

Paten Metode Ekstraksi Peptida

By Rinto Rinto



(12) PATEN INDONESIA

(11) IDS000005546 B

**(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL**

(45) 07 Februari 2023

<p>(51) Klasifikasi IPC⁸ : C 11C 3/08, C 11C 3/02</p> <p>(21) No. Permohonan Paten : SID201905340</p> <p>(22) Tanggal Penerimaan: 26 Juni 2019</p> <p>(30) Data Prioritas : (31) Nomor (32) Tanggal (33) Negara</p> <p>(43) Tanggal Pengumuman: 31 Januari 2020</p> <p>(56) Dokumen Perbandingan: P00199601259 P00199701732 P00200300414 P00200300611 P00200400621 P00200500277 P00200500691 P00200500692</p>	<p>(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Permohonan Paten : SENTRA HKI UNIVERSITAS SRIWIJAYA Jl. Palembang - Prabumulih KM.32 Indralaya Kabupaten Ogan Ilir Sumatera Selatan, Palembang, 30662</p> <p>(72) Nama Inventor : Dr. Rinto, S.Pi., M.P, ID</p> <p>(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten : Pemeriksa Paten : Drs. Ahmad Muniri Jumlah Klaim : 1</p>
---	---

(54) Judul Invensi : METODE EKSTRAKSI PEPTIDA BIOAKTIF ANTIKOLESTEROL DARI BEKASAM

(57) Abstrak :

Penurun kolesterol (antikolesterol) selama ini banyak menggunakan obat golongan statin, yaitu lovastatin, simvastatin, compactin, pravastatin, dan atorvastatin. Komponen bioaktif jenis peptida yang berfungsi sebagai antikolesterol selama ini belum dilaporkan. Tujuan utama invensi ini adalah menyediakan metode ekstraksi untuk menghasilkan peptide bioaktif pengahambat sintesis kolesterol dari bekasam, oleh sebab itu invensi ini berhubungan dengan metode ekstraksi peptida dari bekasam yang mampu menghambat sintesis kolesterol dengan mengurangi aktivitas enzim HMG-KoA reduktase. Tahapan ekstraksi secara ringkas terdiri dari: menghancurkan bekasam menggunakan mortar; memasukan bekasam yang sudah halus ke dalam larutan akuabides dengan perbandingan 1:4 (berat/volume); mengekstrak bekasam selama 30 menit pada suhu 30-35°C; menyaring hasil ekstraksi yang berupa larutan bekasam menggunakan kertas saring *Whatman* No.1 dan menghasilkan filtrat 1; menambahkan kembali residu hasil ekstrak dengan akuabides serta menyaring kembali untuk menghasilkan filtrat 2; menggabungkan filtrat 1 dan 2 dan dilanjutkan dengan menyaring kembali menggunakan *syringe filter* 0,45 µm; melakukan fraksinasi hasil penyaringan (filtrat) menggunakan ultrafiltrasi *Molecole weight concentrate* (MWCc) *cut* of 10K yang disentrifugasi pada 9.000 rpm, 4°C selama 20 menit; mengambil supernatan hasil sentrifugasi pada bagian bawah tabung untuk dipadatkan menggunakan evaporator berputar (*rotary evaporator*), dan dihasilkan padatan berupa pasta yang merupakan peptida bioaktif dari ekstrak bekasam yang terdiri dari susunan asam amino "DATAAVDAVFSSIQASLAKAAEVVAFLNKEAIEAIADTMKKTIIDNEKLAADDMR".



Deskripsi

METODE EKSTRAKSI PEPTIDA BIOAKTIF ANTIKOLESTEROL DARI BEKASAM

5 Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan cara memperoleh peptida, khususnya peptide penurun kolesterol dari bekasam.

Latar Belakang Invensi

10 Penyakit jantung dapat ditimbulkan oleh penyumbatan pembuluh darah, akibat kandungan kolesterol yang tinggi pada plasma darah. Kandungan kolesterol yang tinggi dalam plasma darah dapat dikurangi dengan menghambat aktivitas biosintesis kolesterol dari hati. Salah satu metode yang dikembangkan dalam 2 dekade terakhir ini adalah
15 menghambat aktivitas enzim kunci dalam biosintesis kolesterol, yaitu enzim HMG-KoA reduktase.

