

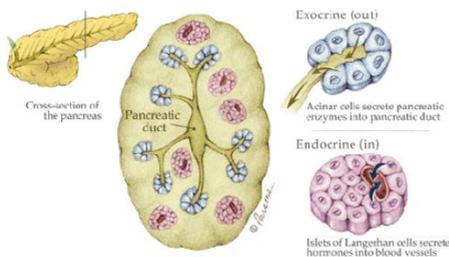
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pankreas

Pankreas merupakan salah satu organ dalam tubuh yang terletak pada daerah abdomen bagian dalam. Pankreas merupakan kelenjar pada organ tubuh yang memiliki bentuk bujur. Pankreas tersusun atas jaringan-jaringan glandular dan system saluran (*duct*) [6]. Pankreas terdiri atas 2 bagian, yaitu eksokrin (yang menyusun 95%-99% bagian dari kelenjar pankreas) dan endokrin (yang menyusun 2% bagian dari kelenjar pankreas). Kedua bagian ini memiliki fungsi yang berbeda-beda. Pada bagian eksokrin, sel-sel di bagian ini berfungsi untuk mengeluarkan enzim ke dalam saluran pencernaan, sedangkan sel-sel yang berada pada bagian endokrin berfungsi untuk mengeluarkan hormone ke dalam aliran darah [5].

Pada bagian endokrin, terdapat sekumpulan sel-sel yang disebut dengan Pulau-pulau Langherhans. Pulau-pulau Langerhans ini terdiri dari 4 macam sel, yaitu sel β (Beta), sel α (*alpha*), sel δ (delta), dan sel PP (*Pancreatic Polypeptic*). Sedangkan pada bagian eksokrin terdiri dari sel-sel acini dan sel-sel ductal [4,6].



Gambar 2.1 Bagian-bagian dari Pankreas [4]

Pada endokrin, sel-sel yang terdapat pada Pulau-pulau Langherhans berfungsi untuk mensekresikan hormone-hormon yang dapat digunakan pada regulasi metabolisme glukosa. Sel β (Beta) berfungsi untuk mensekresikan hormone insulin dan amylin yang merupakan hormone antagonis dari insulin, selain itu sel ini

merupakan sel yang membuat sebagian besar sel pada Pulau-pulau Langerhans. Sel α (*alpha*) berfungsi untuk mensekresikan glukagon. Sel δ (*delta*) berfungsi untuk mensekresikan somatostatin. Dan sel PP berfungsi untuk mensekresikan *Pancreatic Polypeptic* atau menghasilkan protein lainnya [5].

Pada eksokrin memiliki fungsi untuk menghasilkan ezim dan garam-garam yang digunakan pada proses pencernaan. Sel-sel ductal pada eksokrin berfungsi untuk mensekresikan bikarbonat dan air yang berfungsi untuk menetralkan *chyme* (asam lambung yang berfungsi untuk menghancurkan makanan) sehingga memberikan pH optimal sehingga dapat digunakan untuk ezim pencernaan di dalam duodenum. Sel-sel ductal ini distimulasi oleh hormone secretin. Sedangkan sel-sel acini berfungsi menghasilkan ezim-enzim pencernaan dan *zymogen* (zat tidak aktif yang dapat diubah menjadi enzim ketika diaktifkan oleh enzim lain), protein non enzim dan beberapa glikoprotein. Sel-sel acini ini secara garis besar berperan sebagai pelindung pankreas setelah enzim-enzim disekresikan [4].

2.2 Kanker Pankreas

Kanker pankreas merupakan tumor yang menyerang pada bagian saluran pencernaan, terutama pada bagian pankreas. Kanker pankreas dapat berasal dari jaringan pankreas eksokrin maupun endokrin. Tetapi secara umum, kanker pankreas lebih banyak berasal dari jaringan eksokrin pada *ductal adenocarcinoma* [2]. Kanker pankreas merupakan salah satu kanker yang berbahaya, di mana angka kematian yang disebabkan oleh kanker pankreas ini sangat tinggi. Kanker pankreas menduduki peringkat keempat dalam penyakit kanker yang menyebabkan kematian pada pria maupun wanita. Menurut American Cancer Society mengatakan bahwa setidaknya sekitar 213.000 orang yang meninggal dunia akibat kanker pankreas tiap tahunnya [7]. Kanker pankreas menyebabkan kematian sekitar 6500 per tahunnya di Inggris (*United Kingdom*) dan tidak bisa disembuhkan [8]. Sedangkan di Amerika tingkat kelangsungan hidup penderita kanker pankreas sangatlah kecil, di mana penduduk Amerika berkulit putih maupun keturunan Afrika-Amerika memiliki presentase hidup hanya sekitar 4% setelah terdiagnosis kanker pankreas. Hal yang sama ditemukan di Jepang di mana kanker pankreas merupakan penyakit kelima yang menyebabkan kematian di

Jepang, tetapi 70% penderita kanker pankreas di Jepang merupakan laki-laki. Angka presentase kelangsungan hidup dari kanker pankreas ini sangat kecil karena masih belum adanya teknologi atau cara untuk mendeteksi sejak dini terjadinya kanker pankreas [1].

