

**LAPORAN AKHIR**  
**PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**



**Hidrolisat protein hati dan paru-paru sapi  
sebagai antioksidan dan antiproliferasi sel kanker kolon  
(CaCo-2) *in vitro***

**Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun**

**Ir. Mustakim, MP. NIDN. 0004065812**  
**Prof. Dr. Ir. Djalal Rosyidi, MS. NIDN. 0027095910**  
**Agus Susilo, S.Pt., MP. NIDN. 0020087304**

Dibiayai oleh :  
Direktorat Jenderal PendidikanTinggi,  
Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Melalui DIPA Universitas Brawijaya  
Nomor : 023.04.2.414989/2014, Tanggal 5 Desember 2013, dan berdasarkan  
SK Rektor Universitas Brawijaya Nomor 157 Tahun 2014 tanggal 10 April 2014

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**  
**November, 2014**

**HALAMAN PENGESAHAN**  
**PENELITIAN UNGGULAN PERGURUAN TINGGI**

**Judul** : Hidrolisat protein hati dan paru-paru sapi sebagai antioksidan dan antiproliferasi sel kanker kolon (CaCo-2) *in vitro*

**Peneliti/Pelaksana:**

a. Nama Lengkap : Ir. MUSTAKIM, M.P.  
b. NIDN : 0004065812  
c. Jabatan Fungsional : Lektor Kepala  
d. Program Studi : Peternakan  
e. Nomor HP : 08552234632  
f. Alamat surel (e-mail) : mustakim1958@gmail.com

**Anggota (1)**

a. Nama Lengkap : Prof. Dr. Ir. DJALAL ROSYIDI, MS.  
b. NIDN : 0027095910  
c. Perguruan Tinggi : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

**Anggota (2)**


a. Nama Lengkap : AGUS SUSILO, S.Pt., MP.  
b. NIDN : 0020087304  
c. Perguruan Tinggi : UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 2 dari rencana 2 tahun  
Biaya Tahun Berjalan : Rp. 50.000.000,00  
Biaya Keseluruhan : Rp. 100.000.000,00

Malang, 7-11-2014


Mengetahui,  
Dekan Fakultas Peternakan

Ketua,

  
(Prof. Dr. Ir. Kusmartono)  
NIP. 195904061985031005

  
(Ir. Mustakim, MP.)  
NIP. 195806041987031002

Menyetujui,  
Ketua LPPM UB

  
(Prof. Dr. Ir. Woro Busono, MS.)  
NIP. 195604031981031002

## RINGKASAN

Pemanfaatan jeroan (hati dan paru-paru) saat ini hanya untuk manusia, hewan piaraan dan pakan ternak serta pupuk atau langsung dibuang saja. Di sisi lain, hati dan paru-paru sapi memperlihatkan kadar protein yang tinggi, antara 15-20% (w/w), sehingga dapat diupayakan sebagai alternatif sumber protein dan hidrolisat protein melalui hidrolisis enzimatik. Konsentrat protein memiliki sifat fungsional yang beragam. Hidrolisat protein yang diperoleh juga dapat memiliki fungsi fisiologi dan biologi yang tertentu, dalam hal ini sebagai antioksidan dan antiproliferasi sel kanker. Pembangkitan peptida bioaktif dari protein dapat dihasilkan dari beberapa perlakuan enzimatik dengan memanfaatkan aktivitas enzim proteolitik gastrointestinal, perlakuan pemeraman dan penyimpanan melalui proses fermentasi dan pemanfaatan proteinase dari berbagai sumber, yang mungkin diarahkan untuk mengintroduksi fungsi fisiologis dan biologis tertentu.

Tujuan jangka panjang dari penelitian ini adalah pengembangan calon ingredien untuk pangan fungsional berbasis hidrolisat protein dari protein hati dan paru-paru sapi yang memiliki sifat antioksidan dan antikanker kolon. Tujuan penelitian tahun kedua ini adalah : 1) mempelajari hidrolisat protein hati dan paru-paru sapi yang memiliki sifat antioksidan seluler, 2) mempelajari hidrolisat protein hati dan paru-paru sapi yang memiliki sifat antiproliferasi sel kanker kolon. Manfaat penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai metode yang dapat digunakan dalam mempersiapkan konsentrat protein dan hidrolisat protein hati dan paru-paru sapi yang memiliki aktivitas antioksidan seluler dan bersifat antiproliferatif sehingga dapat digunakan dalam pengembangan pangan fungsional baru.

