

PROTEIN HISTON PADA SIPUT GONGGONG BINTAN *Strombus* sp. SEBAGAI KANDIDAT PANGAN FUNGSIONAL

HISTONE PROTEIN OF BINTAN GONGGONG SNAIL Strombus sp. AS FUNCTIONAL FOOD CANDIDATE

Lily Viruly^{1,2}, Nuri Andarwulan^{2,3*}, Maggy T. Suhartono³, dan Mala Nurilmala⁴

¹Jurusan Teknologi Hasil Perikanan-FIKP, Universitas Maritim Raja Ali Haji

²Department Ilmu dan Teknologi Pangan, FATETA, IPB, Bogor

³Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology (SEAFAST), IPB, Bogor

⁴Department Teknologi Hasil Perikanan, FPIK, IPB, Bogor

*E-mail: andarwulan@apps.ipb.ac.id

ABSTRACT

*Gonggong is one of the sea snails, endemic species living on coastal waters of Bintan Island and surrounding islands of the Riau Islands Province. Sea snail gonggong is an icon of Tanjungpinang-Riau Islands Province. Until now, research this snail is the least, whereas it is potential species. The purpose of this study was to characterize histone protein from Bintan gonggong snail *Strombus* sp. as functional food candidate. Protein profiling used SDS-PAGE. Protein contents were analyzed by Bradford method. Boiled thick shelled gonggong were extracted by maseration method using ethanol PA 95% and antimicrobial activity tes using well method. Amino acid analized with HPLC. The result of characterization on protein profiles in meat gonggong showed that the thin-shelled and thick-shelled gonggong had the same band as protein profiles by 11-37 kDa and protein profiles in mucus gonggong were found the same band as protein profiles of 37 kDa. The type of protein in spesies Bintan gonggong had been predicted a histone protein because DNA identification using primer protein histone H2A and H2B had gen target of 75 bp. Antimicrobial activity test on *S. aureus* and *E. coli* bacteria had value DDH of 25.65±0.02 mm and 14.45±0.13 mm. In fact, gonggong snail was potentially as antimicrobial peptide, so it will make local functional food candidate from Riau Islands Province.*

Keywords: *gonggong snail, protein profiles, histone protein, antimicrobial activity*

ABSTRAK

Gonggong termasuk sejenis siput laut, biota endemik yang banyak hidup di pantai Pulau Bintan dan sekitarnya di Provinsi Kepulauan Riau. Gonggong merupakan ikon kota Tanjungpinang, Provinsi Kepulauan Riau. Sampai saat ini, penelitian gonggong masih sangat sedikit padahal siput ini merupakan spesies yang sangat potensial. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkarakterisasi protein histon dari siput gonggong *Strombus* sp. asal Bintan sebagai kandidat pangan fungsional. Karakterisasi profil protein menggunakan SDS-PAGE. Kadar protein pada gonggong dianalisis dengan menggunakan metode Bradford. Gonggong rebus bercangkang tebal diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol PA 95% dan uji aktivitas antimikroba menggunakan metode sumur. Asam amino dianalisis menggunakan HPLC. Hasil karakterisasi profil protein pada daging gonggong menunjukkan bahwa gonggong bercangkang tipis dan gonggong bercangkang tebal memiliki pita profil protein yang sama pada berat molekul 11-37 kDa, sedangkan profil protein pada lendir gonggong bercangkang tebal dan tipis memiliki pita protein yang sama pada berat molekul 37 kDa. Jenis protein pada spesies gonggong Bintan diprediksi merupakan protein histon karena hasil amplifikasi menggunakan primer protein histon H2A dan H2B didapatkan gen target pada 75 bp dan uji antimikroba pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli* memiliki nilai DDH sebesar 25,65±0,02 mm dan 14,45±0,13 mm, sehingga diduga bahwa gonggong Bintan berpotensi sebagai kandidat pangan fungsional khas Kepulauan Riau.

Kata kunci: siput laut gonggong, profil protein, protein histon, aktivitas antimikroba

I. PENDAHULUAN

Salah satu jenis biota laut dari sub kelas *Prosobrancia* (satu sub kelas dengan abalon) di Kepulauan Riau (KEPRI) yang bernilai ekonomis tinggi tetapi belum banyak dikenal di Indonesia adalah siput laut gonggong (gonggong). Gonggong merupakan biota endemik sejenis moluska laut dari kelas *Gastropoda* (famili *Strombidae*) dan banyak hidup di pesisir pantai Pulau Bintan dan sekitarnya, misalnya Pulau Dompok, Pulau Lobam, Pulau Mantang. Produksi gonggong di KEPRI tidak pernah tercatat secara resmi di Dinas Kelautan dan Perikanan. Hal ini disebabkan panen gonggong tidak dijual melalui pelabuhan pendaratan ikan dan merupakan hasil tangkapan sampingan nelayan. Gonggong tersedia sepanjang tahun di Kepulauan Riau, sehingga menjadi “Icon” kota Tanjungpinang Provinsi KEPRI. Gonggong rebus merupakan wisata kuliner khas Bintan. Gonggong rebus hanya diolah dengan cara merebus gonggong secara langsung dengan air laut atau direbus dengan air tawar secukupnya dan ditambahkan garam sedikit serta dimakan bersama saus sambel atau saus kacang (Viruly, 2011). Pengalaman empiris masyarakat Pulau Bintan membuktikan bahwa gonggong mengandung protein tinggi yang berkhasiat untuk meningkatkan vitalitas dan kesehatan dengan rasa daging yang enak dan lezat.

Kajian ilmiah mengenai gonggong sampai saat ini masih sangat terbatas. Studi pendahuluan gonggong difokuskan pada komposisi proksimat oleh Amini (1986), kemudian dilanjutkan oleh Viruly (2011); Muzahar dan Viruly (2013). Menurut Viruly (2011) kadar protein gonggong sangat tinggi (19,77% b/b), lebih tinggi daripada kadar protein pada tiram (9,47%). Selain itu, menurut Muzahar dan Viruly (2013) gonggong masih bebas dari logam berat Pb, Cd, dan Hg sehingga masih aman untuk dikonsumsi.

Menurut Arularasan *et al.* (2010) bahwa daging siput laut gonggong *dog conch Strombus canarium* dikonsumsi masyarakat India sebagai pangan fungsional sebagai obat penyakit jantung karena rendah kolesterol. Gonggong disajikan dalam bentuk pangan yang siap makan. Ribuan senyawa bioaktif telah diidentifikasi dari organisme laut, hal ini mengungkapkan bahwa hewan laut juga merupakan salah satu sumber obat (*pharmaceutical*) dan pangan fungsional, diantaranya adalah senyawa peptida antimikroba (*Antimicrobial Peptides*, AMPs) (Li *et al.*, 2011). *Antimicrobial peptides* merupakan senyawa dengan bobot molekul rendah, berupa protein atau peptida pendek yang diproduksi oleh sel-sel dan jaringan dalam tubuh makhluk hidup yang berperan dalam sistem pertahanan tubuh, mulai dari prokariot, tumbuhan, hewan dan manusia. AMPs dapat memiliki aktivitas menghambat atau membunuh mikroba (Battison *et al.*, 2008; Fitri, 2012). AMPs banyak ditemukan pada beberapa hewan invertebrata laut diantaranya sponge laut, moluska, dan krustasea (Ovchinnikova *et al.*, 2006).

