

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iv
PRAKATA	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR SINGKATAN	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	6
I.3 Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN PERUMUSAN HIPOTESIS	8
II.1 Tinjauan Pustaka	8
II.1.1 Kanker	8
II.1.2 Venom ular <i>Naja kaouthia</i>	11
II.1.3 Enzim tripsin	13
II.1.4 Fraksinasi peptida	15
II.1.5 Uji toksisitas BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>)	18
II.1.6 Peptida antikanker (ACPs)	19
II.1.7 Uji antikanker dengan metode MTT	23
II.1.8 Identifikasi peptida dengan LC-HRMS	24
II.1.9 Analisis <i>in silico</i> peptida dengan penambatan molekul	26
II.1.10 <i>Epidermal growth factor receptor</i> (EGFR)	28
II.2 Perumusan Hipotesis dan Rancangan Penelitian	30
II.2.1 Perumusan hipotesis I	30
II.2.2 Perumusan hipotesis II	30
II.2.3 Perumusan hipotesis III	31
II.2.4 Perumusan hipotesis IV	31
II.2.5 Rancangan penelitian	32
BAB III METODE PENELITIAN	34
III.1 Bahan Penelitian	34
III.2 Peralatan Penelitian	34
III.3 Prosedur Penelitian	35
III.3.1 Pengambilan venom <i>Naja kaouthia</i>	35
III.3.2 Ekstraksi protein venom ular	35
III.3.3 Hidrolisis protein venom ular	35

	III.3.4 Uji toksisitas dengan metode BSLT	36
	III.3.5 Fraksinasi hidrolisat protein	37
	III.3.6 Uji antikanker sel kanker MCF-7 dan sel Vero dengan metode MTT	37
	III.3.7 Identifikasi peptida dengan LC-HRMS	40
	III.3.8 Uji <i>in silico</i> peptida dengan penambatan molekul	41
BAB IV	HASIL DAN PEMBAHASAN	43
	IV.1 Preparasi Sampel	43
	IV.2 Ekstraksi Protein Venom	44
	IV.3 Hidrolisis Protein Venom dengan Tripsin	45
	IV.4 Analisis Proteome Venom	48
	IV.5 Toksisitas Venom dan Hidrolisat Protein Venom	51
	IV.6 Aktivitas Antikanker Venom dan Hidrolisat Protein Venom	53
	IV.7 Fraksi Peptida dari Hidrolisat Protein Venom	56
	IV.8 Aktivitas Antikanker Fraksi Peptida	57
	IV.9 Identifikasi Peptida dengan Aktivitas Antikanker dengan LC-HRMS	63
	IV.10 Studi <i>In silico</i> Mekanisme Aksi Peptida dengan Penambatan Molekul	78
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	84
	V.1 Kesimpulan	84
	V.2 Saran	84
	DAFTAR PUSTAKA	85
	LAMPIRAN	99