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah hati, paru-paru sapi dan pepsin. Bahan kimia yang digunakan untuk analisis kimia memiliki grade pro analisis. Tahapan penelitian pada tahun 2 yaitu: 1) Pembuatan hidrolisat protein hati dan paru-paru sapi dilakukan dengan hidrolisis enzimatik menggunakan enzim pepsin. Penelitian dilakukan dengan dua persen larutan protein dari konsentrat protein hati atau paru-paru, dengan pemanasan awal (suhu 90°C selama 5 menit) dihidrolisis selama 6 jam dengan enzim pepsin. Suhu hidrolisis adalah 37°C dan rasio enzim-substrat konsentrat protein hati/paru-paru sapi adalah 1:100. Hidrolisis pepsin dilakukan dalam bufer 0,01 M tris-HCl (pH 2,0) dan hidrolisis dihentikan dengan meningkatkan pH menjadi 7,0. 2) Evaluasi hidrolisat protein antioksidatif secara seluler pada sel WiDr (sel kanker kolon). Pengujian aktivitas antioksidan seluler (*cellular antioxidant activity/CAA*) adalah mengetahui aktivitas antioksidan suatu senyawa dengan mengukur kemampuannya dalam menghambat oksidasi 2',7'-dichlorfluoresceindiacetate (DCFH-DA) menjadi fluoresensi 2',7'-dichlorofluorescein (DCF) oleh ROS pada kultur sel. Aktivitas antioksidan seluler ditentukan dengan menghitung persentase penurunan ROS yang dimonitoring dengan intensitas fluoresensi. 3) Evaluasi aktivitas hidrolisat protein antioksidatif sebagai antiproliferasi sel WiDr dengan metode MTT. Pengujian didasarkan pada tetrazolium salt (MTT) menjadi formazan biru oleh enzim mitokondria succinate dehydrogenase. Konversi hanya terdapat pada sel yang masih hidup dan jumlah formazan diproduksi secara proporsional pada jumlah sel hidup yang ada. Absorbansi dimonitor pada 550 nm dengan ELISA reader. Data absorbansi dibutuhkan

untuk viabilitas seluler yang diekspresikan dengan persentase perlakuan fraksi hidrolisat protein dan quercetin terhadap kontrol.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa konsentrat protein hati dan paru-paru sapi memiliki sifat fungsional yang baik dilihat dari daya buih (60,8% dan 2,7%), stabilitas buih (16,6 dan 152,8 menit), aktivitas emulsi (29% dan 0,43%), stabilitas emulsi (22,42% dan 0,53%), kemampuan mengikat air (3,03 ml/g dan 2,24 ml/g) dan kemampuan mengikat minyak (397,4% dan 4,06%). Kelarutan protein dari konsentrat protein hati sapi berkisar antara 1,58 – 71,82%, sedangkan kelarutan protein dari konsentrat protein paru-paru sapi berkisar antara 0,95 – 80,87%. Kedua konsentrat protein tidak mampu membentuk gel yang mana kondisi larutan masih cair dan terjadi pemisahan antara supernatan dan endapan. Hidrolisat protein hati sapi mampu menurunkan terbentuknya ROS pada sel WiDr yang diinduksi PMA (Phorbol Myristate Acetat) tergantung pada konsentrasinya (dose dependent manner). Semakin besar konsentrasi hidrolisat protein hati maka semakin besar persentase penurunan ROS pada sel WiDr yang dihasilkan. Penurunan ROS pada sel WiDr berkisar antara 59,64 – 64,94%. Penggunaan hidrolisat protein hati dalam menurunkan terbentuknya ROS pada sel WiDr optimum pada konsentrasi 400 ug/ml. Penurunan terbentuknya ROS pada sel WiDr oleh hidrolisat protein paru-paru sapi berkisar antara 65,22 – 72,24%. Penggunaan hidrolisat protein paru-paru sapi sebesar 200 ug/ml menjadi konsentrasi yang optimum dalam menurunkan pembentukan ROS pada sel WiDr. Penggunaan quercetin dalam menurunkan pembentukan ROS pada sel WiDr sangat besar mencapai 96,18%. Kemampuan quercetin menurunkan ROS akibat induksi PMA pada sel WiDr tergantung pada konsentrasi yang digunakan, dan optimum pada konsentrasi 80 ug/ml. Perlakuan sel WiDr dengan hidrolisat protein hati sapi dipengaruhi oleh konsentrasi dan waktu yang digunakan selama inkubasi. Persentase sel WiDr yang hidup pada penggunaan hidrolisat protein hati dengan konsentrasi 700 sampai 1000 ug/ml dengan waktu inkubasi selama 24, 48 dan 72 jam berkisar antara 65 – 85%. Persentase sel WiDr yang hidup pada penggunaan hidrolisat protein hati dengan konsentrasi 700 sampai 1000 ug/ml dengan waktu inkubasi selama 24, 48 dan 72 jam berkisar antara 62 – 80%. Aktivitas antiproliferasi senyawa quercetin terhadap sel WiDr mulai dari 38 - 69%.

