keterangan
3.	CLP2	<p>a. lokus KF805345 386 bp mRNA linear</p> <p>b. definisi <i>Hermetia illucens</i> cecropin-like peptide 2 precursor mRNA, complete cds.</p> <p>c. origin</p> <pre> atcagttaaa tataatcatcc tcagtcattt ctttcaagta ggaagactat caaagtacat 1 aagaaaccaa catgatttc gcaaaacttt tcgttgtctt tgctattgtt cttgtcgct 61 tctctggta aagtgaagct ggttgggaa agagggtttt caagccagtg gaaaaacttg 121 gccaaccgagt tcgtgatgct ggttattcaag gactcgaaat tgcacaacaa ggagccaatg 181 ttctggcaac cgctcgaggt ggaccaccac aacaaggata ttatgagaa attaacttaa 241 ctatTTCTAA atTTTGTtTA tttattgtAA attataattt aagtggaaa ggacaaaatc 301 aaagttgata aaataaaactg tcttac 361 </pre> <p>d. primer 5' gttgggaaagagggtttcaaggcag 3' dan 3' atatccttgggtgggtccacctc 5'</p>
4.	CLP3	<p>a. lokus KF805346 409 bp mRNA linear</p> <p>b. definisi <i>Hermetia illucens</i> cecropin-like peptide 3 precursor mRNA, complete cds.</p> <p>c. origin</p> <pre> acatggggag ttcaagcttga atcctcaagt agttcatctc aatccattca acaatcaatt 1 tacaatccaa atacaacagaa tgaatttcac gaagctttt gtggtttcg ccgttgttct 61 catcgcctttc tccggtaaa gcaagctgg ttgggtggaa agagtcttca aaccagtggaa 121 acgacttggt caacgagttc gtatgccgg tattcaagga ctgcaattt cacaacaagg 181 agccaatgtt ctggcaacgg ttcgaggttt accaccacaa caaggata ttgactgaag 241 cgtgcattta attgtctcta attttgttAA atatatagtA tttatTTTAT ttattggaaa 301 gtgtgagagc aaaattatgt ttggaaaata aatgtatgt taaatttcg 361 </pre> <p>d. primer 5' tgggtggaaagagagtctcaaacc 3' dan 3' atatccttgggtgggtccacctc 5'</p>
5.	DLP4	<p>a. lokus KF805350 497 bp mRNA linear</p> <p>b. definisi <i>Hermetia illucens</i> defensin-like peptide 4 precursor mRNA, complete cds.</p> <p>c. origin</p> <pre> ttccaaattca acctccccatt ggaagataca attcaccagc ccttaaagat actttgtgt 1 ttttaaagaa cgtacaaaat gcgtgtgacc gtgtgtctat tcaatgtcg tgccttattt 61 gcaatggtcc attgccaacc tttccaaactc gagacggaa gtgaccaaca gctggaaacca 121 gtgcgttgct aagttagacga tgggtgcgtt tggtagctt ttccaaca tacacgagaa 181 aaacgacaa ccgtgaccc tttaaagttt gtcatgcccgc atgcgtgt </pre>





Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

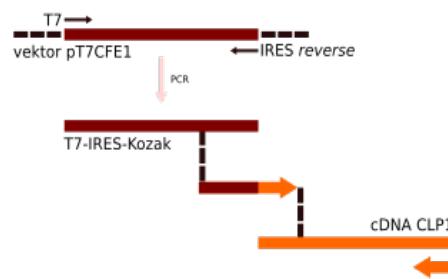
- Pengutipan hanya untuk keperluan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penyusunan kritis atau tinjauan suatu masalah
 - Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 5 Pembuatan primer PAM asal maggot (a) dan penyisipan cDNA CLP1 pada plasmid pT7CFE1-CHis (b, c) (*lanjutan*)

