

**Studi Interaksi Molekuler Aktivitas Antimikroba Peptida Bioaktif terhadap *Staphylococcus aureus* Secara *In silico***

Taufik Muhammad Fakih\*, Mentari Luthfika Dewi

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Bandung, Indonesia

\*Corresponding author: taufikmuhammadf@gmail.com

Submitted: 28 Maret 2020

Accepted: 10 Mei 2020

Published: 30 November 2020

**Abstract**

**Background:** Skin mucus of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) contains bioactive peptides and is widely used in treatment of various diseases because of their biological activity, including antimicrobial agent. Some of these bioactive peptides include pelteobagrins, myxinidin, pleurocidin, and pardaxin-P1 and have been proven to be able to inhibit Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3) of *Staphylococcus aureus*. **Objective:** This study aims to identify the antimicrobial activity of bioactive peptide molecules through *in silico* against the Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3) macromolecules of *Staphylococcus aureus* and interactions of these bioactive peptides that may be involved in this antimicrobial action. **Methods:** The sequencing bioactive peptide was firstly performed for modeling in the form of 3D conformation using PEP-FOLD software. The best conformation of the modeling results was chosen and then a molecular docking study was done on the macromolecule of *Staphylococcus aureus* using PatchDock software. The molecular interactions product were then identified using the BIOVIA Discovery Studio 2020 software. **Results:** The results of molecular docking showed that the myxinidin bioactive peptide has the best affinity with an ACE score  $-2497.26$  kJ/mol. **Conclusion:** The bioactive peptide from yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) was considered to be used as a natural antimicrobial candidate.

**Keywords:** *Pelteobagrus fulvidraco*, bioactive peptide, penicillin-binding protein 3 (PBP3), *Staphylococcus aureus*

**Abstrak**

**Pendahuluan:** Lendir kulit ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*), mengandung peptida bioaktif dan banyak dimanfaatkan dalam pengobatan berbagai penyakit karena memiliki aktivitas biologis, diantaranya sebagai antimikroba. Beberapa peptida bioaktif tersebut, antara lain pelteobagrins, myxinidin, pleurocidin, dan pardaxin-P1 dan telah terbukti mampu menghambat *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) dari *Staphylococcus aureus*. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas antimikroba molekul peptida bioaktif secara *in silico* terhadap makromolekul *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3) dari *Staphylococcus aureus* dan interaksi peptida bioaktif tersebut yang terlibat dalam mekanisme aksi antimikroba. **Metode:** Sekuensing peptida bioaktif terlebih dahulu dilakukan pemodelan ke dalam bentuk konformasi 3D menggunakan *software* PEP-FOLD. Konformasi terbaik hasil pemodelan dipilih untuk kemudian dilakukan studi penambatan molekuler terhadap makromolekul dari *Staphylococcus aureus* menggunakan *software* PatchDock. Interaksi molekuler yang terbentuk selanjutnya diidentifikasi lebih lanjut menggunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020. **Hasil:** Berdasarkan hasil penambatan molekuler menunjukkan bahwa peptida bioaktif myxinidin memiliki afinitas paling baik dengan ACE score  $-2497,26$  kJ/mol. **Kesimpulan:** Peptida bioaktif lendir kulit ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*) dapat dipertimbangkan sebagai kandidat antimikroba alami.

**Kata kunci:** *Pelteobagrus fulvidraco*, peptida bioaktif, *Penicillin-Binding Protein 3* (PBP3), *Staphylococcus aureus*

