

## Tinjauan Peptida Bioaktif daripada Sumber Makanan: Kaedah Penghasilan, Aplikasi, Cabaran dan Prospek Masa Depan

(A Review of Bioactive Peptides from Food Sources: Production Methods, Applications, Challenges, and Future Prospects)

ZHI YIN TER<sup>1,2\*</sup>, SENG JOE LIM<sup>1,2,3</sup> & WAN AIDA WAN MUSTAPHA<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>*Department of Food Sciences, Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia*

<sup>2</sup>*Innovation Centre for Confectionery Technology (MANIS), Faculty of Science and Technology, Universiti Kebangsaan Malaysia, 43600 UKM Bangi, Selangor, Malaysia*

<sup>3</sup>*Department of Marine, Faculty of Fisheries and Marine, Universitas Airlangga, Mulyorejo, Surabaya, 60115, Indonesia*

*Diserahkan: 18 Jun 2025/Diterima: 19 Februari 2026*

### ABSTRAK

Dalam era kesihatan moden, pendekatan terhadap diet telah berubah daripada sekadar memenuhi keperluan pemakanan asas kepada menyokong fungsi fisiologi dan mencegah penyakit kronik. Peptida bioaktif ialah serpihan protein yang memberikan kesan positif terhadap fungsi badan, sekali gus menyumbang kepada peningkatan tahap kesihatan manusia. Sumber peptida bioaktif merangkumi pelbagai bahan makanan daripada haiwan, tumbuhan dan marin yang menghasilkan peptida dengan aktiviti biologi seperti antihipertensi, antioksidan, antimikrob dan antikanser. Peptida ini tersembunyi dalam struktur protein induk dan hanya dapat diaktifkan melalui proses hidrolisis. Dua pendekatan utama yang lazim digunakan untuk membebaskan peptida bioaktif daripada struktur protein induk ialah hidrolisis enzim dan fermentasi mikrob. Hidrolisis enzim melibatkan pemecahan ikatan peptida oleh enzim proteolitik seperti alkalase, pepsin dan tripsin. Sebaliknya, fermentasi mikrob menggunakan mikroorganisma seperti bakteria, kulat filamen dan yis untuk menghasilkan enzim secara semula jadi yang memecahkan protein kepada peptida bioaktif. Peptida bioaktif kini semakin mendapat perhatian dalam pembangunan produk makanan fungsian, nutraseutikal dan farmaseutikal kerana keupayaannya menyumbang kepada kesihatan secara menyeluruh. Walau bagaimanapun, pelbagai cabaran masih perlu diatasi, termasuk isu berkaitan rasa pahit, ketulenan, kestabilan dan keberkesanan dalam sistem tubuh manusia. Tinjauan ini menekankan potensi besar peptida bioaktif sebagai komponen utama dalam pembangunan makanan generasi baharu, namun penyelidikan lanjut masih diperlukan bagi mengoptimumkan kaedah penghasilan, pemurnian serta aplikasinya secara mampan dan berkesan dalam sistem fisiologi manusia.

Kata kunci: Fermentasi mikrob; hidrolisis enzim; peptida bioaktif; sumber makanan

### ABSTRACT

In the modern health era, the approach to diet has shifted from merely fulfilling basic nutritional needs to supporting physiological functions and preventing chronic diseases. Bioactive peptides are protein fragments that exert positive effects on bodily functions, thereby contributing to improved human health. Sources of bioactive peptides encompass a wide range of food materials derived from animals, plants, and marine, which produce peptides with various biological activities such as antihypertensive, antioxidant, antimicrobial, and anticancer properties. These peptides are embedded within the structure of parent proteins and can only be activated through hydrolysis processes. The two main approaches commonly used to release bioactive peptides from the parent protein structure are enzymatic hydrolysis and microbial fermentation. Enzymatic hydrolysis involves the cleavage of peptide bonds by proteolytic enzymes such as alkalase, pepsin, and trypsin. In contrast, microbial fermentation employs microorganisms such as bacteria, filamentous fungi, and yeasts to naturally produce enzymes that break down proteins into bioactive peptides. Bioactive peptides are increasingly gaining attention in the development of functional foods, nutraceuticals, and pharmaceuticals due to their ability to support overall health. Nevertheless, various challenges remain to be addressed, including issues related to bitterness, purity, stability, and efficacy in the human body. This review highlights the significant potential of bioactive peptides as key components in the development of next-generation food products. However, further research is needed to optimise their production methods, purification processes, and sustainable and effective application in human physiological systems.

Keywords: Bioactive peptides; enzymatic hydrolysis; food sources; microbial fermentation

## PENDAHULUAN

Dalam beberapa dekad kebelakangan ini, pendekatan terhadap makanan dan kesihatan manusia telah mengalami perubahan yang ketara, selari dengan peningkatan kesedaran masyarakat global terhadap kepentingan pemakanan fungsian dan pencegahan penyakit melalui diet yang sihat. Konsep makanan bukan lagi hanya sebagai sumber tenaga dan nutrien asas, tetapi juga sebagai agen terapeutik yang berpotensi mencegah atau mengurangkan risiko pelbagai penyakit kronik (Manzoor, Singh & Gani 2022). Salah satu bidang penyelidikan yang semakin berkembang adalah pengenalanpastian dan pencirian peptida bioaktif daripada pelbagai sumber makanan. Peptida bioaktif merupakan fragmen protein khusus yang bukan sahaja berfungsi sebagai komponen nutrisi, tetapi juga memberikan kesan positif terhadap fungsi fisiologi (Cruz-Casas et al. 2021).

Secara komersial, peptida bioaktif biasanya diperolehi pelbagai jenis makanan termasuk produk tenusu, ikan dan makanan laut, daging, telur serta bijirin (Kadam et al. 2015). Sumber tumbuhan seperti soya, gandum dan bijirin pula menawarkan alternatif yang penting bagi mereka yang mengamalkan diet berasaskan tumbuhan (Fan et al. 2022). Namun begitu, perkembangan teknologi dan tuntutan terhadap sumber makanan yang lebih lestari telah mendorong banyak kajian baharu untuk meneroka sumber peptida bioaktif daripada bahan novel seperti serangga yang boleh dimakan (Teixeira et al. 2023), biji-bijian pseudo (Morales, Miguel & Garcés-Rimón 2021) dan diatom marin (Barkia et al. 2019). Penggunaan sisa pertanian dan hasil sampingan industri makanan sebagai bahan mentah juga membuka peluang besar dalam penghasilan peptida bioaktif secara lebih lestari (Tonolo et al. 2025).

Peptida bioaktif lazimnya terkandung secara semula jadi dalam struktur protein makanan, tetapi dalam bentuk yang tidak aktif (Jakubczyk et al. 2020). Peptida ini hanya menjadi aktif selepas dibebaskan melalui proses tertentu seperti hidrolisis enzim atau fermentasi mikrob. Pembebasan ini melibatkan pemecahan ikatan peptida dalam molekul protein yang menghasilkan jujukan asid amino pendek dengan struktur tertentu. Bergantung kepada jujukan asid amino dan struktur sekunder, peptida ini dapat menunjukkan pelbagai aktiviti biologi termasuklah aktiviti antihipertensi, antioksidan, antimikrob, antiradang, imunomodulator, hipokolesterolemik serta potensi antikanser (Zaky et al. 2022).

Kebolehan peptida bioaktif untuk memberi kesan kesihatan yang signifikan menjadikannya bahan yang berpotensi dalam pelbagai aplikasi industri. Dalam bidang makanan, peptida ini boleh diformulasikan ke dalam makanan fungsian dan minuman kesihatan untuk meningkatkan nilai kesihatan produk (Sarker 2022). Dalam bidang farmaseutikal dan nutraseutikal, peptida bioaktif boleh digunakan sebagai bahan aktif dalam suplemen untuk merawat atau mencegah penyakit seperti tekanan darah tinggi, penyakit jantung dan diabetes.

Walau bagaimanapun, cabaran masih wujud dalam aspek kestabilan, bioketersediaan dan keberkesanan peptida apabila berada dalam sistem biologi sebenar (Wang et al. 2024). Ini kerana peptida yang diambil melalui pemakanan perlu melepasi pelbagai halangan fisiologi seperti enzim pencernaan, pH gastrik dan penyerapan usus sebelum dapat memberi kesan terapeutik yang dikehendaki.

Sehubungan itu, tinjauan ini bertujuan untuk memberi gambaran menyeluruh mengenai peptida bioaktif daripada sumber makanan dengan fokus khusus terhadap kaedah penghasilan, aplikasi dan cabaran serta peluang dalam bidang ini. Bahagian awal tinjauan ini merangkumi perbincangan tentang sumber dan fungsi peptida bioaktif, diikuti dengan perincian mengenai dua kaedah utama penghasilan peptida iaitu hidrolisis enzim dan fermentasi mikrob. Tinjauan ini juga mengupas aplikasi peptida bioaktif dalam industri makanan, serta cabaran saintifik dan teknologi yang perlu diatasi untuk memastikan peptida ini dapat dimanfaatkan secara berkesan dalam pembangunan produk berasaskan makanan fungsian dan terapeutik. Potensi masa hadapan dan hala tuju penyelidikan dirumuskan untuk menyediakan asas kukuh kepada pembangunan peptida bioaktif sebagai komponen makanan generasi baharu yang menyokong kesihatan global secara mampan.

## PEPTIDA BIOAKTIF

Peptida bioaktif ditakrifkan sebagai serpihan protein yang mempunyai kesan positif ke atas fungsi badan yang dapat meningkatkan tahap kesihatan manusia (Ter et al. 2025). Peptida bioaktif ialah bahan organik yang terbentuk daripada asid amino yang dihubungkan oleh ikatan kovalen, iaitu ikatan amida atau peptida (Sánchez & Vázquez 2017). Pemprosesan makanan melalui hidrolisis enzim, kimia dan mikrob atau pencernaan gastrousus diperlukan untuk membebaskan peptida bioaktif yang aktif kerana peptida bioaktif yang tersembunyi dalam jujukan protein induk adalah tidak aktif (Karami & Akbari-Adergani 2019).