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Morfologi sel kanker MCF-7	11
Gambar II.2	Ular <i>Naja kaouthia</i>	12
Gambar II.3	Reaksi hidrolisis dengan enzim	14
Gambar II.4	Area pemotongan tripsin	15
Gambar II.5	Kolom SPE fase terbalik C ₁₈	17
Gambar II.6	Langkah - langkah SPE	18
Gambar II.7	Stuktur peptida antikanker	20
Gambar II.8	Perbandingan membran pada sel sehat (kiri) dan sel kanker (kanan)	21
Gambar II.9	Mekanisme aksi peptida antikanker	23
Gambar II.10	Reaksi reduksi MTT menjadi formazan	24
Gambar II.11	Penomoran fragmentasi peptida	26
Gambar II.12	Contoh - contoh metode penambatan	27
Gambar II.13	Jalur pensinyalan EGFR sel kanker payudara	29
Gambar II.14	Skema rancangan penelitian	33
Gambar III.1	Pemasangan kolom HyperSep Retain PEP pada alat SPE	37
Gambar III.2	Ilustrasi pengisian well plate 96	39
Gambar IV.1	Venom berbentuk cair (a) dan venom berbentuk kristal (b)	44
Gambar IV.2	Hasil gel filtrasi protein venom dengan <i>Amicon® Ultra15 Centrifugal Filter Devices</i>	45
Gambar IV.3	Hidrolisis peptida oleh enzim tripsin	46
Gambar IV.4	Hidrolisat protein dengan enzim tripsin	47
Gambar IV.5	Kontrol sel MCF-7 sebelum dan sesudah MTT (a) dan (b)	54
Gambar IV.6	Kontrol Sel Vero sebelum dan sesudah MTT (a) dan (b)	54
Gambar IV.7	Kontrol sel MCF-7 sebelum dan sesudah MTT (a) dan (b)	60
Gambar IV.8	Fraksi 25% metanol sel MCF-7 sebelum dan sesudah MTT (a) dan (b)	60
Gambar IV.9	Kontrol sel Vero sebelum dan sesudah MTT (a) dan (b)	61
Gambar IV.10	Fraksi 25% metanol sel Vero sebelum dan sesudah MTT (a) dan (b)	61
Gambar IV.11	Kontrol sel MCF-7 sebelum dan sesudah MTT (a) dan (b) doksorubicin	62
Gambar IV.12	Perlakuan doksorubicin sel MCF-7 sebelum dan sesudah MTT (a) dan (b)	62
Gambar IV.13	Kontrol sel Vero sebelum dan sesudah MTT (a) dan (b) doksorubicin	62
Gambar IV.14	Perlakuan doksorubicin sel Vero sebelum dan sesudah MTT (a) dan (b)	63
Gambar IV.15	Spektra MS1 peptida GDNLIQMPGAAMK	64
Gambar IV.16	Spektra MS2 peptida GDNLIQMPGAAMK	65
Gambar IV.17	Spektra MS1 peptida NSLLVK	66
Gambar IV.18	Spektra MS2 peptida NSLLVK	66
Gambar IV.19	Spektra MS1 peptida SLLVK	68
Gambar IV.20	Spektra MS2 peptida SLLVK	68

Gambar IV.21	Spektra MS1 peptida GGSOTPVDLDR	70
Gambar IV.22	Spektra MS2 peptida GGSOTPVDLDR	70
Gambar IV.23	Spektra MS1 peptida GVGGTQLEVIK	71
Gambar IV.24	Spektra MS2 peptida GVGGTQLEVIK	72
Gambar IV.25	Spektra MS1 peptida IWDTIEK	73
Gambar IV.26	Spektra MS2 peptida IWDTIEK	73
Gambar IV.27	Spektra MS1 peptida WWSDHR	75
Gambar IV.28	Spektra MS2 peptida WWSDHR	75
Gambar IV.29	Spektra MS1 peptida MFMVSNK	76
Gambar IV.30	Spektra MS2 peptida MFMVSNK	77
Gambar IV.31	Stuktur 3D dari kristal protein dan ligan asli erlotinib	78
Gambar IV.32	Visualisasi 3D struktur tumpang tindih ligan asli erlotinib sebelum (multiwarna) dan setelah <i>redocking</i> (kuning)	79
Gambar IV.33	Interaksi senyawa peptida WWSDHR terhadap protein EGFR	83
Gambar IV.34	Interaksi senyawa peptida IWDTIEK terhadap protein EGFR	83