## PENDAHULUAN

Pilihan terapi yang efektif untuk mencegah infeksi yang disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* hingga saat ini masih terbatas. Hal tersebut menjadi dalam pengendalian *Staphylococcus aureus* (Boucher dkk., 2009). *Staphylococcus aureus* adalah bakteri Gram-positif komensal yang berkoloni pada mukosa hidung manusia baik secara permanen atau sementara (Kluytmans dkk., 1997) dan akhirnya memperparah bagian yang terinfeksi (Kuehnert dkk., 2005; Klevens dkk., 2007). Gejala klinis tidak akan muncul sampai sistem kekebalan tubuh terpengaruh (Diefenbeck dkk., 2011). Masalah utama dalam mengendalikan infeksi *Staphylococcus aureus* adalah terjadinya resistensi multi-obat yang disebabkan karena penyalahgunaan antibiotika. Di samping itu juga dapat diakibatkan oleh pengobatan infeksi non-bakteri dengan antibiotika atau tingkat kepatuhan yang kurang terhadap aturan konsumsi obat. Oleh karena itu, diperlukan molekul terapi baru sebagai kandidat antibiotika dalam pengobatan infeksi *Staphylococcus aureus*. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa terdapat beberapa molekul peptida bioaktif yang berpotensi sebagai alternatif terbaik untuk mengembangkan terapi infeksi bakteri yang resisten terhadap beberapa obat (Garo dkk., 2007; Coutinho dkk., 2008; Coutinho dkk., 2009).

Penelitian terbaru mengungkapkan bahwa lendir permukaan ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*) mengandung molekul peptida bioaktif seperti pelteobagrins, myxinidin, pleurocidin, dan pardaxin-P1 (Su, 2011). Lendir ini merupakan perlindungan pertama terhadap mikroba yang hidup di air. Selain berguna sebagai penghalang fisik antara ikan dan lingkungannya, lendir ini juga telah terbukti memiliki aktivitas antimikroba yang dimediasi melalui serangkaian faktor kekebalan tubuh bawaan yang terdiri dari lisozim, lektin, enzim proteolitik, flavoenzim, imunoglobulin, dan protein C-reaktif (Ellis, 2001; Whyte, 2007; Subramanian dkk., 2008). Aktivitas antimikroba molekul peptida bioaktif ini antara lain mampu menghambat pertumbuhan mikroba, seperti bakteri Gram-positif dan Gram-negatif, jamur, virus, dan parasit. Selain itu, peptida ini juga berperan sebagai imunomodulator untuk meningkatkan imunitas tubuh (Bergsson dkk., 2005; Luders dkk., 2005; Subramanian dkk., 2009).

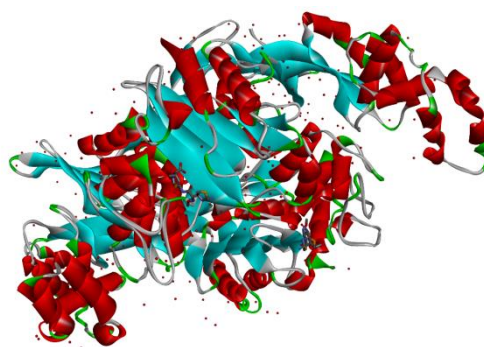
Pada penelitian ini akan dibuktikan lebih lanjut interaksi yang terjadi antara molekul peptida bioaktif dengan struktur reseptor target yang terdapat pada *Staphylococcus aureus* yaitu *Penicillin-Binding*

*Protein 3* (PBP3) dari *Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) (Yoshida dkk., 2012). Studi komputasi dengan memanfaatkan metode penambatan molekuler berbasis protein-peptida dipilih untuk membandingkan molekul peptida bioaktif yang memiliki afinitas dan interaksi paling baik terhadap target reseptor sehingga dapat diperoleh struktur acuan sebagai kandidat peptida antimikroba.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah struktur kristal makromolekul protein PBP3 dari *Staphylococcus aureus* yang telah membentuk kompleks dengan cefotaxime. Makromolekul protein tersebut diperoleh dari web Protein Data Bank (<http://www.rcsb.org/pdb>) dengan kode PDB 3VSL dan memiliki resolusi 2,40 Å (Gambar 1) (Yoshida dkk., 2012). Kemudian, molekul peptida bioaktif yang digunakan dalam penelitian ini merupakan peptida bioaktif yang memiliki aktivitas terhadap *Staphylococcus aureus* dan telah dibuktikan melalui penelitian sebelumnya. Molekul peptida bioaktif tersebut adalah pelteobagrins, myxinidin, pleurocidin, dan pardaxin-P1 yang berasal dari lendir permukaan ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*) (Su, 2011).



