

IDENTIFIKASI PEPTIDA AKTIF INHIBITOR α -AMILASE DARI HIDROLISAT KASEIN SUSU KAMBING MENGGUNAKAN KIMOTRIPSIN

Alifia Firdaus
23/524654/PPA/06572

INTISARI

Produk makanan merupakan bahan alami yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber alternatif dalam pengembangan penelitian senyawa obat. Salah satu bahan alami yang menarik untuk diteliti adalah hidrolisat kasein susu kambing, hal ini dikarenakan memiliki beragam aktivitas biologis. Salah satunya adalah sebagai senyawa antidiabetes, yang telah terbukti melalui hasil prediksi penambatan molekul dan analisis *in vitro*. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi peptida dari kasein susu kambing dengan aktivitas penghambatan α -amilase. Penelitian dilakukan dengan mengisolasi kasein dari susu kambing untuk selanjutnya dihidrolisis dengan enzim kimotripsin dengan variasi ratio enzim 1:10, 1:20, dan 1:40. Hidrolisat yang diperoleh selanjutnya difraksinasi menggunakan metode *Solid Phase Extraction* (SPE) dengan kolom SPE-SCX (*Strong Cation Exchange*) dengan eluen buffer sitrat dan buffer fosfat pH 3 hingga 9. Fraksi yang dihasilkan kemudian diuji aktivitas penghambatannya dengan metode kompleks pati-iodin dan diidentifikasi asam amino penyusun peptida dengan analisis menggunakan LC-HRMS. Penelitian ini juga didukung dengan hasil studi kinetika serta penambatan molekul dengan sekuen peptida yang diperoleh memanfaatkan situs HADDOCK dan CABSdock.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa padatan kasein berwarna putih berhasil diisolasi dengan massa 33,153 g dari 1 L susu kambing etawa. Kasein yang telah dihidrolisis memiliki nilai derajat hidrolisis sebesar 40,72%; 45,97%; dan 49,80%. Selanjutnya pada tahap fraksinasi dihasilkan fraksi 3 hingga 9 dengan aktivitas penghambatan α -amilase, fraksi 8 memiliki nilai persen inhibisi paling besar yaitu 73,104% dengan nilai IC_{50} sebesar $195,18 \pm 0,76$ μ g protein/mL. Fraksi aktif ini kemudian dianalisis dengan LC-HRMS menghasilkan lima sekuen peptida yaitu SPTVMFPPQSVL, VVAPFPEVF, TQTPVVPPF, KDHLPF, dan SPEVPNENLL, dari kelima sekuen peptida tersebut diprediksikan bahwa peptida SPEVPNENLL dan TQTPVVPPF merupakan peptida yang paling berpotensi sebagai inhibitor α -amilase ditinjau dari hasil penambatan molekul. Berdasarkan hasil penambatan molekul dan studi kinetika menghasilkan prediksi tipe penghambatan enzim yang terjadi adalah unkompetitif dengan parameter nilai K_M dan V_{maks} adalah 5428,85 (μ g/mL) dan 0,11 (μ g/mL.menit).

Kata kunci: α -amilase, enzim kimotripsin, kasein susu kambing, penambatan molekul, peptida aktif

IDENTIFICATION OF ACTIVE PEPTIDE INHIBITORS OF α -AMYLASE FROM GOAT MILK PROTEIN HYDROLYSATES USING CHYMOTRYPSIN

Alifia Firdaus
23/524654/PPA/06572

ABSTRACT

Food products are natural ingredients that can be utilized as alternative sources in the development of drug compound research. One of the natural ingredients that is interesting to study is goat milk casein hydrolysate, as it exhibits various biological activities. One of them is an antidiabetic compound, which have been proven through molecular docking predictions and in vitro analysis. Therefore, this study aims to identify peptides with α -amylase inhibitory activity derived from goat milk casein. The research was conducted by isolating casein from goat milk, followed by enzymatic hydrolysis using chymotrypsin at enzyme-to-substrate ratios of 1:10, 1:20, and 1:40. The resulting hydrolysate was then fractionated using the Solid Phase Extraction (SPE) method with an SPE-SCX (Strong Cation Exchange) column, utilizing citrate and phosphate buffers with range of pH from 3 to 9. The obtained fractions were subsequently tested for their inhibitory activity using the starch-iodine complex method and analyzed for their amino acid sequences using LC-HRMS. This research is also supported by the results of kinetic studies and molecular docking were performed using the identified peptide sequences with the HADDOCK and CABS-Dock sites.

The results of the study showed that white casein precipitate was successfully isolated, with a mass of 33.153 g from 1 L etawa goat's milk. The hydrolyzed casein exhibited degrees of hydrolysis of 40.72%, 45.97%, and 49.80%. Fractionation yielded fractions at pH 3 to 9, where fraction 8 exhibited the highest α -amylase inhibition activity, with an inhibition percentage of 73.104% and an IC₅₀ value of 195.18 ± 0.76 μ g protein/mL. LC-HRMS analysis of the active fraction identified five peptide sequences: SPTVMFPPQSVL, VVAPFPEVF, TQTPVVVPPF, KDHLPF, and SPEVPNENLL. Among these, molecular docking predictions indicated that the peptides SPEVPNENLL and TQTPVVVPPF were the most potent α -amylase inhibitors. The molecular docking and kinetic studies also predicted that the enzyme inhibition type was uncompetitive, with K_M and V_{max} values of 5428.85 (μ g/mL) and 0.11 (μ g/mL.min) respectively.

Keywords: α -amylase, chymotrypsin enzyme, goat milk casein, molecular docking, peptide.