

IDENTIFIKASI PEPTIDA ANTIBAKTERI HASIL FRAKSINASI PADA pH RENDAH HIDROLISAT BISA ULAR TANAH (*Calloselasma rhodostoma*)

Arini Miftaqul Jannah
21/485708/PPA/06224

INTISARI

Salah satu masalah kesehatan terbesar adalah resistensi antibiotik. Peptida antimikroba menunjukkan aktivitas antimikroba yang kuat melawan bakteri. Ular tanah (*Calloselasma rhodostoma*) merupakan salah satu jenis ular berbisa yang bisanya mengandung peptida dan protein yang dapat digunakan sebagai agen antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri, identifikasi peptida antibakteri dan studi *in silico* dari peptida antibakteri hasil fraksinasi pada pH rendah hidrolisat bisa ular tanah.

Pada penelitian ini hidrolisis protein bisa ular tanah dilakukan menggunakan katalis enzim tripsin. Hidrolisat yang memiliki ukuran di bawah 3 kDa difraksinasi menggunakan kolom *strong cation exchange* dengan eluen gradien pH pada pH rendah. Konsentrasi protein diukur menggunakan metode *BCA assay*. Kemudian, uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan menghitung diameter zona hambatnya. Fraksi yang paling aktif sebagai antibakteri diidentifikasi urutan asam amino peptidanya menggunakan LC-HRMS. Studi *in silico* terhadap peptida yang berhasil diidentifikasi meliputi studi sifat fisikokimia dan studi *molecular docking* yang disimulasikan menggunakan HADDOCK 2.4.

Penelitian ini menunjukkan aktivitas antibakteri terbaik terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diberikan oleh fraksi peptida pH 4 dengan konsentrasi 424,15 µg/mL dan zona hambat masing-masing sebesar 3,1 dan 4 mm. Peptida-peptida yang teridentifikasi dan berpotensi sebagai peptida antibakteri, adalah KNDDGWYEGVCNR, AGESGRAAAMAQAQER, MATAVSAACRAGR, YIGLLVEKLLK, DLEEESVR, ILLSCK, TLEAGR, dan TANPSK. Studi *molecular docking* menunjukkan energi afinitas ikatan semua peptida fraksi pH 4 bernilai negatif dan berikatan setidaknya dengan satu sisi aktif reseptor DNA girase B, sehingga semua peptida tersebut diprediksi memiliki mekanisme aksi sebagai antibakteri dengan menghambat sintesis asam nukleat (DNA). Kemudian, peptida P3 (MATAVSAACRAGR) diprediksi menjadi kandidat peptida yang memiliki aktivitas antibakteri terbaik berdasarkan sifat fisikokimia dan hasil studi *molecular docking*-nya.

Kata kunci: bisa, ular tanah, hidrolisat, peptida, antibakteri

**IDENTIFICATION OF ANTIBACTERIAL PEPTIDE FROM
FRACTIONATION AT LOW pH OF VENOM
HYDROLISATE OF MALAYAN PIT VIPER
(*Calloselasma rhodostoma*)**

Arini Miftaqul Jannah
21/485708/PPA/06224

ABSTRACT

One of the biggest health problems is antimicrobial resistance. Antimicrobial peptides exhibit strong antimicrobial activities against bacteria. The Malayan pit viper is a type of venomous snake. Snakes venom contains peptides and proteins that can be applied as antimicrobial agents. This study aims to investigate the antibacterial activity, antibacterial peptides identification and *in-silico* studies of antibacterial peptides resulting from fractionation at low pH of venom hydrolysate of Malayan pit viper.

In this study, hydrolysis of Malayan pit viper venom protein was carried out using trypsin enzyme as a catalyst. Hydrolysate with a size below 3 kDa was fractionated using a strong cation exchange column with a pH gradient eluent at low pH. The protein concentration of each fraction was measured using the BCA assay method. Then, the antibacterial activity test was carried out using the disc diffusion method by calculating the diameter of the inhibition zone. The most active fraction as antimicrobial was identified for its peptides (amino acids sequences) using LC-HRMS. *In silico* studies of the identified peptides include physicochemical properties studies and molecular docking studies that simulated using HADDOCK 2.4.

This study showed that the best antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria was the pH 4 peptide fraction. The pH 4 peptide fraction with a concentration of 424.15 µg/mL had an inhibition zone against *S. aureus* and *E. coli* bacteria of 3.1 and 4 mm, respectively. Sequences of amino acids KNDDGWYEGVCNR, AGESGRAAAMAQAQER, MATAVSAACRAGR, YIGLLVEKLLK, DLEESVR, ILLSCK, TLEAGR, and TANPSK were found as potential antibacterial peptides. Molecular docking studies showed that the binding energy affinity of all peptide sequences in the pH 4 fraction is negative and binds to at least one active site of the DNA gyrase B receptor, so that all these peptides are predicted to have an antibacterial mechanism of action by inhibiting nucleic acid (DNA) synthesis. In addition, peptide P3 (MATAVSAACRAGR) was predicted to be a peptide candidate that has the best antibacterial activity based on its physicochemical properties and the results of molecular docking studies.

Key words: venom, Malayan pit viper, hydrolysate, peptides, antibacterial