

repository.ub.ac.id

**Studi *In-Silico* Perbandingan Reaksi Metilasi pada Protein
EEF1A1 dan Gen *EEF1A1* Menggunakan Katalis
METTL10**

SKRIPSI

Oleh:
BRENDA SAMPURNO PUTRI
145090207111012



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

UNIVERSITAS
BRAWIJAYA





repository.ub.ac.id

**Studi *In-Silico* Perbandingan Reaksi Metilasi pada Protein
EEF1A1 dan Gen *EEF1A1* Menggunakan Katalis
METTL10**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana sains dalam bidang Kimia

Oleh:
BRENDA SAMPURNO PUTRI
145090207111012



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

UNIVERSITAS
BRAWIJAYA



LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Studi *In-Silico* Perbandingan Reaksi Metilasi pada Protein
EEF1A1 dan Gen *EEF1A1* Menggunakan Katalis METTL10**

Oleh:
BRENDA SAMPURNO PUTRI
145090207111012

Setelah diseminarkan di depan Majelis Penguji
pada tanggal **17 JUL 2018**
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Dr. Aric Srihardyastutie, S.Si., M.Kes
NIP. 197203262002122001

Pembimbing II

Dr. Edi Priyo Utomo, MS
NIP. 195712271986031003



Mengetahui, Ketua
Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Masruri, S.Si., M.Si, Ph.D.
NIP. 197310202002121001



LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Brenda Sampurno Putri

NIM : 145090207111012

Jurusan : Kimia

Penulis Skripsi Berjudul :

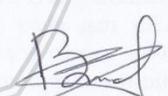
Studi *In-Silico* Perbandingan Reaksi Metilasi pada Protein EEF1A1 dan Gen *EEF1A1* Menggunakan Katalis METTL10

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang tercantum di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila di kemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Juli 2018
Yang menyatakan



Brenda Sampurno Putri
145090207111012

Studi *In-Silico* Perbandingan Reaksi Metilasi pada Protein EEF1A1 dan Gen *EEF1A1* Menggunakan Katalis METTL10

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui proses metilasi pada *sequence* protein EEF1A1 dan gen *EEF1A1* serta mengetahui pengaruh reaksi metilasi yang terjadi pada protein EEF1A1 dan gen *EEF1A1* dengan menggunakan katalis METTL10 secara *in-silico*. Proses analisis *in-silico* dengan metode *molecular docking* dilakukan dalam beberapa tahapan, yaitu 1) Penentuan protein EEF1A1, gen *EEF1A1*, METTL10, struktur model AdoMet, dan struktur model Fe₄S₄, 2) Preparasi FASTA protein EEF1A1 dan METTL10, 3) Perlakuan metode *docking* pada protein EEF1A1 dan gen *EEF1A1*, dan 4) Analisis *molecular docking*: energi bebas Gibbs dan konstanta inhibisi. Hasil yang diperoleh dari penelitian ini berupa nilai energi bebas Gibbs (ΔG). Semakin kecil nilai ΔG maka ikatan antara reseptor dengan ligan akan semakin kuat dan stabil. Selain itu, proses metilasi juga semakin baik jika nilai ΔG kecil ($\Delta G < 0$). Nilai ΔG yang didapatkan dari reaksi metilasi pada protein EEF1A1 menggunakan katalis METTL10 sebesar -0,08 kcal/mol, sedangkan nilai ΔG yang didapatkan dari reaksi metilasi pada gen *EEF1A1* menggunakan katalis METTL10 sebesar -0,82 kcal/mol. Reaksi metilasi lebih cenderung pada gen *EEF1A1*, karena nilai ΔG pada gen *EEF1A1* khususnya pada basa nitrogen timin lebih kecil jika dibandingkan dengan nilai ΔG pada protein EEF1A1. Metilasi pada gen *EEF1A1* menyebabkan terjadinya mutasi pada gen *EEF1A1*, sehingga protein EEF1A1 yang berperan dalam proses apoptosis menjadi terganggu, maka sel akan cenderung mengalami proliferasi terus-menerus. Oleh karena itu proses metilasi pada gen *EEF1A1* yang dikatalis oleh METTL10 dapat menguatkan bahwa gen *EEF1A1* dan protein EEF1A1 terkait dengan pertumbuhan sel kanker.

Kata kunci: EEF1A1, METTL10, *in-silico*, *molecular docking*, metilasi, energi bebas Gibbs

In-Silico Study Comparison of Methyl Reaction on EEF1A1 Protein and *EEF1A1* Genes Using METTL10 Catalyst

ABSTRACT

This research was conducted with purpose to determine the process of methylation in EEF1A1 protein sequence and *EEF1A1* gene and to know the effect of methylation reaction occurring on EEF1A1 protein and *EEF1A1* gene by using METTL10 catalyst *in-silico*. The process of *in-silico* analysis with molecular docking method is done in several steps 1) Determination of EEF1A1 protein, *EEF1A1* gene, METTL10, AdoMet model structure, and Fe₄S₄ model structure, 2) Preparation FASTA of EEF1A1 and METTL10 proteins, 3) Treatment of docking method on EEF1A1 protein and *EEF1A1* gene, and 4) Molecular docking analysis: Gibbs free energy and inhibition constant. The result of this research is Gibbs free energy (ΔG). The smaller the value of ΔG the bond between the receptor and the ligand will be stronger and more stable. In addition, the methylation process is also better if the value of ΔG is small ($\Delta G < 0$). The ΔG values obtained from the methylation reaction of the EEF1A1 protein used METTL10 catalysts of -0.08 kcal/mol, while the ΔG values obtained from the methylation reaction in the *EEF1A1* gene used METTL10 catalysts of -0.82 kcal/mol. The methylation reaction is more likely in the *EEF1A1* gene, since the value of ΔG in the *EEF1A1* gene is smaller when compared to the ΔG value of EEF1A1 protein. The methylation reaction is more likely in the *EEF1A1* gene, since the value of ΔG in the *EEF1A1* gene especially on the thymine nitrogen base is less than the ΔG value of EEF1A1 protein. Methylation of the *EEF1A1* gene causes mutations in the *EEF1A1* gene, so EEF1A1 proteins that plays a role in apoptosis process becomes disrupted, then the cells will tend to experience continuous proliferation. Therefore, the methylation process in *EEF1A1* gene catalyzed by METTL10 can confirm that EEF1A1 protein and *EEF1A1* gene are associated with the growth of cancer cells.

Keywords: EEF1A1, METTL10, *in-silico*, molecular docking, methylation, Gibbs free energy

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah S.W.T berkat rahmat, hidayah, dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul **Studi *In-Silico* Perbandingan Reaksi Metilasi pada Protein EEF1A1 dan Gen *EEF1A1* Menggunakan Katalis METTL10** dapat tersusun dan terselesaikan dengan baik. Penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah membantu penulis untuk menyelesaikan skripsi ini. Ucapan terimakasih ditujukan kepada:

1. Ibu Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si., M.Kes selaku pembimbing I dan Bapak Dr. Edi Priyo Utomo, MS selaku Pembimbing II yang telah banyak memberikan bimbingan, saran, dan perhatian yang diberikan selama penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Dr. Sasangka Prasetyawan, MS selaku dosen penguji seminar proposal dan kemajuan yang telah memberikan saran.
3. Bapak Masruri, S.Si, M.Si, Ph.D, selaku Ketua Jurusan Kimia dan segenap staf pengajar Jurusan Kimia atas semua bimbingan, bantuan dan ilmu yang telah diberikan.
4. Kedua orang tua penulis serta segenap keluarga besar atas segala dukungan dan doa yang diberikan dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Grace Aritonang, Iffatul Fitriyah, Agustyan Elvry Pranata, dan Kurnia Sari selaku teman yang selalu memberi semangat, saran, hiburan, dan doa dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Teman-teman Kimia angkatan 2014 yang telah memberi dukungan doa selama proses penulisan skripsi.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran guna perbaikan dan penyempurnaan sehingga dapat bermanfaat bagi pihak yang membaca.