Kanker pankreas terjadi karena menunjukkan ketidaknormalan pada DNA Genomik. Abnormalitas ini ditunjukkan dengan penyimpangan kromosom, perubahan/penyimpangan urutan *copy*, aktifnya mutase onkogen (gen yang berperan dalam mengaktifkan sel tumor), perubahan sekuen DNA pada Telomer, serta mutasi pada DNA mitokondria. Penyimpangan urutan *copy* terjadi karena terganggunya stabilitas kromosomal. Perubahan ini terjadi di mana kanker pankreas kehilangan gen pada kromosom 6, 12, 13, dan 18 tetapi mendapatkan gen pada kromosom 7 dan 20. Pemecahan kromosom dan penyusunan ulang kromosom paling sering terjadi di daerah yang melibatkan 1p, 1q, 3p, 6q, 7q, 11p, 17p, and 19q [2].

2.3 Diabetes Mellitus (DM) Tipe 2

Diabetes mellitus tipe 2 merupakan salah satu jenis diabetes yang bukan disebabkan oleh terganggunya regulasi metabolisme glukosa yang ditunjukkan tingginya kadar gula darah maupun bukan karena kerusakan/destruksi sel β . Diabetes mellitus tipe 2 disebabkan oleh faktor genetik yang terkait ketidakseimbangan sekresi insulin dan resistensi insulin dengan factor lingkungan meliputi, kurang olahraga, stress, obesitas, dan lain-lain. Sehingga dapat disimpulkan Diabetes Mellitus tipe 2 ini disebabkan karena kelainan metabolik karena resistensi insulin dan gangguan sekresi insulin. Hal ini akan menyebabkan meningkatnya lipolisis dari sel adiposa sehingga asam lemak yang tersirkulasi di dalam darah akan meningkat. Kemudian hal ini di respon oleh sel β untuk memproduksi insulin, tetapi karena adanya kelainan maka akan terjadi kelelahan pada sel β sehingga akan mengakibatkan hiperglikemia kronis [4].

Pada Diabetes Mellitus tipe 2 ini akan menunjukkan adanya insufficiency pada eksokrin pankreas. Insufficiency eksokrin pankreas terjadi karena inflamasi dan kerusakan pankreas (eksokrin pankreas) dengan dicirikan dengan meningkatnya kadar lipase dan amilase pada darah. Insufficiency eksokrin pankreas ini juga akan mempengaruhi perubahan morfologi pankreas (eksokrin pankreas) [4]. Kerusakan ini nanti akan menimbulkan komplikasi Diabetes Mellitus.

2.4 Marker

Marker adalah senyawa yang ditemukan dalam jumlah di atas normal atau dalam jumlah yang cukup banyak yang ada di dalam tubuh, secara umum ditemukan pada dalam darah, urin atau pada cairan tubuh yang lainnya yang spesifik. Sebuah marker akan timbul jikalau terdapat kanker tertentu di dalam tubuh dan sebagian besar dari marker merupakan protein. Fungsi dari marker adalah untuk mendiagnosa atau sebagai penanda kemungkinan adanya sel kanker yang tumbuh pada bagian tubuh tertentu. Marker sebuah kanker harus memiliki sifat yang larut di dalam air dan secara garis besar sifat dari marker hampir sama dengan sifat-sifat dari protein dikarenakan bentuk dari marker merupakan protein, seperti ukuran yang besar, berat molekul yang besar, dapat di hidrolisis oleh asam, alkali, maupun alkohol, dan lain-lain. Sedangkan secara bioaktivitas, marker dapat bekerja dengan proses metilasi pada protein lain yang diduga berperan dalam suatu kanker. Seperti pada METTL10 yang bekerja untuk metilasi pada protein Faktor Elongasi Alfa yang kemungkinan berperan dalam kanker. Proses metilasi dapat berperan dalam menghambat pertumbuhan sel kanker, di mana metilasi merupakan proses penambahan gugus metil pada substrat atau protein target. Jikalau proses metilasi ini terjadi pada protein yang berperan dalam sebuah kanker dengan protein marker, maka kemungkinan protein marker tersebut dapat diduga sebagai marker kanker [46].