DAFTAR TABEL

Tabel II.1	Kategori toksisitas BSLT	19
Tabel III.1	Gradien fase gerak	41
Tabel IV.1	Analisis proteome protein enzimatis <i>Naja kaouthia</i> HRMS	49
Tabel IV.2	Analisis proteome protein non enzimatis <i>Naja kaouthia</i> HRMS	50
Tabel IV.3	Data hasil uji toksisitas BSLT	53
Tabel IV.4	Data hasil uji antikanker	55
Tabel IV.5	Massa peptida hasil fraksinasi	57
Tabel IV.6	Uji antikanker fraksi peptida	58
Tabel IV.7	Sekuen peptida fraksi 25% metanol	64
Tabel IV.8	Fragmen teoritis peptida GDNLIQMPGAAMK	65
Tabel IV.9	Fragmen teoritis peptida NSLLVK	67
Tabel IV.10	Fragmen teoritis peptida SLLVK	69
Tabel IV.11	Fragmen teoritis peptida GSGTPVDDLDR	70
Tabel IV.12	Fragmen teoritis peptida GVGGTQLEVIK	72
Tabel IV.13	Fragmen teoritis peptida IWDTIEK	74
Tabel IV.14	Fragmen teoritis peptida WWSDHR	75
Tabel IV.15	Fragmen teoritis peptida MFMVSNK	77
Tabel IV.16	Hasil <i>redocking</i> dan penambatan terhadap protein EGFR	80

DAFTAR SINGKATAN

LC-HRMS	: Kromatografi cair spektrometri massa resolusi tinggi
MS	: Spektrometri massa
3FTxs	: <i>Three finger toxins</i>
SVMP	: <i>Snake venom metalloproteinase</i>
PLA ₂	: <i>Phospholipase A₂</i>
NGF	: <i>Nerve growth factor</i>
CRISP	: <i>Cysteine-rich secretory protein</i>
VEGF	: <i>Vascular endothelial growth factor</i>
CTL	: <i>C-type lectin-like toxin</i>
SVSP	: <i>Serine proteinase</i>
LAAO	: <i>L-amino acid oxidase</i>
BPP	: <i>Bradykinin potentiating peptide</i>
DIS	: <i>Disintegrins</i>
ACPs	: Peptida antikanker
AMP	: Peptida antimikroba
RP-SPE	: Ekstraksi fase padat fase terbalik
MCF-7	: <i>Michigan Cancer Foundation-7</i>
BSLT	: <i>Brine shrimp lethality test</i>
EGFR	: <i>Epidermal growth factor receptor</i>
MTT	: (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5 difeniltetrazoliumbromida)
MWCO	: <i>Molecular weight cut off</i>
FTICR	: <i>Fourier transform ion cyclotron resonance</i>
TOF	: <i>Time of flight</i>
QqTOF	: <i>Quadrupole time-of-flight</i>
ESI	: <i>Electrospray ionization</i>
APCI	: <i>Atmospheric pressure chemical ionization</i>
MALDI	: <i>Matrix-assisted laser desorption ionization</i>
SDS	: Natrium dodesil sulfat
GDNLIQMPGAAMK	: Gly-Asp-Asn-Leu-Ile-Gln-Met-Pro-Gly-Ala-Ala-Met-Lys
NSLLVK	: Asn-Ser-Leu-Leu-Val-Lys
SLLVK	: Ser-Ser-Leu-Leu-Val-Lys
GGSGTPVDDLDR	: Gly-Gly-Ser-Gly-Thr-Pro-Val-Asp-Asp-Leu-Asp-Arg
GVGGTQLEVIK	: Gly-Val-Gly-Gly-Thr-Gln-Leu-Glu-Val-Ile-Lys
IWDTIEK	: Ile-Trp-Asp-Thr-Ile-Glu-Lys
WWSHDR	: Trp-Trp-Ser-Asp-His-Arg
MFMVSNK	: Met-Phe-Met-Val-Ser-Asn-Lys

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Ekstraksi protein venom	99
Lampiran 2	Hidrolisis protein venom	100
Lampiran 3	Uji toksisitas BSLT venom dan hidrolisat protein venom	101
Lampiran 4	Uji antikanker venom dan hidrolisat protein venom	105
Lampiran 5	Fraksinasi peptida dari hidrolisat protein venom	111
Lampiran 6	Uji antikanker fraksi peptida	112