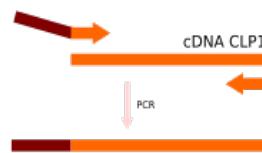
No.	mRNA	Keterangan
241	cattgtatcg caaggggcaa acgaggagga tggtgtaca aaagagctgt ttgcaactgc	
301	cgaaaaatcg agtactatattt aaaataggag tactatattaa gtttgctga accttttagtt	
361	gtcgacaaat attcaataat gtaataaac gttctattct tttacttaa gtataataaa	
421	ccatcatata gtattgc	
481		
d.	primer 5' gcaacctgtgacctgttgagcccttt 3' dan 3' tatttcggcagttgcaaacagctct 5'	

b. Penggabungan cDNA CLP1 pada fragmen T7-IRES-Kozak

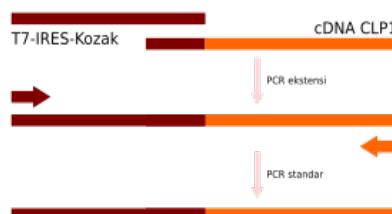
1. Pembuatan fragmen T7-IRES-Kozak



2. PCR ke-1: Pembuatan template CLP1 dengan area overlapping



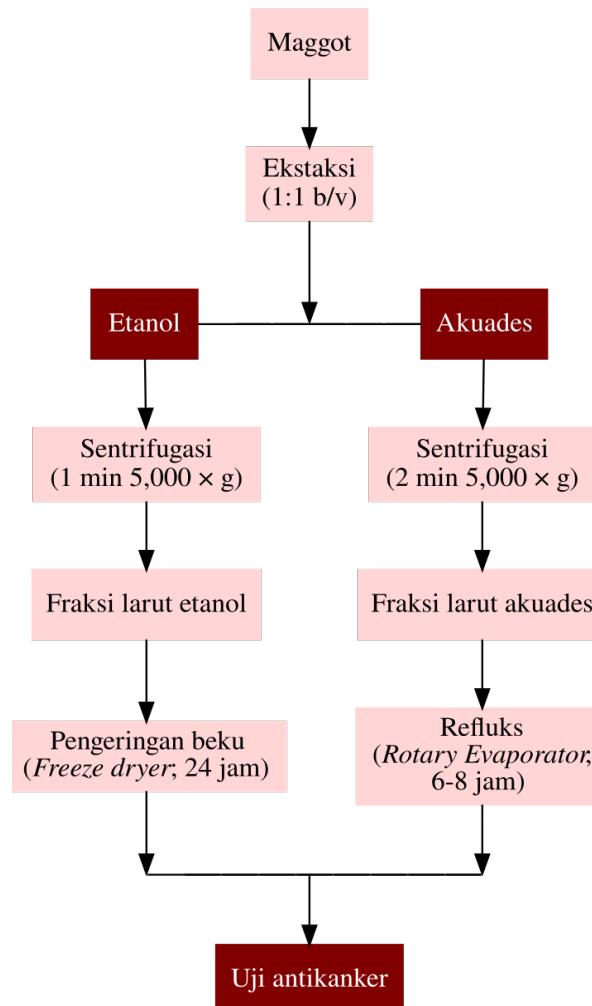
3. PCR ke-2: Penggabungan T7-IRES-Kozak dengan CLP1





Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

Lampiran 6 Prosedur ekstraksi maggot (*Hermetia illucens*) menggunakan pelarut etanol dan akuades

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber ;
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 7 Uji sitotoksitas eksrak etanol (a) dan akuades (b) maggot (*Hermetia illucens*) menggunakan 96 cell wall counting dan microplate reader dengan panjang gelombang 450 nm pada sel leukemia MOLT4 (i) dan K562 (ii)



Lampiran 8 Hasil pengurutan basa nukleotida peptida antimikroba asal maggot (*Hermetia illucens*) yaitu defensin like-peptide, attacin, cecropin like-peptide 3, cecropin like-peptide 1, dan cecropin like-peptide 2

Reference sequence (1): DLP4
Identities normalised by aligned length
Colored by: identity