Beberapa jenis komponen bioaktif telah dikembangkan untuk menghambat enzim HMG-KoA reduktase dalam menurunkan kolesterol. Golongan statin merupakan komponen bioaktif yang sudah bersifat
20 komersil dan berkembang di masyarakat sebagai obat penurun kolesterol. Berbagai jenis statin alami telah ditemukan yaitu lovastatin (Paten No. US20070238885), simvastatin (Paten No. US20010053859), compactin (Paten No. US20030199075), dan pravastatin (Paten No. US20100048938). Selain itu juga berkembang
25 statin sintetis, yaitu atorvastatin (Paten No. US20050271717).

Pembuatan berbagai jenis obat golongan statin selama ini masih berbahan baku impor, sehingga perlu dikembangkan jenis komponen bioaktif lainnya yang mudah ditemukan di Indonesia. Golongan peptida merupakan salah satu komponen bioaktif yang juga memiliki
30 sifat fungsional, diantaranya sebagai antimikrobia (Paten No. P00201405218) dan imunogen (Paten No. P00201818216). Peptida banyak terbentuk di berbagai proses fermentasi dan Indonesia dikenal memiliki berbagai macam produk fermentasi, salah satunya adalah



bekasam. Berdasarkan hal tersebut invensi ini menyediakan jenis metode ekstraksi peptida bioaktif dengan berat molekul 6-8 kDa dari bekasam yang mampu menghambat aktivitas enzim kunci biosintesis kolesterol dalam hati.

5

Ringkasan Invensi

1 Invensi ini berhubungan dengan metode ekstraksi peptida bioaktif penghambat sintesis kolesterol dari bekasam, yang terdiri dari tahapan sebagai berikut: menghancurkan bekasam menggunakan mortar; memasukan bekasam yang sudah halus ke dalam larutan akuabides dengan perbandingan bekasam dan akuabides sebanyak 1:4 (berat/volume) dengan metode ekstraksi tunggal (maserasi); mengekstrak bekasam selama 30 menit pada suhu 30-35 °C; menyaring hasil ekstraksi yang berupa larutan bekasam menggunakan kertas saring Whatman No.1 dan menghasilkan filtrat 1; menambahkan kembali residu hasil ekstrak dengan akuabides serta menyaring kembali untuk menghasilkan filtrat 2; menggabungkan filtrat 1 dan 2 dan dilanjutkan dengan menyaring kembali menggunakan syringe filter 0,45 µm; melakukan fraksinasi hasil penyaringan (filtrat) menggunakan ultrafiltrasi *Molecole weight concentrate* (MWC) cut of 10K yang disentrifugasi pada 9.000 rpm, 4°C selama 20 menit; mengambil supernatan hasil sentrifugasi pada bagian bawah tabung untuk dipadatkan menggunakan evaporator berputar (*rotary evaporator*), dan dihasilkan padatan berupa pasta yang merupakan peptida bioaktif dari ekstrak bekasam.

Metode ekstraksi yang ditawarkan menghasilkan peptida dengan berat molekul 6-8 kilo Dalton yang terdiri dari 57 asam amino dengan susunan yaitu: asam aspartat-alanina-treonina-alanina-alanina-valina-asam aspartat-alanina-valinaa-fenilalanina-serina-serina-isoleusina-glutamina-alanina-serina-leusina-alanina-lisina-alanina-alanina-asam glutamat-valina-valina-alanina-fenilalanina-leusina-asparagina-lisina-asam glutamat-alanina-isoleusina-asam glutamat-alanina-isoleusina-alanina-asam aspartat-treonina-



metionina-lisina-lisina-treonina-isoleusina-isoleusina-asam
aspartat-isoleusina-asam aspartat-asparagina-asam glutamat-lisina-
leusina-alanina-alanina-asam aspartat-asam aspartat-metionina-
arginina. Penulisan susunan asam amino peptida antikolesterol dari
5 bekasam dalam satu lambang/ huruf adalah:

"DATAAVDAVFSSIQASLAKAAEVVAFLNKEAIEAIAIDTMKKTIIDIDNEKLAADDMR"

Tujuan utama invensi ini adalah menyediakan metode ekstraksi
untuk menghasilkan peptide bioaktif penghambat kolesterol dari
10 bekasam.

Tujuan lain invensi ini adalah menyediakan peptide bioaktif
penghambat sintesis kolesterol.