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa konsentrat protein hati dan paru-paru melalui ekstraksi basa dan beberapa sifat fungsionalnya seperti daya ikat air, daya serap minyak, kelarutan protein, pembentukan gel, daya emulsi dan stabilitasnya, pembentukan buih dan stabilitasnya memperlihatkan nilai yang cukup baik dan berpotensi untuk digunakan dalam pengolahan pangan. Aktivitas antioksidan seluler pada sel WiDr oleh hidrolisat protein paru-paru sapi lebih tinggi dibandingkan hidrolisat protein hati. Konsentrasi optimum dalam menurunkan ROS pada hidrolisat protein paru-paru sapi sebesar 200 ug/ml, dan hidrolisat protein hati sapi sebesar 400 ug/ml. Aktivitas antiproliferasi pada sel kanker WiDr optimum pada perlakuan 48 jam. Antiproliferasi hidrolisat protein paru-paru sapi lebih tinggi dibandingkan hidrolisat protein hati sapi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aguila, L.O.A and J.H. Brock, 2001. Lactoferrin: antimicrobial and diagnostic properties. *Biotechnologia Aplicada*, 18(2): 76-83.
- Al Awwaly, K.U., Natsir, M.H., Manab, A. dan Widati, A.S., 2009. Produksi Hidrolisat Protein Pollard dan Evaluasi Aktivitas Antioksidannya serta Aplikasinya dalam Pengolahan Bakso. Laporan Penelitian Hibah Penelitian Strategis Nasional Tahun 2009. Universitas Brawijaya. Malang.
- Anonim, 2008. Serat Pangan (Dietary Fiber). <http://duniapangankita.wordpress.com/>. Diakses tanggal 12 Februari 2010.
- Anonim, 2011. Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan 2011. Ditjen Peternakan dan Kesehatan Hewan. Jakarta.
- , 2012. Statistik Peternakan dan Kesehatan Hewan 2012. Ditjen Peternakan dan Kesehatan Hewan. Jakarta.
- Anonymous, 2004. New Headlines Industry. 19/10/2004. Fonterra drives forward value-added dairy sector. <http://nutraingredients.com/>
- Anonymous, 2005. Lactoferrin. China Great Vista Chemicals. <http://www.greatvistachemicals.com/proteins-sugars-nucleotides/lactoferrin.htm>.
- Anonymous, 2006a. Lactoferrins. <http://www.aiims.ac.in/ragu/aiims/departments/biophy/lactoferrins.htm>.
- Anonymous, 2006b. The Fenton reaction-multiplication of free radicals because of iron. <http://www.Chelationtherapyonline.com/articles/p41.htm>
- Anonymous, 2006c. Vital News Statement. <http://www.vital-news.com/docs/vital11.rtf>
- Arihara, K., 2006. Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Sci.* 74: 219-229.
- and Ohata, M., 2008. Bioactive Compounds in Meat. In F. Toldra (Ed) *Meat Biotechnology*. Springer Science + Business Media, LLC. London. 231-249.
- Beaulieu, M., Y. Pouliot, and M. Pouliot, 1999. Thermal aggregation of whey proteins in model solutions as affected by casein/whey protein ratios. *J. Food Sci.* 64(5):776-780.
- Brink, W.2000. Lactoferrin: the bioactive peptide that fights disease. *LE Magazine* Oktober 2000. [http://www.lef.org/magazine/mag2000/oct2000\\_report\\_lactoferrin.htm](http://www.lef.org/magazine/mag2000/oct2000_report_lactoferrin.htm)
- Chan, W.K.M., E.A. Decker, J.B. Lee and D.A. Butterfield, 1994. EPR spin-trapping studies of the hydroxyl radical scavenging activity of carnosine and related dipeptides. *J. Agric. Food Chem.* 42: 1407-1410.
- Chen, H.M., K. Muramoto and F. Yamauchi, 1995. Structural analysis of antioxidative peptides from soybean  $\beta$ -conglycinin. *J. Agric. Food Chem.* 43: 574-578.
- and K. Nokihara, 1996. Antioxidant activity of designed peptides based on the antioxidative peptide isolated from digests of a soybean protein. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2619-2623.