Kandungan asam amino pada moluska sangat menentukan kemampuannya sebagai peptida antimikroba. Umumnya AMPs pada moluska mengandung asam amino arginin, alanin, serin, glisin selain asam amino prolin, triptofan, dan sistein (Toke, 2005; Sathyan *et al.*, 2012). Gonggong mengandung asam amino yang bermuatan positif (kation) seperti arginin dan lisin, serta asam amino serin, glisin dan alanin (Viruly, 2011). Tahun 2009 diperoleh dari spesies abalon (*Haliotis discus-discus*) dengan nama *Abhisin* (AMPs dari jenis protein Histon H2A), mengandung asam amino arginin dan lisin serta berat molekul rendah 4,32 kDa (Zoysa *et al.*, 2009). Selanjutnya pada tahun 2010 AMPs *Defensin* juga ditemukan pada gastropoda abalon (*Haliotis discus-discus*) dengan berat molekul 4,9 kDa, berstruktur α -helix dengan 3 jembatan disulfida (Zoysa *et al.*, 2010). Tahun 2012 ditemukan AMPs *Molluskin*

(turunan protein histon H2A) mengandung asam amino arginin, leusin, serin, glisin, alanin dan prolin dengan berat molekul rendah 2,84 kDA dan struktur α -helix (Sathyan *et al.*, 2012).

Berdasarkan informasi ini, maka perlu dilakukan kajian lanjutan untuk mengkarakterisasi protein histon pada gonggong Bintang *Strombus* sp. yang dapat digunakan sebagai kandidat peptida antimikroba dalam bentuk pangan fungsional gonggong rebus.

II. METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari Agustus 2017-Mei 2018 di Laboratorium *Marine Science* FIKP, Universitas Maritim Raja Ali Haji, KEPRI dan di Laboratorium Biomolekuler Hasil Perikanan, THP, IPB, Bogor.

2.2. Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan yaitu gonggong (bercangkang tebal dan bercangkang tipis masing-masing 100 ekor) yang diambil dari Desa Madong (0°59,34' N, 104°27,22' E). Pulau Bintan, Provinsi Kepulauan Riau. Pengambilan gonggong dilakukan pada saat surut melalui penangkapan secara langsung di wilayah pesisir Pulau Bintan menggunakan tangan (dipungut secara langsung atau menyelam). Gonggong hidup tersebut kemudian diaklimatisasi selama 3 hari di dalam akuarium berukuran 90x40x40 cm sebelum dibawa ke Bogor sekitar 4-5 jam perjalanan dalam kondisi hidup menggunakan wadah keranjang berpori. Gonggong yang digunakan dalam penelitian ini berukuran 46,53-64,92 mm dengan *outer lip* > 2 mm untuk gonggong bercangkang tebal, dan ukuran *outer lip* < 1 mm untuk gonggong bercangkang tipis yang merupakan gonggong dewasa/matang gonad (Cob *et al.*, 2009a). Bahan-bahan yang digunakan untuk analisis adalah DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen), DNeasy

MericonFood Kit (Qiagen), proteinase K, etanol 96%, kloroform, Kapa Taq Extra HotStart ReadyMix PCR Kit (Kapa Biosystems), primer forward dan reverse (fragmen histon H2A), agarose (Vivantis), Etium Bromida, gel loading buffer (Invitrogen), DNA ladder (Invitrogen). Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain pipet tips (Axygen Scientific, California-USA), mikro pipet (Thermo Scientific), tabung mikro, sentrifuse (PerfectSpin 24 plus, Peqlab *Biotechnologie* GmbH, Erlangen Jerman), mesin PCR (*Termocycler* Biometra T1, Biometra GmbH, Gottingen Jerman), inkubator (Digital Block Heater HX-1, Peqlab *Biotechnologie* GmbH, Erlangen-Jerman), elektroforesis (Merk Mupid-Exu, Tipe *Electrophoresis System*), timbangan digital (Merk Adam Tipe PW254, England), *spindown* (PerfectSpin mini, Peqlab *Biotechnologie* GmbH, Erlangen-Jerman), vortex (peqTwist vortex mixer, Peqlab *Biotechnologie* GmbH, Erlangen-Jerman), *waterbath shaker* (Merk WiseBath made in: Korea model: WSB-30), evaporator, timbangan (Fisher Scientific A-160), oven (Yamato), timbangan digital (Quattro), pH meter (HI 2211), *Spectrophotometer double beam* (AMTAST Seri AMV18), *High Performance Liquid Chromatography* (Waters Cooperation USA).

2.3. Analisa Data

2.3.1. Karakterisasi profil protein gonggong

Karakterisasi profil protein dilakukan menggunakan SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electroforesis*) (*Bio-Rad*) merujuk pada modifikasi Nurilmala dan Ochiai (2016) yaitu analisis jenis protein berdasarkan berat molekul. Metode ini sering digunakan untuk menentukan berat molekul suatu protein atau untuk memonitor pemurnian protein. Analisis profil protein untuk daging/otot gonggong meliputi daging lembut dan daging keras menggunakan SDS-PAGE meliputi: persiapan sampel yaitu daging/otot gonggong

(bercangkang tebal dan bercangkang tipis) dipisahkan antara daging lembut dan daging keras. Masing-masing daging tersebut diambil 0,1 g, kemudian dihaluskan dengan digerus menggunakan mortar. Sampel tersebut kemudian diencerkan dengan aquades 1:5, kemudian disentrifuge 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Filtrat masing-masing sampel diambil 20 µL, dan ditambahkan *loading buffer* (1:1) dan kemudian dipanaskan di dalam *waterbath* pada suhu 85°C selama 10 menit. Sampel daging diambil sebanyak 3 µL untuk diinjek pada analisis profil protein menggunakan SDS-PAGE menggunakan marker 250 kDa dengan volume injek 3 µL.

Sampel lendir dilakukan preparasi tanpa pengenceran dengan aquades 1:5 tetapi langsung diambil 25 µL, Sampel langsung disentrifuge 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Filtrat sampel masing-masing diambil sebanyak 20 µL lalu ditambahkan *loading buffer* (1:1) dan kemudian dipanaskan di dalam *waterbath* pada suhu 85°C selama 10 menit. Masing-masing sampel lendir diambil sebanyak 10 µL untuk diinjek pada analisis profil protein menggunakan SDS-PAGE menggunakan marker 250 kDa dengan volume injek 5 µL.