Malang, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG	xii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Batasan Masalah	2
1.4 Tujuan Penelitian	2
1.5 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Protein	5
2.2 Metilasi Protein	6
2.3 Gen	7
2.4 Metilasi DNA	7
2.5 EEF1A1	9
2.6 METTL10	10
2.7 <i>S-Adenosyl-L-Methionine</i>	10
2.8 Fe ₄ S ₄	11
2.9 Pemodelan <i>In-Silico</i>	11
2.10 <i>Molecular Docking</i>	11
2.11 <i>AutoDock</i>	12
2.12 <i>SwarmDock</i>	13
BAB III METODE PENELITIAN	15
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	15
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	15
3.2.1 Alat Penelitian	15
3.2.2 Bahan Penelitian	15
3.3 Tahapan Penelitian	15
3.4 Prosedur Penelitian	16



3.4.1	Penentuan Protein EEF1A1, Gen <i>EEF1A1</i> , METTL10, Struktur Model Adomet, dan Struktur Model Fe ₄ S ₄	16
3.4.2	Preparasi FASTA Protein EEF1A1 dan METTL10	16
3.4.3	Perlakuan Metode <i>Docking</i> Protein EEF1A1 dan Gen <i>EEF1A1</i>	17
3.4.3.1	<i>Docking</i> Protein EEF1A1	17
3.4.3.2	<i>Docking</i> Gen <i>EEF1A1</i>	17
3.4.4	Analisis Interaksi Antara Adomet dengan Fe ₄ S ₄	17
3.4.5	Analisis <i>Molecular Docking</i> : Energi Bebas Gibbs dan Konstanta Inhibisi	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		19
4.1	Analisis <i>In-Silico</i> pada Protein EEF1A1 dan METTL10	19
4.2	<i>Docking</i> pada Protein EEF1A1 dan Gen <i>EEF1A1</i>	20
4.3	Analisis Data Hasil <i>Docking</i> Protein EEF1A1	22
4.4	Analisis Data Hasil <i>Docking</i> Gen	23
4.5	Interaksi Fe ₄ S ₄ dengan AdoMet	25
4.6	Perbandingan Metilasi Protein EEF1A1 dan Metilasi Gen <i>EEF1A1</i>	26
BAB V PENUTUP		27
5.1	Kesimpulan	27
5.2	Saran	27
DAFTAR PUSTAKA		29
LAMPIRAN		35

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur asam amino	6
Gambar 2.2	Metilasi CpG <i>island</i> di daerah promotor gen yang ditandai dengan tekanan ekspresi gen	8
Gambar 2.3	Biosintesis AdoMet	11
Gambar 4.1	Struktur 3D EEF1A1	19
Gambar 4.2	Struktur 3D METTL10	19
Gambar 4.3	Mekanisme substrat radikal metil terhadap adenin	25
Gambar 4.4	Mekanisme substrat radikal metil terhadap adenin	25



DAFTAR TABEL

Tabel 4.1	Tahapan <i>docking</i> protein EEF1A1	20
------------------	---------------------------------------	----

Tabel 4.2	Tahapan <i>docking</i> gen <i>EEF1A1</i> tidak termetilasi	21
Tabel 4.3	Tahapan <i>docking</i> gen <i>EEF1A1</i> termetilasi	21
Tabel 4.4	Data hasil <i>docking</i> protein EEF1A1	22
Tabel 4.5	Data hasil <i>docking</i> gen <i>EEF1A1</i> tidak termetilasi	23
Tabel 4.6	Data hasil <i>docking</i> gen <i>EEF1A1</i> termetilasi	23
Tabel 4.7	Jarak antara atom Fe ₄ S ₄ dengan atom AdoMet	26



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A	Diagram Alir Penelitian	35
Lampiran B	Mekanisme Terbentuknya Radikal Ado	35
Lampiran C	Sekuens	36



Lampiran D	Data Hasil <i>Docking</i>	36
Lampiran E	Interaksi Ligan dan Reseptor	39
Lampiran F	Jarak antara atom Fe ₄ S ₄ dengan atom AdoMet atau AdoHcy	45



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Simbol/singkatan	Keterangan
EEF1A1	Eukaryotic Elongation Factor 1 Alpha 1
METTL10	Methyltransferase Like Protein 10
CpG	-C-phosphate-G



DM	Diabetes Melitus
RNA	RiboNucleic Acid
DNA	DeoxyriboNucleic Acid
MBD	Methyl Binding Domain
tRNA	transfer RiboNucleic Acid
AdoMet	S-Adenosyl-L-Methionine
AdoHcy	S-Adenosyl-L-Homocysteine
ATP	Adenosin Trifosfat
MAT	Metionin Adenosil Transferase
ΔG	Energi bebas Gibbs
Ki	Konstanta inhibisi
Kkal/mol	Kilokalori per molekul
NCBI	National Center for Biotechnology Information
RCSB	Research Collaboratory for Structural Bioinformatics
PDB	Protein Data Bank
Da	Dalton
kcal/mol/K	Kilokalori per molekul per Kelvin
μM	micromolar
mM	millimolar
Å	Armstrong
Glu	Asam Glutamat
Asp	Asam Aspartat
Leu	Leusin
Val	Valin
Asn	Asparagin
Thr	Treonin
Lys	Lisin
Tyr	Tirosin
Gly	Glisin





BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

In-silico merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengekspresikan atau memodelkan suatu penelitian melalui simulasi pada perangkat lunak dengan menggunakan aplikasi yang sesuai. Teknik yang digunakan adalah dengan pemodelan molekul atau *docking* [5]. Metode *in-silico* dalam penelitian ini berperan untuk mengetahui proses metilasi yang paling baik terjadi pada protein EEF1A1 atau gen *EEF1A1*.

Metilasi adalah penambahan gugus metil pada basa sitosin yang mendahului basa guanin (CpG) pada urutan 5'-3' tanpa disertai perubahan susunan urutan basa. Protein dapat mengalami proses metilasi seperti yang terjadi pada residu arginin dan lisin. Metilasi arginin dikatalisis oleh metiltransferase protein arginin [12], sedangkan metilasi lisin dilakukan oleh metiltransferase protein lisin dari kelompok enzim [13]. Gen juga bisa mengalami proses metilasi, yaitu dengan cara penambahan gugus metil pada basa sitosin [21]. Jika suatu gen mengalami mutasi ataupun perubahan dalam sekuens basa nitrogennya, maka protein yang dikode tidak akan bisa melaksanakan fungsi normalnya dan mengakibatkan suatu kelainan genetik [19].

Reaksi metilasi protein dan gen pada penelitian ini menggunakan katalis protein METTL10, karena protein METTL10 dapat mengkatalis metilasi faktor elongasi 1-alpha (EEF1A1) pada residu lisin [8]. Suatu penelitian menunjukkan bahwa salah satu reseptor yang memenuhi syarat dari METTL10 adalah reseptor EEF1A1, di mana reseptor ini memiliki peran penting terhadap kanker terutama pada pankreas secara fisiologis dan diantara interaksi metilasi yang terjadi pada residu lisin dari reseptor-reseptor METTL10, EEF1A1 memiliki interaksi residu lisin dengan penyimpangan terkecil, sehingga METTL10 dapat digunakan untuk mengkatalis protein EEF1A1 [31]. Reaksi metilasi ini bisa melalui proses dengan baik jika diperoleh nilai energi bebas Gibbs yang rendah. Nilai energi bebas Gibbs bisa diperoleh dari teknik *docking*. Teknik *docking* merupakan proses pemodelan suatu molekul dalam

kompleks interaksi melalui *software* ataupun *web server* yang digunakan untuk mengetahui interaksi ligan dan reseptor [1].

Penelitian ini akan mempelajari tentang reaksi metilasi pada protein *EEF1A1* dan gen *EEF1A1* menggunakan katalis *METTL10* dengan cara studi *in-silico*. Hasil penelitian ini akan menunjukkan reaksi metilasi yang paling baik terjadi pada protein atau gen *EEF1A1* dengan cara membandingkan nilai energi bebas Gibbs yang diperoleh dari proses *docking*.

1.2 Perumusan Masalah

Perumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Bagaimanakah proses metilasi pada *sequence* protein *EEF1A1*.
2. Bagaimanakah proses metilasi pada gen *EEF1A1*.
3. Bagaimana pengaruh dari reaksi metilasi yang terjadi pada protein *EEF1A1* dengan menggunakan katalis *METTL10* secara *in-silico*.
4. Bagaimana pengaruh dari reaksi metilasi yang terjadi pada gen *EEF1A1* dengan menggunakan katalis *METTL10* secara *in-silico*.

1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

1. Katalis yang digunakan adalah *METTL10*.
2. Gugus samping R yang dapat disisipi oleh gugus CH_3 .
3. Analisis hasil *in-silico* terbaik dengan membandingkan hasil energi yang didapatkan dari sekuens protein *EEF1A1* dan gen *EEF1A1* menggunakan teknik *docking*.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui proses metilasi pada *sequence* protein *EEF1A1*.
2. Mengetahui proses metilasi pada gen *EEF1A1*.
3. Mengetahui pengaruh reaksi metilasi yang terjadi pada protein *EEF1A1* dengan menggunakan katalis *METTL10* secara *in-silico*.
4. Mengetahui pengaruh reaksi metilasi yang terjadi pada gen *EEF1A1* dengan menggunakan katalis *METTL10* secara *in-silico*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin didapatkan dari penelitian ini diharapkan dapat menjelaskan kaitan antara reaksi metilasi yang terjadi pada tingkat protein maupun gen *EEF1A1* dengan perubahan fungsinya, sehingga akan dapat memperkuat dugaan bahwa overekspresi METTL10 pada penderita DM tipe 2 merupakan marker awal terjadinya kanker pankreas.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

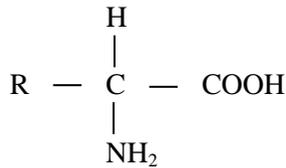
2.1 Protein

Protein sangat penting untuk proses biologis. Protein berfungsi untuk mengkatalisis dan mengatur reaksi biokimia, mengangkut molekul kimia, dan mengkonversi fotosintesis cahaya ke pertumbuhan. Bentuk dasar dari struktur protein seperti kulit, rambut, dan tendon. Fungsi protein dapat dipahami dari segi strukturnya. Struktur tiga dimensi protein erat terkait dengan fungsi biologisnya. Protein yang melakukan fungsi serupa cenderung menunjukkan tingkat struktur homologi yang signifikan [28,29].