2.5 METTL10

METTL10 atau disebut juga dengan *Methyltransferase Like-10* 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. S-adenosyl-L-homocysteine dihidrolisis sehingga menghasilkan Homocysteine dan Adenosine yang dikatalis oleh enzim S-Adenosylhomocysteine hydrolase. Homocysteine ini dapat dimetilasi kembali untuk membentuk metionin atau dikonversi kembali untuk membentuk cysteine. Untuk sekuens dari METTL10 yang terdapat pada **Lampiran 3**, ditunjukkan bahwa urutan sekuens ini digunakan untuk melihat hasil pemodelan yang membentuk METTL10 [4].

METTL10 jika dimetilasi lebih lanjut akan membentuk creatinine yang merupakan penanda terjadinya komplikasi Diabetes Mellitus yang diakibatkan oleh overekspresi dari eksokrin pankreas. Oleh sebab itu, METTL10 dapat diduga menjadi marker untuk kanker pankreas yang juga terjadi karena insufficiency eksokrin pankreas [4]. Pada pankreas, METTL10 dapat mengkatalis metilasi faktor elongasi 1-*alpha* (EEF1A) pada residu lisin. METTL10 pada UniProtKB dengan ID Q5JPI9 memiliki asam amino sekuens [46].

2.6 TEF1 dan TEF2

TEF1 maupun TEF2 merupakan singkatan dari *Translational elongation factor EF-1 alpha* yang memiliki peran dalam membantu pertumbuhan sel dan transformasi pertumbuhan sel. TEF1 dan TEF2 merupakan 2 buah gen cloning yang berfungsi untuk mengkode kromosom. TEF1 dan TEF2 pada awalnya merupakan gen yang ditranskripsikan, dan yang kemungkinan besar digunakan untuk protein indentik ataupun protein yang sama dari hibrida mRNA-DNA. Posisi dari TEF1 sendiri diketahui berada pada kromosom 2 dekat dengan Lisin (LYS2) sedangkan posisi untuk TEF2 sendiri masih belum diketahui [10].

2.7 SRP9

SRP atau *Signal Recognition Particle* merupakan sebuah ribonukleoprotein kompleks yang memegang peran penting sebagai perantara protein target spesifik terhadap membrane RE (Retikulum Endoplasma) kasar atau membrane plasma. Protein SRP sendiri tersusun atas 300 molekul nukleotida RNA (7s RNA) dan enam polipeptida, yaitu SRP9, 14, 19, 54, 68 and 72 yang diurutkan berdasarkan berat molekulnya. Tiap partikel diatur pada domain S dan Alu. Pada domain Alu terdiri dari protein SRP9 dan SRP14 yang berikatan pada SRP RNA sehingga akan memberikan fungsi "elongation arrest", di mana fungsi ini merupakan perlambatan sintesis protein pada proses translasi dan translokasi [11]. Sedangkan pada domain S berfungsi sebagai pembawa sisi aktif untuk singal peptide dan sebagai antarmuka interaksi SR. domain S terdiri dari protein SRP19, SRP54, SRP68, dan SRP72 yang berarti merupakan bagian utama dari SRP. SRP9 memiliki fungsi yang hampir sama dengan domain Alu yaitu sebagai faktor perlambat suatu aktivitas. SRP9 memiliki peran dalam memperlambat aktivitas in vitro dalam suatu organisme [12]. Untuk melihat sekuens dari SRP9 yang didapat dari UniProt ID: P49458 terdapat pada **Lampiran 4**.

2.8 METTL20

Salah satu protein yang ada diorganisme manusia (*Homo Sapien*) adalah METTL20 atau *Methyltransferase Like Protein 20*. METTL20 memiliki nama lain yaitu *Electron transfer flavoprotein beta subunit lysine methyltransferase (ETBKMT)* yang berfungsi sebagai *Protein-lysine methylation* yang secara selektif memetilasi flavoprotein ETFB di mitokondria dengan menambahkan tiga metil grup. Dengan demikian, kemungkinan dapat menurunkan kemampuan fungsi dari ETFB yaitu transfer elektron dari asetil KoA dehidrogenase ke rantai pernapasan utama pada mitokondria [13].