Analisis profil protein menggunakan SDS-PAGE meliputi: persiapan sampel, penambahan buffer *loading* (1:1), *separation and retaining gel preparation, running conditions* (selama ± 3 jam), *gel staining* (30 menit), *cleaning color/destaining* (1 jam), dan terakhir dilakukan *gel photo recording*. SDS-PAGE pada penelitian ini menggunakan gel pemisahan 12,5% dan gel penahan 3%. SDS-PAGE dijalankan pada 100 Volt, 13 mA selama 3 jam.

2.3.2. Identifikasi DNA yang Mengikat Protein Histon H2A pada Gonggong Bintang

Protein histon merupakan jenis protein yang terdapat pada inti sel dan berikatan langsung dengan DNA suatu spesies. Konfirmasi keberadaan protein

histon dari suatu spesies dapat dilakukan melalui penggunaan primer parsial histon H2A dalam identifikasi DNA nya.

2.3.2.1. Ekstraksi dan Isolasi DNA

Ekstraksi DNA pada sampel mengacu pada modifikasi Latiolais *et al.* (2006) dan modifikasi Sathyan *et al.* (2012). Sampel menggunakan *hemolymph* yang ada didalam daging gonggong yang diambil secara acak dari 50 sampel gonggong. Sampel diambil menggunakan *syringe* 5 ml berupa cairan, kemudian sampel sebanyak 25 µL dimasukkan ke dalam tabung mikro, dan ditambahkan sebanyak 25 µL larutan lisis sel dan 1,5 µL larutan proteinase K, lalu dihomogenisasi selama 3 detik. Sampel kemudian *divortex* 1 detik dan diinkubasi dengan goyangan pada suhu 55°C selama 24 jam. RNA dieliminasi dengan menambahkan 1,5 µL RNase (4 mg/mL) ke dalam tabung mikro dan *divortex* sebanyak 25x, diinkubasi pada 37°C selama 60 menit, selanjutnya diinkubasi pada suhu kamar. Sampel protein diendapkan menggunakan larutan presipitasi protein 200 µL, *divortex* 30 detik untuk homogenisasi dan diinkubasi dalam *freezer* selama 10-15 menit. Sampel disentrifugasi 12.000 rpm (10 menit). Isopropanol 100% (0,8 x volume cairan DNA) ditambahkan ke sampel dan tabung dibalik-balik sebanyak 50 kali, sebelum disentrifuge 12.000 rpm selama 10 menit, kemudian supernatan dibuang dan ditambahkan 300 µL etanol dingin 70%. Sampel disentrifugasi 12.000 rpm lagi selama 10 menit, etanol dibuang dan dikeringkan selama 30 menit. Setelah itu, sampel ditambahkan 50 µL *Nuclease Free Water* (NFW), dan dipanaskan hingga 50°C selama 2 menit. Pengenceran sampel dilakukan sebanyak sepuluh kali.

2.3.2.2. Amplifikasi DNA

Penelitian ini menggunakan DNA dengan volume 2 µL dari setiap ekstraksi sampel. Amplifikasi sampel menggunakan *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Semua reaksi dilakukan pada volume 25 µL, terdiri

dari : campuran (enzim Mytaq, dNTP, DNA polymerase dan buffer) sebanyak 10 μ L, primer histone H2A (F) dan primer histone H2B (R) masing-masing 2 μ L, NFW (ddH₂O) dengan volume 9 μ L. Kondisi PCR dijalankan pada kondisi sebagai berikut: awal pemanasan 94°C selama 5 menit, pra denaturasi 94°C selama 5 menit, DNA kemudian didenaturasi pada 94°C selama 25 detik, *annealing* pada 57°C selama 25 detik, dan *extention* pada suhu 72°C selama 25 detik, suhu pemanjangan akhir dilakukan pada 72°C selama 5 menit, serta total reaksi sebanyak 35 siklus. Target amplifikasi adalah pada 75 bp dari protein histon H2A. Urutan sekuen genomik pada penelitian ini menggunakan *foward* primer histon H2A adalah 5'GAATTCATGTCTGGACGAGGA AAGGG-3', sedangkan urutan sekuen *reverse* primer H2B 5'GCGGCCGCATAG TTTCCCTTACGGAGCAGA-3' (Sathyan *et al.*, 2012). Reaksi PCR divisualisasikan menggunakan gel agarose 2% dan elektroforesis berlangsung pada 200 V selama 30 menit. Reaksi ini menghasilkan pita tunggal dari ukuran yang diharapkan (75 bp) (Modifikasi Sathyan *et al.*, 2012).

2.3.3. Analisis Kadar Protein

Analisa kadar protein hanya dilakukan pada daging gonggong menggunakan metode *Bradford* mengacu pada Dang *et al.* (2011). Daging gonggong kering (segar dan rebus) ditimbang 1 g dan dilarutkan dalam Buffer Tris HCl 50 mM (pH 7,5), kemudian sampel dihomogenisasi selama 5 menit. Selanjutnya disentrifuge 12,000 rpm bersuhu 4°C selama 15 menit, lalu diambil 0,5 mL dan masing-masing sampel diencerkan sebanyak 4 kali, kemudian diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer *double beam*. Kurva standar menggunakan BSA (*bovine serum albumin*) dengan 6 level konsentrasi (0 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm). Hasil absorbansi sampel yang diperoleh, kemudian diolah menggunakan data absorbansi dan konsentrasi dari larutan

standar BSA berdasarkan analisis regresi linier, sehingga didapatkan kadar protein dari masing-masing sampel.

2.3.4. Ekstraksi Daging Gonggong Rebus Bercangkang Tebal

Metode ekstraksi daging gonggong Bintang mengacu pada modifikasi Ali *et al.* (2006) dan Nam *et al.* (2015). Daging gonggong rebus bercangkang tebal dipilih untuk diekstraksi karena berdasarkan uji hedonik terhadap gonggong bercangkang tipis dan gonggong tebal didapatkan bahwa masyarakat dan wisatawan lebih menyukai gonggong rebus bercangkang tebal (Viruly, 2011). Gonggong rebus setelah dikeluarkan dari cangkangnya diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol PA 95%. Gonggong rebus didapatkan dengan cara merebus gonggong (masih bercangkang) pada suhu 100°C selama 5 menit (gonggong direbus sebanyak 50 ekor dalam 1,5 L air dengan penambahan garam 2 g). Pertama-tama daging gonggong rebus dikeringkan menggunakan oven bersuhu 60°C selama 24 jam, selanjutnya daging gonggong kering dihaluskan menggunakan blender. Daging gonggong rebus yang sudah halus, ditimbang 6 g dan dilarutkan kedalam etanol 180 mL. Selanjutnya diinkubasi dengan goyangan 1 jam dan diultrasonikasi selama 30 menit, kemudian diinkubasi lagi dengan goyangan selama 1 jam, lalu dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring *Whatman* No 1 (125 mm). Hasil penyaringan kemudian dievaporasi menggunakan *rotary evaporation* pada suhu 55°C selama 30 menit dan didapatkan ekstrak kasar gonggong rebus bercangkang tebal sebanyak 30 mL.