	cov	pid	1	2	3	4	5
1 DLP4	100.0%	100.0%	TCGCTTGCCATGCC	ACCTTCCACCGAGAGG	CGAGCGGAAGGTGA		
2 Attacin	97.6%	13.6%	CCGGCCTTGACAAAGCCGATGCC	GGCAACATACAGTCACTA	TGACAGTTATTTGAGT	ATGAATTCTCA	
3 CLP3	41.1%	13.3%	-	-	-	-	-
4 CLP1	41.1%	14.8%	-	-	-	-	-
5 CLP2	41.1%	14.2%	-	-	-	-	-
consensus/100%			-	-	-	SSSSAASSSSU	
consensus/90%			-	-	-	SSSSAASSSSU	
consensus/80%			-	-	-	STGAATTIS	
consensus/70%			-	-	-	STGAATTIS	
	cov	pid	81	1	2	3	160
1 DLP4	100.0%	100.0%	CCACACGCTGAAACCAAGCGTTC	CGAAGTAGACGATG	GATGAGCTTCCAGAAC		
2 Attacin	97.6%	13.6%	CTAAATAAAGCTATTC	-ATCTCGCTATTGTCG	TGCACTGTGCTCTGCTTA	CTGCTAAAGCAAATCCACAC	
3 CLP3	41.1%	13.3%	CG-----	GGCTTTGCCGTTTCCTA	CGCTTCCTCCGG	-GTCAAAGCGAGCTG	
4 CLP1	41.1%	14.8%	CT-----	AAGCTTCTGCTTTGCTGTGCT	GCTTCCTCCGG	GTCAAAGCTGAGCTG	
5 CLP2	41.1%	14.2%	CA-----	AAACCTTCTGCTTTGCTATTGTCG	CGCTTCCTCCGG	GTCAAAGCTGAGCTG	
consensus/100%			CS-----	uaUCCSSSIS...u	SSU...ISGSSSSSSS	SISUAGSSASSCSU	
consensus/90%			CS-----	uaUCCSSSIS...u	SSU...ISGSSSSSSS	SISUAGSSASSCSU	
consensus/80%			CS-----	AAUCUUCGCGISISCSU...TSSS	ISGCCSISSSG	TSUAGGUAACSU	
consensus/70%			CS-----	AAUCUUCGCGISISCSU...TSSS	ISGCCSISSSG	TSUAGGUAACSU	
	cov	pid	161	2	3	4	240
1 DLP4	100.0%	100.0%	ATACACGAGAA	AAACGAGCAACC	GACCTTGTGAGCC	C-A-TGCGGCATAC	
2 Attacin	97.6%	13.6%	GAGCACCGCCCAAACCTTGGTGTCT	CCCCACCCCACCAAGCTCC	TTTAAAGCTGGCTTGAC	CGAGTTCTGTAT	
3 CLP3	41.1%	13.3%	-	GTTGGTGGAAAGGTCT	CAAAACACTT	GGAAAGCTTGGCA	
4 CLP1	41.1%	14.8%	-	GTTGGCGGAAGGGGTCT	CAAGCGG	GGAAATGGCA	
5 CLP2	41.1%	14.2%	-	GTTGGTGGAAAGGGTCT	CAAGCGG	GGAAACCTGGCA	
consensus/100%			-	USASSSSSSSSSISUCCS	SSSSSS	SSSSSSSSSS	
consensus/90%			-	USASSSSSSSSSISUCCS	SSSSSS	SSSSSSSSSS	
consensus/80%			-	SIISGSGUASAGSISCSU...CSUCCS	GSSSS	ASATGGTCSA	
consensus/70%			-	SIISGSGUASAGSISCSU...CSUCCS	GSSSS	ASATGGTCSA	
	cov	pid	241	3	4	5	320
1 DLP4	100.0%	100.0%	GGCTGCTCATTTATCGCAAGGGCAACCGAGGA	-	GGAGGCTG		
2 Attacin	97.6%	13.6%	GCTGGTGTGCGCGCGCTGTTGCGATCTM	-TCCAAACGGTGGCGCGATCA	CGCGCTTGACATTGCAAGGAATAGGT		
3 CLP3	41.1%	13.3%	GCGGGTATT	-	-	-	
4 CLP1	41.1%	14.8%	GCTGGGGTT	-	-	-	
5 CLP2	41.1%	14.2%	GCTGGTATT	-	-	-	
consensus/100%			-	-	-	-	
consensus/90%			-	-	-	-	
consensus/80%			-	-	-	-	
consensus/70%			GGSSGSSU	-	-	-	
	cov	pid	321	4	5	6	400
1 DLP4	100.0%	100.0%	UGACAAAAGAGCGTTG	-CAACTGCCGAAAATG			
2 Attacin	97.6%	13.6%	GATCCCTAAUCACATTAGTCG	GGCGCTTTGCTCTGAAAT	CCGATCGCGGTCAGTACACAGGGTTCGTT		
3 CLP3	41.1%	13.3%	-	-	-	-	
4 CLP1	41.1%	14.8%	-	-	-	-	
5 CLP2	41.1%	14.2%	-	-	-	-	
consensus/100%			-	-	-	-	
consensus/90%			-	-	-	-	
consensus/80%			-	-	-	-	
consensus/70%			-	-	-	-	