- Damiens, E., I. Yazidi, J. Mazurier, I. Duthile, G. Spik, and Y. Boilly-Marer, 1999. Lactoferrin inhibits G1 cyclin-dependent kinases during growth arrest of human breast carcinoma cells. *J. Cell. Biochem.* 74:486-498.
- Decker, E.A., A.D. Crum and J.T. Calvert, 1992. Differences in the antioxidant mechanism of carnosine in the presence of copper and iron. *J. Agric. Food Chem.* 40: 756-759.
- Dinata, A., 2008. Hidrolisat protein ikan dan bahan fortifikasi makanan. <http://foodreview.biz/preview.php?view&id=78>. Diakses 1 Agustus 2008.
- Duarte, D.C., A. Nicolau, J.A. Teixeira and L.R. Rodrigues, 2011. The effect of bovine milk lactoferrin in human breast cancer cell lines. *J. Dairy Sci.* 94:66-76.
- Fadda, S., G. Oliver and G. Vignolo, 2002. Protein degradation by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* in a sausage model system. *J. Food Sci.* 67 (3): 1179-1183.
- Franco, I., E. Castillo, M.D. Perez, M. Calvo and L. Sanchez, 2010. Effect of bovine lactoferrin addition to milk in yogurt manufacturing. *J. Dairy Sci.* 93:4480-4489.
- Freiburghaus, C., B. Janicke, H. Lindmark-Mansson, S.M. Oredsson and M.A. Paulsson, 2009. Lactoferricin treatment decreases the rate of cell proliferation of a human colon cancer cell line. *J. Dairy Sci.* 92:2477-2484.
- Haryono, S.J., 2012. Kanker Payudara Familial: Penelusuran Gena Predisposisi Terwaris dan Perhitungan Risiko. Disertasi Pascasarjana UGM. Yogyakarta.
- Hattori, M., K. Yamaji-Tsukamoto, H. Kumagai, Y. Feng and K. Takahashi, 1998. Antioxidative activity of soluble elastin peptides. *J. Agric. Food Chem.* 46: 2167-2170.
- Iigo, M., T. Kuhara, Y. Ushida, K. Sekine, M.A. Moore, and H. Tsuda, 1999. Inhibitory effects of bovine lactoferrin on colon carcinoma 26 lung metastasis in mice. *Clinical & Experimental Metastasis*, 17:35-40.
- Iigo, M., D.Alexander, N. Long, J.Xu, K. Fukamachi, M.Futakuchi, M.Takase, and H. Tsuda, 2009. Anticarcinogenesis pathways activated by bovine lactoferrin in the murine small intestine. *Biochimie* 91:86-101.
- Iwaniak, A. and B. Dziuba, 2009. Motif with potential physiological activity in food proteins-biopep database. *Acta Sci. Pol. Technol. Aliment.* 8 (3): 59-85.
- Kannan, A., Hettiarachchy, N. and Narayan, S., 2009. Colon and Breast Anticancer effects of peptide hydrolysates derived from rice bran. *The Open Bioactive Compounds Journal* 2: 17-20.
- Karthikeyan, S., S. Sharma, A.K. Sharma, M. Paramasivam, S. Yadav, A. Srinivasan and T.P. Singh, 1999. Structural variability and functional convergence in lactoferrins. Department of Biophysics, All India Institute of Medical Sciences, New Delhi. <http://www.jas.ac.in/currsci/jul25/articles16.htm>.
- Korhonen, H. dan A. Pihlanto, 2006. Bioactive peptides: Production and functionality. *Int. Dairy. J.* 16:945-960.
- Kuwata, H., T.T. Yip, M. Tomita, and T.W. Hutchens, 1998. Direct evidence of the generation in human stomach of an antimicrobial peptide domain (lactoferricin) from ingested lactoferrin. *Biochim. Biophys. Acta.* 1429:129-141.
- Kwait, G.2006. Lactoferrin. <http://www.alternativehealth.com.au/articles/lactofer.htm>
- Lawrie, R.A., 2003. Ilmu Daging Edisi Kelima. Diterjemahkan oleh Aminuddin Parakkasi. UI-Press. Jakarta.