2.3.5. Pengujian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daging Gonggong Rebus

Pengujian aktivitas antimikroba dilakukan dengan mengacu pada metode modifikasi Ali *et al.* (2006) dan Modifikasi Jagessar *et al.* (2008). Hasil ekstraksi daging gonggong yang sudah diketahui kadar proteinnya kemudian digunakan untuk

analisis aktivitas antimikroba. Aktivitas antimikroba dievaluasi menggunakan metode sumur. Uji penghambatan pertumbuhan bakteri patogen menggunakan konsentrasi bakteri sebanyak 1×10^6 cfu/mL koloni bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan Gram negatif (*Escherichia coli*) yang diinokulasi secara individual sebanyak 250 mL kedalam larutan agar 250 mL media *Mueller Hinton agar* (MHA) dan didiamkan dulu selama 30 menit, selanjutnya campuran tersebut dimasukkan kedalam cawan petri sebanyak 25 mL/cawan. Sampel ekstrak daging gonggong rebus bercangkang tebal sebanyak 40 μ L dipipet ke media agar yang mengandung mikroba uji, kemudian sampel diinkubasi pada 37°C semalaman. Aktivitas antimikroba diamati melalui pengukuran diameter daerah hambat (DDH).

2.3.6. Analisis Asam Amino

Analisis asam amino dilakukan mengacu pada Mohtar *et al.* (2010) terhadap sampel daging gonggong Bintang dan larutan standar asam amino. Prosedur analisis asam amino adalah sebagai berikut: sampel daging gonggong Bintang 0,1 gram dilarutkan dengan 5 mL HCl 6 N, lalu divorteks, sampel dihidrolisis selama 22 jam pada suhu 11 °C; didinginkan dan dipindahkan ke labu ukur 50 mL serta ditetapkan hingga tanda batas. Sampel disaring menggunakan filter 0,45 μ m, filtrat 500 μ L ditambah dengan 40 μ m α -Aminobutyric acid (AABA) dan 460 μ L akuabides. Larutan sebanyak 10 μ L ditambahkan dengan 70 μ L *JaccQ-Fluor Borate* dan dihomogenkan, lalu ditambahkan dengan 20 μ L *reagent fluor A* hingga homogen dan diinkubasi pada suhu 55°C selama 10 menit; selanjutnya diinjeksi pada bagian HPLC.

Analisis larutan standar dilakukan dengan mencampurkan 40 μ L standar asam amino dengan 40 μ L internal standar α -Aminobutyric acid (AABA) dan 920 μ L akuabides, kemudian dihomogenkan. Larutan standar sebanyak 10 μ L ditambahkan dengan 70 μ L *AccQ-Fluor Borate* kemudian

dihomogenkan. Larutan ditambahkan 20 μ L *reagent fluor A* hingga homogen kemudian diinkubasi pada suhu 55°C selama 10 menit. Sampel standar diinjeksikan ke dalam HPLC.

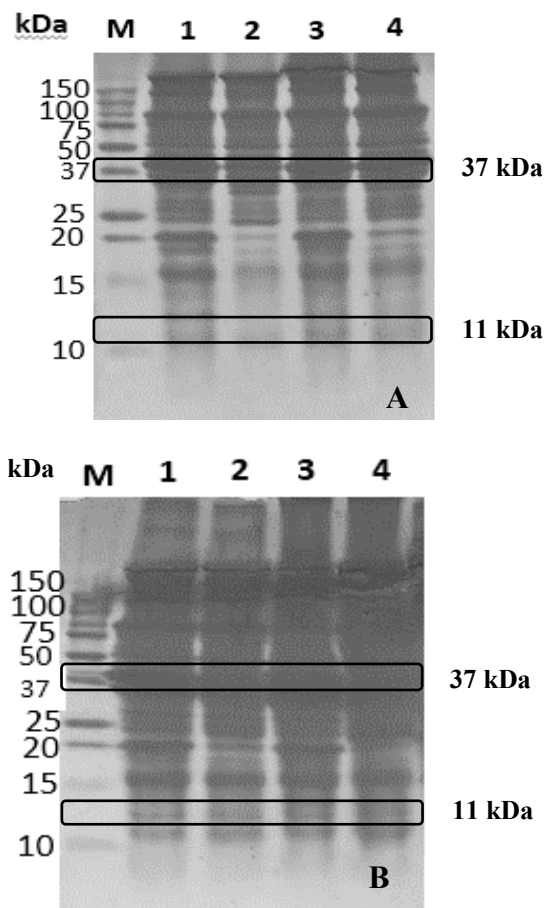
Sebanyak 5 μ l larutan sampel dan standar diinjeksikan ke dalam kolom HPLC, kemudian ditunggu sampai pemisahan semua asam amino selesai. Waktu yang diperlukan sekitar 25 menit. Kondisi operasi alat HPLC yang digunakan adalah sebagai berikut: Temperatur 27°C (suhu ruang), jenis kolom *Ultra Techspere*, dengan kecepatan aliran eluen adalah 1 ml/menit, tekanan sebesar 3000 *psi*, fase mobil (eluen) terdiri dari dua macam buffer yaitu buffer A (buffer asetat 0,025 M, pH 6,5) dan buffer B (larutan *methanol* 95%), detektor *fluoresensi*, panjang gelombang *eksitasi* 350 nm dan panjang gelombang *emisi* 450 nm serta kolom *derivatisasi* berupa *pre-column derivatization*.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Karakterisasi Profil Protein pada Gonggong

