

**EVALUATION OF VARESPLADIB EFFICACY IN
NEUTRALIZING HEMORRHAGE INDUCED BY
Calloselasma rhodostoma (Kuhl, 1824) VENOM IN MICE
Mus musculus, Linnaeus 1758**

By

Benadya Aprilia Susanto
22/496700/BI/10095

Supervisor: Dr. Fajar Sofyantoro, S.Si., M.Sc.

ABSTRACT

Indonesia hosts approximately 450 snake species, 77 of which are venomous, making snakebite a significant public health concern. Classified as a neglected tropical disease (NTD) by WHO in 2009, snakebite envenomation affects up to 135,000 people annually in Indonesia, with limited epidemiological data and restricted antivenom availability. *Calloselasma rhodostoma* (Malayan pit viper) is a major cause of envenomation in Southeast Asia. Its venom contains toxic components such as phospholipase A₂ (PLA₂), snake venom metalloproteinases (SVMPs), flavin monoamine oxidase, and serine proteases. Inhibition of PLA₂ has emerged as a promising therapeutic strategy, with varespladib demonstrating potential in neutralizing venom toxicity. This study determined the Minimum Hemorrhagic Dose (MHD) of *C. rhodostoma* venom and evaluated the protective effects of varespladib on hemorrhage and histopathological changes in male BALB/c mice. The MHD was 7.07 µg. Venom induced low-intensity hemorrhage, mild hypodermal edema, and inflammatory cell infiltration, with minimal collagen degradation. Varespladib exhibited a dose-dependent but non-linear inhibition: low (2:2) and high (2:20) doses effectively reduced hemorrhagic lesions and erythrocyte extravasation, while the medium dose (2:10) showed limited efficacy. Interestingly, high-dose varespladib increased inflammatory cell infiltration, suggesting potential local tissue stress. Histological analysis confirmed that venom primarily affects deeper skin layers, while dermal collagen integrity remained largely intact. These findings indicate that varespladib partially mitigates *C. rhodostoma*-induced hemorrhage and microvascular leakage, with efficacy dependent on dose. The study underscores the complexity of venom-inhibitor interactions and the importance of optimizing dosing. Further research is warranted to elucidate the mechanisms of non-linear inhibition, assess systemic effects, and explore applicability to other viperid venoms.

KEY WORDS: *Calloselasma rhodostoma*, hemorrhage, histopathology, phospholipase A₂ (PLA₂), snakebite, varespladib.

**EVALUASI EFEKTIVITAS VARESPLADIB DALAM
MENGHAMBAT HEMORAGI YANG DIINDUKSI OLEH
VENOM *Calloselasma rhodostoma* (Kuhl, 1824) PADA
MENCIT *Mus musculus*, Linnaeus 1758**

Oleh

Benadya Aprilia Susanto
22/496700/BI/10095

Pembimbing: Dr. Fajar Sofyantoro, S.Si., M.Sc

INTISARI

Indonesia memiliki sekitar 450 spesies ular, dimana 77 spesies di antaranya berbisa, menjadikan gigitan ular sebagai masalah kesehatan masyarakat yang signifikan. Diklasifikasikan sebagai penyakit tropis terabaikan oleh WHO pada tahun 2009, envenomasi akibat gigitan ular mempengaruhi hingga 135.000 orang setiap tahun di Indonesia, dengan data epidemiologi yang terbatas dan ketersediaan antivenom yang terbatas. Antivenom tetap menjadi pengobatan utama, namun menghadapi tantangan seperti aksesibilitas, reaksi alergi, dan kebutuhan dosis tinggi. *Calloselasma rhodostoma* (ular tanah Malaya) bertanggung jawab atas tingginya insiden envenomasi di Asia Tenggara. Bisa ular ini mengandung komponen toksik seperti fosfolipase A₂ (PLA₂), metalloproteinase ular (SVMP), flavin monoamine oksidase, dan serin protease. Inhibisi PLA₂ muncul sebagai strategi terapeutik yang menjanjikan, dengan varespladib menunjukkan potensi untuk menetralkan toksisitas bisa ular. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan Dosis Hemoragik Minimum (MHD) bisa *C. rhodostoma* dan mengevaluasi efek protektif varespladib terhadap perdarahan dan perubahan histopatologis pada tikus jantan BALB/c. MHD ditentukan sebesar 7,07 µg. Bisa ular menimbulkan perdarahan intensitas rendah, edema hipodermis ringan, dan infiltrasi sel inflamasi, dengan degradasi kolagen yang minimal. Varespladib menunjukkan efek inhibisi yang tergantung dosis tetapi tidak linier: dosis rendah (2:2) dan tinggi (2:20) secara efektif mengurangi hemoragi dan hemoragi mikroskopis, sementara dosis menengah (2:10) menunjukkan efektivitas yang terbatas. Menariknya, dosis tinggi varespladib meningkatkan infiltrasi sel inflamasi, yang menunjukkan kemungkinan stres pada jaringan lokal. Analisis histologi menegaskan bahwa bisa terutama memengaruhi lapisan kulit yang lebih dalam, sedangkan integritas kolagen dermis tetap relatif utuh. Temuan ini menunjukkan bahwa varespladib secara parsial mengurangi perdarahan dan kebocoran mikrovaskular yang diinduksi oleh *C. rhodostoma*, dengan efektivitas yang bergantung pada dosis. Studi ini menekankan kompleksitas interaksi bisa-inhibitor dan pentingnya optimasi dosis. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menjelaskan mekanisme inhibisi tidak linier, menilai efek sistemik, dan mengeksplorasi penerapan terhadap bisa ular Viperidae lainnya.

KATA KUNCI: *Calloselasma rhodostoma*, hemoragi, histopatologi, fosfolipase A₂ (PLA₂), gigitan ular, varespladib.