## SUMBER PEPTIDA BIOAKTIF

Peptida bioaktif daripada makanan yang pertama telah dikenal pasti oleh Mellander pada tahun 1950 yang melaporkan bahawa peptida fosforilasi kasein dapat meningkatkan kalsifikasi tulang tanpa vitamin D dalam bayi rakitik (Hayes et al. 2007). Penemuan penting ini telah membuka satu bidang penyelidikan baharu yang kini dikenali sebagai kajian peptida bioaktif dan sejak itu, bidang ini telah berkembang pesat dengan fokus utama kepada pengenalanpastian dan pencirian peptida bioaktif daripada pelbagai sumber protein makanan (Ryan et al. 2011). Seiring dengan kemajuan teknologi analisis dan teknik pemprosesan makanan, kajian terhadap peptida bioaktif bukan sahaja tertumpu kepada penentuan aktiviti biologi semata-mata, malah telah berkembang kepada pemahaman tentang hubungan struktur-fungsi dan potensi penggunaannya dalam aplikasi farmaseutikal dan makanan fungsian.

Peptida bioaktif boleh didapati dalam pelbagai jenis makanan termasuk haiwan, tumbuhan dan marin, seperti yang ditunjukkan dalam Rajah 1. Peptida bioaktif daripada sumber haiwan boleh didapati dalam susu (Guha et al. 2021), telur (Liao et al. 2018), ayam (Xiao et al. 2020), daging lembu (Maky & Zendo 2021) dan sarang burung walit (Mun et al. 2024). Sumber haiwan ini secara umumnya dapat menghasilkan peptida dengan aktiviti antioksidan, antihipertensi, antimikrob dan imunomodulasi. Namun, terdapat perbezaan yang ketara dalam kadar penghasilan peptida, panjang rantai dan profil asid amino antara kajian yang mempengaruhi keberkesanan bioaktiviti. Sumber tumbuhan yang telah dikenal pasti sebagai sumber peptida bioaktif termasuk kacang soya (Kim, Yang & Kim 2021), bijirin (Nakurte et al. 2013), kekacang (Kamran & Reddy 2018), kanola (Karimzadeh, Rezaei & Yansari 2016), biji rami (Wu et al. 2019), biji chia (Ibrahim Khushairay et al. 2024) dan pucuk kara kratok (Budiyanto et al. 2025). Potensi sumber baharu daripada sisa pertanian, seperti hampas soya, kulit biji dan dedak masih kurang diterokai, menunjukkan peluang besar untuk pembangunan peptida bioaktif yang berdaya saing, inovatif dan lestari.

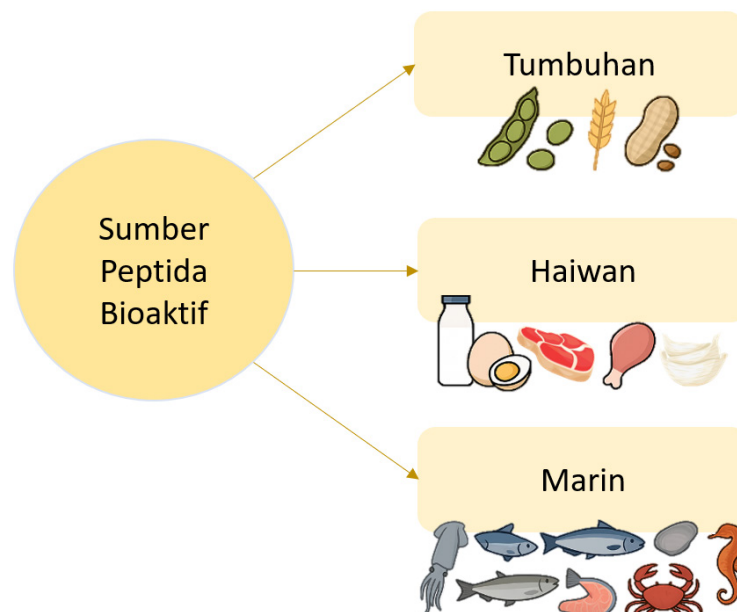
Sumber marin pula telah menunjukkan potensi yang amat luas kerana kepelbagaian biologi dalam ekosistem laut. Peptida bioaktif daripada sumber marin termasuk sotong (Suárez-Jiménez et al. 2019), tuna (Xiang et al. 2021), sardin (Ravallec-Plé et al. 2001), ikan hering (Pampanin et al. 2012), salmon (Neves et al. 2017), tiram (Qian et al. 2020), kuda laut (Pangestuti & Kim 2015), ketam (Shaibani et al. 2019) dan gamat (Lu et al. 2022). Banyak kajian terkini telah mula meneroka biojisim marin yang kurang dimanfaatkan, seperti kulit, sisik dan organ

dalam yang berpotensi menghasilkan peptida bioaktif bernilai tinggi dengan aplikasi dalam makanan fungsian dan farmaseutikal secara lebih lestari. Penggunaan bahan sampingan ini bukan sahaja dapat mengurangkan pencemaran alam sekitar dan kos pelupusan, malah menyumbang kepada pembangunan sistem makanan yang lebih mampan dan berasaskan ekonomi sirkular (Öztürk & Oraç 2024). Maka, penerokaan sumber peptida daripada bahan sampingan makanan membuka laluan baharu dalam penyelidikan makanan fungsian dan pembangunan produk bernilai tambah tinggi, sambil menyokong prinsip kemampanan dalam industri makanan global.

#### FUNGSI PEPTIDA BIOAKTIF

Protein dalam makanan memainkan peranan sebagai sumber tenaga dan berfungsi untuk membekalkan asid amino yang penting untuk pertumbuhan dan penyelenggaraan pelbagai fungsi badan. Nilai makanan yang kaya dengan protein semakin meningkat disebabkan oleh perkembangan ilmu pengetahuan tentang fungsi peptida bioaktif (Korhonen & Pihlanto 2006). Pelbagai aktiviti biologi telah ditunjukkan oleh peptida daripada protein makanan termasuk antihipertensi (Hermanto, Hatiningsih & Putera 2018), antioksidan (Lorenzo et al. 2018), antimikrob (Maleki et al. 2020), antitrombotik (Qiao et al. 2018), imunomodulator (Kang et al. 2019), osteopelindung (Pandey et al. 2018), antikanser (Wang et al. 2017) dan antilipemik (Wergedahl et al. 2018) (Rajah 2).

Kebanyakan penyelidikan mengenai peptida bioaktif telah tertumpu pada peptida antihipertensi, terutamanya peptida yang dapat menghalang enzim penukar angiotensin



RAJAH 1. Sumber peptida bioaktif daripada makanan

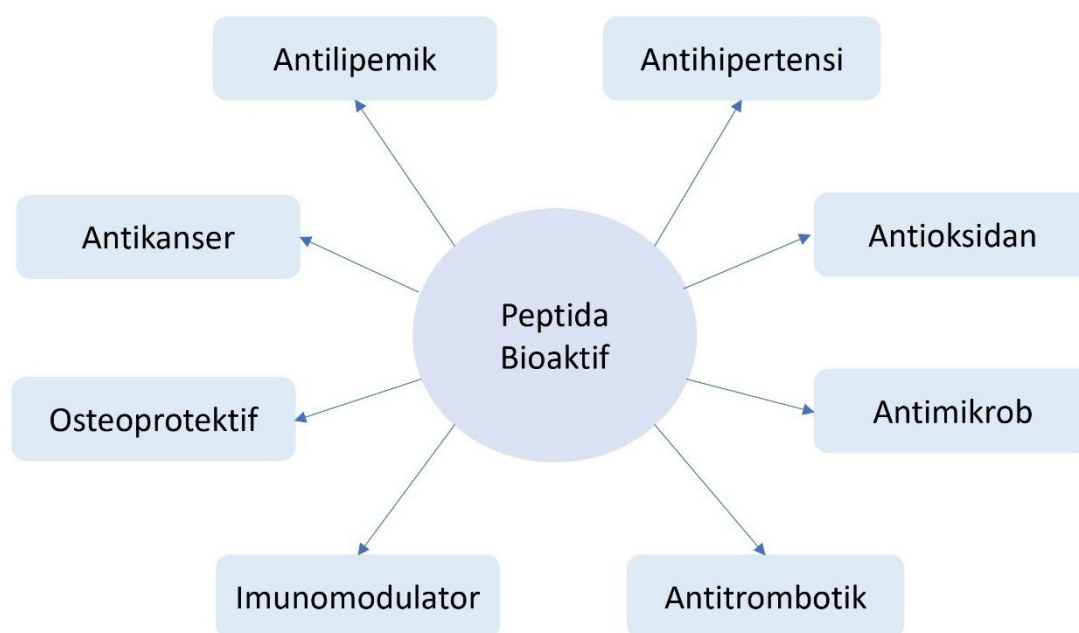
(ACE) dan peptida antioksidan (Ryan et al. 2011). Keberkesanan bioaktiviti ini bukan sahaja bergantung kepada kehadiran peptida, tetapi juga sangat dipengaruhi oleh jujukan asid amino, panjang rantai peptida dan sifat kimia residu tertentu, yang mencerminkan hubungan struktur-aktiviti. Kajian Yamada et al. (2015) melaporkan bahawa peptida Met-Lys-Pro yang diperoleh daripada kasein bovin menunjukkan aktiviti perencatan ACE secara *in vitro* ( $IC_{50} = 0.43$ ) dan menyebabkan penurunan tekanan darah secara *in vivo* pada tikus hipertensi spontan selepas 28 hari pemberian pada dos 10 mg/kg. Kehadiran residu hidrofobik dan prolin pada hujung C-terminal peptida ini adalah selaras dengan mekanisme perencatan ACE, memandangkan tapak aktif ACE mempunyai afiniti tinggi terhadap residu hidrofobik dan jujukan kaya prolin. Penemuan ini mengukuhkan kepentingan hubungan struktur-aktiviti dalam meramalkan potensi antihipertensi sesuatu peptida.

