

Pengembangan Peptida Anti-Diabetes Inhibitor α -Glukosidase dari Kasein Susu Kambing dengan Pendekatan *In Silico* Digestion Kimotripsin dan Penambatan Molekul

Ika Kurniasari
23/526734/PPA/06661

INTISARI

Identifikasi peptida bioaktif dari hidrolisat protein dengan isolasi dan identifikasi peptida dengan spektrometri masa mempunyai masalah waktu yang lama, biaya yang mahal dan hasil yang tidak memuaskan. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi dan mengembangkan peptida penghambat α -glukosidase dari kasein susu kambing (*Capra hircus*) menggunakan pendekatan *in silico digestion* dan penambatan molekul. Empat jenis kasein— κ -kasein, β -kasein, α S1-kasein, dan α S2-kasein dihidrolisis secara *in silico* menggunakan kimotripsin. Peptida yang dihasilkan dari proses hidrolisis diskriminasi dan dianalisis interaksinya dengan α -glukosidase (PDB ID: 3AXH) melalui penambatan molekul menggunakan peladen HADDOCK. Peptida dengan interaksi terbaik disintesis dan uji aktivitas penghambatannya. Optimasi struktur peptida aktif dilakukan dengan modifikasi asam amino berdasarkan hasil skrining alanin dilanjutkan prediksi kebolehjadian ikatan terhadap α -glukosidase melalui Pepsite2, dan penambatan molekul. Peptida termodifikasi dengan energi afinitas ikatan terendah dan memiliki interaksi terhadap α -glukosidase disintesis dan ditentukan nilai IC_{50} melalui uji aktivitas inhibisi secara *in vitro* termasuk studi kinetika inhibisi dan mode inhibisi.

Peptida IPIQY hasil digestion *in silico* κ -kasein mempunyai interaksi terbaik dengan α -glukosidase dengan energi afinitas ikatan -9 kkal/mol dan membentuk ikatan hidrogen dengan residu katalitik Asp352. Uji aktivitas inhibisi IPIQY sintesis menunjukkan nilai IC_{50} sebesar $83,25 \pm 4,69$ μ M. Sementara itu modifikasi peptida menghasilkan peptida IPIEQ yang mempunyai energi ikatan yang lebih stabil yaitu $-9,7$ kkal/mol dan juga mempunyai ikatan dengan Asp352. Peptida IPIEQ memiliki aktivitas inhibisi yang lebih baik dibanding peptida sebelum modifikasi (IPIQY) dengan nilai IC_{50} yang lebih rendah sebesar $62,62 \pm 2,42$ μ M. Nilai IC_{50} yang lebih kecil menggambarkan peningkatan inhibisi yang menunjukkan bahwa proses modifikasi peptida secara *in silico* dan penambatan molekul telah berhasil. Studi kinetika menunjukkan bahwa peptida IPIEQ memiliki tipe inhibisi campuran antara kompetitif dan unkompetitif yang ditunjukkan oleh kenaikan nilai V_{maks} dan K_m .

Kata kunci: diabetes melitus, peptida bioaktif, antidiabetes, penambatan molekuler, inhibitor α -glukosidase

Development of Anti-Diabetic Peptides α -Glucosidase Inhibitors from Goat Milk Casein with Chymotrypsin In Silico Digestion and Molecular Docking Approach

Ika Kurniasari
23/526734/PPA/06661

ABSTRACT

The conventional identification of bioactive peptides from protein hydrolysates via peptide isolation and mass spectrometry is often time-consuming, costly, and yields suboptimal results. This study aimed to identify and optimize α -glucosidase inhibitory peptides derived from goat milk (*Capra hircus*) casein using in silico digestion and molecular docking approaches. Four casein subtypes— κ -casein, β -casein, α S1-casein, and α S2-casein—were hydrolyzed in silico using chymotrypsin. Peptides which generated from hydrolysis were screened and analyzed their interactions with α -glucosidase (PDB ID: 3AXH) via molecular docking using the HADDOCK server to evaluate binding affinity and interaction profiles. The active peptide structure was optimized via amino acid substitutions guided by alanine scanning, followed by evaluation of binding potential to α -glucosidase using Pepsite2 and molecular docking. The modified peptide exhibiting the lowest binding affinity and favorable interactions with α -glucosidase was synthesized, and its inhibitory potency was assessed in vitro through determination of IC_{50} , as well as kinetic characterization and inhibition mode analysis

The peptide IPIQY, derived from κ -casein, exhibited the strongest interaction with α -glucosidase, showing a binding affinity of -9.0 kcal/mol and forming a hydrogen bond with the catalytic residue Asp352. In vitro inhibition assays of the synthesized IPIQY peptide yielded an IC_{50} value of 83.25 ± 4.69 μ M. Subsequent alanine scanning and residue substitution led to the design of a modified peptide, IPIEQ, which demonstrated improved binding affinity (-9.7 kcal/mol) and maintained interaction with Asp352. IPIEQ exhibited enhanced inhibitory activity with a lower IC_{50} value of 62.62 ± 2.42 μ M. Kinetic analysis revealed that the peptide IPIEQ exhibits mixed inhibition, with both competitive and uncompetitive characteristics, as evidenced by increased V_{max} and K_m values. These findings demonstrate the effectiveness of in silico strategies for the rational design and optimization of α -glucosidase inhibitory peptides, offering a promising approach for the development of functional food ingredients or therapeutic agents for glycemic control.

Keywords: diabetes mellitus, bioactive peptides, antidiabetic, molecular docking, α -glucosidase inhibitor.