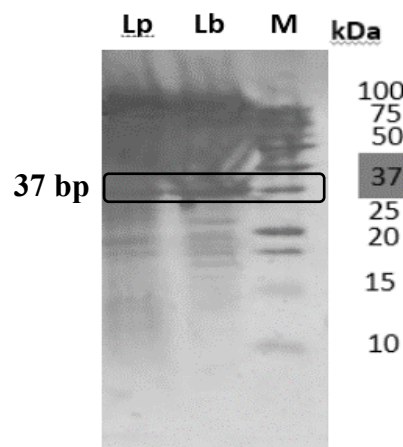
Karakterisasi profil protein dilakukan untuk mengetahui jenis protein yang terdapat pada daging/otot gonggong (daging lembut dan daging keras). Hasil karakterisasi profil protein menggunakan SDS-PAGE didapatkan bahwa gonggong bercangkang tebal dan bercangkang tipis memiliki profil protein yang sangat beragam dan unik (Gambar 1). Profil protein antara gonggong bercangkang tebal dan bercangkang tipis pada daging lembut dan daging keras memiliki kesamaan pada berat molekul 11-37 kDa sedangkan profil protein diatas berat molekul diatas 37 kDa memiliki jenis protein yang berbeda. Berdasarkan karakterisasi profil protein ini maka diprediksi bahwa jenis protein gonggong pada berat molekul 11-37 kDa (gonggong bercangkang tebal dan bercangkang tipis) merupakan protein histon karena memiliki berat molekul antara 11-37 kDa (Joshi *et al.*, 2012). Protein histon adalah jenis protein yang terdapat pada inti

sel eukariota yang terbungkus DNA, yang kemudian bersama-sama dengan DNA menyusun struktur nukleosom. Ada lima jenis sub unit protein histon yaitu histon H1, H2A, H2B, H3 dan H4. Masing-masing sub unit protein histon ini kaya akan asam amino kationik (asam amino yang bermuatan positif) dan bersifat hidrofobik (Jusuf, 2001). Protein histon (H2A) pada gastropoda umumnya merupakan peptida antimikroba (Sathyan *et al.*, 2012; Zoysa *et al.*, 2010). Keberadaan protein histon pada daging gonggong Bintang harus dibuktikan melalui identifikasi DNA gonggong Bintang menggunakan primer protein histon yaitu histon H2A dan H2B.



Gambar 1. Profil Protein pada daging gonggong. A. Gonggong bercangkang tipis, B. Gonggong bercangkang tebal. (Line 1 dan 2) = daging keras; (Line 3 dan 4) = daging lembut.

Profil protein lendir gonggong dapat dilihat pada Gambar 2. Gambar 2 menunjukkan bahwa profil protein pada lendir gonggong bercangkang tebal dan bercangkang tipis memiliki kesamaan profil protein pada berat molekul 37 kDa, akan tetapi pada gonggong bercangkang tebal pita proteinnya lebih tebal yang berarti bahwa kandungan jenis protein dengan berat molekul 37 kDa lebih banyak pada gonggong bercangkang tebal. Protein histon pada suatu spesies umumnya terdapat pada daging atau jaringan ekskresi (lendir) (Joshi *et al.*, 2012).



Gambar 2. Profil protein pada Lendir Gonggong. Lendir gonggong bercangkang tebal (Lb); Lendir gonggong bercangkang tipis (Lp).

Hewan Invertebrata laut umumnya memiliki protein histon yaitu histon H2A, yang dapat berfungsi sebagai *innate immune* berupa peptida antimikroba (AMPs) dengan berat molekul sangat kecil yaitu sekitar 2,84 kDa (Sethyan *et al.*, 2012). Jenis protein histon (H2A) secara umum memiliki berat molekul yang rendah yaitu sekitar 5 kDa atau sekitar 146 bp (North *et al.*, 2014). Berdasarkan informasi ini, jika dibandingkan antara profil protein pada daging gonggong dengan lendir gonggong diduga kuat bahwa protein pada daging gonggong merupakan protein histon H2A yaitu pada berat molekul antara 11-37 kDa, sedangkan pada lendir

gonggong pada pita protein dengan berat molekul 37 kDa. Menurut Nikapitiya *et al.* (2010) bahwa sifat antimikroba dari peptida antimikroba pada gastropoda abalon (*Haliotis discus discus*) juga efektif pada berat molekul 86,5 kDa, sedangkan profil protein pada lendir dan daging gonggong yang memiliki berat molekul diatas 80 kDa, pita proteinnya tidak jelas (pitanya sangat tebal) sehingga masih perlu penelitian lanjutan.

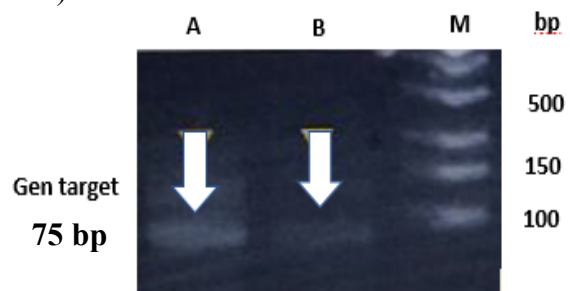
Jenis protein gonggong sangat berkontribusi terhadap fenotipe gonggong. Jenis protein sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan makanan gonggong pada habitatnya. Gonggong merupakan salah satu organisme bentik intertidal yang dapat melindungi dirinya dari berbagai macam patogen melalui jenis protein (peptida) yang terdapat dalam jaringan daging/ototnya (Cob *et al.*, 2010). Menurut Amini (1986) gonggong hidup tersebar di sepanjang pantai dengan dasar perairan pasir lumpur atau pasir campur lumpur yang banyak ditumbuhi tanaman laut seperti rumput *setu*, samo-samo (*Enhalus accoroides*), *Thalassia* spp. dan lain-lain. Fakta-fakta tersebut dapat menyebabkan perbedaan dalam profil protein pada suatu spesies (Nam *et al.*, 2015; Cob *et al.*, 2009b; Duval *et al.*, 2009). Respon metamorfosis larva gonggong sangat dipengaruhi oleh sedimen dan substrata detrital sebagai makanan gonggong dari habitat alami yang memungkinkan perbedaan jenis protein gonggong yang bermutasi karena untuk mempertahankan diri (Cob *et al.*, 2010; Duval *et al.*, 2009).

3.2. Identifikasi DNA Gonggong Bintang untuk Konfirmasi Keberadaan Protein Histon

Identifikasi DNA pada penelitian ini dilakukan sebagai lanjutan untuk mengkonfirmasi keberadaan protein histon dari penelitian profil protein gonggong yang mendapatkan hasil bahwa pada profil protein daging gonggong memiliki berat molekul 11-37 kDa dan pada lendir 37 kDa. Profil

protein pada daging dan lendir gonggong ini diprediksi merupakan protein histon. Hasil identifikasi DNA gonggong menggunakan primer protein histon H2A dan H2B dapat dilihat pada Gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan bahwa pada gonggong Bintang terdapat protein histon H2A dan H2B pada inti selnya. Hal ini ditunjukkan oleh tercapainya target amplifikasi DNA gonggong pada 75 bp menggunakan primer protein histon H2A dan H2B. Protein histon merupakan jenis protein pada inti sel yang berikatan dengan DNA inti sel. Secara umum protein histon pada hewan moluska banyak terdapat pada cairan darah (*hemolymph*) yang terdapat didalam dagingnya, sehingga sampel pada penelitian ini menggunakan *hemolymph* gonggong. *Hemolymph* adalah sel darah pada gastropoda (2000 sel/mL) yang mengandung protein histon. *Hemolymph* membawa oksigen ke seluruh tubuh moluska dan berperan dalam kekebalan bawaan. (Gorbushin dan Iacovleva 2006).