- Lestari, C.M.S., Y. Hudoyo and S. Dartosukarno, 2010. Proporsi karkas dan komponen-komponen nonkarkas sapi Jawa di RPH Swasta Kec. Ketanggungan Kab. Brebes. Makalah Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. 296-300.
- Lima, M.F. and F. Kierszenbaum, 1985. Lactoferrin effects on phagocytic cell function: Increased uptake and killing of an intracellular parasite by murine macrophages and human monocytes. *The Journal of Immunology*, 134 (6): 4176-4183.
- Lonnerdal, B and S. Iyer, 1995. Lactoferrin: Molecular structure and Biological Function. *Annu. Rev. Nutr.* 15:93-110.
- Mine, Y. and F. Shahidi, 2006. *Nutraceutical Proteins and Peptides in Health and Disease*. Eds. Y. Mine and F. Shahidi. CRC Press, Taylor and Francis. Boca Raton. Pp. 3-10.
- Miyauchi, H., S. Hashimoto, M. Nakajima, I. Shinoda, Y. Fukuwatari and H. Hayasawa. 1997. Bovine lactoferrin stimulates the phagocytic activity of human neutrophils: Identification of Its Active Domain. *Cellular Immunology* 187:34-37.
- Molyneux, P., 2004. The use of stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Technol.* 26 (2): 211-219.
- Mun'im, A., Negishi, O. and Ozawa, T., 2003. Antioxidative compounds from *Crotalaria sessiliflora*. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67 (2): 410-414.
- Naidu, A.S. 2002. Activated lactoferrin- A new approach to meat safety. *Food Technology*, 56(3):40-45.
- Pearson, A.M. and T.R. Dutson, 1988. *Edible Meat By-products Advances in Meat Research Volume 5*. Elsevier Applied Science. London.
- Pena-Ramos, E.A. and Y.L. Xiong, 2002. Antioxidative activity of whey protein hydrolysates in a Liposomal system. *J. Dairy Sci.* 84: 2577-2583.
- Rochard, E.E., A. Roseanu, D. Legrand, M. Trif, V. Salmon, C. Motas, J. Montreuil and G. Spik, 1995. Lactoferrin-Lipopolysaccharide Interaction: Involvement of the 28-34 loop region of human lactoferrin in the high-affinity binding to *Escherichia coli* 055B5 Lipopolysaccharide. *Biochem. J.*, 312:839-845.
- Rodrigues, L.R., J. Teixeira, F. Schmitt, M. Paulsson and H. Lindmark-Mansson, 2009. Lactoferrin and cancer prevention. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 49:203-217.
- Roy, M.K., Y. Kuwabara, K. Hara, Y. Watanabe and Y. Tamai, 2002. Peptides from the N-terminal end of bovine lactoferrin induce apoptosis in human leukemic (HL-60) cells. *J. Dairy Sci.* 85:2065-2074.
- Saiga, A., T. Okumura, T. Makiara, S-I. Katsuda, F. Morimatsu and T. Mishimura, 2006. Action mechanism of an angiotensin I-converting enzyme inhibitor peptide derived from chicken breast muscle. *J. Agric. Food Chem.* 54 (3): 942-945.
- Shaul, Y.D. and R. Seger, 2007. The MEK/ERK cascade: from signaling specificity to diverse functions. *Biochim. Biophys. Acta.* 1773:1213-1226.
- Steijns, J.M dan A.C.M. van Hooijdonk, 2000. Occurrence, structure, biochemical properties and technological characteristics of lactoferrin. *British Journal of Nutrition*, 84 suppl 1: S11-S17.
- Sugijanto, V.V., 2000. Pembuatan protein konsentrat wheat pollard sebagai pemanfaatan hasil samping penggilingan gandum. *Jur. Tek. Pangan dan Gizi. Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Bogor.*