Selain daripada peptida perencatan ACE, peptida antioksidan yang diperoleh daripada ikan juga telah dikenal pasti. Kajian Bougatef et al. (2010) telah mengenal pasti sejumlah 7 jenis peptida antioksidan, iaitu Leu-Ala-Arg-Leu, Gly-Gly-Glu, Leu-His-Tyr, Gly-Ala-His, Gly-Ala-Trp-Ala, Pro-His-Tyr-Leu dan Gly-Ala-Leu-Ala-Ala-His dalam hidrolisat protein yang diperoleh daripada sisa aliran pemprosesan sardine dengan peptida Leu-His-Tyr telah menunjukkan aktiviti pemerangkapan radikal DPPH yang tertinggi, dengan keupayaan pemerangkapan radikal DPPH sebanyak 63% pada kepekatan 150  $\mu\text{g/mL}$ . Aktiviti antioksidan ini dikaitkan dengan kehadiran residu aromatik seperti tirosina dan triptofan serta asid amino bercas seperti histidina, yang berupaya menderma proton atau menstabilkan radikal bebas.

Beberapa protein dalam susu telah dilaporkan dapat memodulasi percambahan limfosit secara *in vitro*, iaitu kasein, protein wei, laktoferin, laktoperosida, faktor pertumbuhan susu dan imunoglobulin susu yang dapat meningkatkan imuniti dalam neonat dan menyumbang kepada perlindungan terhadap patogen persekitaran yang berbahaya (Moller et al. 2008). Kajian Liu et al. (2008) telah menunjukkan bahawa peptida antimikrob yang kaya dengan sisteina, iaitu CgPep33, yang dihasilkan daripada fermentasi tiram dengan menggunakan gabungan alkalase dan bromelin dapat menghalang pertumbuhan bakteria patogen seperti *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* dan *S. aureus* dan juga menghalang pertumbuhan kulat *Botrytis sinerea* dan *Penicillium ekansum*. Ciri osteopelindung kasein dan kasein terbitan yang diperoleh daripada peptida susu telah diketahui lebih daripada 70 tahun dengan kajian Mellander (1950) telah menunjukkan bahawa kasein dapat meningkatkan keseimbangan kalsium sebanyak 39-78% dalam bayi rakitik yang baru lahir. Kajian Ferrero et al. (2021) pula mencadangkan bahawa hidangan biji sesawi yang telah dinyahlemak mempunyai potensi aktiviti antikanser terhadap kanser payudara. Secara keseluruhan, penemuan ini menekankan potensi luas peptida bioaktif dalam menyokong kesihatan manusia, sekali gus membuka peluang untuk pembangunan produk fungsian yang berasaskan bukti saintifik.

#### KAEDAH PEMBEBASAN PEPTIDA BIOAKTIF DARIPADA MAKANAN

Peptida bioaktif wujud dalam keadaan tersembunyi atau tidak aktif di dalam struktur protein makanan dan tidak dapat menunjukkan sebarang aktiviti biologi dalam bentuk



RAJAH 2. Aktiviti biologi telah ditunjukkan oleh peptida bioaktif

asalnya (Jakubczyk et al. 2020). Oleh itu, pembebasan peptida ini daripada struktur protein induk merupakan langkah penting bagi mengaktifkan fungsinya. Proses ini kebiasaannya melibatkan pemecahan ikatan peptida dalam molekul protein melalui kaedah hidrolisis yang akan menghasilkan peptida kecil dengan pelbagai sifat bioaktif seperti aktiviti antihipertensi, antioksidan dan antimikrob. Pendekatan yang telah dikenal pasti berkesan dalam membebaskan peptida bioaktif daripada makanan termasuklah hidrolisis enzim dan fermentasi mikrob dengan kedua-dua kaedah ini berupaya menguraikan struktur protein kompleks kepada jujukan peptida yang mempunyai aktiviti biologi yang khusus dan bermanfaat kepada kesihatan.

#### HIDROLISIS ENZIM

Hidrolisis enzim merupakan salah satu pendekatan utama yang digunakan untuk membebaskan peptida bioaktif daripada sumber makanan. Proses ini melibatkan tindak balas pemecahan ikatan peptida dalam struktur protein utama oleh enzim proteolitik, menghasilkan peptida yang berpotensi memiliki aktiviti biologi tertentu (Ter et al. 2024b). Mekanisme asas hidrolisis enzim bergantung kepada keupayaan enzim untuk mengenal pasti tapak pengekaman khusus dalam rantai protein dan memutuskan ikatan peptida pada atau berhampiran tapak tersebut (Cruz-Casas et al. 2021; Koh et al. 2024). Setiap enzim mempunyai keutamaan substrat yang berbeza, yang membolehkan penghasilan peptida bioaktif dengan jujukan asid amino yang unik. Kaedah ini digunakan secara meluas kerana bersifat mesra alam, tidak menggunakan pelarut toksik dan menghasilkan kadar perolehan semula yang tinggi (Daud et al. 2019). Walau bagaimanapun, variasi antara enzim dari segi darjah hidrolisis, panjang peptida yang terhasil, serta potensi bioaktiviti menjadikan pemilihan enzim yang sesuai sangat penting untuk proses hidrolisis yang optimum.

Jadual 1 menunjukkan senarai enzim komersial yang digunakan dalam proses hidrolisis enzim. Beberapa enzim yang kerap digunakan termasuk alkalase, sejenis enzim protease yang berasal daripada *Bacillus licheniformis* dan dikenali kerana aktiviti luas serta kestabilan tinggi dalam julat pH dan suhu yang luas (Amiza et al. 2019; Khushairay, Ayub & Babji 2014). Selain itu, papain yang diekstrak daripada getah pokok betik (*Carica papaya*) turut digunakan kerana keupayaannya untuk memecahkan ikatan peptida dengan khusus terhadap residu tertentu (Babalola et al. 2023). Pankreatin, campuran beberapa enzim pencernaan yang dihasilkan daripada pankreas haiwan juga sering digunakan, begitu juga dengan enzim gastrik seperti pepsin dan enzim komersial seperti flavourzyme, yang merupakan campuran endopeptidase dan eksopeptidase yang membolehkan pemecahan protein secara lebih menyeluruh (Chew, Toh & Ismail 2019). Perbezaan dalam mekanisme pemotongan antara enzim ini secara langsung mempengaruhi saiz peptida yang terhasil

serta fungsi biologi seperti aktiviti antioksidan, antibakteria atau antihipertensi.

Secara perbandingan, alkalase lazimnya menunjukkan perolehan semula dan darjah hidrolisis yang paling tinggi, menghasilkan peptida bersaiz kecil (<1 kDa) yang sering dikaitkan dengan aktiviti antioksidan dan antidiabetik yang tinggi (Tacias-Pascacio et al. 2020). Flavourzyme menghasilkan campuran peptida dan asid amino bebas akibat aktiviti endo- dan eksopeptidasenya. Disebabkan aktiviti eksopeptidasenya, Flavourzyme berupaya membebaskan peptida berukuran sangat kecil serta asid amino bebas yang dapat menyokong penghasilan peptida hipoglisemik memandangkan aktiviti perencatan DPP-IV dan  $\alpha$ -glukosidase sering dikaitkan dengan peptida bermolekul rendah (Farias et al. 2022). Pepsin menghasilkan peptida yang lebih besar dengan kecenderungan kepada tapak pemotongan aromatik, manakala pankreatin memberikan perolehan semula yang sederhana tetapi menghasilkan rangkaian peptida yang lebih pelbagai kerana sifatnya sebagai campuran enzim. Perbezaan ini menunjukkan bahawa jenis enzim secara langsung mempengaruhi panjang peptida, komposisi asid amino, bioaktiviti peptida untuk aplikasi yang dikehendaki, serta jumlah perolehan peptida, yang penting untuk aplikasi berskala industri.

Dalam kajian Rao et al. (2012), lisozim daripada putih telur ayam telah dihidrolisis secara berperingkat menggunakan enzim pepsin (nisbah 1:50, w/w) selama 5 jam pada pH 2.0 dan suhu 37 °C, diikuti dengan hidrolisis lanjut menggunakan enzim  $\alpha$ -kimotripsin dan tripsin (nisbah 1:100, w/w) selama 5 jam pada pH 7.5 dan suhu 37 °C. Proses ini telah menghasilkan beberapa peptida perencat ACE dengan jujukan Met-Lys-Arg, Arg-Gly-Tyr dan Val-Ala-Trp, yang masing-masing menunjukkan nilai  $IC_{50}$  sebanyak  $25.7 \pm 0.2$ ,  $61.9 \pm 0.1$  dan  $2.86 \pm 0.08 \mu\text{M}$ . Dalam kajian lain, daging dada itik telah dihidrolisis menggunakan enzim neutrase pada dos 1500 U/g pada pH 6.5 dan suhu 35 °C selama 1 jam, menghasilkan peptida antioksidan seperti Ala-Gly-Pro-Ser-Ile-Val-His, Phe-Leu-Leu-Pro-His dan Leu-Leu-Cys-Val-Ala-Val. (Li et al. 2020). Walaupun kajian ini menunjukkan keberkesanan enzim tertentu, analisis perbandingan yang lebih sistematik masih diperlukan untuk memahami hubungan antara jenis enzim, tapak pemotongan dan bioaktiviti peptida yang terhasil.