Uraian Lengkap Invensi

15 Aspek yang diajukan dalam invensi ini adalah metode ekstraksi
bekasam yang menghasilkan peptida bioaktif dengan berat molekul
berkisar antara 6-8 kilo Dalton. Tahapan ekstraksi meliputi:
menghancurkan bekasam menggunakan mortar; memasukan bekasam yang
sudah halus ke dalam larutan akuabides dengan perbandingan bekasam
20 dan akuabides sebanyak 1:4 (berat/volume) dengan metode ekstraksi
tunggal (maserasi); mengekstrak bekasam selama 30 menit pada suhu
30-35 °C; menyaring hasil ekstraksi yang berupa larutan bekasam
menggunakan kertas saring Whatman No.1 dan menghasilkan filtrat 1;
menambahkan kembali residu hasil ekstrak dengan akuabides serta
25 menyaring kembali untuk menghasilkan filtrat 2; menggabungkan
filtrat 1 dan 2 dan dilanjutkan dengan menyaring kembali
menggunakan *syringe filter* 0,45 µm; melakukan fraksinasi hasil
penyaringan (filtrat) menggunakan ultrafiltrasi *Molecole weight*
concentrate (MwCo) cut of 10K yang disentrifugasi pada 9.000 rpm,
30 4°C selama 20 menit; mengambil supernatan hasil sentrifugasi pada
bagian bawah tabung untuk dipadatkan menggunakan evaporator
berputar (*rotary evaporator*), dan dihasilkan padatan berupa pasta
yang merupakan peptida bioaktif dari ekstrak bekasam.



Pembuktian hasil adanya peptida dilakukan dengan melihat keberadaan peptida serta mengukur berat molekul peptida menggunakan *SDS PAGE* metode *silver staining* dengan marker standar berat molekul rendah (*Low range protein ladder, Thermo Scientific Lithuania*).

- 5 Penentuan susunan asam amino dilakukan menggunakan analisis peptida menggunakan *electrospray ionisation mass spectrometry (Agilent 1269 infinity HPLC system)* yang dikombinasikan dengan *Agilent 6540 mass spectrometer, C18 column 300 SB*. Identifikasi asam amino menggunakan *Mascot sequence matcing softwere (Matrix Science)*.
- 10 Peptida bioaktif antikolesterol yang dihasilkan tersusun dari 57 asam amino yang terdiri dari asam amino amino: asam aspartat-alanina-treonina-alanina-alanina-valina-asam aspartat-alanina-valinaa-fenilalanina-serina-serina-isoleusina-glutamina-alanina-serina-leusina-alanina-lisina-alanina-alanina-asam glutamat-
- 15 valina-valina-alanina-fenilalanina-leusina-asparagina-lisina-asam glutamat-alanina-isoleusina-asam glutamat-alanina-isoleusina-alanina-asam aspartat-treonina-metionina-lisina-lisina-treonina-isoleusina-isoleusina-asam aspartat-isoleusina-asam aspartat-asparagina-asam glutamat-lisina-leusina-alanina-alanina-asam
- 20 aspartat-asam aspartat-metionina-arginina. Penulisan susunan asam amino peptida antikolesterol dari bekasam dalam satu lambang/ huruf adalah:

"DATAAVDAVFSSIQASLAKAAEVVAFNLNKEAIEAIAIADTMKKTIIDIDNEKLAADDMR"