Protein berkonjugasi dengan makromolekul atau mikromolekul seperti lipid, polisakarida, dan fosfat. Protein terkonjugasi yang dikenal antara lain nukleoprotein, fosfoprotein, metaloprotein, lipoprotein, flavoprotein, dan glikoprotein. Protein yang diperlukan organisme dapat diklasifikasikan menjadi dua golongan utama, yaitu protein sederhana dan protein terkonjugasi. Protein sederhana adalah protein yang apabila terhidrolisis hanya menghasilkan asam amino, sedangkan protein terkonjugasi adalah protein yang dalam hidrolisis tidak hanya menghasilkan asam amino, tetapi menghasilkan juga komponen organik ataupun komponen anorganik, yang disebut gugus *prosthetic* [15].

Protein dapat dibedakan berdasarkan pada jenis ikatan peptida antar molekul asam amino, yaitu protein primer, protein sekunder, protein tersier, dan protein kuartener. Protein primer merupakan polimer asam amino yang berbentuk rantai panjang, terdapat dalam sel hewan antara lain sebagai kolagen dan elastin. Protein sekunder adalah polimer asam amino rantai polipeptida yang membentuk struktur heliks seperti keratin yang terdapat dalam rambut, tanduk, dan wool. Protein tersier adalah polimer asam amino dalam bentuk globuler, seperti yang terdapat dalam enzim, hormone, dan protein pembawa oksigen [15,16].

Secara kimia, asam amino merupakan asam karboksilat dengan gugus amino $-NH_2$ pada kedudukan α , yang dapat dituliskan sebagai berikut:



Gambar 2.1 Struktur asam amino [15]

Berdasarkan polaritas gugus -R, asam amino dibedakan menjadi 4 golongan yaitu (1) asam amino dengan gugus -R yang bersifat nonpolar, seperti alanin, leusin, isoleusin, valin, prolin, fenilalanin, triptofan dan metionin, (2) asam amino dengan gugus -R polar tidak bermuatan, seperti serin, treonin, tirosin, asparagin, glutamin, sistein dan glisin, (3) asam amino dengan gugus -R bermuatan positif, seperti lisin, arginin dan histidin, dan (4) asam amino dengan gugus -R bermuatan negatif, seperti asam aspartat dan asam glutamate [17].

2.2 Metilasi Protein

Metilasi adalah salah satu modifikasi protein yang paling umum. Banyak prokariotik dan eukariotik berbeda yang dimetilasi protein, termasuk protein yang terlibat ترجمahan, protein ribosom, dan faktor penerjemahan. Metilasi protein adalah modifikasi yang umum terjadi pada residu arginin dan lisin. Metilasi arginin digunakan untuk mengatur pengolahan RNA, transkripsi gen, perbaikan kerusakan DNA, translokasi protein, dan transduksi sinyal. Metilasi lisin digunakan untuk mengatur fungsi histon dan terlibat dalam regulasi epigenetik transkripsi gen. Metilasi arginin dikatalisis oleh metiltransferase protein arginin [12] sedangkan metilasi lisin dilakukan oleh metiltransferase protein lisin dari kelompok enzim [13].

Metilasi protein lisin melibatkan penambahan satu, dua, atau tiga kelompok metil ke dalam amina epsilon lisin membentuk monometil (Kme1), dimetil (Kme2), atau trimetil (Kme3) lisin. Metilasi lisin memberikan peran dalam pengaturan pepadatan kromatin dan transkripsi gen [14].

2.3 Gen

Gen adalah segmen DNA dari DNA satu ke DNA lain. Molekul DNA terdapat gen, dalam hal ini gen merupakan urutan nukleotida tertentu dari DNA yang mengekspresikan sifat tertentu yang mengkode pembentukan suatu polipeptida, yang mengkode pembentukan suatu RNA atau yang dibutuhkan untuk transkripsi gen lain, sehingga sifat makhluk hidup ditentukan oleh gen. Jadi gen adalah bagian dari DNA yang mengekspresikan sifat tertentu [18].

Secara struktural gen adalah segmen DNA yang terangkai atau bersambung memanjang membentuk kromosom. Jadi gen adalah bagian dari kromosom. Gen adalah urutan DNA yang berasosiasi dengan protein histon membentuk nukleosom dan berkondensasi membentuk badan yang disebut kromosom [18].

Gen menumbuhkan serta mengatur berbagai jenis karakter dalam tubuh, karakter fisik (morfologi, anatomi, fisiologi) maupun karakter psikis. Menumbuhkan dan mengatur karakter adalah melalui proses sintesa protein dalam sel. Gen dianggap sebagai satu unit keturunan dan tidak dapat membelah, yang diwariskan dari generasi ke generasi-generasi berikutnya [18].

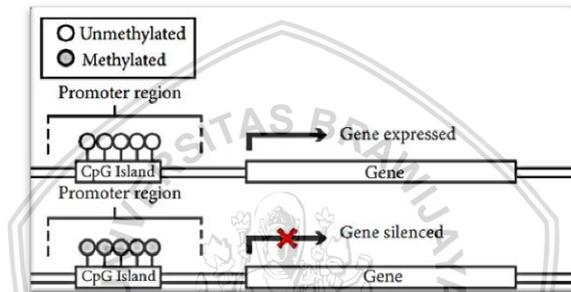
Gen merupakan unit fungsional yang berkaitan dengan hereditas yang memiliki sekuens basa tertentu [19]. Sekuens DNA merupakan proses atau teknik penentuan urutan basa nukleotida pada suatu molekul DNA. Sekuens DNA dapat dimanfaatkan untuk menentukan identitas maupun fungsi gen atau fragmen DNA lainnya dengan cara membandingkan sekuens sampel dengan sekuens DNA lain yang sudah diketahui. Metode sekuens dapat digunakan untuk mengidentifikasi sebuah mutasi gen dan dapat membandingkan gen homolog diantara spesies [20]. Ketika suatu gen mengalami mutasi ataupun perubahan dalam sekuens basa nitrogennya, maka protein yang dikode tidak akan bisa melaksanakan fungsi normalnya dan mengakibatkan suatu kelainan genetik [19].

2.4 Metilasi DNA

Metilasi DNA adalah penambahan gugus metil pada basa sitosin yang mendahului basa guanin (CpG) pada urutan 5'-3' tanpa disertai perubahan susunan urutan basa. Daerah promoter yang mengalami metilasi akan mengikat protein *Methyl CpG Binding*

Domain (MBD), sehingga mencegah ikatan dengan faktor transkripsi dan menyebabkan tidak terekspresinya suatu gen [21].

Lokasi CpG letaknya selalu berkelompok membentuk semacam pulau yang dikenal dengan CpG *island* dan mengandung sekitar 0,2 sampai beberapa kilobasa. CpG *island* secara signifikan ditemukan pada region promoter dalam suatu gen. Sementara hampir semua CpG terdistribusi pada sepanjang genom dalam keadaan termetilasi, namun CpG *island* biasanya berada dalam keadaan tidak termetilasi pada jaringan normal dewasa. Non metilasi CpG *island* berkaitan dengan adanya ekspresi dari gen yang terdekat [22].



Gambar 2.2 Metilasi CpG *island* di daerah promoter gen yang ditandai dengan tekanan ekspresi gen [27]

Proses metilasi DNA terjadi penambahan gugus metil dari sitosin pada posisi C5 pada dinukleotida CpG [23]. Dinukleotida ini tidak terdistribusi pada seluruh genom, sebagian besar berkelompok dan terentang pada daerah promoter dan sedikit pada ekson pertama dari hampir sebagian besar dari gen *house keeping* dan gen supresor tumor. Sebagian besar dinukleotida CpG berlokasi pada CpG *island* pada jaringan normal tidak mengalami metilasi sementara yang berlokasi diluar CpG *island* biasanya berada dalam kondisi termetilasi [25].

Metilasi DNA akan menghambat terjadinya transkripsi secara langsung dengan menghambat proses pengikatan faktor transkripsi spesifik dan melibatkan *Methyl CpG Binding Domain* dan hubungannya dengan penekanan pada aktifitas *remodelling* kromatin. Metilasi DNA merupakan mekanisme yang efektif dalam menghambat ekspresi gen pada vertebrata dan tanaman. Proses

hambatan ekspresi ini melalui 2 mekanisme yang utama. Mekanisme pertama yaitu melalui interferensi secara langsung pada residu metil dengan mengikat faktor transkripsi pada elemen DNA yang sudah dikenal yang menyebabkan hambatan ekspresi. Mekanisme kedua adalah melalui mekanisme tidak langsung yaitu melalui proses meiosis pada metilasi DNA tertentu [26].

2.5 EEF1A1

EEF1A1 adalah protein yang sangat melimpah dan merupakan 3% protein total seluler. Terdiri dari tiga domain struktural, yaitu domain-I (residu asam amino 1-240), domain-II (residu asam amino 241-336), dan domain-III (residu asam amino 337-443) [9].

EEF1A1 (*Eukaryotic Elongation Factor 1 Alpha 1*) merupakan salah satu komponen utama non-ribosom yang digunakan untuk perpanjangan rantai polipeptida dalam sel eukariotik. EEF1A1 berfungsi dalam meregulasi pergerakan sitoskeleton, berperan menurunkan protein dalam proteasom, mengirim atom protein, dan sel yang terkait dengan apoptosis serta kanker [10].

