

Aktivitas Antioksidan Hidrolisat Protein Venom Ular Viper Timur *Trimeresurus insularis* Kramer, 1977 Warna Sisik Hijau

Imelda Tri Ashari

21/474386/BI/10710

Dosen Pembimbing: Dr. Tri Rini Nuringtyas, S.Si., M.Sc.

INTISARI

Aktivitas antioksidan merupakan salah satu aktivitas penting dalam perancangan suatu obat. Inovasi penemuan obat pada saat ini dapat dilakukan dengan mengidentifikasi adanya kandungan protein dan peptida aktif pada suatu zat. Kandungan peptida pada venom ular sangat beragam dan diyakini memiliki aktivitas antioksidan didalamnya. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menekan proses oksidasi dalam tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan hidrolisat protein yang berasal dari venom ular *Trimeresurus insularis* hijau. Venom ular yang digunakan merupakan sampel koleksi dari grup *research* venom UGM dilanjutkan dengan isolasi protein. Protein venom dipisahkan dengan ultrafiltrasi dengan Amicon[®] Ultra-15 berat molekul 10kDa. Isolat protein yang diperoleh dihitung kadar proteinnya secara spektrofotometri dengan Bichincioninic Assay. Isolat protein yang diperoleh kemudian dianalisis untuk menentukan berat molekulnya menggunakan metode SDS-PAGE. Hidrolisis protein dilakukan dengan enzim trypsin selama satu malam. Hidrolisat protein yang diperoleh selanjutnya difraksinasi dengan anion exchange chromatography dengan gradient buffer NaCl 0,1M; 0,2M; 0,3M dan 0,4M. Fraksi kemudian dianalisis aktivitas antioksidannya dengan DPPH. Hasil dari penelitian ini adalah Berat molekul protein yang terkandung dalam sampel crude adalah 67,03 sampai 14,06 kDa dan sampel residu 127,18 sampai 13,18 kDa. Sampel filtrat mengandung terlalu sedikit protein sehingga tidak ada *band* yang dapat terobservasi. Hidrolisat sampel residu memiliki RSA tertinggi yaitu sebanyak 29,7%. Fraksi hidrolisat sampel crude dengan RSA tertinggi adalah fraksi 0,1 M dengan RSA sebesar 20,94%. Venom ular *Trimeresurus insularis* memiliki aktivitas antioksidan dan jenis peptida yang terkandung diantaranya adalah *Disintegrin trigramin-gamma*, *Thrombin-like enzyme okinaxobin-1*, *Thrombin-like enzyme okinaxobin-2*, *Phospholipase A2*, *Snaclec alboaggregin-A subunit beta*.

KATA KUNCI: antioksidan, DPPH, hidrolisat protein, *Trimeresurus insularis*, venom

Antioxidant Activity of Protein Hydrolysate from the Venom of green White-lipped Island Pit Viper *Trimeresurus insularis* Kramer, 1977

Imelda Tri Ashari

21/474386/BI/10710

Supervisor: Dr. Tri Rini Nuringtyas, S.Si., M.Sc.

ABSTRACT

Antioxidant activity is one of the key functions in drug development. Currently, drug discovery innovations can be achieved by identifying active proteins and peptides present in certain substances. Snake venom peptides are known to be highly diverse and are believed to possess antioxidant activity. Antioxidants are compounds that can suppress oxidative processes in the body. This study aims to analyze the antioxidant activity of protein hydrolysates derived from the venom of the green pit viper *Trimeresurus insularis*. The venom used in this study was obtained from the venom research group at Universitas Gadjah Mada (UGM) and was further subjected to protein isolation. Venom proteins were separated using ultrafiltration with an Amicon® Ultra-15 device with a molecular weight cut-off of 10 kDa. The protein content of the isolates was quantified spectrophotometrically using the Bicinchoninic Acid (BCA) assay. Molecular weight determination was conducted using SDS-PAGE. Protein hydrolysis was performed using trypsin overnight. The resulting hydrolysates were then fractionated using anion exchange chromatography with NaCl buffer gradients of 0.1 M, 0.2 M, 0.3 M, and 0.4 M. Antioxidant activity of the fractions was assessed using the DPPH assay. The molecular weight of proteins in the crude sample ranged from 67.03 to 14.06 kDa, while the residue sample ranged from 127.18 to 13.18 kDa. The filtrate sample contained too little protein for observable bands. The hydrolysate from the residue sample showed the highest radical scavenging activity (RSA) at 29.7%. The crude sample hydrolysate fraction with the highest RSA was the 0.1 M NaCl fraction, with an RSA of 20.94%. The venom of *Trimeresurus insularis* exhibits antioxidant activity, and the peptides identified include trigramin-gamma disintegrin, thrombin-like enzymes okinaxobin-1 and okinaxobin-2, phospholipase A2, and the snakec albogregin-A beta subunit.

KEY WORDS: antioxidant, DPPH, protein hydrolysate, *Trimeresurus insularis*, venom