Lampiran 8 Hasil pengurutan basa nukleotida peptida antimikroba asal maggot (*Hermetia illucens*) yaitu defensin like-peptide, attacin, cecropin like-peptide 3, cecropin like-peptide 1, dan cecropin like-peptide 2 (*lanjutan*)

Lampiran 8 Hasil pengurutan basa nukleotida peptida antimikroba asal maggot (*Hermetia illucens*) yaitu defensin like-peptide, attacin, cecropin like-peptide 3, cecropin like-peptide 1, dan cecropin like-peptide 2 (lanjutan)

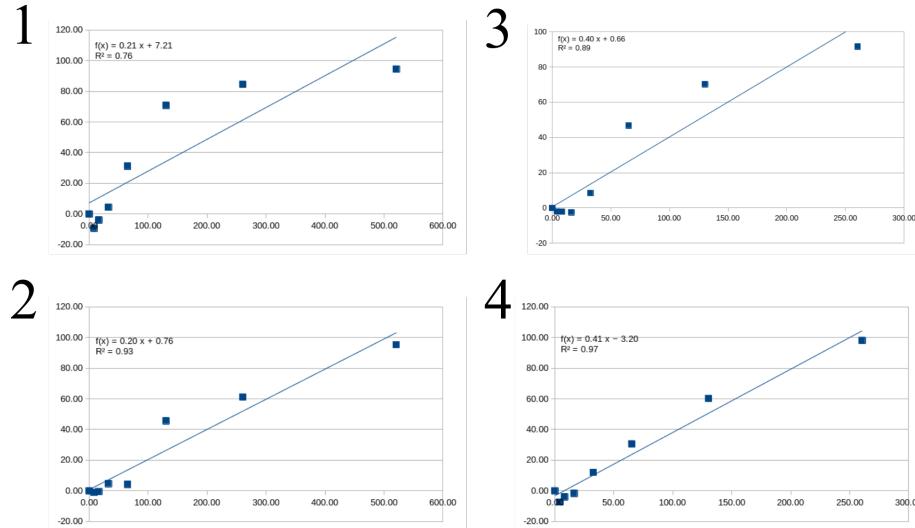
	cov	pid	881	.	9	.	.	.	:	.	960
1 DLP4	100.0%	100.0%	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2 Attacin	97.6%	13.6%	TGATGCATTAGAAGTACTTAGTATGTGAATTGGCATGTAAGAAATATGTAATTACAAAAATTATTTATTTTCGGTG	-	-	-	-	-	-	-	-
3 CLP3	41.1%	13.3%	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4 CLP1	41.1%	14.8%	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5 CLP2	41.1%	14.2%	-	-	-	-	-	-	-	-	-
consensus/100%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
consensus/90%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
consensus/80%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
consensus/70%	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

	cov	pid	961	.	.	J	986
1 DLP4	100.0%	100.0%	-	-	-	-	-
2 Attacin	97.6%	13.6%	AAATAAACATAATAAATTAAAAAAA	-	-	-	-
3 CLP3	41.1%	13.3%	-	-	-	-	-
4 CLP1	41.1%	14.8%	-	-	-	-	-
5 CLP2	41.1%	14.2%	-	-	-	-	-
consensus/100%	-	-	-	-	-	-	-
consensus/90%	-	-	-	-	-	-	-
consensus/80%	-	-	-	-	-	-	-
consensus/70%	-	-	-	-	-	-	-

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
 1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
 2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 9 Perhitungan nilai IC50 ekstrak etanol (yakni 1. MOLT4 dan 2. K562) dan akuades (yakni 3. MOLT4 dan 4. K562) dari maggot

