

DESAIN PEPTIDA INHIBITOR α -AMILASE SECARA *IN SILICO* BERBASIS PEPTIDA BIOAKTIF MIKROALGA SPIRULINA (*Spirulina* *platensis*) SERTA UJI AKTIVITASNYA

Muhamad Septian
21/476606/PA/20588

INTISARI

Pengembangan obat berbasis peptida telah menjadi perhatian karena tingginya potensi dan keamanannya. Peptida dengan urutan asam amino GVPMPNK (peptida GK) dilaporkan memiliki aktivitas inhibisi terhadap α -amilase. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk memodifikasi peptida GK untuk mendapatkan peptida baru yang memiliki aktivitas inhibisi terhadap α -amilase yang lebih baik. Modifikasi dilakukan dengan penggantian asam amino secara manual pada asam amino yang kurang memberikan kontribusi terhadap interaksi dengan α -amilase. Peladen Pepsite2 digunakan untuk melakukan *alanine scanning* untuk membantu menentukan asam amino mana yang akan diganti. Kemudian, peladen HADDOCK 2.4 digunakan dalam penambatan peptida-protein yang berguna untuk mempelajari interaksi secara menyeluruh antara peptida GK terhadap α -amilase. Peptida GK dan peptida modifikasi disintesis dan diuji aktivitasnya secara *in-vitro* dengan menggunakan metode pati-iodin.

Proses modifikasi peptida menghasilkan peptida dengan urutan asam amino KSPMPNK (peptida KK) sebagai peptida baru yang menunjukkan interaksi yang lebih baik dibandingkan peptida asal GK yang ditunjukkan dengan jumlah interaksi yang lebih banyak dan skor HADDOCK yang lebih tinggi. Skor HADDOCK untuk GK dan KK secara berturut-turut adalah $-76,3 \pm 6,4$ dan $-82,8 \pm 5,2$. Selain itu, peptida KK juga memiliki interaksi yang lebih banyak dengan residu katalitik α -amilase (Asp197, Glu233, dan Asp300) dan residu lainnya. Kemudian, Uji *in vitro* dilakukan untuk menentukan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} dari KK dan GK terhadap α -amilase secara berturut-turut adalah $49,94 \pm 0,39 \mu M$ dan $53,42 \pm 0,25 \mu M$. Hasil ini menunjukkan bahwa modifikasi peptida asal berhasil menghasilkan peptida baru dengan aktivitas yang lebih baik yang dibuktikan dengan penurunan IC_{50} -nya. Uji *t-test* mendukung bahwa penurunannya signifikan meskipun sangat kecil. Jika dibandingkan dengan akarbosa sebagai referensinya, nilai IC_{50} -nya masih tergolong tinggi. Studi kinetika juga dilakukan untuk menentukan tipe inhibisinya. Tipe inhibisi peptida KK terhadap α -amilase adalah *mixed inhibition* (berinteraksi dengan sisi aktif dan sisi lain enzim). Hal ini dibuktikan dengan nilai V_{maks} dan K_m yang berbeda. Nilai V_{maks} pada saat tidak ada dan ada peptida secara berturut-turut adalah $133,33 \pm 18,15$ dan $126,58 \pm 19,18 \mu g mL^{-1} \text{ menit}^{-1}$, sedangkan nilai K_m pada saat tidak ada dan ada peptida secara berturut-turut adalah $517,36 \pm 48,95$ menjadi $586,56 \pm 165,04 \mu g mL^{-1}$.

Kata kunci: α -amilase, diabetes melitus, modifikasi peptida, penambatan peptida-protein.

IN SILICO DESIGN OF PEPTIDE AS α -AMYLASE INHIBITOR BASED ON BIOACTIVE PEPTIDE FROM SPIRULINA (*Spirulina platensis*) AND ITS ACTIVITY ASSAY

Muhamad Septian
21/476606/PA/20588

ABSTRACT

The development of peptide-based drugs has gained significant research interest in the field of drug discovery, primarily due to their high potency and safety profile. Peptide with the amino acid sequence GVPMPNK (GK peptides) has been reported to exhibit inhibitory activity against α -amylase. The objective of this study was to modify the GK peptide to obtain a new peptide that exhibits enhanced activity against α -amylase. The modification was achieved through the manual substitution of amino acids that contribute less to the interaction with proteins. The Pepsite2 server was utilized to perform alanine scanning, a process that facilitated the identification of amino acids to be substituted. Subsequently, the HADDOCK 2.4 server was employed for peptide-protein docking, a method that facilitated the investigation of the comprehensive interaction between the GK peptide and α -amylase. GK peptide and modified peptide were synthesized and subsequently evaluated for their in vitro assay using the starch-iodine method.

The peptide modification process yielded a novel peptide with the amino acid sequence KSPMPNK (KK peptide), which exhibited enhanced interactions compared to the GK as parent peptide, as evidenced by a higher number of interactions and a more substantial HADDOCK score. The HADDOCK scores for GK and KK were -76.3 ± 6.4 and -82.8 ± 5.2 , respectively. Moreover, KK peptide exhibits enhanced interactions with the catalytic residues of α -amylase (Asp197, Glu233, and Asp300) and with some other residues. Subsequently, an in vitro assay was conducted to determine the IC_{50} value. The IC_{50} values of KK and GK against α -amylase were $49.94 \pm 0.39 \mu M$ and $53.42 \pm 0.25 \mu M$, respectively. These results indicated that the modification of the parent peptide successfully produced a new peptide with improved inhibitory activity, as evidenced by the decrease in its IC_{50} . The t-test supported the hypothesis that the decrease was significant, although the magnitude was negligible. In comparison to acarbose, as the reference, the IC_{50} value remains elevated. To determine the type of inhibition, kinetics studies were also conducted. The inhibition of α -amylase by the KK peptide is of a mixed inhibition (involving interactions with both the active site and the non-active site of the enzyme). This phenomenon is substantiated by the observed disparities in V_{max} and K_m values. The V_{max} values were $133.33 \pm 18.15 \mu g mL^{-1} min^{-1}$ and $126.58 \pm 19.18 \mu g mL^{-1} min^{-1}$ in the absence and presence of the peptide, respectively. Similarly, the K_m values were $517.36 \pm 48.95 \mu g mL^{-1}$ and $586.56 \pm 165.04 \mu g mL^{-1}$ in the absence and presence of the peptide, respectively.

Keywords: α -amylase, diabetes mellitus, modification of peptide, peptide-protein docking.