Gambar 3. Visualisasi hasil amplifikasi DNA gonggong Bintang menggunakan gen parsial histon H2A dan H2B. A = hemolymph gonggong tebal; B = hemolymph gonggong tipis; M = marker.

Dua pasang dari tiap protein histon H2A dan H2B serta H3 dan H4 membentuk protein histon oktomer dengan 145-147 pasangan basadan berikatan langsung dengan asam deoksiribonukleat (DNA) yang membungkusnya membentuk inti nukleosom. Masing-masing sub unit protein histon ini kaya akan asam amino kationik (asam amino

yang bermuatan positif) dan bersifat hidrofobik (Jusuf, 2001). Umumnya protein histon pada gastropoda yang berfungsi sebagai peptida antimikroba berupa protein histon H2A (Sathyan *et al.*, 2012; Zoysa *et al.*, 2009). Gambar 3 membuktikan bahwa DNA gonggong Bintan berikatan dengan salah satu protein histon yaitu protein histon H2A dan H2B. Informasi ini menguatkan peneliti melakukan ekstraksi terhadap daging gonggong Bintan secara maserasi yang dikombinasikan dengan ultrasonikasi karena pada gonggong Bintan mengandung protein histon yang merupakan protein antibiotik (*innate immune*).

3.3. Kadar Protein pada Daging Gonggong

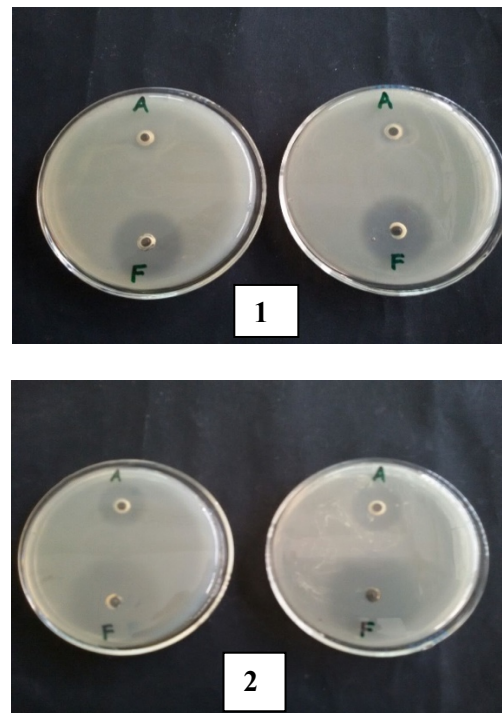
Setelah diketahui profil proteinnya maka kadar protein pada daging gonggong perlu dianalisis dengan tujuan untuk mengetahui jumlah protein total pada daging gonggong. Kadar protein pada daging gonggong dapat dilihat pada Tabel 1. Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar protein pada gonggong bercangkang tipis (0,31 mg/mL gonggong segar dan 0,46 mg/mL gonggong rebus) memiliki kandungan protein yang lebih tinggi daripada gonggong bercangkang tebal (0,26 mg/mL gonggong segar dan 0,44 mg/mL gonggong rebus). Perbedaan kadar protein pada gonggong dipengaruhi oleh kandungan nutrisi pada habitatnya (Cob *et al.*, 2010). Kadar protein ini sangat penting untuk mengetahui konsentrasi protein pada sampel saat pengujian aktivitas antimikroba.

Tabel 1. Kadar protein pada daging gonggong.

Sampel Daging Gonggong	Kadar Potein (mg/mL)	
	Gonggong Bercangkang Tebal	Gonggong Bercangkang Tipis
Gonggong segar (<i>fresh</i>)	0,26	0,31
Gonggong rebus (<i>boiled</i>)	0,44	0,46

3.4. Pengujian Aktivitas Antimikroba pada Ekstrak Daging Gonggong Bintan

Uji aktivitas antimikroba pada ekstrak daging gonggong Bintan rebus bercangkang tebal dianalisis terhadap bakteri Gram positif (*Staphylococcus aureus*) dan Gram negatif (*Escherichia coli*). Aktivitas antimikroba ekstrak daging gonggong rebus bercangkang tebal pada bakteri *S. aureus* lebih baik daripada bakteri *E. coli*, dengan daerah penghambatan diameter rata-rata (DDH) pada bakteri *S. aureus* sebesar $26,6 \pm 0,02$ mm dan nilai DDH pada bakteri *E. coli* sebesar $14,45 \pm 0,13$ mm (Gambar 4).



Gambar 4. Nilai rata-rata DDH ekstrak gonggong rebus bercangkang tebal pada bakteri *E. coli* dan *S. aureus*; 1= DDH pada bakteri Gram negatif (*E. coli*); 2= DDH pada bakteri Gram positif (*S. aureus*).

Gambar 4 menunjukkan bahwa Ekstrak gonggong Bintan lebih sensitif terhadap bakteri Gram positif *S. aureus* daripada Gram negatif *E. coli*, hal ini

disebabkan karena bakteri Gram positif *S. aureus* memiliki kandungan peptidoglikan yang tipis (membran plasma tunggal) sedangkan Gram negatif *E. coli* memiliki membran ganda (membran plasmanya dilindungi oleh membran luar yang *permeable* berupa peptidoglikan), dan membran dalam berupa lipopolisakarida, sehingga membran bakteri *S. aureus* lebih cepat mengalami kerusakan oleh peptida antimikroba (AMPs) daripada bakteri *E. coli* (Sathyan *et al.*, 2012; Xuguang *et al.*, 2008).

Aktivitas antimikroba pada gonggong diduga karena gonggong memiliki protein histon pada dagingnya (*hemolymph*) dan lendirnya dari hasil analisis profil protein dan identifikasi DNA gonggong Bintang.

Umumnya moluska (invertebrata laut) banyak memiliki protein histon yang berfungsi sebagai kekebalan tubuh bawaan (*innate immune system*) dengan nama peptida antimikroba (AMPs) berupa protein atau peptida yang mengandung asam amino hidrofobik, bersifat kationik, sekuen asam aminonya mulai dari 10 hingga 50 residu asam amino (Sathyan *et al.*, 2012; Nam *et al.*, 2015).

3.5. Profil Asam Amino pada Ekstrak Daging Gonggong Rebus Bercangkang Tebal

Hasil ekstraksi daging gonggong rebus bercangkang tebal yang memiliki aktivitas antimikroba selanjutnya dianalisis asam aminonya menggunakan HPLC untuk mengetahui komposisi asam amino yang dapat berfungsi sebagai antimikroba. Profil asam aminonya pada hasil ekstrak daging gonggong rebus bercangkang tebal dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak daging gonggong rebus bercangkang tebal yang telah mengalami denaturasi akibat perebusan pada suhu 100°C selama 5 menit berupa peptida biotif yang kaya akan asam amino prolin (14,08 mg/kg), selain itu juga kaya akan asam amino serin, glisin dan alanin.