a. Gambar Regresi IC50 ekstrak etanol dan akuades dari maggot



b. Tabel Regresi IC50 ekstrak etanol dan akuades dari maggot

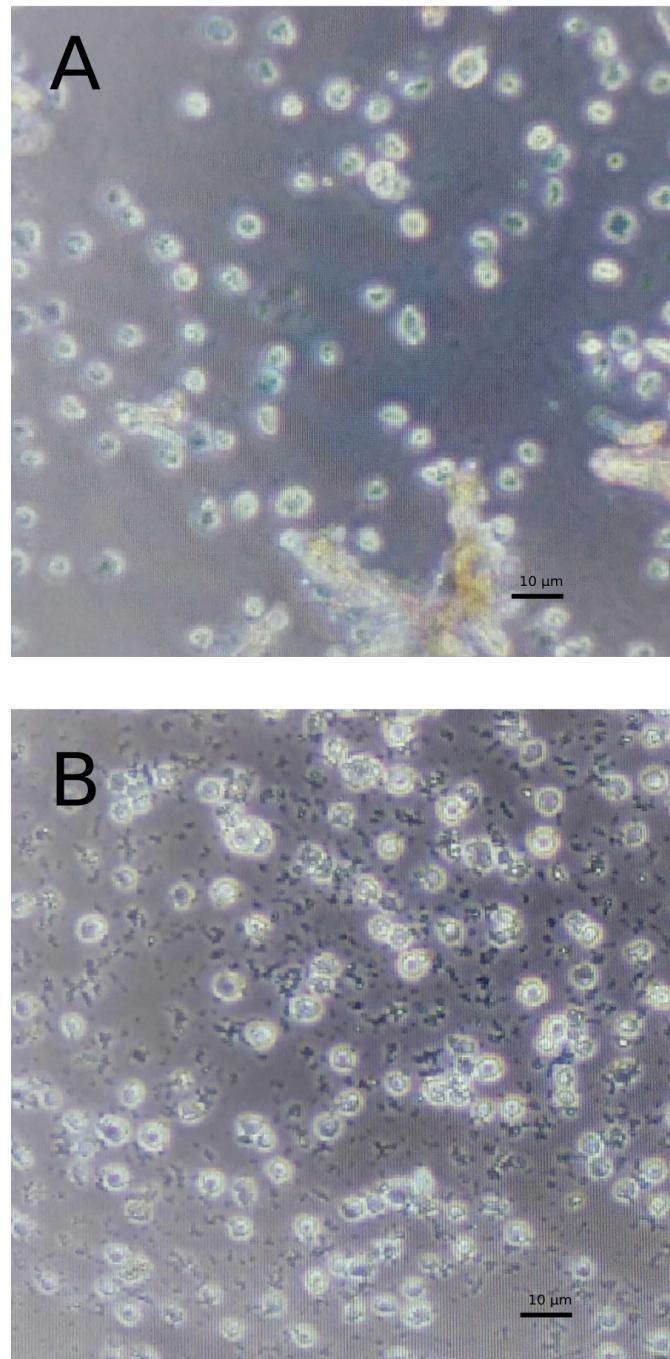
No.	Perlakuan	R^2	a	b	Y(saat X = IC50)	X (IC50)
1.	Akuades MOLT4	0,89	0,4	0,66	50	123
2.	Akuades K562	0,97	0,41	3,2	50	114
3.	ETOH MOLT4	0,76	0,21	7,21	50	204
4.	ETOH K562	0,93	0,20	0,76	50	246



Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Lampiran 10 Efek ekstrak etanol $130 \mu\text{g mL}^{-1}$ (A) dan akuades $65 \mu\text{g mL}^{-1}$ (B) maggot (*Hermetia illucens*) terhadap sel leukemia MOLT4 pada perbesaran 400 kali