Selain itu EEF1A1 juga berperan dalam menyampaikan semua aminoasil-tRNA ke ribosom, selain dari inisiator dan tRNA selenosistein. EEF1A1 termasuk faktor penerjemahan yang telah dianggap mempunyai fungsi paling banyak jika dibandingkan dengan protein lainnya. Pemahaman mekanistik fungsi non-kanonik dari EEF1A1 dapat menjelaskan banyak pertanyaan biologis yang penting, termasuk interaksi pembawa virus, organisasi sub selular dan integrasi jalur seluler utama [11].

Menurut sebuah penelitian, EEF1A1 berfungsi sebagai reseptor membran untuk sari anti-perekat fibronektin yang samar dan berkontribusi terhadap regulasi sel, termasuk anoikis, melalui modulasi negatif dari pusat sel. EEF1A1 dapat berinteraksi dengan beta1-integrin yang tidak aktif berfungsi dalam adhesi sel [32]. Regulasi yang menurun dari EEF1A1 secara spesifik dapat menyebabkan penuaan. Perubahan tingkat ekspresi EEF1A juga digunakan sebagai penanda untuk mendeteksi penuaan kanker seluler yang diinduksi oleh beragam perlakuan, seperti radiasi ionisasi [33].

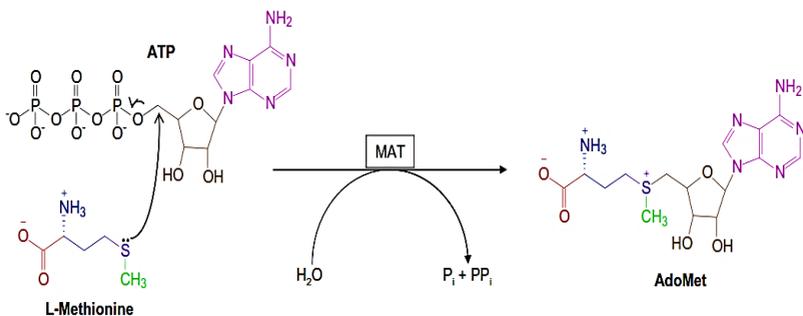
2.6 METTL10

METTL10 (*Methyltransferase Like Protein 10*) adalah protein asam amino yang termasuk dalam superfamili *methyltransferase* dan dikodekan oleh gen yang terdapat pada kromosom 10 membentuk sekitar 4,5% dari total DNA dalam sel dan dikodekan hampir 1.200 gen. Beberapa gen pengkode protein, termasuk protein yang mengkodekan untuk kemokin, cadherin, protein perbaikan eksisi, faktor respon awal pertumbuhan dan reseptor pertumbuhan fibroblas, berada pada 10 kromosom [7].

METTL10 merupakan suatu enzim yang mengkatalisis reaksi metilasi pada substrat *S-Adenosyl-L-Methionine* (AdoMet). Hasil metilasi substrat *S-adenosyl-L-methionine* menghasilkan produk *S-Adenosyl-L-Homocysteine* (AdoHcy) dan salah satu produk biomolekul termetilasi, yaitu diantaranya asam nukleat, protein, lipid, bahkan molekul kecil yang lain. Pada pankreas, METTL10 dapat mengkatalis metilasi faktor elongasi 1-alpha (EEF1A1) pada residu lisin [8].

2.7 *S-Adenosyl-L-Methionine*

S-Adenosyl-L-Methionine (AdoMet) adalah perantara biokimia yang berfungsi sebagai prekursor untuk metabolit bioaktif di semua organisme hidup dan sebagai donor metil utama dalam sistem mamalia. AdoMet disintesis dari L-metionin dan ATP oleh berbagai isoform enzim dan Metionin Adenosil Transferase (MAT) seperti pada **Gambar 2.3** [35]. AdoMet dapat digunakan sebagai radikal yang melakukan katalisis antara AdoMet dengan senyawa Fe_4S_4 melalui mekanisme yang terkait dengan radikal. Radikal AdoMet mengandung tiga residu sistein untuk membentuk gugus Fe_4S_4 , yang mengikat AdoMet dengan cara bidentate dan berfungsi sebagai donor elektron untuk membelah secara reduktif. Mekanisme terbentuknya radikal Ado dapat dilihat pada **Lampiran B** [36].



Gambar 2.3 Biosintesis AdoMet [35]

2.8 Fe₄S₄

Senyawa FeS merupakan senyawa kelas protein yang ditemukan di alam. Situs aktif FeS terdiri dari atom Fe dan sulfida anorganik yang dikoordinasikan dalam susunan simetris. Meskipun strukturnya relatif sederhana, gugus FeS memiliki peran penting dalam proses biologis dan enzimatik. Geometri FeS yang simetris menyimpulkan delokalisasi elektron kepadatan di sekitar gugus, yang merupakan aspek penting untuk stabilisasi elektronik intermediet redoks. Berbagai jenis gugus FeS, gugus Fe₄S₄ adalah yang paling melimpah di alam. Fe₄S₄ berfungsi dalam proses transfer elektron, penginderaan oksigen, regulasi gen, dan katalisis biologis. Gugus Fe₄S₄ juga berfungsi dalam reaksi enzimatik non-redoks dan redoks.

2.9 Pemodelan *In-Silico*

In-silico merupakan salah satu metode yang digunakan untuk mengekspresikan atau memodelkan suatu penelitian melalui simulasi pada perangkat lunak dengan menggunakan aplikasi yang sesuai. Teknik yang digunakan adalah dengan pemodelan molekul atau *docking*. *Docking* dilakukan untuk memodelkan penghambatan protein, seperti enzim ataupun reseptor. Hasil *docking* akan menghasilkan interaksi ligan dengan protein target dan menentukan afinitas interaksi ligan-protein [5].

2.10 *Molecular Docking*

Molecular docking merupakan proses pemodelan suatu molekul dalam kompleks sinteraksi melalui *software* ataupun *web server* yang digunakan untuk mengetahui interaksi ligan dan reseptor

yang berperan penting dalam berbagai proses biologis. *Molecular docking* dapat digunakan dalam berbagai pendekatan, seperti *rigid docking*, *semi flexible docking*, *blind docking*, dan *directed docking* [1]. Terdapat 2 aspek penting dalam *molecular docking*, yaitu fungsi *scoring* dan penggunaan algoritma. Fungsi *scoring* dapat memperkirakan afinitas ikatan dan penentuan posisi antara ligan dengan makromolekul [2].

Sistem *molecular docking* digunakan untuk pencarian dan identifikasi interaksi antara suatu makromolekul (reseptor) dengan molekul yang lebih kecil (ligan) yang memiliki energi bebas Gibbs (ΔG) yang rendah. Energi bebas Gibbs memberikan kekuatan dari ikatan antara reseptor dengan ligan. Interaksi reseptor dengan ligan yang mempunyai nilai energi bebas Gibbs (ΔG) rendah akan memiliki ikatan yang kuat. Interaksi reseptor dengan ligan dipengaruhi oleh konstanta inhibisi (K_i) [3]. K_i merupakan konstanta inhibisi yang menunjukkan nilai penghambatan dalam interaksi antara ligan dengan makromolekul. K_i mempunyai nilai yang berbanding lurus dengan nilai ΔG , sehingga jika nilai K_i rendah maka nilai ΔG juga akan rendah dan menyebabkan kekuatan ikatan pada interaksi antara makromolekul dengan ligan meningkat. Nilai *docking* antara ikatan yang terjadi pada ligan dengan reseptor dipengaruhi oleh energi elektrostatik, *Van der Waals*, dan energi solvasi [4].

2.11 AutoDock

Prinsip kerja dari *AutoDock* adalah menggunakan semi-empiris untuk mengevaluasi konformasi selama proses *docking*. Hasil *docking* yang baik ditandai dengan nilai konstanta inhibisi yang semakin kecil. Hal ini dikarenakan semakin kecil nilai konstanta inhibisi maka semakin kuat interaksi ligan dengan reseptor, sehingga senyawa sulit untuk terdisosiasi [6]. Secara eksperimental konstanta inhibisi (K_i) berhubungan langsung dengan energi bebas Gibbs (ΔG) sesuai persamaan sebagai berikut [3].

$$\Delta G = - RT \ln K_i \quad (2.1)$$

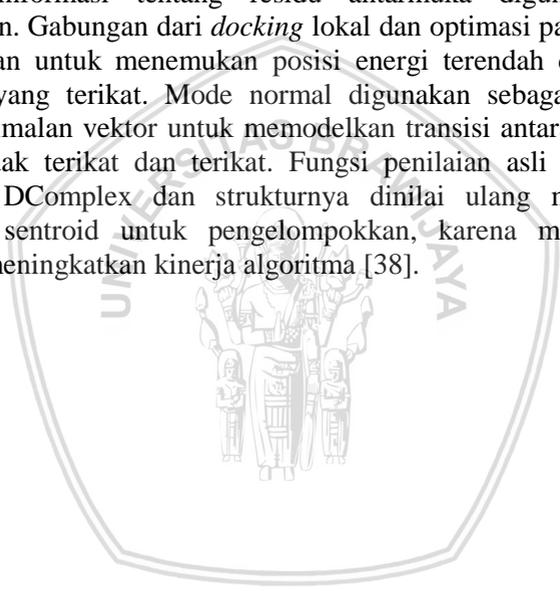
Keterangan:

ΔG = Energi bebas Gibbs (kkal/mol)

R = Konstanta gas ideal
T = Suhu (K)
Ki = Konstanta inhibisi

2.12 *SwarmDock*

SwarmDock merupakan *server* yang digunakan untuk memprediksi struktur kompleks protein-protein tiga dimensi. Struktur yang diunggah secara otomatis diperbaiki dan mudah digunakan. *Docking* dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu *full blind* ketika tidak diketahui residu antarmuka dan *restrained mode* ketika informasi tentang residu antarmuka digunakan untuk pencarian. Gabungan dari *docking* lokal dan optimasi partikel swarm digunakan untuk menemukan posisi energi terendah dan orientasi bagian yang terikat. Mode normal digunakan sebagai komponen pengoptimalan vektor untuk memodelkan transisi antara konformasi yang tidak terikat dan terikat. Fungsi penilaian asli telah diganti dengan DComplex dan strukturnya dinilai ulang menggunakan potensi sentroid untuk pengelompokan, karena modifikasi ini sangat meningkatkan kinerja algoritma [38].



BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian studi *in-silico* reaksi metilasi pada protein EEF1A1 dan gen *EEF1A1* menggunakan katalis METTL10 dilakukan di Institut Atsiri lantai 1, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya pada bulan Maret-Juni 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *Personal Computer* (PC) dengan spesifikasi *processor* inter core 2 duo 1,6 GHz dengan RAM 4.00 GB dan ditunjang oleh sistem operasi *Windows 10* 64-bit serta *Wireless Fidelity* (Wi-Fi).

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan pemodelan molekul yang digunakan dalam penelitian ini adalah protein METTL10 dan EEF1A1 yang diunduh dari NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), Fe_4S_4 diunduh dari RCSB (*Research Collaboratory for Structural Bioinformatics*), dan AdoMet diunduh dari chemspider. Gen yang digunakan yaitu adenin, guanin, sitosin, dan timin yang diunduh dari chemspider. Selain itu digunakan *Discovery Studio 2016*, *Discovery Studio 3.5*, dan *web server docking* berupa *AutoDockTools-1.5.6* dan *SwarmDock*.

3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan-tahapan penelitian ini meliputi:

1. Penentuan protein EEF1A1, gen *EEF1A1*, METTL10, struktur model AdoMet, dan struktur model Fe_4S_4
2. Preparasi FASTA protein EEF1A1 dan METTL10
3. Perlakuan metode *docking* pada protein EEF1A1 dan gen *EEF1A1*
4. Analisis interaksi antara AdoMet dengan Fe_4S_4
5. Analisis *molecular docking*: energi bebas Gibbs, konstanta inhibisi, dan entropi

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Penentuan Protein *EEF1A1*, Gen *EEF1A1*, *METTL10*, Struktur Model AdoMet, dan Struktur Model Fe_4S_4

Protein *EEF1A1* dan *METTL10* dapat ditentukan melalui situs internet www.ncbi.nlm.nih.gov dengan memilih organisme *Homo Sapiens*. Kemudian FASTA protein disalin untuk membentuk model struktur dari protein *EEF1A1* dan *METTL10*.

Penentuan struktur model AdoMet dilakukan dengan cara mengunduh format file berupa MOL yang didapatkan melalui situs internet <http://www.chemspider.com>. Kemudian file tersebut dibuka dengan Discovery Studio dan diubah kedalam format PDB (Protein Data Bank).

Penentuan struktur model Fe_4S_4 dilakukan dengan cara mengunduh 3CIW yang didapatkan melalui situs internet <https://www.rcsb.org> dengan format file berupa PDB. Kemudian file 3CIW dibuka dengan Discovery Studio untuk menghapus komponen yang tidak diperlukan, sehingga didapatkan model struktur Fe_4S_4 . Kemudian file disimpan dalam bentuk PDB.

Gen *EEF1A1* yang digunakan yaitu adenin, guanin, sitosin, dan timin. Gen tersebut didapatkan melalui situs internet <https://www.rcsb.org> dengan format file berupa PDB.

3.4.2 Preparasi FASTA Protein *EEF1A1* dan *METTL10*

Bentuk molekul protein *EEF1A1* dan *METTL10* yang diinginkan dapat diperoleh melalui FASTA *sequence* yang telah disalin pada situs www.ncbi.nlm.nih.gov dan dimasukkan ke dalam situs internet <https://swissmodel.expasy.org/>. Kemudian FASTA dimasukkan pada menu *modelling* kemudian dipilih *myWorkspace*. Setelah itu, FASTA yang telah disalin di lampirkan ke dalam kotak *Target Sequence* kemudian dipilih *Build Model*. Model protein yang dihasilkan dari FASTA akan terbentuk dan dipilih molekul protein dengan persentase kemiripan minimal 50%. Selanjutnya, model molekul diunduh dalam bentuk PDB agar dapat dilakukan *docking*.

3.4.3 Perlakuan Metode *Docking* Protein EEF1A1 dan Gen *EEF1A1*

3.4.3.1 *Docking* Protein EEF1A1

Data yang sudah diunduh dalam bentuk PDB kemudian di-*docking* dengan *AutoDock* dan *SwarmDock*. Metode *docking* *Swarmdock* dilakukan dengan memasukkan protein EEF1A1 dan METTL10 ke dalam situs internet *SwarmDock*. Protein EEF1A1 digunakan sebagai ligan, sedangkan METTL10 digunakan sebagai reseptor, sehingga dihasilkan kompleks METTL10-EEF1A1. Metode selanjutnya yaitu dilakukan *docking* dengan menggunakan *AutoDock* dengan membuat kompleks METTL10-EEF1A1-Fe₄S₄ pada *docking*-1, Fe₄S₄ sebagai ligan dan METTL10-EEF1A1 sebagai reseptor. Selanjutnya kompleks METTL10-EEF1A1-Fe₄S₄ di *docking* dengan AdoMet (sebagai ligan) serta AdoMet yang tidak terdapat metil (AdoHcy) sehingga didapatkan kompleks berupa METTL10-EEF1A1-Fe₄S₄-AdoMet serta kompleks METTL10-EEF1A1-Fe₄S₄-AdoHcy.

3.4.3.2 *Docking* Gen *EEF1A1*

Metode *docking* pada gen *EEF1A1* dilakukan dengan menggunakan hasil kompleks sebelumnya yaitu METTL10-EEF1A1-Fe₄S₄-AdoMet sebagai reseptor yang di *docking* dengan adenin, guanin, sitosin, dan timin yang tidak termetilasi sebagai ligan. Sedangkan METTL10-EEF1A1-Fe₄S₄-AdoHcy di *docking* dengan adenin, guanin, sitosin, dan timin yang termetilasi.

3.4.4 Analisis Interaksi Antara Fe₄S₄ dengan AdoMet atau AdoHcy

Interaksi antara Fe₄S₄ dengan AdoMet dilakukan dengan cara *docking* Fe₄S₄, AdoMet, dan METTL10 menggunakan *AutoDock*, kemudian dilihat jarak antara atom Fe₄S₄ dengan atom AdoMet menggunakan *Discovery Studio 3.5*. Selain itu juga dilakukan *docking* Fe₄S₄, AdoHcy, dan METTL10 menggunakan *AutoDock* untuk dilihat jarak antara atom Fe₄S₄ dengan atom AdoHcy menggunakan *Discovery Studio 3.5*. Jarak tersebut dianalisis untuk mengetahui apakah atom Fe₄S₄ dapat melakukan transfer elektron ke dalam atom AdoMet atau AdoHcy.

3.4.5 Analisis *Molecular Docking*: Energi Bebas Gibbs, Konstanta Inhibisi, dan Entropi

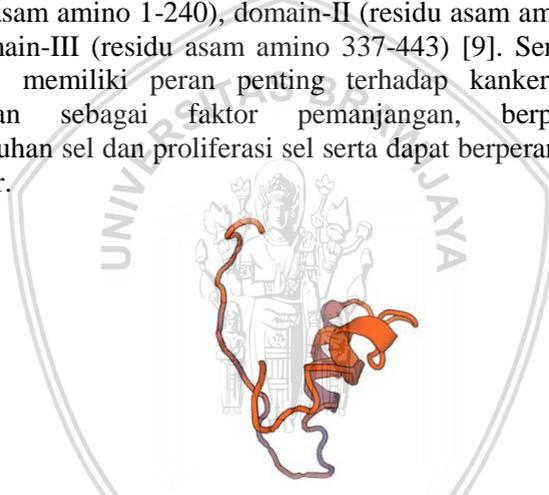
Hasil *molecular docking* didapatkan data berupa nilai energi bebas Gibbs (ΔG) menunjukkan kestabilan ikatan antara ligan dan reseptor, nilai konstanta inhibisi (K_i) menunjukkan afinitas interaksi suatu ligan dengan reseptor, dan nilai entropi (ΔS) menunjukkan ketidakteraturan dalam sistem.