Walaupun hidrolisis enzim sangat berguna, penggunaannya pada skala industri masih terhad disebabkan oleh kos enzim yang tinggi dan ketidakbolehan untuk mengguna semula enzim dengan cekap (Habinshtu et al. 2023). Sehubungan itu, penyelidikan kini giat dijalankan dalam bidang kejuruteraan enzim, seperti penghasilan enzim rekombinan atau enzim tahan suhu tinggi, serta kaedah pengimmobilan enzim bagi meningkatkan kestabilan, perolehan peptida dan kebolegunaan semula. Selain itu, perkembangan teknologi seperti pra-rawatan berasaskan ultrabunyi, tekanan tinggi atau gelombang mikro semakin penting kerana dapat meningkatkan

JADUAL 1. Enzim komersial yang digunakan dalam proses hidrolisis enzim

Enzim	Sumber
Alkalase	<i>B. licheniformis</i>
Biofeed pro	<i>B. licheniformis</i>
Bromelain	Batang nanas
Chorolase PP	<i>A. oryzae</i>
Collupulin	Betik
Durazym	<i>Bacillus</i> sp.
Enzeco neutral bacterial protease	<i>B. subtilis</i>
Esperase	<i>B. lentus</i>
Everlase	<i>Bacillus</i> sp.
Fermgen	<i>Bacillus</i> sp.
Ficain	Getah buah ara
Flavorzyme	<i>Aspergillus oryzae</i>
Fromase	Rhizomucor miehei
Kannase	<i>Bacillus</i> sp.
Kimotripsin A	Pankreas lembu
Kolagenase	<i>Clostridium</i> sp.
Maxiren	Kluyveromyces laktis rekombinan
Neutrase	<i>B. subtilis</i>
Newlase F	<i>Rhizopus niveus</i>
NovoBate WB	<i>Bacillus</i> sp.
Novozyme 243	<i>B. licheniformis</i>
NUE	<i>Bacillus</i> sp.
Ovozyme	<i>Bacillus</i> sp.
Pancreatin trypsin Novo	Kelenjar pankreas babi
Papain	Getah pokok betik
Pepsin	Mukosa gastrik babi
Primatan	Sumber bakteria
Proleather	<i>Bacillus</i> sp.
Properase	<i>Bacillus</i> sp.
Protamex	Kompleks protease <i>Bacillus</i>
Protease kulat	<i>Aspergillus</i> sp.
Protease S	<i>A. stearoothermophilus</i>
Proteolitik HT	<i>Bacillus</i> sp.
Protin	<i>Bacillus</i> sp.
Prozyme	<i>A. mellius</i>
Purafect	<i>B. lentus</i>
Savinase	<i>Bacillus</i> sp.
Seabzyme L 200	Betik
Streptokinase / Streptodornase	<i>Streptococcus</i> sp.
Subtilisin A	<i>Bacillus</i> sp. yang diubah suai secara genetik
Suparen / Surecud	<i>Cryphonectria parasitica</i>
Thermoase	<i>Bacillus</i> sp.
Tripsin	Pankreas lembu

Sumber: Cruz-Casas et al. (2021) dan Mora, Gallego & Toldrá (2018)

aksesibiliti substrat, mempercepatkan kinetik tindak balas dan meningkatkan perolehan peptida. Tang dan Koh (2023) melaporkan bahawa pra-rawatan ultrasonik pada amplitud 90% selama 30 min terhadap sarang burung walit semasa hidrolisis enzim menggunakan papain meningkatkan darjah hidrolisis yang dikaitkan dengan peningkatan aktiviti perencatan anti-lipooksigenase dan  $\alpha$ -amilase masing-masing sebanyak 100% dan 43%. Faktor kejuruteraan proses termasuk reka bentuk bioreaktor seperti reaktor tangki pengaduk, reaktor membran atau reaktor aliran berterusan, juga mempengaruhi masa tinggal substrat, kawalan pH dan suhu, serta selektiviti produk, sekali gus menentukan kecekapan keseluruhan hidrolisis enzim. Langkah ini penting untuk memastikan hidrolisis enzim kekal sebagai kaedah yang ekonomi dan mampan dalam penghasilan peptida bioaktif selaras dengan objektif kelestarian dan pengeluaran berskala besar yang mampan.

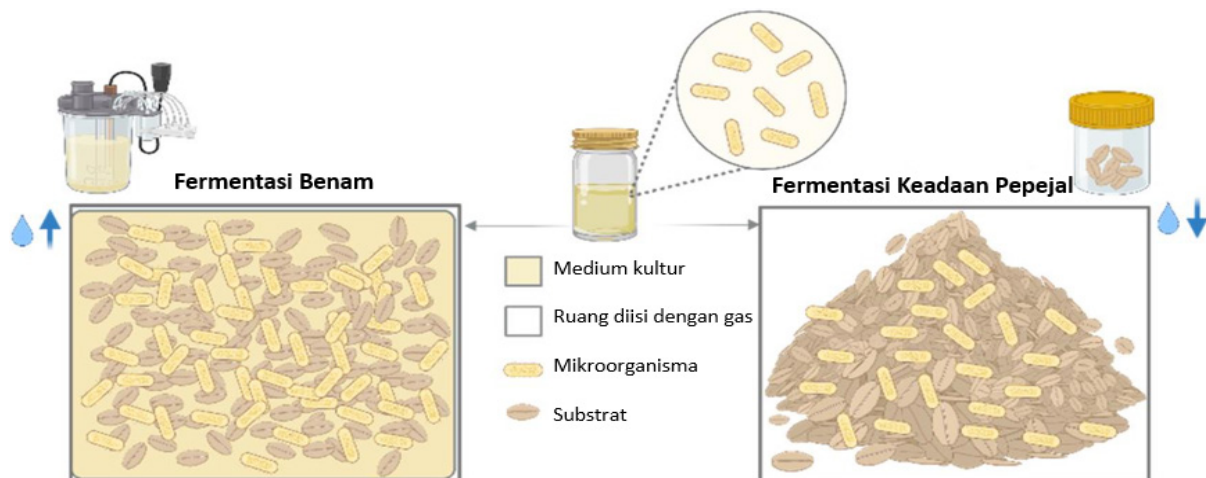
#### FERMENTASI MIKROB

Fermentasi merupakan kaedah semula jadi yang digunakan secara meluas untuk membebaskan peptida bioaktif daripada protein makanan, melalui tindakan enzim proteolitik yang dihasilkan oleh mikroorganisma seperti bakteria, kulat filamen dan yis (Squillante, Esposito & Cirillo 2025). Enzim pencernaan seperti proteinase dan peptidase yang dihasilkan oleh mikroorganisma ini akan memecahkan protein kompleks kepada peptida yang lebih kecil dan mempunyai aktiviti bioaktif (Akbarian et al. 2022). Proses fermentasi mikroorganisma terbahagi kepada beberapa sistem, namun fermentasi benam dan fermentasi keadaan pepejal paling kerap digunakan (Rajah 3). Fermentasi benam melibatkan mikroorganisma yang dibiak dalam medium cecair berasaskan nutrien, sesuai untuk bakteria dan memudahkan penulenan peptida

bioaktif (Cruz-Casas et al. 2021). Sebaliknya, fermentasi keadaan pepejal menggunakan substrat pepejal dan lebih sesuai untuk kulat, kerana kaedah ini beroperasi dengan kelembapan rendah serta membebaskan nutrien secara terkawal. Secara perbandingan, fermentasi benam biasanya menghasilkan peptida dengan profil yang lebih homogen dan boleh dikawal dengan tepat dari segi pH dan suhu, manakala fermentasi keadaan pepejal cenderung menghasilkan campuran peptida yang lebih kompleks tetapi dengan potensi aktiviti bioaktif yang tinggi disebabkan interaksi substrat-mikroorganisma yang unik.

Bakteria asid laktik, terutamanya *Lactobacillus* spp., terkenal kerana keupayaannya menghasilkan peptida bioaktif seperti perencat ACE dan antimikrob menerusi sistem proteolitik yang terdiri daripada proteinase sel permukaan dan pelbagai peptidase intrasel (Ter et al. 2024a). *Bacillus subtilis* pula lazim digunakan dalam fermentasi makanan Asia seperti natto dan mampu menghasilkan enzim protease alkali yang kuat (Phromraksa et al. 2009). *Aspergillus oryzae* yang digunakan dalam pembuatan kicap dan miso mempunyai kapasiti tinggi untuk merembeskan enzim proteolitik ekstrasel seperti aspergillopepsin dan neutral protease (Ichishima 2016). Yis seperti *Saccharomyces cerevisiae* turut digunakan kerana kestabilan dan kebolehannya menghasilkan metabolit sekunder yang boleh menyumbang kepada aktiviti bioaktif (Oliveira et al. 2022). Setiap mikroorganisma mempunyai kelebihan tersendiri dan pemilihannya bergantung kepada ciri substrat, jenis peptida yang dikehendaki serta potensi aplikasinya dalam produk akhir.