**Gambar 1.** Struktur kristal makromolekul protein dari *Staphylococcus aureus* yang membentuk kompleks dengan cefotaxime

### Alat

*Software* yang digunakan dalam penelitian ini meliputi Sistem Operasi Windows 10 dan Linux Ubuntu 18.10, MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2, PEP-FOLD (<http://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/PEP-FOLD/>), PachDock, serta BIOVIA Discovery Studio 2020. Selain itu, *hardware* yang digunakan adalah komputer dengan spesifikasi *processor* Intel (R) Core i3-6100

CPU @ 2.30GHz (4 CPUs), *memory* 4096 MB RAM, Harddisk 320GB, dan VGA Intel HD Graphics 520.

## Metode

### Preparasi makromolekul protein

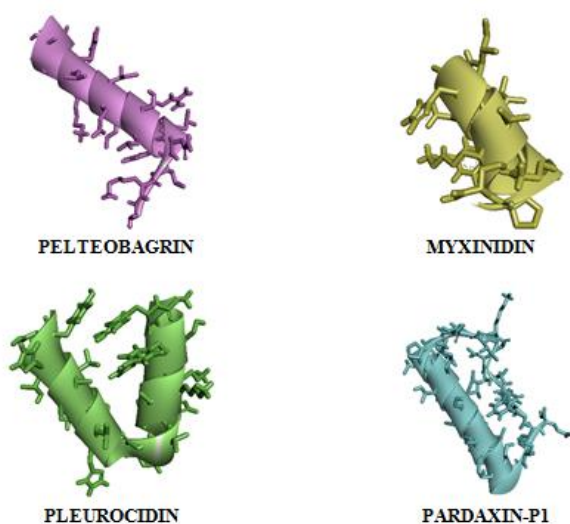
Struktur kristal makromolekul protein yang telah diunduh dari web Protein Data Bank selanjutnya dilakukan preparasi terlebih dahulu menggunakan *software* MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2. Preparasi makromolekul protein ini dilakukan dengan menghilangkan molekul air dan ligan alami, kemudian dilanjutkan dengan menambahkan atom hidrogen polar dan menghitung muatan parsial Kollman (Kurniawan dkk., 2018).

### Identifikasi area sisi aktif makromolekul protein

Makromolekul protein yang telah dipreparasi kemudian diidentifikasi dan dievaluasi bagian sisi aktif pengikatan yang berperan terhadap aktivitas antimikroba dengan menggunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020 (Kemish dkk., 2017). Molekul cefotaxime yang merupakan ligan alami dari makromolekul protein PBP3 dari *Staphylococcus aureus* digunakan untuk mengidentifikasi dan mengevaluasi area sisi aktif dari makromolekul protein.

### Pemodelan molekul peptida bioaktif

Pemodelan molekul peptida bioaktif dilakukan dengan menggunakan *server* PEP-FOLD (<http://bioserv.rpbs.univ-paris-diderot.fr/PEP-FOLD/>) (Gambar 2). *Server* PEP-FOLD merupakan suatu *software* yang digunakan untuk pemodelan sekuensing peptida bioaktif menjadi konformasi 3D menggunakan metode *de novo* dengan jumlah asam amino antara 9 sampai 25 (Chavan & Deobagkar, 2015).