**Klaim**

1. Metode ekstraksi bekasam untuk menghasilkan peptide bioaktif 6-8 kilo Dalton terdiri dari tahap-tahap:

- 5 a. menghancurkan bekasam menggunakan mortar;
- b. memasukan bekasam yang sudah halus ke dalam larutan akuabides dengan perbandingan bekasam dan akuabides sebanyak 1:4 (berat/volume) dengan metode ekstraksi tunggal (maserasi);
- 10 c. mengekstrak bekasam selama 30 menit pada suhu 30-35 °C;
- d. menyaring hasil ekstraksi yang berupa larutan bekasam menggunakan kertas saring *Whatman* No.1 dan menghasilkan filtrat 1;
- 15 e. menambahkan kembali residu hasil ekstrak dengan akuabides serta menyaring untuk menghasilkan filtrat 2;
- f. menggabungkan filtrat 1 dan 2 dan dilanjutkan dengan menyaring kembali menggunakan syringe filter 0,45 µm;
- 20 g. melakukan fraksinasi hasil penyaringan (filtrat) menggunakan ultrafiltrasi *Molecole weight concentrate* (MwCo) *cut of* 10K yang disentrifugasi pada 9.000 rpm, 4°C selama 20 menit;
- 25 h. mengambil supernatan hasil sentrifugasi pada bagian bawah tabung untuk dipadatkan menggunakan evaporator berputar (*rotary evaporator*, dan dihasilkan padatan berupa pasta yang merupakan peptida bioaktif dari ekstrak bekasam dengan berat molekul 6-8 kD dan susunan asam amino: asam aspartat-alanina-treonina-alanina-alanina-valina-asam aspartat-alanina-valinaa-fenilalanina-serina-serina-isoleusina-glutamina-alanina-serina-leusina-alanina-
- 30 lisina-alanina-alanina-asam glutamat-valina-valina-alanina-fenilalanina-leusina-asparagina-lisina-asam glutamat-alanina-isoleusina-asam glutamat-alanina-isoleusina-alanina-asam aspartat-treonina-metionina-



6

lisina-lisina-treonina-isoleusina-isoleusina-asam
aspartat-isoleusina-asam aspartat-asparagina-asam
glutamat-lisina-leusina-alanina-alanina-asam aspartat-
asam aspartat-metionina-arginina yang ditulis dalam
5 symbol seagai berikut
"DATAAVDAVFSSIQASLAKAAEVVAFLNKEAIEAIAADTMKKTIIDIDNEKLAADD
R".

10



Abstrak**METODE EKSTRAKSI PEPTIDA BIOAKTIF ANTIKOLESTEROL DARI BEKASAM**

1
5 Penurun kolesterol (antikolesterol) selama ini banyak menggunakan obat golongan statin, yaitu lovastatin, simvastatin, compactin, pravastatin, dan atorvastatin. Komponen bioaktif jenis peptida yang berfungsi sebagai antikolesterol selama ini belum dilaporkan. Tujuan utama invensi ini adalah menyediakan metode
10 ekstraksi untuk menghasilkan peptide bioaktif penghambat sintesis kolesterol dari bekasam, oleh sebab itu invensi ini berhubungan dengan metode ekstraksi peptida dari bekasam yang mampu menghambat sintesis kolesterol dengan mengurangi aktivitas enzim HMG-KoA reduktase. Tahapan ekstraksi secara ringkas terdiri dari:
15 menghancurkan bekasam menggunakan mortar; memasukan bekasam yang sudah halus ke dalam larutan akuabides dengan perbandingan 1:4 (berat/volume); mengekstrak bekasam selama 30 menit pada suhu 30-35 °C; menyaring hasil ekstraksi yang berupa larutan bekasam menggunakan kertas saring *Whatman* No.1 dan menghasilkan filtrat 1;
20 menambahkan kembali residu hasil ekstrak dengan akuabides serta menyaring kembali untuk menghasilkan filtrat 2; menggabungkan filtrat 1 dan 2 dan dilanjutkan dengan menyaring kembali menggunakan *syringe filter* 0,45 µm; melakukan fraksinasi hasil penyaringan (filtrat) menggunakan ultrafiltrasi *Molecole weight concentrate* (MwCo) cut of 10K yang disentrifugasi pada 9.000 rpm,
25 4°C selama 20 menit; mengambil supernatan hasil sentrifugasi pada bagian bawah tabung untuk dipadatkan menggunakan evaporator berputar (*rotary evaporator*), dan dihasilkan padatan berupa pasta yang merupakan peptida bioaktif dari ekstrak bekasam yang terdiri
30 dari susunan asam amino "DATAAVDAVFSSIQASLAKAAEVVAFLNKEAIEAIAIDTMKKTIIDIDNEKLAADDMR".

Paten Metode Ekstraksi Peptida

ORIGINALITY REPORT

10%

SIMILARITY INDEX

PRIMARY SOURCES

1	en.dgip.go.id Internet	138 words — 8%
2	text-id.123dok.com Internet	12 words — 1%
3	eprints.uny.ac.id Internet	10 words — 1%
4	dgip.go.id Internet	9 words — 1%
5	www.kolesterolsekembuh.com Internet	9 words — 1%

EXCLUDE QUOTES ON

EXCLUDE BIBLIOGRAPHY ON

EXCLUDE SOURCES < 1%

EXCLUDE MATCHES < 9 WORDS