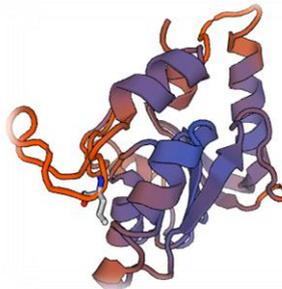
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

1.1 Analisis *In-Silico* pada Protein EEF1A1 dan METTL10

Pada penelitian ini digunakan senyawa protein EEF1A1 atau *Eukaryotic Elongation Factor 1 Alpha 1* yang memiliki sekuens yang dapat dilihat pada **Lampiran C.1**. Sekuens dari EEF1A1 dapat digunakan untuk membentuk struktur 3D, dengan cara memasukkan urutan sekuens ke dalam *Swiss Model*, sehingga terbentuk struktur 3D EEF1A1 yang dapat dilihat pada **Gambar 4.1**. Pada **Gambar 4.1** tersebut terlihat adanya 3 warna yang menggambarkan bahwa protein EEF1A1 memiliki 3 domain struktural yang terdiri dari domain-I (residu asam amino 1-240), domain-II (residu asam amino 241-336), dan domain-III (residu asam amino 337-443) [9]. Senyawa protein EEF1A1 memiliki peran penting terhadap kanker. Protein ini digunakan sebagai faktor pemanjangan, berperan dalam pertumbuhan sel dan proliferasi sel serta dapat berperan juga sebagai regulator.



Gambar 4.1 Struktur 3D EEF1A1



Gambar 4.2 Struktur 3D METTL10

Pada **Gambar 4.2** adalah struktur 3D METTL10 atau *Methyltransferase Like Protein 10* yang didapat dengan cara memasukkan urutan asam amino ke dalam *Swiss Model*. METTL10 merupakan protein dengan berat molekul 31,830 Da dengan urutan asam amino seperti pada **Lampiran C.2**. METTL10 memiliki jenis struktur tersier, di mana struktur dari METTL10 ini terjadi *foldng* atau pelipatan sehingga membentuk *helix* dan terdapat struktur linear yang berbentuk seperti tali. Terbentuknya struktur ini dikarenakan adanya gaya *Van Der Waals* dan interaksi antara gugus non polar sehingga terbentuknya *foldng*. Selain itu, terdapat ikatan hidrogen, ikatan disulfida, interaksi hidrofobik dan interaksi ionik yang didapatkan pada struktur METTL10 [31]. Pada pankreas, METTL10 dapat mengkatalis metilasi faktor elongasi 1-alpha (EEF1A1) pada residu lisin [8].

1.2 Docking pada Protein EEF1A1 dan Gen EEF1A1

Docking yang dilakukan pada tahapan ini yaitu dengan cara menambatkan ligan ke dalam reseptor dengan menggunakan *web server docking* berupa *SwarmDock* dan *AutoDock*. Tahapan *docking* ini akan memperlihatkan proses metilasi yang paling baik terjadi pada protein EEF1A1 atau gen *EEF1A1*. Tahapan *docking* tersebut dapat dilihat pada **Tabel 4.1**, **Tabel 4.2**, dan **Tabel 4.3**. Pada tahap *docking* ini digunakan Fe_4S_4 , karena Fe_4S_4 berfungsi sebagai kofaktor dalam reaksi metilasi yang dikatalisis oleh enzim METTL10. Selain itu, struktur Fe_4S_4 juga berfungsi untuk memfasilitasi transport elektron.

Tabel 4.1 Tahapan *docking* protein EEF1A1

Tahapan	Ligan	Reseptor	Hasil
1.	EEF1A1	METTL10	[METTL10-EEF1A1]
2.	Fe_4S_4	[METTL10-EEF1A1]	[METTL10-EEF1A1- Fe_4S_4]
3.	AdoMet	[METTL10-EEF1A1- Fe_4S_4]	[METTL10-EEF1A1- Fe_4S_4 -AdoMet]
4.	AdoHcy	[METTL10-EEF1A1- Fe_4S_4]	[METTL10EEF1A1- Fe_4S_4 -AdoHcy]

Tabel 4.2 Tahapan *docking* gen *EEF1A1* tidak termetilasi

Tahapan	Ligan	Reseptor	Hasil
1.	Adenin	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoMet]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoMet-Adenin]
2.	Guanin	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoMet]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoMet-Guanin]
3.	Sitosin	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoMet]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoMet-Sitosin]
4.	Timin	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoMet]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoMet-Timin]

Tabel 4.3 Tahapan *docking* gen *EEF1A1* termetilasi

Tahapan	Ligan	Reseptor	Hasil
1.	Adenin Termetilasi	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoHcy]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoHcy-Adenin termetilasi]
2.	Guanin Termetilasi	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoHcy]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoHcy-Guanin termetilasi]
3.	Sitosin Termetilasi	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoHcy]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoHcy-Sitosin termetilasi]
4.	Timin Termetilasi	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoHcy]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoHcy-Timin termetilasi]



1.3 Analisis Data Hasil *Docking* Protein EEF1A1

Berikut ini adalah data hasil *docking* protein EEF1A1 yang ada pada **Tabel 4.4**.

Tabel 4.4 Data hasil *docking* protein EEF1A1

	[METTL10-EEF1A1- Fe ₄ S ₄ -AdoHcy]	[METTL10-EEF1A1- Fe ₄ S ₄ -AdoMet]
Residu	Glu105	Glu105
	Asp106	Asp106
	Leu108	Asp16
	Val104	Asn109
	Glu142	-
ΔG (kcal/mol)	-4,15	-4,07
Ki	907,41 μM	1,03 mM
ΔS (kcal/mol/K)	4,58	4,58

Data hasil *docking* protein EEF1A1 secara lengkap dapat dilihat pada **Lampiran D.1**, sedangkan interaksi antara ligan dan reseptor dapat dilihat pada **Lampiran E.1 dan E.2**. Residu pada **Tabel 4.4** menunjukkan bahwa ligan AdoHcy dan AdoMet dapat berinteraksi dengan sejumlah residu tertentu. Pada **Tabel 4.4** terlihat bahwa kompleks METTL10-EEF1A1-Fe₄S₄-AdoHcy menghasilkan nilai ΔG -4,15 kcal/mol, dimana kompleks tersebut dijadikan sebagai produk. Sedangkan untuk kompleks METTL10-EEF1A1-Fe₄S₄-AdoMet menghasilkan nilai ΔG -4,07 kcal/mol, dimana kompleks tersebut dijadikan sebagai reaktan. Berdasarkan data tersebut maka diperoleh nilai ΔG_{reaksi} -0,08 kcal/mol. Energi bebas Gibbs (ΔG) memberikan kekuatan ikatan antara reseptor dengan ligan. Interaksi reseptor dengan ligan yang mempunyai nilai energi bebas Gibbs (ΔG) rendah akan memiliki ikatan yang kuat dan stabil. Interaksi reseptor dengan ligan dipengaruhi oleh konstanta inhibisi (Ki). Ki merupakan konstanta inhibisi yang menunjukkan nilai penghambatan dan afinitas pada interaksi suatu ligan dengan makromolekul. Ki mempunyai nilai yang berbanding lurus dengan nilai ΔG, sehingga jika nilai Ki rendah maka nilai ΔG juga akan rendah dan menyebabkan kekuatan ikatan pada interaksi antara makromolekul dengan ligan dengan meningkat.

Selain nilai ΔG dan K_i , pada *docking* dihasilkan nilai entropi (ΔS). Nilai entropi yang dihasilkan pada *docking* protein EEF1A1 yaitu sebesar 4,58 kcal/mol/K. Entropi menunjukkan suatu ketidakteraturan dalam sistem. Jika nilai entropi semakin tinggi maka sistem akan semakin tidak teratur. Sebaliknya jika nilai entropi semakin kecil maka sistem akan semakin teratur.

1.4 Analisis Data Hasil Docking Gen

Berikut ini adalah data hasil *docking* 4 basa nitrogen yang termetilasi dan tidak termetilasi yang ada pada **Tabel 4.5** dan **Tabel 4.6**.

Tabel 4.5 Data hasil *docking* gen *EEF1A1* tidak termetilasi

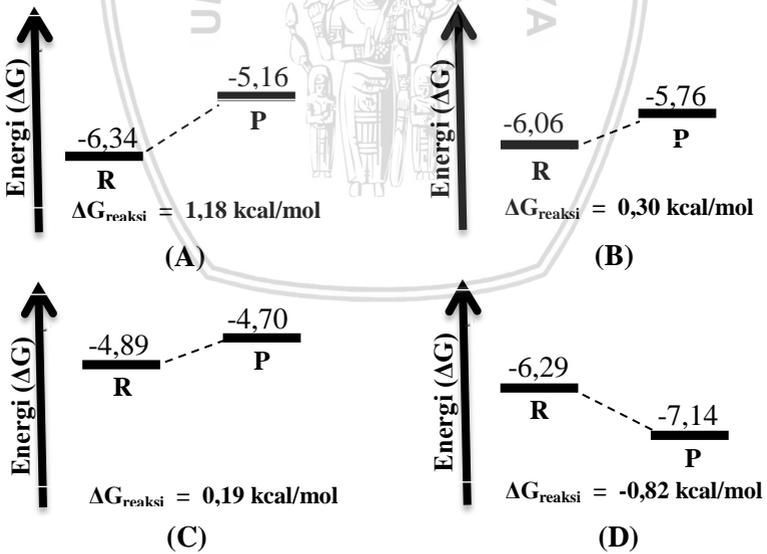
	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoMet - Adenin]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoMet - Guanin]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoMet - Sitosin]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoMet - Timin]
Residu	Asp79	Asp79	Asp79	Asp79
	Thr125	Thr125	Tyr12	Thr125
	-	Lys123	Lys123	-
ΔG (kcal/mol)	-6,34	-6,06	-4,89	-6,29
K_i (μM)	22,47	36,32	259,16	24,66
ΔS (kcal/mol/K)	4,58	4,58	4,58	4,58