**Gambar 2.** Struktur molekul peptida bioaktif dari lendir permukaan ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*)

### Simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida

Simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida dilakukan menggunakan *software* PatchDock untuk mengamati, mengidentifikasi, dan mengevaluasi afinitas molekul peptida bioaktif terhadap makromolekul protein PBP3 dari *Staphylococcus aureus*. Jarak antara bagian permukaan makromolekul protein dan molekul peptida bioaktif dibatasi dengan batas radius maksimum 4.0 Å. Simulasi penambatan molekuler ini menggunakan parameter berdasarkan representasi bentuk molekul, bagian sisi aktif pengikatan makromolekul protein, serta pemilihan dan penilaiannya. Simulasi ini juga dilakukan secara efisien tanpa adanya ikatan yang bersifat rigid antar molekul (Aruleba dkk., 2018).

### Analisis hasil simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida

Dari hasil penambatan molekuler berbasis protein-peptida selanjutnya dilakukan identifikasi, evaluasi, dan eksplorasi terhadap interaksi molekuler yang terjadi antara makromolekul protein PBP3 dari *Staphylococcus aureus* dengan molekul peptida bioaktif berdasarkan *Atomic Contact Energy* (ACE) *score* (Prabhu & Rajeswari, 2016). Residu asam amino yang bertanggung jawab terhadap interaksi molekuler yang terbentuk diamati dengan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

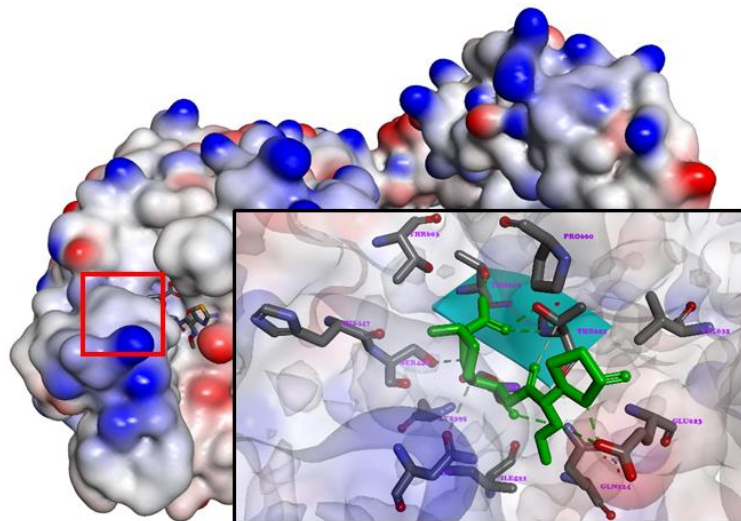
Peptida antimikroba saat ini telah menjadi sumber pengobatan yang sangat penting dan banyak penelitian yang dilakukan terhadap aktivitas terapeutiknya. Dengan demikian, perlu dilakukan evaluasi aktivitas antimikroba terhadap lendir permukaan ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*). Protein PBP3 dari *Staphylococcus aureus* dipilih untuk dipelajari karena merupakan target penting pada bakteri patogen. Di samping itu, sebagian besar bakteri patogenik telah mengalami resistensi terhadap beberapa antibiotika yang tersedia saat ini, karena penyalagunaan atau penggunaannya yang berlebihan. Fenomena ini menjadikan kebutuhan mendesak untuk mengeksplorasi berbagai sumber agen antimikroba yang efektif, tidak toksik, dan hemat biaya (Subramanian dkk., 2008; Subramanian dkk., 2009). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi peptida bioaktif yang memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in silico*.

Penelitian sebelumnya membuktikan bahwa terdapat beberapa molekul peptida bioaktif dari lendir permukaan ikan lele kuning (*Pelteobagrus fulvidraco*) yang telah berhasil dikarakterisasi, dipreparasi, dan dipurifikasi. Proses pembuatan peptida bioaktif ini memanfaatkan proses sintesis organik, *Microwave Assisted Extraction* (MAE), hidrolisis kimia, dan hidrolisis enzim. Selanjutnya dilakukan proses pemurnian peptida bioaktif dengan menggunakan metode kromatografi eksklusi gel, kromatografi penukar ion, dan kromatografi cair kinerja tinggi. Beberapa peptida bioaktif yang memiliki aktivitas terhadap protein PBP3 dari *Staphylococcus aureus*, diantaranya adalah pelteobagrin, myxinidin, pleurocidin, dan pardaxin-P1 (Su, 2011).