Pemilihan spesies dan strain bakteria adalah penting untuk memastikan penghasilan peptida bioaktif yang optimum. Strain mikroorganisma yang berbeza mempunyai sistem proteolitik yang berbeza, menyebabkan variasi dalam mekanisme hidrolisis protein dan seterusnya



Sumber: Diubah suai daripada Nemes et al. (2022)

RAJAH 3. Kaedah fermentasi mikrobial utama: Fermentasi benam dan fermentasi keadaan pepejal

menghasilkan peptida yang berbeza dari segi struktur dan fungsi bioaktif (Ter et al. 2024a). Dalam penapaian daging, strain tertentu *Lactobacillus sakei* dan *Lactobacillus curvatus* memperlihatkan aktiviti proteolisis yang lebih tinggi, seterusnya meningkatkan aktiviti antioksidan dan aktiviti perencatan ACE berbanding sosej yang tidak dirawat (Takeda et al. 2017). Dalam satu kajian, biji tomato yang difermentasi menggunakan 2% (v/v) kultur segar *Bacillus subtilis* ( $1 \times 10^8$  CFU/mL) selama 24 jam pada suhu 37 °C di bawah keadaan penggoncangan menghasilkan heksapeptida Asp-Gly-Val-Val-Tyr-Tyr dengan aktiviti perencatan ACE ( $IC_{50} = 2 \mu\text{M}$ ) dan pentapeptida Gly-Gln-Val-Pro-Pro yang menunjukkan aktiviti penyingkiran radikal DPPH sebanyak 97% pada kepekatan 0.4 mM (Moayedi et al. 2018). Hasil ini menunjukkan bahawa fermentasi biji tomato, yang merupakan sisa makanan dapat menghasilkan peptida bioaktif dengan aktiviti biologi yang khusus, yang dipengaruhi oleh keadaan kultur dan parameter proses.

Selain daripada spesies dan strain bakteria, proses fermentasi dipengaruhi oleh pelbagai faktor termasuk tempoh fermentasi, suhu, pH dan kepekatan substrat. Proses ini bukan sahaja menghasilkan peptida bioaktif, malah turut menghasilkan pelbagai metabolit sekunder seperti asid organik, polisakarida, vitamin dan sebatian aromatik yang boleh memberikan kesan sinergistik terhadap nilai pemakanan serta ciri fungsian produk akhir (Sawant et al. 2025). Secara keseluruhan, fermentasi merupakan pendekatan penting dalam penghasilan peptida bioaktif yang bukan sahaja meningkatkan nilai pemakanan makanan tetapi juga menawarkan potensi aplikasi dalam produk makanan kesihatan dan nutraseutikal. Bagi pengeluaran skala industri yang lebih mampan, kajian lanjut diperlukan untuk menilai kecekapan proteolitik mikroorganisma, kestabilan peptida yang dihasilkan serta penyeragaman proses fermentasi.

#### APLIKASI PEPTIDA BIOAKTIF DALAM INDUSTRI MAKANAN

Dalam beberapa tahun kebelakangan ini, peptida bioaktif yang berasal daripada makanan telah menarik minat para penyelidik disebabkan oleh faktor keselamatan, kos yang rendah dan faedahnya terhadap kesihatan (Amigo & Hernández-Ledesma 2020). Oleh itu, peptida bioaktif daripada protein makanan mempunyai potensi yang tinggi untuk diaplikasi ke dalam makanan fungsian dan nutraseutikal (Ryan et al. 2011). Aplikasi ini semakin berkembang pesat berikutan kemajuan berterusan dalam teknik pemfraksian serta peningkatan pemahaman terhadap mekanisme tindakannya (Kan et al. 2025). Dari sudut pasaran, peningkatan kesedaran pengguna terhadap pencegahan penyakit dan gaya hidup sihat telah mendorong permintaan terhadap produk berasaskan peptida bioaktif, terutamanya dalam segmen makanan fungsian dan suplemen pemakanan.

Bentuk pengaplikasian peptida bioaktif juga telah dipelbagaikan, merangkumi tablet, kapsul, serbuk dan

cecair yang memudahkan penggunaannya dalam pelbagai produk makanan dan minuman (Jia et al. 2021). Potensi ini memberikan peluang besar untuk memperluas pasaran produk berasaskan peptida bioaktif yang dapat memenuhi permintaan pengguna terhadap makanan sihat. Proses penghasilan makanan turut diubah suai bagi membolehkan penambahan peptida bioaktif ke dalam produk akhir, sekaligus memperkayakan nilai fungsian makanan (Sarker 2022). Antara kategori produk makanan berfungsi yang telah berjaya dipasarkan secara komersial termasuklah minuman berasaskan tenusu, minuman tenaga, konfeksi seperti bar tenaga, serta suplemen dalam bentuk serbuk, kapsul dan tablet. Jadual 2 menunjukkan contoh produk komersial yang mengandungi peptida bioaktif dengan manfaat kesihatan seperti antikanser, antihipertensi, pengikat mineral, pengurang tekanan dan penahan selera. Walau bagaimanapun, tuntutan kesihatan bagi produk berasaskan peptida bioaktif tertakluk kepada keperluan regulatori yang ketat. Pihak Berkuasa Keselamatan Makanan Eropah (EFSA) mensyaratkan bukti saintifik yang kukuh sebelum sesuatu tuntutan kesihatan boleh diluluskan, selaras dengan Peraturan (EC) No. 1924/2006 dengan permohonan tuntutan kesihatan hanya dibenarkan selepas melalui proses penilaian saintifik yang ketat oleh EFSA (Vero & Gasbarrini 2012).

Walaupun pelbagai jenis peptida bioaktif telah dikenal pasti daripada pelbagai sumber protein, majoriti daripadanya masih diperoleh daripada susu (kasein) dan produk berasaskan tenusu, mencerminkan tumpuan penyelidikan semasa kepada sumber tradisional. Ini mungkin disebabkan oleh ketiadaan kaedah pemprosesan yang sesuai dan berskala, keperluan untuk meneroka mekanisme tindakan yang betul, kadar penyerapan yang berubah-ubah dan kekurangan ujian klinikal untuk menyediakan bukti yang kukuh bagi keberkesanan dan tuntutan kesihatan peptida bioaktif (Chakrabarti, Guha & Majumder 2018). Selain itu, pengkomersialan peptida bioaktif terhad oleh ketidakstabilan kualiti antara kelompok dan keberkesanan peptida bioaktif sukar dijamin dalam organisma hidup akibat degradasi semasa pencernaan gastrointestinal serta metabolisme pesat di plasma, hati dan buah pinggang (Pei et al. 2022). Faktor ini menghadkan tahap kesiapsiagaan teknologi dan penerimaan pasaran bagi produk berasaskan peptida bioaktif. Situasi ini menekankan keperluan untuk mempergiatkan usaha penyelidikan dan pembangunan dalam bidang peptida bioaktif bagi merangsang penghasilan produk inovatif yang berdaya saing.

#### CABARAN DAN PROSPEK MASA DEPAN

Pengenalpastian dan pemahaman tentang cabaran yang bakal dihadapi adalah penting supaya dapat mengaplikasikan penemuan peptida bioaktif makanan ini dari makmal ke dunia nyata. Produk hidrolisat protein dan peptida menghadapi cabaran yang tinggi kerana sebilangan besar produk ini adalah berasa pahit yang

JADUAL 2. Produk peptida bioaktif komersial yang tersedia di pasaran

Nama Jenama	Pengeluar	Produk	Sumber	Manfaat Kesihatan
<i>Lactoprodan Hydro 365</i>	<i>Arla Food Ingredients</i> (Denmark)	Wei protein hidrolisat (ramuan)	Wei, kasein	Mengawal gula dalam darah, menggalakkan sintesis glikogen otot, membantu untuk penyimpanan glikogen dalam tisu otot dan hati, membantu dalam pemulihan yang dipertingkatkan selepas senaman
<i>Lactoprodan Alpha</i>	<i>Arla Food Ingredients</i> (Denmark)	Wei protein hidrolisat (ramuan)	Wei	Mencegah sarkopenia apabila berusia
<i>Lactoprodan Whey Protein</i>	<i>Arla Food Ingredients</i> (Denmark)	Wei protein hidrolisat	Wei	Mengawal paras gula dalam darah
<i>SureStart 917</i>	<i>NZMP (Fonterra)</i> (New Zealand)	Wei dan protein susu hidrolisat (ramuan)	Wei, susu	Memberikan keselesaan kepada sistem penghadaman dan pencegahan alahan
<i>Beautycoll (Peptan)</i>	<i>Beautycoll</i> (UK)	Peptida kolagen (Ramuan)	Kolagen ikan	Menggalakkan penuaan yang sihat, menjaga kesihatan sendi dan tulang untuk gaya hidup aktif, mencegah penuaan kulit, membantu menguatkan tisu penghubung
<i>ProMod Liquid Protein Fruit Punch (Pro-Stat)</i>	<i>Abbott</i> (US)	Kolagen hidrolisat (minuman)	Kolagen	Membantu penambahbaikan rawatan ulser tekanan
<i>Capolac</i>	<i>Arla Food Ingredients</i> (Denmark)	Kasein fosfopeptida	Susu	Membantu penyerapan kalsium
<i>Lactium</i>	<i>Ingredia</i> (Perancis)	Susu kasein hidrolisat (ramuan)	Susu	Memberi kesan melegakan tekanan
Peptida Bonito	<i>Nippon Supplement Inc.</i> (Jepun)	Peptida terbitan Bonito (ramuan)	Ikan Bonito	Membantu mengawal selia enzim ACE
<i>Vasotensin Seacure</i>	<i>Metagenics</i> (US)	Makanan tambahan	Ikan Bonito	Membantu mengawal selia enzim ACE
<i>Fortide</i>	<i>Proper Nutrition Inc.</i> (US)	Protein makanan tambahan	Ikan kapur putih	Membantu penyembuhan luka dan menyokong sistem imun
<i>Fortide</i>	<i>Chengdu Mytech Biotech Co. Ltd</i> (China)	Peptida bioaktif kacang soya (ramuan)	Kacang soya	Meningkatkan kecekapan suapan, pencernaan nutrien dan histologi usus
<i>Calpis</i>	<i>Calpis Co.</i> (Jepun)	Susu masam (produk)	Susu masam	Memberi kesan antihipertensi (mengawal selia aktiviti ACE)
<i>Peptibal</i>	<i>Virage Santé INC.</i> (Kanada)	Hidrolisat protein dalam kapsul	Ikan jerung	Mengekalkan sistem imun yang sihat di usus dan mengurangkan keradangan
<i>Verisol</i>	<i>Gelita</i> (Kanada)	Serbuk	Prosin dan bovin	Memperbaiki fisiologi kulit
<i>PeptAid</i>	<i>BASF</i> (German)	Peptida yang diperolehi daripada beras perang	Beras perang	Membantu memodulasi keradangan
<i>Replexium</i>	<i>BASF</i> (German)	Dua tetrapeptida dalam cecair	Peptida yang dipatenkan	Mengurangkan penampilan kedutan kulit dan memberikan manfaat penegangan kulit