METTL20 ditemukan berikatan atau berkaitan dengan mitokondria, kemudian rekombinan METTL20 tersebut memetilasi satu protein yang terekstrak dari sel manusia. Dengan menggunakan metode purifikasi Metiltransferase (*MTase*), ditemukan bahwa pada β -subunit mitokondria terdapat *electron transfer flavoprotein (ETF β)* yang berfungsi sebagai susbtrat dari METTL20. Kemudian, METTL20 dapat bekerja secara special dalam memetilasi dua residu

lisin yang berdekatan, K200 dan K203, pada ETF β secara in vitro maupun pada dalam sel. Residu yang termetilasi oleh METTL20 ini akan mengalami sebagian overlap pada ETF β sehingga akan mengakibatkan penurunan kemampuan ETF β dalam transfer electron. Oleh sebab itu, METTL20 dapat dikatakan sebagai *Human KMT* yang pertama yang berada pada mitokondria, di mana dapat mengatur regulasi metabolisme seluler dengan cara memodulasi interaksi antara substrat ETF β dengan dehidrogenase [13]. Sekuens dari METTL20 pada UniProt ID: Q8IXQ9 dapat dilihat pada **Lampiran 5**.

2.9 METTL21A

METTL atau *Methyltransferase* merupakan protein yang berfungsi sebagai katalis dalam proses transfer grup metil oleh pendonor metil yaitu *S-Adenosylmethionine* (AdoMet) ke protein substrate di mana target utama dalam proses metilasi adalah pada residu lisin dan argenin. Salah satu jenis METTL adalah METTL21A atau yang disebut *Methyltransferase Like Protein 21A* merupakan protein yang bertanggung jawab dalam katalis transfer gugus metil pada residu lisin yang dapat menerima hingga tiga grup metil sekaligus (trimetilasi) secara selektif pada protein HSP70 [14].

Secara in vivo, METTL21A mengkatalis reaksi trimetilasi pada residu lisin di protein HSPA1 dan HSPA8, sedangkan secara in vitro, METTL21A mengkatalis reaksi metilasi pada residu Lisin561 di HSPA1, Lisin564 di HSPA2, Lisin585 di HSPA5, Lisin563 di HSPA6, Lisin561 di HSPA8. Semua jenis HSP ini merupakan keluarga dari HSP70. HSP atau *Heat Shock Protein* merupakan protein yang diproduksi oleh tubuh yang berfungsi untuk meningkatkan pemulihan sel akibat stres dengan cara mengkatalis proses pengumpulan protein ribosomal yang telah rusak. HSP digolongkan berdasarkan berat molekulnya, sehingga HSP70 adalah protein yang memiliki berat molekul 70 kDa atau yang disebut *Heat Shock Protein 70 kDa* [15]. Sekuens milik METTL21A pada UniProt ID: Q8WXB1 didapatkan pada **Lampiran 6**.

2.10 METTL21D

Protein yang memiliki fungsi sebagai *Methyltransferase* yang lainnya adalah METTL21D. METTL21D atau *Methyltransferase Like Protein 21D* merupakan protein yang berfungsi sebagai katalis dalam proses trimetilasi secara selektif pada gugus lisin³¹⁵ pada protein VCP atau p97. Ketika proses metilasi pada protein VCP oleh METTL21D terjadi akan mengakibatkan menurunnya aktifitas ATPase atau aktifitas enzim yang dapat mendekomposisi ATP menjadi ADP dan satu ion fosfat bebas. VCP atau *Valosin-containing protein* adalah sebuah protein yang esensial dan *highly conserved ATP (Adenosine Triphosphate) dependent chaperone* yang terimplikasi pada proses seluler pada eukariot, dan jika VCP bermutasi akan mengakibatkan penyakit neurodegenerative [16]. Sekuens dari METTL21D pada UniProt ID: Q9H867 didapatkan pada **Lampiran 7**.

2.11 ZNF468

ZNF atau *Zinc Finger Protein* merupakan salah satu protein yang memiliki metil⁷kelimpahan yang cukup banyak pada genom eukariotik. Fungsi dari protein ini bermacam-macam termasuk dapat sebagai protein pengenal DNA, pengemasan RNA, regulasi apoptosis, aktivasi transkripsional, proses '*protein folding*' dan '*protein assembly*', serta ikatan antar lemak. ZNF selain memiliki fungsi yang beragam, ZNF juga memiliki beragam struktur sama seperti fungsinya. Pada tiap struktur yang dimiliki oleh ZNF menyediakan berbagai macam informasi yang penting, seperti proses mekanisme dari DNA '*binding*' hingga informasi tentang fungsi ZNF pada regulasi transkripsi. ZNF468 merupakan *Zinc Finger Protein* yang berada pada posisi/urutan protein ke 468, di mana protein ini kemungkinan berfungsi dalam regulasi transkripsional [17]. Sekuens dari protein ZNF468 dengan UniProt ID: Q5VIY5 dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