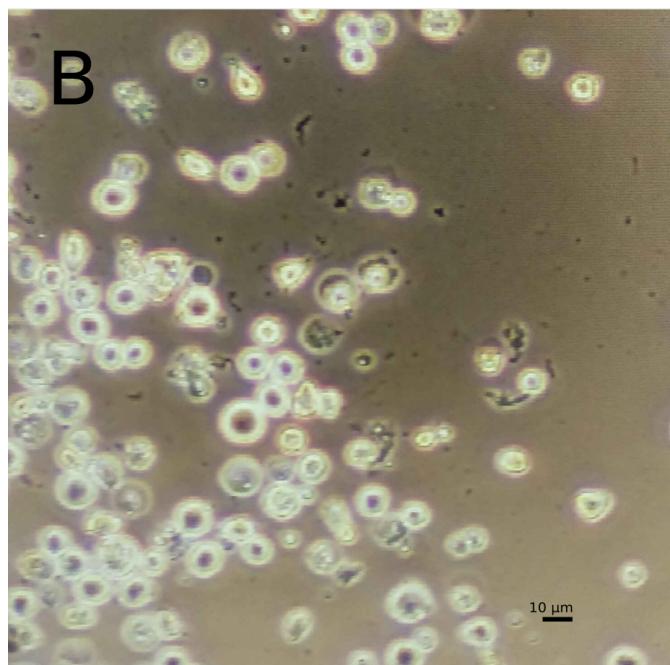
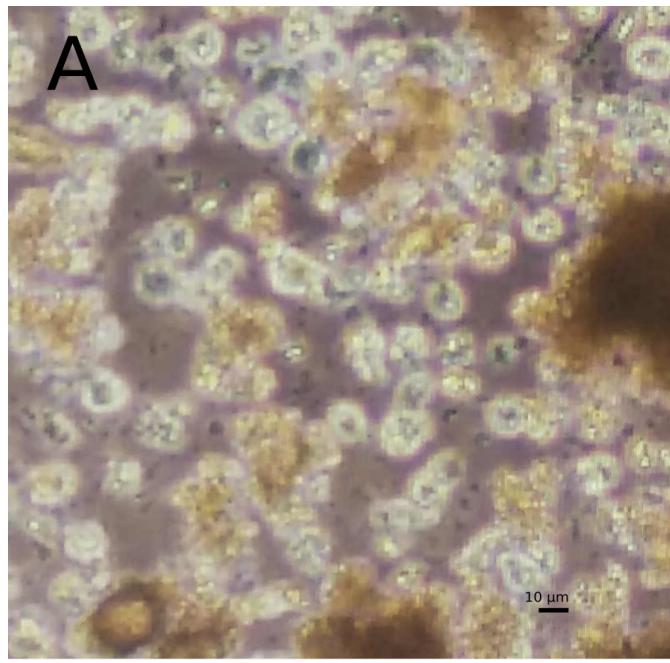
Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritis atau tinjauan suatu masalah
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

123

Lampiran 11 Efek ekstrak etanol $130 \mu\text{g mL}^{-1}$ (A) dan akuades $65 \mu\text{g mL}^{-1}$ (B) maggot (*Hermetia illucens*) terhadap sel leukemia K562 pada perbesaran 400 kali



RIWAYAT HIDUP



Penulis bernama Mohammad Miftakhus Sholikin dilahirkan di Tulungagung, 06 Januari 1994. Penulis adalah putra dari Bapak Slamet Soim dan Ibu Komariyah. Penulis menyelesaikan Program Sarjana Ilmu Nutrisi dan Teknologi Pakan, IPB University pada tahun 2017. Selanjutnya, program magister peternakan di institusi yang sama pada tahun 2019 melalui sekema beasiswa program pendidikan magister doktor untuk sarjana unggul (PMDSU Batch III). Penulis diterima di program doktor IPB University pada tahun 2018. Pada Desember 2019 sampai Maret 2020 penulis berkesempatan mengikuti program peningkatan kualitas publikasi internasional (PKPI) atau *sandwich-like* ke Chiba University, Jepang di bawah bimbingan Jun Nomura, M.D. Ph.D. Daftar riset disertasi dan tesis penulis dipublikasikan pada jurnal sebagai berikut.

No.	Judul dan Penulis	Jurnal/Prosiding
1.	Judul: A meta-analysis antimicrobial peptide effects on intestinal bacteria, immune response and antioxidant activity of broilers Penulis: Mohammad Miftakhus Sholikin , Aris Tri Wahyudi, Anuraga Jayanegara, Jun Nomura, dan Nahrowi	Tropical animal science journal (Q2)
2.	Judul: A meta-analysis of the effect of antimicrobial peptide purity on the growth performance, dry matter digestibility, and intestinal morphology of broiler Penulis: Mohammad Miftakhus Sholikin , Aris Tri Wahyudi, Anuraga Jayanegara, Jun Nomura, dan Nahrowi	Advances in animal and veterinary sciences (Q3)
3.	Judul: Evaluate non-linear model logistic, gompertz, and weibull: Study case on calcium and phosphor requirements of laying hen Penulis: Mohammad Miftakhus Sholikin , Aris Tri Wahyudi, Anuraga Jayanegara, Jun Nomura, dan Nahrowi	Prosiding iop
4.	Judul: Antimicrobial peptides as additive: A meta-analysis on broiler chickens performance, nutrient digestibility, and serum metabolites Penulis: Mohammad Miftakhus Sholikin , Sadarman, Agung Irawan, Tri Rachmanto Prihambodo, Novia Qomariyah, Aris Tri Wahyudi, Anuraga Jayanegara, Jun Nomura, dan Nahrowi	Journal of animal and feed sciences (Q2)

Selain itu, penulis juga aktif dalam publikasi bersama kolega pada jurnal dan prosiding bereputasi sebagai berikut.