Tabel 4.6 Data hasil *docking* gen *EEF1A1* termetilasi

	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoHcy-Adenin termetilasi]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoHcy-Guanin termetilasi]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoHcy-Sitosin termetilasi]	[METTL10-EEF1A1-Fe ₄ S ₄ -AdoHcy-Timin termetilasi]
Residu	Lys123	Asp79	Lys123	Asp79
	Thr125	-	Thr125	Tyr12
	Gly57	-	-	-
ΔG (kcal/mol)	-5,16	-5,76	-4,70	-7,14
K_i (μM)	165,61	59,98	360,71	6,10
ΔS (kcal/mol/K)	4,58	4,58	4,58	4,58



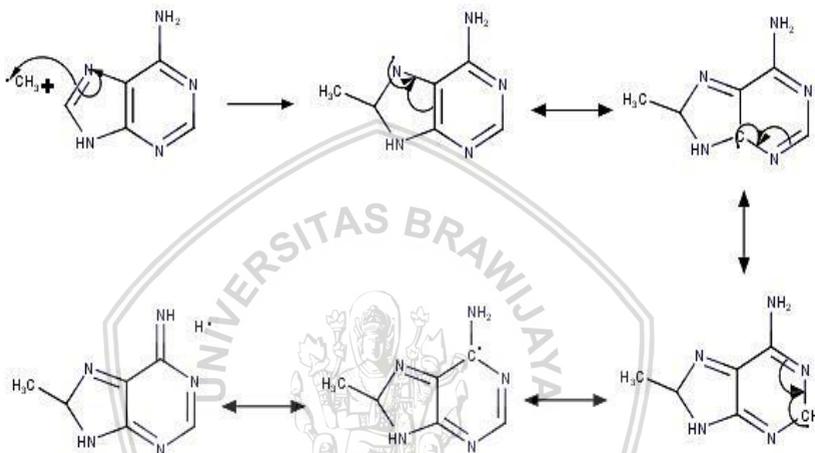
Data hasil *docking* gen *EEF1A1* tidak termetilasi dan termetilasi secara lengkap dapat dilihat pada **Lampiran D.2** dan **D.3**, sedangkan interaksi antara ligan dan reseptor dapat dilihat pada **Lampiran E.3-E.10**. Residu pada **Tabel 4.5** dan **4.6** menunjukkan bahwa masing-masing ligan dapat berinteraksi dengan sejumlah residu tertentu. Pada **Tabel 4.5** digunakan basa nitrogen tidak termetilasi yang dijadikan sebagai reaktan suatu reaksi, sedangkan pada **Tabel 4.6** digunakan basa nitrogen termetilasi yang dijadikan sebagai produk suatu reaksi. Jika nilai ΔG_{produk} dikurangi dengan nilai $\Delta G_{\text{reaktan}}$, maka akan menghasilkan nilai ΔG_{reaksi} . Semakin kecil nilai ΔG_{reaksi} maka reaksi akan semakin spontan. Pada **Grafik 4.1** memperlihatkan bahwa reaksi yang berjalan secara spontan yaitu pada basa nitrogen timin. Timin memiliki reaksi spontan karena nilai ΔG_{reaksi} yang dihasilkan yaitu $-0,82$ kcal/mol. Sedangkan pada basa nitrogen lainnya seperti adenin, guanin, dan sitosin memiliki nilai ΔG_{reaksi} yang lebih besar daripada basa nitrogen timin, sehingga adenin, guanin, dan sitosin tidak bisa melakukan reaksi spontan dengan baik.



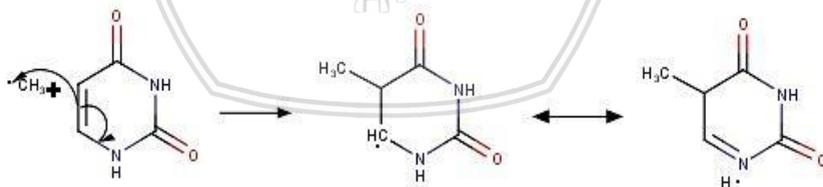
Grafik 4.1 Grafik spontanitas (A) Adenin, (B) Guanin, (C) Sitosin, dan (D) Timin



Mekanisme reaksi metilasi pada adenin dan timin dapat dilihat pada **Gambar 4.3** dan **4.4**. Mekanisme reaksi metilasi pada adenin menghasilkan 4 resonansi (delokalisasi), sedangkan pada timin menghasilkan 1 resonansi (delokalisasi). Sehingga yang kemungkinan besar mengalami metilasi adalah reaksi metilasi pada adenin, karena semakin banyak suatu reaksi mengalami resonansi maka reaksi tersebut akan semakin mudah untuk mengalami metilasi.



Gambar 4.3 Mekanisme substrat radikal metil terhadap adenin



Gambar 4.4 Mekanisme substrat radikal metil terhadap timin

1.5 Interaksi Fe_4S_4 dengan AdoMet atau AdoHcy

Fe_4S_4 , AdoMet, dan METTL10 di *docking* dengan menggunakan *AutoDock*. Fe_4S_4 , AdoHcy, dan METTL10 di *docking* juga dengan menggunakan *AutoDock*. Kemudian dilihat interaksi hasil *docking* dengan menggunakan *Discovery Studio 3.5*. Interaksi yang dilihat yaitu jarak antara atom Fe_4S_4 dengan atom AdoMet atau

atom AdoHcy yang dapat dilihat di **Lampiran F.1** dan **F.2**. Berikut ini adalah hasil jarak antara atom Fe_4S_4 dengan atom AdoHcy yaitu sebagai berikut.

Tabel 4.7 Jarak antara atom Fe_4S_4 dengan atom AdoHcy

Atom	R (Å)
S-H(CH ₃)	3,59
H-H(CH ₃)	3,79
H6-H	3,55
Fe1-H	3,54
H4-H	3,99

Pada sebuah jurnal dikatakan bahwa Fe_4S_4 dapat melakukan transfer elektron jika jarak antara atom Fe_4S_4 dengan atom AdoMet atau AdoHcy yaitu 3,0-3,8 Å [39]. Pada **Tabel 4.7** memperlihatkan bahwa jarak atom S-H(CH₃), H-H(CH₃), H6-H, Fe1-H dapat melakukan transfer elektron dari atom Fe_4S_4 ke atom AdoHcy karena nilai jarak yang dihasilkan antara 3,0-3,8 Å. Sedangkan pada atom H4 dari Fe_4S_4 tidak bisa melakukan transfer elektron ke atom H dari AdoHcy karena jarak yang dihasilkan >3,8 Å. Jarak antara atom Fe_4S_4 dengan atom AdoMet >3,8 Å, sehingga atom Fe_4S_4 tidak bisa melakukan transfer elektron ke dalam atom AdoMet.

4.6 Perbandingan Metilasi Protein EEF1A1 dan Metilasi Gen *EEF1A1*

Nilai ΔG terkecil yang terjadi pada metilasi protein EEF1A1 yaitu sebesar -0,08 kcal/mol. Sedangkan nilai ΔG terkecil yang terjadi pada metilasi gen *EEF1A1* yaitu sebesar -0,82 kcal/mol. Berdasarkan nilai ΔG ini dapat dilihat bahwa metilasi gen memiliki kecenderungan untuk melakukan proses metilasi yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan metilasi protein EEF1A1. Hal tersebut dikarenakan nilai ΔG pada metilasi protein EEF1A1 lebih tinggi jika dibandingkan dengan nilai ΔG pada metilasi gen *EEF1A1*. Oleh karena itu gen *EEF1A1* mengalami mutasi. Mutasi yang terjadi pada gen *EEF1A1* khususnya pada basa nitrogen timin.

BAB V PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Pada penelitian ini dilakukan analisis secara *in-silico* untuk membandingkan reaksi metilasi pada protein EEF1A1 dan gen *EEF1A1* menggunakan katalis METTL10 dengan metode *docking*. Hasil yang didapatkan dengan metode *docking* tersebut yaitu berupa nilai ΔG . Nilai ΔG yang didapatkan dari reaksi metilasi pada protein EEF1A1 menggunakan katalis METTL10 sebesar $-0,08$ kcal/mol, sedangkan nilai ΔG yang didapatkan dari reaksi metilasi pada gen *EEF1A1* menggunakan katalis METTL10 sebesar $-0,82$ kcal/mol. Reaksi metilasi lebih cenderung pada gen *EEF1A1*, karena nilai ΔG pada gen *EEF1A1* khususnya pada basa nitrogen timin lebih kecil jika dibandingkan dengan nilai ΔG pada protein EEF1A1.