Sumber: Chalamaiah et al. (2019) dan Sarker (2022)

mungkin menghadkan penerimaannya dalam kalangan pengguna (Maehashi & Huang 2009). Beberapa kajian yang lepas telah mengenal pasti faktor yang menyumbang kepada kepahitan dalam produk hidrolisat peptida seperti kehadiran asid amino hidrofobik di C-hujung, kehadiran asid amino dengan jujukan tertentu dan tahap cas elektrik yang cenderung ke arah kepahitan (Kim & Li-Chan 2006). Walau bagaimanapun, mekanisme molekul kepahitan masih tidak dapat difahami sepenuhnya. Oleh itu, tindakan pengubahsuaian dan bukannya pencegahan rasa pahit dalam produk mungkin merupakan pilihan yang lebih baik.

Selain itu, proses penulenan peptida adalah sangat mencabar kerana campuran peptida dihasilkan semasa hidrolisis enzim dengan penulenan peptida ini bukan sahaja akan meningkatkan kos ke tahap yang tidak boleh diterima dan mengurangkan hasil, tetapi juga akan menghilangkan kesan aditif atau sinergistik yang bermanfaat dengan peptida lain yang terdapat dalam hidrolisat (Chakrabarti, Guha & Majumder 2018). Tambahan pula, kestabilan dan bioketersediaan peptida juga menjadi isu penting. Banyak peptida yang dihasilkan menunjukkan aktiviti tinggi dalam sistem *in vitro* tetapi gagal mengekalkan kestabilan dan keberkesanan apabila diuji dalam sistem *in vivo* atau selepas pengambilan secara oral, kerana degradasi oleh enzim pencernaan (Sarker 2022).

Bagi mengatasi cabaran dan membuka jalan ke arah pembangunan produk komersial, halatuju penyelidikan masa depan perlu lebih tertumpu kepada pendekatan integratif. Penyelidikan lanjutan diperlukan bagi memahami mekanisme rasa pahit di peringkat molekul dan membangunkan teknologi untuk mengubah suai rasa tanpa menjejaskan aktiviti bioaktif. Teknik penyemburan kering dengan enkapsulasi mikro menggunakan pembawa sesuai, seperti isolat protein soya, maltodekstrin, gam arabik atau gelatin boleh diaplikasikan untuk menutupi rasa pahit dengan menangkap kumpulan hidrofobik yang menyebabkan kepahitan dalam matriks pembawa (Sarabandi, Gharehbeiglu & Jafari 2020).

Selain itu, kajian perlu meneroka hidrolisis terkawal dan pengoptimuman menggunakan teknologi pemprosesan canggih seperti pelbagai jenis bioreaktor, ultrafiltrasi, kromatografi berprestasi tinggi serta teknik berasaskan mikrofluidik untuk mengekstrak peptida dengan keberkesanan dan kecekapan yang tinggi. Ujian *in vivo* dan kajian klinikal berskala besar juga penting untuk membuktikan keberkesanan dan keselamatan peptida bioaktif pada manusia, sekali gus membina asas saintifik yang kukuh bagi kelulusan perundangan dan penerimaan pasaran. Bagi memperkukuh pemahaman dan ramalan keberkesanan peptida, pendekatan pemodelan komputasi dan penggunaan kecerdasan buatan (AI) boleh digunakan untuk menilai struktur-aktiviti, menjejak metabolom dan meramal interaksi peptida dalam sistem biologi kompleks. Secara keseluruhan, integrasi antara teknologi makanan, bioteknologi, sains pemakanan dan pemodelan komputasi amat diperlukan untuk memastikan potensi penuh peptida

bioaktif dapat dimanfaatkan secara selamat, berkesan dan berdaya saing di pasaran global, sambil menyediakan arah penyelidikan yang boleh diuji secara uji kaji.

#### KESIMPULAN

Secara keseluruhan, peptida bioaktif yang diperoleh daripada pelbagai sumber makanan menunjukkan potensi besar dalam menyokong kesihatan manusia melalui pelbagai aktiviti biologi, khususnya aktiviti antihipertensi dan antioksidan yang telah dikenal pasti sebagai antara yang paling menonjol. Kepelbagaian sumber, sama ada daripada haiwan, tumbuhan mahupun marin, membuktikan bahawa peptida bioaktif boleh diperoleh secara meluas, termasuk daripada bahan sampingan industri makanan yang sebelum ini kurang dimanfaatkan. Kaedah hidrolisis enzim dan fermentasi mikrob terus menjadi teknik utama yang cekap dalam pembebasan peptida bioaktif. Namun begitu, untuk merealisasikan penggunaannya secara meluas dalam industri makanan dan farmaseutikal, beberapa cabaran masih perlu ditangani, termasuk isu kestabilan dan keberkesanan peptida dalam sistem biologi sebenar. Dengan penyelidikan yang berterusan serta inovasi teknologi, peptida bioaktif berpotensi menjadi bahan utama dalam pembangunan makanan fungsian dan produk kesihatan masa depan yang mampan dan berkesan.

#### PENGHARGAAN

Kertas ulasan ini disokong oleh Geran Galakan Penyelidik Muda (GGPM-2025-001) yang disediakan oleh Universiti Kebangsaan Malaysia. Kami ingin merakamkan penghargaan kepada Jabatan Sains Makanan dan Pusat Inovasi Teknologi Manisan (MANIS), Fakulti Sains dan Teknologi, Universiti Kebangsaan Malaysia (UKM) kerana menyediakan segala kemudahan dan sumber yang diperlukan untuk kertas ini.

#### RUJUKAN

- Akbarian, M., Khani, A., Eghbalpour, S. & Uversky, V.N. 2022. Bioactive peptides: Synthesis, sources, applications, and proposed mechanisms of action. *International Journal of Molecular Sciences* 23(3): 1445.
- Amigo, L. & Hernández-Ledesma, B. 2020. Current evidence on the bioavailability of food bioactive peptides. *Molecules* 25(19): 4479.
- Amiza, M.A., Khuzma, D., Liew, P.S., Malihah, S.M. & Sarbon, N.M. 2019. Effect of heat treatment and enzymatic protein hydrolysis on the degree of hydrolysis and physicochemical properties of edible bird's nest. *Food Research* 3(6): 664-677.
- Babalola, B.A., Akinwande, A.I., Gboyega, A.E. & Otunba, A.A. 2023. Extraction, purification and characterization of papain cysteine-proteases from the leaves of *Carica papaya*. *Scientific African* 19: e01538.