Tabel 2. Profil asam amino pada ekstrak daging gonggong rebus bercangkang tebal.

Asam amino	Kadar (mg/kg)
L-fenilalanin	8,13
L-serin	13,13
L-arginin	2,03
L-glisin	9,80
L-asam Aspartat	12,26
L-asam Glutamat	6,43
L-threonin	2,97
L-alanin	13,62
L-prolin	14,08
L-lisin HCl	1,40
L-tirosin	6,66
L-valin	3,45
L-isoleusin	2,93
L-leusin	2,64

Keberadaan asam amino prolin pada peptida antimikroba dapat berfungsi untuk membantu mempertahankan rigiditas formasi peptida melalui kemampuannya untuk mempertahankan sudut torsi tertentu pada rantai peptida sehingga peptida tidak mudah mengalami kerusakan karena pemanasan dan enzim (Tidona *et al.*, 2009). Menurut Sathyan *et al.* (2012) bahwa asam amino prolin sangat berperan dalam membunuh mikroba dengan mengikat DNA mikroba sehingga dapat membunuh mikroba dengan sangat cepat (anti-resisten). Asam amino prolin membentuk ring prolin bersama-sama dengan asam amino lainnya (arginin, leusin, alanin, serin dan glisin) dalam mengikat DNA mikroba (Sathyan *et al.*, 2012).

Selain itu Tabel 3 menunjukkan bahwa asam amino pada ekstrak daging gonggong rebus bercangkang tebal memiliki asam amino yang sama dengan gastropoda lain yang dapat berfungsi sebagai peptida antimikroba (arginin, serin, alanin, glisin dan prolin). Aktivitas antimikroba sangat dipengaruhi oleh keberadaan asam amino pada peptidanya (Tidona *et al.*, 2009). Informasi

ini mendorong peneliti ke depan untuk melakukan penelitian lanjutan, yaitu mengsekuensing peptida hasil ekstraksi daging gonggong bercangkang tebal, sehingga didapatkan susunan dan panjang asam aminonya. Namun demikian ekstrak daging gonggong rebus bercangkang tebal dapat diduga memiliki sifat sebagai peptida antimikroba (AMPs) berdasarkan komposisi asam amino pada Tabel 3, sehingga diprediksi pada masa yang akan datang dapat menjadi alternatif pangan fungsional khas Kepulauan Riau berupa pangan gonggong rebus.

Tabel 3. Perbandingan asam amino pada gonggong dan gastropoda lain yang berpotensi sebagai peptida antimikroba (AMPs).

Spesies	Asam Amino	Pustaka
Gonggong (<i>Strombus sp.</i>)	Arginin, serin, alanin, glisin, dan prolin	Data primer
Abalon (<i>Haliotis sp.</i>)	Arginin, lisin, sistein	Xuguang (2008); Zoysa <i>et al.</i> (2009)
<i>Ficus gracilis</i> dan <i>Bullia vitata</i>	Arginin, leusin, serin, glisin, alanin, prolin	Sathyan <i>et al.</i> (2012)

IV. KESIMPULAN

Profil protein daging gonggong bercangkang tebal dan bercangkang tipis memiliki kesamaan pada berat molekul 11-37 kDa. Lendir gonggong yang merupakan hasil sekresi juga memiliki berat molekul 37 kDa. Hasil pendugaan protein histon pada profil protein daging (*hemolymph*) dan lendir dibuktikan dengan hasil identifikasi DNA gonggong Bintan menggunakan primer protein histon H2A dan H2B pada gen target

75 bp, sehingga dapat dikonfirmasi keberadaan protein histon pada gonggong Bintan. Aktivitas antimikroba pada ekstrak daging gonggong Bintan rebus bercangkang tebal yang mengandung protein histon sebagai pangan favorit di Bintan memiliki kemampuan dalam menghambat bakteri *S.aureus* dan *E.coli*, sehingga diduga kuat bahwa gonggong rebus Bintan ini dapat dijadikan kandidat pangan fungsional gonggong rebus khas Bintan Kepulauan Riau.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali, A., Y. Hala, dan Darminto. 2006. Penapisan dan karakterisasi parsial senyawa antimikroba Siput Bakau dan profil kromatografi lapis tipis fraksi aktif. *B. Penelitian Hayati*, 12:63-68. <http://dx.doi.org/10.23869/bphjbr.12.1.200611>.
- Amini, S. 1986. Studi pendahuluan gonggong (*Strombus canarium*) di perairan pantai Pulau Bintan-Riau. *J. Penelitian Perikanan Laut*, 36:23-29. <http://dx.doi.org/10.14710/jkt.v2li2.2969>.
- Arularasan, S., P.S. Lyla, K. Kesavan, and S.A. Khan. 2010. Recipes for the *Mesogastropod Strombus canarium*. *Advance J. Food Science and Technology*, 2(1):31-35.
- Battison, A.L., R. Summerfield, and A. Patrzykat. 2008. Isolation and characterisation of two antimicrobial peptides from haemocytes of the American lobster *Homarus americanus*. *J. fish and Shellfish immunology*, 25:181-187. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2008.04.005>.
- Cob, Z.C., A. Arshad, J.S. Bujang, and M.A. Ghaffar. 2010. Metamorphosis induction of the Dog Conch *Strombus canarium* (Gastropoda: Strombidae) using cues associated with conch nursery habitat. *J. Applied Sciences*, 10(8):628-635.