Metilasi pada gen *EEF1A1* menyebabkan terjadinya mutasi pada gen *EEF1A1*. Mutasi pada gen dapat menyebabkan protein EEF1A1 tidak terekspresi. Sedangkan protein EEF1A1 merupakan protein yang berperan pada proses apoptosis yang terjadi pada sel. Apabila protein EEF1A1 tidak terekspresi maka fungsi protein EEF1A1 yang berperan dalam proses apoptosis menjadi terganggu. Apabila fungsi apoptosis dalam sel terganggu maka sel akan cenderung mengalami proliferasi terus-menerus. Oleh karena itu proses metilasi pada gen *EEF1A1* yang dikatalis oleh METTL10 dapat menguatkan bahwa gen *EEF1A1* dan protein EEF1A1 terkait dengan pertumbuhan sel kanker.

5.2 Saran

Penelitian ini masih membutuhkan studi lebih lanjut tentang reaksi metilasi pada protein EEF1A1 dan gen *EEF1A1* menggunakan katalis METTL10 untuk membuktikan bahwa reaksi metilasi yang paling tinggi terjadi pada gen *EEF1A1*.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Bonvin, A. M., (2006), **Flexible Protein-protein Docking**, *Current Opinion in Structural Biology*, 16(2), 194-200.
- [2] Funkhouser, T., 2005, **Protein-Ligand Docking Methods**, *Tesis*, Universitas Princeton, New Jersey.
- [3] Kartasmita, R. E., Herowati, R., Harmastuti, N., dan Gusdinar, T., (2009), **Docking Turunan Kuersetin Berdasarkan Studi Interaksi Flavonoid Terhadap Enzim Siklooksigenase-2**, *Journal Chemistry*, 9(2), 297-302.
- [4] Fontanesi, F., Ileana, C. S., dan Antoni B., (2008), **Cytochrome e Oxidase Biogenesis: New levels of Regulation**, *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, 60(9), 557-568.
- [5] Felicia, E. P. I., (2015), **Uji In Silico Senyawa Coumestrol Sebagai Ligan Reseptor Estrogen Alfa**, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, 66-69.
- [6] Morris, G. M., Goodsell, D. S., Pique, M. E., Lindstrom, W. L., Huey, R., Ferli, S., Hart, W., Halliday, S., Bellew, R., dan Olson, A. J., 2010, **User Guide AutoDock Version 4.2 Automated Docking of Flexible Ligands to Flexible Receptors**, The Scrip Research Institue MGL, California, USA.
- [7] Santa Cruz Biotechnology, 2018, **METTL10 (D-12): sc-138418**, <http://datasheets.scbt.com/sc-138418>, diakses pada tanggal 15 Februari 2018.
- [8] Srihardyastutie, A., 2015, **Eksplorasi Protein Marker Kerusakan Eksokrin Pankreas Pada DM Tipe 2: Suatu Studi Crosssectional**, *Disertasi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

- [9] Aileni, V. K., 2017, **Characterization of Human Lysine-specific Protein Methyltransferases in the METTL21 Subgroup**, *Disertasi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Oslo, Norway.
- [10] Novosylina, O., Jurewicz, E., Pydiura, N., Goral, A., Filipek, A., Negrutskii, B., dan El'skaya, A., (2015), **Translation Elongation Factor EEF1A1 is a Novel Partner of a Multifunctional Protein Sgt1**, *Elsevier B.V. dan Societe Française de Biochimie et Biologie Molculaire (SFBBM)*, 119, 137-145.
- [11] Mateyak, M. K., dan Kinzy, T. G., 2015, **EEF1A: Thinking Outside the Ribosome**, *Department of Molecular Genetics, Microbiology & Immunology UMDNJ Robert Wood Johnson Medical School*, <http://www.jbc.org/cgi/doi/10.1074/jbc.R110.113795>, diakses pada tanggal 15 Februari 2018.
- [12] Guo, A., Gu, H., Zhou, J., Mulhern, D., Wang, Y., Lee, K. A., Yang, V., Aguiar, M., Kornhauser, J., Jia, X., Ren, J., Beausoleil, S. A., Silva, J. C., Vemulapalli, V., Bedford, M. T., dan Comb, M. J., 2014, **Immunoaffinity Enrichment and Mass Spectrometry Analysis of Protein Methylation**, *American Society for Biochemistry and Molecular Biology*, 372–387, <http://www.mcponline.org>, diakses pada tanggal 15 Februari 2018.
- [13] Dillon, S. C., Zhang, X., Trievel, R. C., dan Cheng, X., (2005), **The SET-Domain Protein Superfamily: Protein Lysine Methyltransferases**, *Genome Biol*, 227.
- [14] Lee, D. Y., Teyssier, C., Strahl, B. D., dan Stallcup, M. R., (2005), **Role of Protein Methylation in Regulation of Transcription**, *Endocrine Rev*, 147–170.
- [15] Linder, M. C., 1992, **Biokimia Nutrisi dan Metabolisme**, (diterjemahkan oleh: Aminuddin dan Amwila A. Y),

Universitas Indonesia Press, Jakarta.

- [16] Lehninger, A. L., (1975), *Biochemistry The Molecular Basis of Cell Structure and Function*, 2nd, Worth Publisher Inc.
- [17] Bodanszky, M., (1993), *Chemistry of Peptide*, Springer-Verlag, Berlin.
- [18] Elya, N., (2015), *Belajar Genetika dengan Mudah dan Komprehensif*, Deepublish, Yogyakarta.
- [19] Misra, S., (2013), **Human Gene Therapy: a Brief Overview of the Genetic Revolution**, *Journal of the Association of Physicians of India*, 61, 41-47.
- [20] Lilian, F. C., Carrilho, E., dan Kist., (2002), **A Review of DNA Sequencing Techniques**, *Quarterly Reviews of Biophysics*, 35(2), 169-200.
- [21] Das, P. M., dan Singal, R., (2004), **DNA Methylation and Cancer**, *Journal Clin Oncol*, 22, 4632-40.
- [22] Harahap, W. A., (2014), **Metilasi DNA dan Peranannya Pada Kanker Payudara Sporadik**, *MKA*, 37(2), 21-29.
- [23] Bird, (2002), **A Methylation Patterns and Epigenetic Memory**, *Gene*, 16, 6-21.
- [24] Sismindari, Jenie, R. I., Rumiya, Meiyanto, E., (2017), *Biokimia Farmasi*, Grasindo dan Gadjah Mada University Press, Jakarta.
- [25] Esteller, M., (2002), **CpG Island Hypermethylation and Tumor Suppressor Genes: a Booming Present, a Brighter Future**, *Oncogene*, 21, 5427-5440.
- [26] Robertson, K. D., (2005), **DNA Methylation and Human Disease**, *Nature*, 6, 597-610.

- [27] Hegi, M. E., Sciuscio, D., Murat, A., Levivier, M., dan Stupp, R., (2009), **Epigenetic Deregulation of DNA Repair and Its Potential for Therapy**, *Clin Cancer Res*, 15, 5026-31.
- [28] Chan, H. S., dan Dill, K., (1993), **The Protein Folding Problem**, *Physics Today*, 24-32.
- [29] Voet, D., dan Voet, J., (1990), *Biochemistry*, John Wiley and Sons, USA.
- [30] Yuwono, T., (2008), *Biologi Molekular*, Erlangga, Jakarta.
- [31] Priyanto, A. J., 2017, **Analisis Pemodelan *In-Silico* Interaksi METTL10 (*Methyltransferase Like Protein 10*) dengan Reseptornya Sebagai Kandidat Marker Kanker Pankreas**, *Skripsi*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.
- [32] Itagaki, K., Naito, T., Iwakiri, R., Haga, M., Miura, S., Saito, Y., Owaki, T., Kamiya, S., Iyoda, T., Yajima, H., Iwashita, S., Ejiri, S., dan Fukai, F., (2012), **Eukaryotic Translation Elongation Factor 1A Induces Anoikis by Triggering Cell Detachment**, *Journal Biological Chemistry*, 287(19), 16037-46.
- [33] Byun, H. O., Han, N. K., Lee, H. J., Kim, K. B., Ko, Y. G., Yoon, G., Lee, Y. S., Hong, S. I., dan Lee, J. S., (2009), **Cathepsin D and Eukaryotic Translation Elongation Factor 1 as Promising Markers of Cellular Senescence**, *Cancer Res*, 69(11), 4638-47.
- [34] Morello, L. G., (2011), **The Human Nucleolar Protein FTSJ3 Associates with NIP7 and Functions in Pre-rRNA Processing**, *PLoS One*, 6(12).
- [35] Sufrin, J. R., Finckbeiner S., dan Oliver C. M., (2009), **Marine-Derived Metabolites of S-Adenosylmethionine as**

Templates for New Anti-Infectives, *Marine Drugs*, 7, 401-434.

- [36] Zhang, Q., dan Liu, W., (2011), **Complex Biotransformations Catalyzed by Radical S-Adenosylmethionine Enzymes**, *Journal Biological Chemistry*, 1-16.
- [37] Torchala, M., Moal, H., Chaleil, R. A. G., Recio, J. F., dan Bates, P. A., (2013), **Swarmdock: A Server for Flexible Protein-Protein Docking**, *Journal Bioinformatics*, 29(6), 807-809.
- [38] Nicolet, Y., Amara, P., Mouesca, J. M., Camps, J. C. F., (2009), **Unexpected Elctron Transfer Mechanism Upon AdoMet Cleavage in Radical SAM Proteins**, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(35), 14867-14871.