- Barkia, I., Al-Haj, L., Abdul Hamid, A., Zakaria, M., Saari, N. & Zadjali, F. 2019. Indigenous marine diatoms as novel sources of bioactive peptides with antihypertensive and antioxidant properties. *International Journal of Food Science and Technology* 54(5): 1514-1522.
- Bougatef, A., Nedjar-arroume, N., Manni, L., Ravallec, R., Barkia, A., Guillochon, D. & Nasri, M. 2010. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. *Food Chemistry* 118(3): 559-565.
- Budiyanto, C., Ningrum, A., Murdiati, A. & Indrati, R. 2025. Enhanced functional characteristics as a cholesterol-lowering bioactive peptide from kara kratok sprouts (*Phaseolus lunatus* L.). *Sains Malaysiana* 54(4): 1089-1099.
- Chakrabarti, S., Guha, S. & Majumder, K. 2018. Food-derived bioactive peptides in human health: Challenges and opportunities. *Nutrients* 10(11): 1738.
- Chalamaiah, M., Ulug, S.K., Hong, H. & Wu, J. 2019. Regulatory requirements of bioactive peptides (protein hydrolysates) from food proteins. *Journal of Functional Foods* 58: 123-129.
- Chew, L.Y., Toh, G.T. & Ismail, A. 2019. Application of proteases for the production of bioactive peptides. Dlm. *Enzymes in Food Biotechnology*, disunting oleh Mohammed Kuddus. Amsterdam: Academic Press. hlm. 247-261.
- Cruz-Casas, D.E., Aguilar, C.N., Ascacio-Valdés, J.A., Rodríguez-Herrera, R., Chávez-González, M.L. & Flores-Gallegos, A.C. 2021. Enzymatic hydrolysis and microbial fermentation: The most favorable biotechnological methods for the release of bioactive peptides. *Food Chemistry (Ocf)* 23(3): 100047.
- Daud, N., Mohamad Yusop, S., Babji, A.S., Lim, S.J., Sarbini, S.R. & Tan, H.Y. 2019. Edible Bird's nest: Physicochemical properties, production, and application of bioactive extracts and glycopeptides. *Food Reviews International* 37(2): 177-196.
- Fan, H., Liu, H., Zhang, Y., Zhang, S., Liu, T. & Wang, D. 2022. Review on plant-derived bioactive peptides: Biological activities, mechanism of action and utilizations in food development. *Journal of Future Foods* 2(2): 143-159.
- Farias, T.C., de Souza, T.S.P., Fai, A.E.C. & Koblitz, M.G.B. 2022. Critical review for the production of antidiabetic peptides by a bibliometric approach. *Nutrients* 14(20): 4275.
- Ferrero, R.L., Soto-Maldonado, C., Weinstein-Oppenheimer, C., Cabrera-Muñoz, Z. & Zúñiga-Hansen, M.E. 2021. Antiproliferative rapeseed defatted meal protein and their hydrolysates on mcf-7 breast cancer cells and human fibroblasts. *Foods* 10(2): 309.
- Guha, S., Sharma, H., Deshwal, G.K. & Rao, P.S. 2021. A comprehensive review on bioactive peptides derived from milk and milk products of minor dairy species. *Food Production, Processing and Nutrition* 3: 2.
- Habinshuti, I., Nsengumuremyi, D., Muhoza, B., Ebenezer, F., Yinka Aregbe, A. & Antoine Ndisanze, M. 2023. Recent and novel processing technologies coupled with enzymatic hydrolysis to enhance the production of antioxidant peptides from food proteins: A review. *Food Chemistry* 423: 136313.
- Hayes, M., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F. & Stanton, C. 2007. Putting microbes to work: Dairy fermentation, cell factories and bioactive peptides. Part I: Overview. *Biotechnology Journal* 2(4): 426-434.
- Hermanto, S., Hatiningsih, F. & Putera, D.K. 2018. Antihypertensive bioactive peptides from hydrolysates of soy milk yoghurt (soygurt). *Journal of Physics: Conference Series* 1095(1): 012034.
- Ibrahim Khushairay, E.S., Chang, Y.I., Mohamad Yusop, S., Abd Ghani, M., Maskat, M.Y., Babji, A.S. & Daud, N.A. 2024. Kesan pencernaan gastrousus terhadap ciri-ciri fizikokimia dan kebiotersediaan antioksidan produk chia. *Sains Malaysiana* 53(1): 111-122.
- Ichishima, E. 2016. Development of enzyme technology for *Aspergillus oryzae*, *A. sojae*, and *A. luchuensis*, the national microorganisms of Japan. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* 80(9): 1681-1692.
- Jakubczyk, A., Karaś, M., Rybczyńska-Tkaczyk, K., Zielińska, E. & Zieliński, D. 2020. Current trends of bioactive peptides - New sources and therapeutic effect. *Foods* 9(7): 846.
- Jia, L., Wang, L., Liu, C., Liang, Y. & Lin, Q. 2021. Bioactive peptides from foods: Production, function, and application. *Food & Function* 12(16): 7108-7125.
- Kadam, S.U., Tiwari, B.K., Álvarez, C. & O'Donnell, C.P. 2015. Ultrasound applications for the extraction, identification and delivery of food proteins and bioactive peptides. *Trends in Food Science and Technology* 46(1): 60-67.
- Kamran, F. & Reddy, N. 2018. Bioactive peptides from legume: Functional and nutraceutical potential. *Recent Advances in Food Science – RAdvFoodSci* 1(3): 134-149.
- Kan, M., Ter, Z.Y., Sofian-Seng, N.S., Chang, L.S., Wang, S. & Lim, S.J. 2025. Recent advances on bioactive peptide fractionation methods. *Food and Bioprocess Technology* 18: 7032-7059.
- Kang, H.K., Lee, H.H., Seo, C.H. & Park, Y. 2019. Antimicrobial and immunomodulatory properties and applications of marine-derived proteins and peptides. *Marine Drugs* 17(6): 350.

- Karami, Z. & Akbari-Adergani, B. 2019. Bioactive food derived peptides: A review on correlation between structure of bioactive peptides and their functional properties. *Journal of Food Science and Technology* 56(2): 535-547.
- Karimzadeh, S., Rezaei, M. & Yansari, A.T. 2016. Effects of canola bioactive peptides on performance, digestive enzyme activities, nutrient digestibility, intestinal morphology and gut microflora in broiler chickens. *Poultry Science Journal* 4(1): 27-36.
- Khushairay, E.S.I., Ayub, M.K. & Babji, A.S. 2014. Effect of enzymatic hydrolysis of pancreatin and alcalase enzyme on some properties of edible bird's nest hydrolysate. *The 2014 UKM FST Postgraduate Colloquium*, Bangi, Selangor, Malaysia. hlm. 427-432.
- Kim, H.O. & Li-Chan, E.C.Y. 2006. Quantitative structure-activity relationship study of bitter peptides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(26): 10102-10111.
- Kim, I.S., Yang, W.S. & Kim, C.H. 2021. Beneficial effects of soybean-derived bioactive peptides. *International Journal of Molecular Sciences* 22(16): 8570.
- Koh, Y.S., Ter, Z.Y., Rafidah, M.A., Nur Farhana, A.R., Chang, L.S., Babji, A.S. & Lim, S.J. 2024. Kesan transglutaminase kepada ciri fizikokimia dan aktiviti biologi hidrolisat sarang burung walit. *Sains Malaysiana* 53(1): 171-188.
- Korhonen, H. & Pihlanto, A. 2006. Bioactive peptides: Production and functionality. *International Dairy Journal* 16(9): 945-960.
- Li, T., Shi, C., Zhou, C., Sun, X., Ang, Y., Dong, X., Huang, M. & Zhou, G. 2020. Purification and characterization of novel antioxidant peptides from duck breast protein hydrolysates. *LWT* 125: 109215.
- Liao, W., Jahandideh, F., Fan, H., Son, M. & Wu, J. 2018. Egg protein-derived bioactive peptides: Preparation, efficacy, and absorption. *Advances in Food and Nutrition Research* 85: 1-85.
- Liu, Z., Dong, S., Xu, J., Zeng, M., Song, H. & Zhao, Y. 2008. Production of cysteine-rich antimicrobial peptide by digestion of oyster (*Crassostrea gigas*) with alcalase and bromelin. *Food Control* 19(3): 231-235.
- Lorenzo, J.M., Munekata, P.E.S., Gómez, B., Barba, F.J., Mora, L., Pérez-Santaescolástica, C. & Toldrá, F. 2018. Bioactive peptides as natural antioxidants in food products - A review. *Trends in Food Science and Technology* 79: 136-147.
- Lu, Z., Sun, N., Dong, L., Gao, Y. & Lin, S. 2022. Production of bioactive peptides from sea cucumber and Its potential health benefits: A comprehensive review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 70(25): 7607-7625.
- Maehashi, K. & Huang, L. 2009. Bitter peptides and bitter taste receptors. *Cellular and Molecular Life Sciences* 66(10): 1661-1671.
- Maky, M.A. & Zendo, T. 2021. Generation and characterization of novel bioactive peptides from fish and beef hydrolysates. *Applied Sciences* 11(21): 10452.
- Maleki, M.H., Daneshniya, M., Nezhad, H.J. & Bahadori, N.K. 2020. Antimicrobial activity of the bioactive peptides and their applications in food safety : A review. *5th International Conference on Researches in Science & Engineering & 2nd International Congress on Civil, Architecture and Urbanism in Asia*, Kasem Bundit University, Bangkok, Thailand. hlm. 1-15.
- Manzoor, M., Singh, J. & Gani, A. 2022. Exploration of bioactive peptides from various origin as promising nutraceutical treasures: *In vitro*, *in silico* and *in vivo* studies. *Food Chemistry* 373: 131395.
- Mellander, O. 1950. The physiological importance of the casein phosphopeptide calcium salts. II. Peroral calcium dosage of infants. *Acta Societatis Medicorum Upsaliensis* 55(5-6): 247-255.
- Moayed, A., Mora, L., Aristoy, M.C., Safari, M., Hashemi, M. & Toldrá, F. 2018. Peptidomic analysis of antioxidant and ACE-inhibitory peptides obtained from tomato waste proteins fermented using *Bacillus subtilis*. *Food Chemistry* 250: 180-187.
- Moller, N.P., Scholz-Ahrens, K.E., Roos, N. & Schrezenmeir, J. 2008. Bioactive peptides and proteins from foods: Indication for health effects. *European Journal of Nutrition* 47(4): 171-182.
- Mora, L., Gallego, M. & Toldrá, F. 2018. ACEI-inhibitory peptides naturally generated in meat and meat products and their health relevance. *Nutrients* 10(9): 1259.
- Morales, D., Miguel, M. & Garcés-Rimón, M. 2021. Pseudocereals: A novel source of biologically active peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 61(9): 1537-1544.
- Mun, S.L., Ter, Z.Y., Ariff, R.M., Rahman, N.F.A., Chang, L.S., Latip, J., Babji, A.S. & Lim, S.J. 2024. Fractionation and characterisation of sialylated-mucin glycoprotein from edible birds' nest hydrolysates through anion exchange chromatography. *International Journal of Biological Macromolecules* 269(P1): 132022.
- Nakurte, I., Kirhnere, I., Namniece, J., Saleniece, K., Krigere, L., Mekss, P., Vicupe, Z., Bleidere, M., Legzdina, L. & Muceniece, R. 2013. Detection of the lunasin peptide in oats (*Avena sativa* L.). *Journal of Cereal Science* 57(3): 319-324.
- Nemes, S.A., Călinoiu, L.F., Dulf, F.V., Fărcaș, A.C. & Vodnar, D.C. 2022. Integrated technology for cereal bran valorization: Perspectives for a sustainable industrial approach. *Antioxidants* 11(11): 2159.