Makromolekul protein PBP3 dari *Staphylococcus aureus* terlebih dahulu dilakukan preparasi dengan menghilangkan molekul air dan ligan alami yaitu cefotaxime, kemudian tahapan selanjutnya adalah menambahkan atom hidrogen polar, dan menghitung muatan parsial Kollman dengan menggunakan *software* MGLTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan AutoDock 4.2 (Kurniawan dkk., 2018). Tahapan preparasi makromolekul protein ini bertujuan untuk

memastikan bahwa molekul peptida bioaktif dapat menghasilkan afinitas yang baik pada bagian sisi aktif pengikatan makromolekul protein dan membentuk interaksi yang stabil. Selain itu, molekul cefotaxime yang telah membentuk kompleks dengan protein PBP3 dari *Staphylococcus aureus* digunakan sebagai senyawa pembanding untuk mengamati interaksi dan afinitasnya.

Setelah dilakukan preparasi terhadap makromolekul protein dari *Staphylococcus aureus* kemudian dilakukan identifikasi, evaluasi, dan eksplorasi pada bagian sisi aktifnya dengan menggunakan *software* BIOVIA Discovery Studio 2020 sehingga sifat dan karakteristik dari area pengikatan pada protein PBP3 dari *Staphylococcus aureus* dapat diketahui secara detail. Interaksi yang terjadi antara protein dari *Staphylococcus aureus* dengan cefotaxime (Gambar 3) meliputi 9 ikatan hidrogen (dengan Asn450, Ser488, Gln524, Thr619, Thr621, dan Glu623). Berdasarkan hasil pengamatan dapat diprediksi bahwa residu asam amino tersebut bertanggung jawab sebagai komponen penyusun pada bagian sisi aktif pengikatan makromolekul protein target.



**Gambar 3.** Bagian sisi aktif pengikatan makromolekul protein dari *Staphylococcus aureus*

Pemodelan struktur tiga dimensi hasil sekuensing molekul peptida bioaktif dilakukan dengan *server* PEP-FOLD. Konformasi peptida bioaktif terbaik dipilih berdasarkan energy sOPEP (*Optimized Potential for Efficient Structure Prediction*) (Thevenet dkk., 2012; Shen dkk., 2014). Energi sOPEP yang telah terintegrasi dalam *server* PEP-FOLD menggambarkan konformasi struktur peptida bioaktif yang dimodelkan mendekati

keadaan aslinya, sehingga diharapkan mampu menghasilkan afinitas dan interaksi yang stabil dengan makromolekul protein target. Berdasarkan hasil pemodelan peptida bioaktif yang terdapat pada Tabel 1 dapat diprediksi bahwa peptida tersebut akan dapat berinteraksi dengan baik pada bagian sisi aktif pengikatan protein PBP3 dari *Staphylococcus aureus*.

**Tabel 1.** Nilai energi sOPEP (*Optimized Potential for Efficient Structure Prediction*) molekul peptida bioaktif

Molekul peptida bioaktif	Sekuensing molekul peptida bioaktif	Energi sOPEP ( <i>Optimized Potential for Efficient Structure Prediction</i> )
Pelteobagrin	GKLNLFSLRLEILKLFVGAL	-48,74
Myxinidin	GIHDILKYGKPS	-14,75
Pleurocidin	GWGSFFKKAHVGGKHVGKAAL THYL	-47,04
Pardaxin-P1	GFFALIPKIISSPLFKTLLSAVGSA LSSSGEQE	-61,97

Simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida menggunakan *software* PatchDock dilakukan untuk mengamati afinitas paling baik diantara beberapa molekul peptida bioaktif, serta mengamati interaksi yang terbentuk dengan makromolekul protein PBP3 dari *Staphylococcus aureus*. Kompleks protein-peptida dengan konformasi terbaik hasil simulasi penambatan molekuler dipilih berdasarkan PatchDock *score*, kemudian molekul peptida bioaktif tersebut dibandingkan berdasarkan *Atomic Contact Energy* (ACE) *score* (Prabhu & Rajeswari, 2016). Data hasil

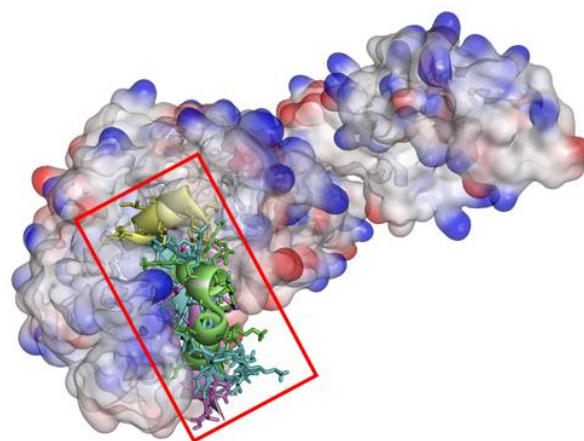
penambatan molekuler pada Tabel 2 menunjukkan bahwa peptida bioaktif myxinidin memiliki afinitas yang lebih baik dibandingkan cefotaxime dan peptida bioaktif lainnya, yaitu dengan ACE *score* -2497,26 kJ/mol. Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh peptida bioaktif pleurocidin yang memiliki ACE *score* positif yaitu 183,05 kJ/mol. Fenomena tersebut dapat disebabkan oleh adanya interaksi yang tidak diinginkan (*unfavorable bond*) antara peptida bioaktif pleurocidin dengan makromolekul protein target (Veeraragavan dkk., 2017).

**Tabel 2.** Energi bebas pengikatan hasil simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida

Molekul uji	PatchDock <i>score</i>	ACE <i>score</i> (kJ/mol)
Cefotaxime	4742	-1390,47
Pelteobagrin	10050	-176,31
Myxinidin	7310	-2497,26
Pleurocidin	9680	183,05
Pardaxin-P1	10462	-1073,95

Selanjutnya dilakukan identifikasi dan evaluasi terhadap visualisasi kompleks molekul peptida bioaktif dan makromolekul protein target. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna, karena sebagian besar peptida bioaktif berada pada bagian sisi aktif pengikatan protein PBP3 dari *Staphylococcus aureus* (Gambar 4). Apabila dilakukan perbandingan interaksi, peptida bioaktif myxinidin memiliki interaksi yang lebih banyak (Tabel 3). Interaksi yang terbentuk antara peptida bioaktif myxinidin dengan protein target meliputi 8 ikatan hidrogen (dengan Ser392, Ser429, Met446, Ser448, Thr619, Thr621, dan Trp662) dan 6 interaksi hidrofobik (dengan His447, Val658, Pro659, Pro661, dan Trp662). Hasil identifikasi ini membuktikan bahwa interaksi yang terbentuk antara peptida bioaktif myxinidin dan makromolekul protein PBP3 dari

*Staphylococcus aureus* memiliki ikatan yang stabil pada area sisi aktif pengikatan (Norel dkk., 2001).