- Cob, Z.C., A. Arshad, J.S. Bujang, and M.A. Ghaffar. 200 age, growth, mortality and population structure of *Strombus canarium*: Variation in male and female sub population. *J. Applied Sciences*, 9:3287–3297. [http://dx. doi. org/0.3923/jas200932873297](http://dx.doi.org/0.3923/jas200932873297)
- Cob, Z.C., A. Arshad, J.S. Bujang, and M.A. Ghaffar. 2009a. Spesies and distribution of *Strombus* (Mollusca: *Strombidae*) in Johor Straits and its surrounding areas. *J. Sains Malaysiana*, 38(1):39–46.
- Cob, Z.C., A. Arshad, J.S. Bujang, M.A. Ghaffar, and W.L. Wan Muda. 2009b. Development and growth of larvae of the Dog Conch, *Strombus canarium* (Mollusca: Gastropoda), in the laboratory. *J. Zoological Studies*, 48(1):1-11.
- Cob, Z.C., A. Arshad, H.M. Idris, J.S. Bujang, and M.A. Ghaffar. 2008. Sexual polymorphism in a population of *Strombus canarium* Linnaeus 1758 (Mollusca: Gastropoda) at Merambong Shoal, Malaysia. *J. Zoological Studies*, 47(3):318-325.
- Dang, V.T., K. Benkendorff, and P. Speck. 2011. In vitro antiviral activity against herpes simplex virus in the abalone *Haliotis laevigata*. *J. General Virology*, 92:627-637. [http://dx. doi. org/10.1099/vir000252470](http://dx.doi.org/10.1099/vir000252470).
- Duval, E., C. Zatylny, M. Laurencin, M. Baudy-Floc'h, and J. Henry. 2009. A cationic peptide designed to exert antibacterial activity. *J. Peptides*, 30:1608-1612. <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides200906022>.
- Fitri, N. 2012. Antimicrobial peptides sebagai obat alternatif pada resistensi antibiotik. *J. Kefarmasian Indonesia*, 2 (2): 62-67.
- Gorbushin, A.M., and N.V. Iacovlevo. 2006. Haemogram of *Littirina littorea*. *J. Marine Bio Ass of the United Kingdom*, 86:1175-1181.
- Jagessar, R.A., A. Mars, and G. Gomes. 2008. Selective antimicrobial properties of phyllanthus acidus leaf extract against *Candida albicans*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* using stokes disc diffusion, well diffusion, streak plate and a dilution method. *J. Nature and Sci*, 2(6): 24-38.
- Jusuf, M. 2001. Genetika I: struktur dan ekspresi gen. Jakarta. Sagung Seto Press. 300 hlm.
- Joshi, S.R., Y.C Sarpong, R.C Peterson, and W.M Scovell. 2012. Nucleosome dynamics: HMGB1 relaxes canonical nucleosome structure to facilitate estrogen receptor binding. *Nucleic Acid Research*, 40(20):10161-10171. [http://dx. doi. org/10.1093/nar/gks815](http://dx.doi.org/10.1093/nar/gks815).
- Li, H., M.G. Parisi, N. Parrinello, M. Cammarata, and P. Roch. 2011. Molluscan antimicrobial peptides, a review from activity-based evidences to computer-assisted sequences. *J. International Scholarly Research*, 8:85-97.
- Latiolais, J.M., M.S. Taylor, K. Roy K, and M.E. Hellberg. 2006. A molecular phylogenetic analysis of strombid gastropod morphological diversity. *J. Molecular Phylogen and Evo.*, 41: 436–444. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2006.05.027>.
- Mohtar, N.F., C. Perera, and S.Y. Quek. 2010. Optimisation of gelatine extraction from hoki (*Macruronus novaezelandiae*) skins and measurement of gel strength and SDS–PAGE. *J. Food Chemistry*, 122: 307- 313.
- Muzahar dan L. Viruly. 2013. Karakterisasi kimia, sensori dan laju pemijahan gonggong (*Strombus sp.*) sebagai ikon Kepulauan Riau. *J. Dinamika Maritim PPSPL UMRAH*, 2:20-29.
- Nam, B.H., J.K. Seo, M.J. Lee, Y.O. Kim, D.G. Kim, C.M. An, and N.G. Park. 2015. Functional analysis of pacific

- oyster (*Crassostrea gigas*) β -thymosin: Focus on antimicrobial activity. *J. Fish and Shellfish Immunology*, 45:167-174. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2015.03.035>.
- Nikapitiya, C., M.D. Zoysa, C. Oh, Y. Lee, Ekanayake, I. Whang, C.Y. Choi, J.S. Lee, and J. Lee. 2010. Disk abalone (*Haliotis discus discus*) expresses a novel antistatin-like serine protease inhibitor: molecular cloning and immune response against bacterial infection. *J. Fish and Shellfish Immunology*, 28:661-671. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2009.12.027>.
- North, J.A., M. Simon, M.B. Ferdinand, M.A. Soffner, J.W. Picking, C.J. Howard, A.M. Mooney, J.V. Noort, M.G. Poirier, and J.J. Ottesan. 2014. Histon H3 phosphorylation near the nucleosome dyad alters chromatin structure. *J. Nucleic Acid Research*, 42:4922-4933. <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gku150>.
- Nurilmala, M. dan Y. Ochiai. 2016. Molecular characterization of southern bluefin tuna myoglobin (*Thunnus maccoyii*). *J. Fish Fisiology and Biochemistry*, 42: 1407-1416. <http://dx.doi.org/10.1007/s1069501602280>.
- Ovchinnikova, T.V., S.V. Balandin, G.M. Aleshina, A.A. Tagaev, Y.F. Leonova, E.D. Krasnodembsky, A.V. Men'shenin, and V.N. Kokryakov. 2006. Aurelin, a novel antimicrobial peptide from jellyfish *Aurelia aurita* with structural features of defensins and channel-blocking toxins. *J. Biochemical and Biophysical Research Communications*, 348:514–523. [10.1016/j.bbrc.2006.07.078](http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.07.078).
- Sathyan, N., R. Philip, E.R. Chaithanya, and P.R.A. Kumar. 2012. Identification and molecular characterization of molluskin, a histone-H2A-derived antimicrobial peptide from molluscs. *J. International Scholarly Research Network*, 2012:1-6. <http://dx.doi.org/10.5402/2012/219656>
- Toke, O. 2005. Antimicrobial peptides: new candidates in the fight against bacterial infections. *J. Biopolymers (Peptide Science)*, 80:717–735. <http://dx.doi.org/10.1002/bip.20286>.
- Tidona, F., A. Criscione, A.M. Guastella, A. Zuccaro, S. Bordonaro, and D. Marletta. 2009. Bioactive peptides in dairy products. *Ital J. Anim Sci*, 8:315-340. [10.4081/ijas.2009.315](http://dx.doi.org/10.4081/ijas.2009.315).
- Viruly, L. 2011. Pemanfaatan siput laut gonggong (*Strombus canarium*) asal Pulau Bintan Kepulauan Riau Menjadi Seasoning Alami. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 94 hlm.
- Zoysa, M.D., I. Wang, Y. Lee, S. Lee, S.J. Lee, and J. Lee. 2010. Defensin from disk abalone *Haliotis discus discus*: Molecular cloning, sequence characterization and immune response against bacterial infection. *J. Fish and Shellfish Immunol.* 28: 261-266. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2009.11.005>.
- Zoysa, M.D., C. Nikapitiya, I. Whang, J.S. Lee, and J. Lee. 2009. Abhisin: a potential antimicrobial peptide derived from histone H2A of disk Abalone (*Haliotis discus discus*). *J. Fish and Shellfish Immunology*, 27 :639-646. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fsi.2009.08.007>.

Received : 11 October 2018

Reviewed : 30 January 2019

Accepted : 18 March 2019