- Neves, A.C., Harnedy, P.A., O’Keeffe, M.B. & FitzGerald, R.J. 2017. Bioactive peptides from Atlantic salmon (*Salmo salar*) with angiotensin converting enzyme and dipeptidyl peptidase IV inhibitory, and antioxidant activities. *Food Chemistry* 218: 396-405.
- Oliveira, A.S., Ferreira, C., Pereira, J.O., Pintado, M.E. & Carvalho, A.P. 2022. Spent brewer’s yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) as a potential source of bioactive peptides: An overview. *International Journal of Biological Macromolecules* 208: 1116-1126.
- Öztürk, H.İ. & Oraç, A. 2024. Harvesting bioactive peptides from sustainable protein sources: Unveiling technological and functional properties through *in silico* analyses. *Food and Humanity* 2: 100294.
- Pampanin, D.M., Larssen, E., Provan, F., Sivertsvik, M., Ruoff, P. & Sydnes, M.O. 2012. Detection of small bioactive peptides from Atlantic herring (*Clupea harengus* L.). *Peptides* 34(2): 423-426.
- Pandey, M., Kapila, S., Kapila, R., Trivedi, R. & Karvande, A. 2018. Evaluation of the osteoprotective potential of whey derived-antioxidative (YVEEL) and angiotensin-converting enzyme inhibitory (YLLF) bioactive peptides in ovariectomised rats. *Food and Function* 9(9): 4791-4801.
- Pangestuti, R. & Kim, S-K. 2015. Peptide-derived from seahorse exerts a protective effect against cholinergic neuronal death in *in vitro* model of alzheimer’s disease. *Procedia Chemistry* 14: 343-352.
- Pei, J., Gao, X., Pan, D., Hua, Y., He, J., Liu, Z. & Dang, Y. 2022. Advances in the stability challenges of bioactive peptides and improvement strategies. *Current Research in Food Science* 5: 2162-2170.
- Phromraksa, P., Nagano, H., Kanamaru, Y., Izumi, H., Yamada, C. & Khamboonruang, C. 2009. Characterization of *Bacillus subtilis* isolated from Asian fermented foods. *Food Science and Technology Research* 15(6): 659-666.
- Qian, B., Zhao, X., Yang, Y. & Tian, C. 2020. Antioxidant and anti-inflammatory peptide fraction from oyster soft tissue by enzymatic hydrolysis. *Food Science and Nutrition* 8(7): 3947-3956.
- Qiao, M., Tu, M., Wang, Z., Mao, F., Chen, H., Qin, L. & Du, M. 2018. Identification and antithrombotic activity of peptides from blue mussel (*Mytilus edulis*) protein. *International Journal of Molecular Sciences* 19(1): 138.
- Rao, S.Q., Ju, T., Sun, J., Su, Y.J., Xu, R.R. & Yang, Y.J. 2012. Purification and characterization of angiotensin I-converting enzyme inhibitory peptides from enzymatic hydrolysate of hen egg white lysozyme. *Food Research International* 46(1): 127-134.
- Ravallec-Plé, R., Charlot, C., Pires, C., Braga, V., Batista, I., Van Wormhoudt, A., Le Gal, Y. & Fouchereau-Péron, M. 2001. The presence of bioactive peptides in hydrolysates prepared from processing waste of sardine (*Sardina pilchardus*). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 81(11): 1120-1125.
- Ryan, J.T., Ross, R.P., Bolton, D., Fitzgerald, G.F. & Stanton, C. 2011. Bioactive peptides from muscle sources: Meat and fish. *Nutrients* 3(9): 765-791.
- Sánchez, A. & Vázquez, A. 2017. Bioactive peptides: A review. *Food Quality and Safety* 1(1): 29-46.
- Sarabandi, K., Gharehbeglou, P. & Jafari, S.M. 2020. Spray-drying encapsulation of protein hydrolysates and bioactive peptides: Opportunities and challenges. *Drying Technology* 38(5-6): 577-595.
- Sarker, A. 2022. A review on the application of bioactive peptides as preservatives and functional ingredients in food model systems. *Journal of Food Processing and Preservation* 46: e16800.
- Sawant, S.S., Park, H.Y., Sim, E.Y., Kim, H.S. & Choi, H.S. 2025. Microbial fermentation in food: Impact on functional properties and nutritional enhancement - A review of recent developments. *Fermentation* 11(1): 15.
- Shaibani, E.M., Heidari, B., Khodabandeh, S. & Shahangian, S. 2019. Isolation of bioactive peptides from rocky shore crab, *Grapsus albolineatus*, protein hydrolysate with cytotoxic activity against 4T1 cell line. *ECOPERSIA* 7(3): 175-181.
- Squillante, J., Esposito, F. & Cirillo, T. 2025. Turning by-products into health: Fermentation-driven production of bioactive compounds for cardiovascular disease prevention. *Food Bioscience* 69: 106979.
- Suárez-Jiménez, G.M., Burgos-Hernández, A., Torres-Arreola, W., López-Saiz, C.M., Velázquez Contreras, C.A. & Ezquerro-Brauer, J.M. 2019. Bioactive peptides from collagen hydrolysates from squid (*Dosidicus gigas*) by-products fractionated by ultrafiltration. *International Journal of Food Science and Technology* 54(4): 1054-1061.
- Tacias-Pascacio, V.G., Morellon-Sterling, R., Siar, E.H., Tavano, O., Berenguer-Murcia, Á. & Fernandez-Lafuente, R. 2020. Use of Alcalase in the production of bioactive peptides: A review. *International Journal of Biological Macromolecules* 165: 2143-2196.
- Takeda, S., Matsufuji, H., Nakade, K., Takenoyama, S., Ahhmed, A., Sakata, R., Kawahara, S. & Muguruma, M. 2017. Investigation of lactic acid bacterial strains for meat fermentation and the product’s antioxidant and angiotensin-I-converting-enzyme inhibitory activities. *Animal Science Journal* 88(3): 507-516.
- Tang, P.L. & Koh, X.J. 2023. Ultrasound-assisted enzymatic hydrolysis enhances anti-inflammatory and hypoglycemic activities of edible bird’s nest. *Food Bioscience* 56: 103221.

- Teixeira, C.S.S., Villa, C., Costa, J., Ferreira, I.M.P.L.V.O. & Mafra, I. 2023. Edible insects as a novel source of bioactive peptides: A systematic review. *Foods* 12: 2026.
- Ter, Z.Y., Chang, L.S., Babji, A.S., Koketsu, M. & Lim, S.J. 2025. Unlocking the potential of edible bird's nest as a novel source of bioactive peptides through various glycoprotein hydrolysis method: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 106(3): 1423-1437.
- Ter, Z.Y., Chang, L.S., Babji, A.S., Nurul Aqilah, M.Z., Fazry, S. & Lim, S.J. 2024a. A review on proteolytic fermentation of dietary protein using lactic acid bacteria for the development of novel proteolytically fermented foods. *International Journal of Food Science & Technology* 59: 1213-1236.
- Ter, Z.Y., Chang, L.S., Zaini, N.A.M., Fazry, S., Babji, A.S., Koketsu, M., Takashima, S., Kamal, N. & Lim, S.J. 2024b. Untargeted metabolomics profiling for revealing water-soluble bioactive components and biological activities in edible bird's nest. *Food Research International* 198: 115289.
- Tonolo, F., Fiorese, F., Rilievo, G., Grinzato, A., Latifidoost, Z., Nikdasti, A., Cecconello, A., Cencini, A., Folda, A., Arrigoni, G., Marin, O., Rigobello, M.P., Magro, M. & Vianello, F. 2025. Bioactive peptides from food waste: New innovative bio-nanocomplexes to enhance cellular uptake and biological effects. *Food Chemistry* 463: 141326.
- Vero, V. & Gasbarrini, A. 2012. The EFSA health claims 'learning experience.' *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 63(sup1): 14-16.
- Wang, L., Dong, C., Li, X., Han, W. & Su, X. 2017. Anticancer potential of bioactive peptides from animal sources (Review). *Oncology Reports* 38(2): 637-651.
- Wang, X., Yang, Z., Zhang, W., Xing, L., Luo, R. & Cao, S. 2024. Obstacles, research progress, and prospects of oral delivery of bioactive peptides: A comprehensive review. *Frontiers in Nutrition* 11: 1496706.
- Wergedahl, H., Liaset, B., Gudbrandsen, O.A., Lied, E., Espe, M., Muna, Z., Mørk, S. & Berge, R.K. 2018. Biochemical and molecular actions of nutrients fish protein hydrolysate reduces plasma total cholesterol, increases the proportion of hdl cholesterol, and lowers acyl-coa: Cholesterol acyltransferase activity in liver of zucker rats 1. *The Journal of Nutrition* 134(6): 1320-1327.
- Wu, S., Wang, X., Qi, W. & Guo, Q. 2019. Bioactive protein/peptides of flaxseed: A review. *Trends in Food Science and Technology* 92: 184-193.
- Xiang, X.W., Zhou, X.L., Wang, R., Shu, C.H., Zhou, Y.F., Ying, X.G. & Zheng, B. 2021. Protective effect of tuna bioactive peptide on dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Marine Drugs* 19(3): 127.
- Xiao, C., Zhao, M., Zhou, F., Gallego, M., Toldrá, F. & Mora, L. 2020. Data on bioactive peptides derived from chicken hydrolysate with potential alcohol dehydrogenase stabilizing activity and *in silico* analysis of their potential activity and applicability. *Data in Brief* 29: 105163.
- Yamada, A., Sakurai, T., Ochi, D., Mitsuyama, E., Yamauchi, K. & Abe, F. 2015. Antihypertensive effect of the bovine casein-derived peptide Met-Lys-Pro. *Food Chemistry* 172: 441-446.
- Zaky, A.A., Simal-Gandara, J., Eun, J.B., Shim, J.H. & Abd El-Aty, A.M. 2022. Bioactivities, applications, safety, and health benefits of bioactive peptides from food and by-products: A review. *Frontiers in Nutrition* 8: 815640.

\*Pengarang untuk surat-menyurat; email: zhiyin@ukm.edu.my