**Gambar 4.** Konformasi molekul peptida bioaktif pada sisi aktif pengikatan makromolekul protein dari *Staphylococcus aureus*

**Tabel 3.** Interaksi hasil simulasi penambatan molekuler berbasis protein-peptida

Molekul uji	Jumlah interaksi	Residu asam amino
Cefotaxime	10	Ser392, Val606, Thr619, Thr621, Ser634, Tyr636, Pro661, Leu663,
Pelteobagrin	6	Ser392, Asn432, Leu471, Leu518, Thr621, Pro659
Myxinidin	14	Ser392, Ser429, Met446, His447, Ser448, Thr619, Thr621, Val658, Pro659, Pro661, Trp662
Pleurocidin	13	Ser392, Phe421, Leu425, Lys427, Ser429, Asn432, Leu471, Gln524, Thr621, Glu623,
Pardaxin-P1	12	Leu425, Lys427, Ser429, Phe454, Leu471, Pro514, Asp519, Thr621, Pro659

## KESIMPULAN

Peptida bioaktif myxinidin memiliki afinitas yang paling baik dibandingkan peptida bioaktif lainnya dengan ACE score  $-2497,26$  kJ/mol dan berpotensi untuk dikembangkan sebagai kandidat antimikroba alami.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aruleba, R. T., Adekiya, T. A., Oyinloye, B. E. & Kappo, A. P. (2018). Structural Studies of Predicted Ligand Binding Sites and Molecular Docking Analysis of *Slc2a4* as a Therapeutic Target for the Treatment of Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*; 19; 386.
- Bergsson, G., Agerberth, B., Jornvall, H. & Gudmundsson, G. H. (2005). Isolation and Identification of Antimicrobial Components from the Epidermal Mucus of Atlantic Cod (*Gadus morhua*). *The FEBS Journal*; 272; 4960-4969.
- Boucher, H. W., Talbot, G. H., Bradley, J. S., Edwards, J. E., Gilbert, D., Rice, L. B., Scheld, M., Spellberg, B. & Bartlett, J. (2009). Bad Bugs, No Drugs: no ESKAPE! An Update from the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*; 48; 1-12.
- Chavan, S. G. & Deobagkar, D. D. (2015). An *in silico* Insight into Novel Therapeutic Interaction of LTNF Peptide-LT10 and Design of Structure Based Peptidomimetics for Putative Anti-Diabetic Activity. *PLoS One*; 10; e0121860.
- Coutinho, H. D., Costa, J. G., Lima, E. O., Falcao-Silva, V. S. & Siqueira-Junior, J. P. (2008). Enhancement of the Antibiotic Activity Against a Multiresistant *Escherichia coli* by *Mentha arvensis* L. and Chlorpromazine. *Chemotherapy*; 4; 328-330.
- Coutinho, H. D., Costa, J. G., Lima, E. O., Falcao-Silva, V. S. & Siqueira-Junior, J. P. (2009). Herbal Therapy Associated with Antibiotic Therapy: Potentiation of the Antibiotic Activity Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* by *Turnera ulmifolia* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*; 9; 13.
- Diefenbeck, M., Mennenga, U., Guckel, P., Tiemann, A.H., Muckley, T., & Hofmann, G.O. (2011). Vacuum-assisted Closure Therapy for the Treatment of Acute Postoperative Osteomyelitis. *Z Orthop Unfall*; 149; 336-341.
- Ellis, A. E. (2001). Innate Host Defense Mechanisms of Fish Against Viruses and Bacteria. *Developmental and Comparative Immunology*; 25; 827-839.
- Garo, E., Eldridge, G. R., Goering, M. G., DeLancey, P. E., Hamilton, M. A., Costerton, J. W. & James, G. A. (2007). Asiatic Acid and Corosolic Acid Enhance the Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms to Tobramycin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; 51; 1813-1817.
- Kemmish, H., Fasnacht, M. & Yan, L. (2017). Fully Automated Antibody Structure Prediction using BIOVIA Tools: Validation Study. *PLoS One*; 12; e0177923.
- Klevens, R. M., Morrison, M. A., Nadle, J., Petit, S., Gershman, K., Ray, S., Harrison, L. H., Lynfield, R., Dumyati, G., Townes, J. M., Craig, A. S., Zell, E. R., Fosheim, G. E., McDougal, L. K., Carey, R. B. & Fridkin, S. K. Active Bacterial Core surveillance (ABCs) MRSA Investigatorset Al. Invasive Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in the United States. *Jama*; 298; 1763-1771.
- Kluytmans, J., van Belkum, A. & Verbrugh, H. (1997). Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus*: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks. *Clinical Microbiology Reviews*; 10; 505-520.