- dan M. Manullang, 2001. Pembuatan Protein Konsentrat Wheat Pollard sebagai Pemanfaatan Hasil Samping Penggilingan Gandum. *Jurnal Teknol. Dan Industri Pangan* Vol. XII (1): 54-60.
- Sukanto, 2008. Eksplorasi Fraksi Globulin 7S dan 11S Komak (*Dolichos lablab*) dan Interaksinya dengan Gum Xanthan. Disertasi Program Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Sun, W., Zhao, H., Zhao, Q., Zhao, M., Tang, B., Wu, N. and Qian, Y., 2009. Structural characteristics of peptides extracted from Cantonese sausage during drying and their antioxidant activities. *Abstract. Innovative Food Sci. & Emer Tech.* 10 (4): 558-563.
- Susilo, A. dan K.U. Al Awwaly, 2005. Tinjauan kualitas fisik bakso dari pemanfaatan edible meat (hati sapi) sebagai substitusi daging dan sodium tripolyphosphate (STPP) sebagai bahan pengental. *Jurnal Ilmu-ilmu Hayati (Life Science)* 17 (2): 107-116.
- Troost, F.J., J. Steijns, W.H.M. Saris and R.J.M. Brummer, 2001. Gastric digestion of bovine lactoferrin in vivo in adults. *J. Nutr.* 131:2101-2104.
- Tsuda, H., T.Kozu, G. Inuma, Y. Ohashi, Y. Saito, D. Saito, T. Akasu, D.B. Alexander, M. Futakuchi, K. Fukamachi, J.Xu, T. Kakizoe and M. Iigo, 2010. Cancer prevention by bovine lactoferrin: from animal studies to human trial. *Biometals* 23:399-409.
- van Berkel, P.H.C., H.A. van Veen, M.E.J. Greetz and J.P. Nuijens, 2002. Characterization of monoclonal antibodies against human lactoferrin. *Journal of Immunological methods* 9134.
- Vass, N., Czegledi, L. and Javor, A., 2008. Significance of functional foods of animal origin in human health. *Lucran stiinfice zootehnie si biotehnologie* 41 (2): 263-270.
- Vastag, Z., Popovic, L., Popovic, S., Petrovic, L. and Pericin, D., 2010. Antioxidant and angiotensin-I converting enzyme inhibitory activity in the water-soluble protein extract from Petrovac Sausage (Petrovska Kolbasa). *Abstract. Short com. Food Control* 21 (9): 1298-1302.
- Wakabayasi, H., N. Takakura, K. Yamauchi, and Y. Tamura. 2006. Modulation of immunity-related gene expression in small intestine of mice by oral administration of lactoferrin. *Clinical and Vaccine Immunology.* 13 (2):239-245.
- Wu, H.C., B.S. Pan. C.L. Chang and C.Y. Shiau, 2005. Low-molecular-weight peptides as related to antioxidant properties of chicken essence. *J. Food and Drug Anal.* 13 (2): 176-183.
- and C.Y. Shiau, 2003. Proximate composition, free amino acids and peptides contents in commercial chicken and other meat essences. *J. Food and Drug Anal.* 10 (3): 170-177.
- Xu, X.X., H.R. Jiang, H.B. Li, T.N. Zhang, Q.Zhou and N. Liu, 2010. Apoptosis of stomach cancer cell SGC-7901 and regulation of Akt signaling way induced by bovine lactoferrin. *J. Dairy Sci.* 93:2344-2350.
- Yamashoji, S. and G. Kajimoto, 1980. Antioxidant effect of Gly-Gly-His on Cu (II)-catalyzed autoxidation and photosensitized oxidation of lipids. *Agric. Biol. Chem.* 44: 2735-2736.



- Yoo, Y.C., S. Watanabe, R. Watanabe, K. Hata, K. Shimazaki and I. Azuma, 1997. Bovine lactoferrin and lactoferricin, a peptide derived from bovine lactoferrin, inhibit tumor metastasis in mice. *Jpn. J. Cancer Res.* 88:184-190.
- Yuki, Y., K. Fujihashi, M. Yamamoto, J.R. McGhee and H. Kiyono, 1998. Human milk proteins including secretory IgA fail to elicit tolerance after feeding. *International Immunology*, 10 (4).
- Zimecki, M dan M.L.Kruzel, 2000. Systematic or local co-administration of lactoferrin with sensitizing dose of antigen enhances delayed type hypersensitivity in mice. *Immunology Letters*, 74:183-188.