No.	Judul dan Penulis	Jurnal/Prosiding
5.	Judul: Artificial neural network model to predict crude protein and crude fiber from physical properties of feedstuffs Penulis: Mohammad Miftakhus Sholikin , M. D. Alifian, F. M. Purba, A. Jayanegara, dan Nahrowi	Prosiding iop
6.	Judul: Effect of dietary black cumin seed (<i>Nigella sativa</i>) on performance, immune status, and serum metabolites of small ruminants: A meta-analysis Penulis: Sadarman, D. Febrina, Yendraliza, M. S. Haq, Rizki A. Nurfitriani, N. N. Barkah, Mohammad Miftakhus Sholikin , N. Qomariyah, A. Jayanegara, R. Solfaine, dan Yunilas	Small ruminant research (Q2)
7.	Judul: Effect of dietary propolis supplementation on broiler chickens performance, nutrient digestibility, and carcass characteristics: A meta-analysis Penulis: Sadarman, A. Irawan, Elfawati, Mohammad Miftakhus Sholikin , R. P. Harahap, R. K. Rusli, R. Solfaine, A. Sofyan, Nahrowi, dan A. Jayanegara	Tropical animal science journal (Q2)
8.	Judul: Effect of dietary propolis supplementation on growth performance, intestinal morphology, antiviral immune response, and bacterial population of broiler chickens: a meta-analysis Penulis: Sadarman, E. Erwan, A. Irawan, Mohammad Miftakhus Sholikin , R. Solfaine, R. P. Harahap, A. C. Irawan, A. Sofyan, Nahrowi, dan A. Jayanegara	South African Journal of Animal Science (Q3)
9.	Judul: Effects of dietary flavonoids on performance, blood constituents, carcass composition and small intestinal morphology of broilers: A meta-analysis Penulis: T. R. Priambodo, Mohammad Miftakhus Sholikin , N. Qomariyah, A. Jayanegara, I. Batubara, D. B. Utomo, dan Nahrowi	Animal bioscience (Q1)
10.	Judul: Evaluate non-linear model logistic, gompertz, and weibull: Study case on calcium and phosphor requirements of laying hen Penulis: Mohammad Miftakhus Sholikin , M. D. Alifian, A. T. Wahyudi, A. Jayanegara, dan Nahrowi	Prosiding iop
11.	Judul: Optimization of the <i>Hermetia illucens</i> larvae extraction process with response surface modelling and its amino acid profile and antibacterial activity Penulis: Mohammad Miftakhus Sholikin , M. D. Alifian, A. Jayanegara, dan Nahrowi	Prosiding iop

No.	Judul dan Penulis	Jurnal/Prosiding
12.	Judul: Potential fatty acid composition of <i>Hermetia illucens</i> oil reared on different substrates Penulis: M. D. Alifian, Mohammad Miftakhus Sholikin , D. Evvyernie, dan Nahrowi	Prosiding iop
13.	Judul: The effects of dietary tannins on performance, lymphoid organ weight, and amino acid ileal digestibility of broiler chickens: A meta-analysis Penulis: C. Hidayat, A. Irawan, A. Jayanegara, Mohammad Miftakhus Sholikin , T. R. Prihambodo, Y. R. Yanza, E. Wina, Sadarman, R. Krisnan, dan Isbandi	Veterinary world (Q2)
14.	Judul: The effects of mixed vitamins, minerals, fatty acids, and amino acids supplementation into drinking water on broiler chickens' performance and carcass traits Penulis: Sadarman, R. Arisandi, A. Hamid, E. Saleh, W. N. H. Zain, Mohammad Miftakhus Sholikin , T. R. Prihambodo, R. P. Harahap, R. Solfaine, A. Sofyan dan A. Irawan	Journal of world's poultry research (Q4)
15.	Judul: The effects of probiotics on the performance, egg quality, and blood parameters of laying hens: A meta-analysis Penulis: O. Sjofjan, D. N. Adli, Mohammad Miftakhus Sholikin , A. Jayanegara, dan A. Irawan	Journal of animal and feed sciences (Q2)