- Kuehnert, M. J., Hill, H. A., Kupronis, B. A., Tokars, J. I., Solomon, S. L. & Jernigan, D. B. Methicillin-resistant-*Staphylococcus aureus* hospitalizations, United States. *Emerging Infectious Diseases*; 11; 868-872.
- Kurniawan, F., Miura, Y., Kartasasmita, R. E., Yoshioka, N., Mutalib, A. & Tjahjono, D. H. (2018). In Silico Study, Synthesis, and Cytotoxic Activities of Porphyrin Derivatives. *Pharmaceuticals*; 11; 8.
- Luders, T., Birkemo, G. A., Meyer, J. N., Andersen, O. & Nes, I. F. (2005) Proline Conformation Dependent Antimicrobial Activity of a Proline-Rich Histone H1 N-terminal Peptide Fragment Isolated from the Skin Mucus of Atlantic Salmon. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; 49; 2399-2406.
- Norel, R., Sheinerman, F., Petrey, D. & Honig, B. (2001). Electrostatic Contributions to Protein-Protein Interactions: Fast Energetic Filters for Docking and Their Physical Basis. *Protein Science*; 10; 2147-2161.
- Prabhu, D. S. & Rajeswari, V. D. (2016). In Silico Docking Analysis of Bioactive Compounds from Chinese Medicine *Jinqi Jiangtang* Tablet (JQJT) using Patch Dock. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*; 8; 15-21.
- Shen, Y., Maupetit, J., Derreumaux, P. & Tuffery P. (2014). Improved PEP-FOLD Approach for Peptide and Mini-protein Structure Prediction. *Journal of Chemical Theory and Computation*; 10; 4745-4758.
- Su, Y. (2011) Isolation and Identification of Pelteobagrin, A Novel Antimicrobial Peptide from the Skin Mucus of Yellow Catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*). *Comparative Biochemistry and Physiology*; 158; 149-154.
- Subramanian, S., Ross, N. W. & MacKinnon, S. L. (2008). Comparison of Antimicrobial Activity in the Epidermal Mucus Extracts of Fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*; 150; 85-92.
- Subramanian, S., Ross, N. W., & MacKinnon, S. L. (2009). Myxinidin, A Novel Antimicrobial Peptide from the Epidermal Mucus of Hagfish, *Myxine glutinosa* L. *Marine Biotechnology*; 11; 748-757.
- Thevenet, P., Shen, Y., Maupetit, J., Guyon, F., Derreumaux, P. & Tuffery, P. (2012). PEP-FOLD: An Updated De Novo Structure Prediction Server for Both Linear and Disulfide Bonded Cyclic Peptides. *Nucleic Acids Research*; 40; 288-293.
- Veeraragavan, V., Narayanaswamy, R. & Chidambaram, R. (2017). Predicting the Biodegradability Nature of Imidazole and Its Derivatives by Modulating Two Histidine Degradation Enzymes (Urocanase and Formiminoglutamase) Activities. *Asian Journal Pharmaceutical and Clinical Research*; 10; 383-386.
- Whyte, S. K. (2007). The Innate Immune Response of Finfish – A Review of Current Knowledge. *Fish and Shellfish Immunology*; 23; 1127-1151.
- Yoshida, H., Kawai, F., Obayashi, E., Akashi, S., Roper, D. I., Tame, J. R. H. & Park, S. Y. (2012) Crystal Structures of Penicillin-Binding Protein 3 (PBP3) from Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in the Apo and Cefotaxime-Bound Forms. *Journal of Molecular Biology*; 423; 351-364.