2.12 DMAP1

DMAP atau *DNA Methyltransferase 1-associated Protein* merupakan sebuah protein yang terlibat dalam represi dan aktivasi pada proses transkripsi sebagai fungsinya. Interaksi antara DMAP dengan HDAC2 dapat menghasilkan sebuah mekanisme histon deasetilasi dalam heterokromatin yang diikuti dengan replikasi DNA, selain itu protein ini dapat berperan sebagai protein repressor secara

independent pada aktivitas histon deasetilase [18]. DMAP kemungkinan juga bekerja secara khusus dalam meningkatkan potensi represi yang dimediasi oleh protein DAXX (*Death associated protein 6*) pada reseptor Glukokortikoid yang membantu proses transkripsi. Glukokortikoid merupakan salah satu golongan hormon steroid yang berfungsi dalam memberi pengaruh dalam metabolisme nutrisi [19]. DMAP juga bekerja dengan komponen kompleks NuA4 Histone Asetiltransferase (HAT) yang terlibat dalam aktivasi transkripsi gen tertentu dengan asetilasi histon nukleosom H4 dan H2A. Modifikasi ini dapat mengubah interaksi antara nukleosom dengan DNA dan dapat mengembangkan interaksi pada histon yang telah termodifikasi dengan protein lain yang secara positif mengatur transkripsi. Kompleks yang terjadi ini kemungkinan diperlukan untuk aktivasi transkripsi yang terkait dengan induksi pertumbuhan onkogen dan proto-onkogen, penahan suppressor pada tumor yang dimediasi pada pertumbuhan dan penuaan secara replikatif, apoptosis, dan perbaikan DNA. NuA4 juga dapat berperan secara langsung dalam perbaikan DNA pada tempat yang terjadi kerusakan DNA [20]. Selain itu, DMAP juga berpartisipasi dalam lokalisasi nuklear URI1 dan meningkatkan aktivitas korepressor transkripsionalnya [21]. Urutan sekuens asam amino dari DMAPznf1 dengan UniProt ID: Q9NPF5 terlampirkan pada **Lampiran 9**.

2.13 METTL7B

METTL7B merupakan salah satu jenis protein yang memiliki fungsi untuk mengkatalis proses metilasi atau berperan sebagai protein *Methyltransferase*. Fungsi secara spesifik METTL7B masih belum diketahui secara detail, tetapi salah satu contoh fungsi METTL7B adalah bekerja sama dengan protein tumor suppressor RhoBTB1. Protein RhoBTB1 ini bekerja untuk mengatur ekspresi metiltransferase pada METTL7B dan juga bekerja untuk mengatur integritas kompleks golgi melalui METTL7B. RhoBTB1 mengatur ekspresi dari METTL7B agar mencegah terjadinya fragmentasi Golgi, jika kekurangan RhoBTB1 maka akan meningkatkan invansi sel kanker. Oleh sebab itu, diperlukan restorasi ekspresi dari RhoBTB1 agar dapat menyelamatkan morfologi Golgi dan akan menghambat invansi sel kanker. Melalui re-ekspresi dari METTL7B dengan berfungsi sebagai *methyltransferase*, morfologi dari Golgi dapat diselamatkan dan invansi sel kanker dapat dihambat. Tetapi, alasan

untuk mengapa METTL7B bekerja spesifik pada bagian Golgi masih belum diketahui [22]. Sekuens protein METTL7B dengan UniProt ID: Q6UX53 terlapir pada **Laampiran 10**.

2.14 EEF1A1

Peptida eukariotik 1 yang di mana memiliki tiga domain. EEF1A1 memiliki kemampuan untuk mengikat nukleotida guanin yang dalam bentuk ligan GTP (*Guanine Nucleotide Triphosphate*) dan dapat berintraksi dengan aminoasil tRNA untuk membawanya ke A-site dari ribosom selama proses biosintesis protein. A-site (A untuk aminoasil) merupakan tempat berikatan untuk molekul tRNA bermuatan selama proses sintesis protein, di mana A-site adalah tempat pertama tRNA berikatan selama proses sintesis protein yang kemudian dilanjutkan dengan P-site (P untuk peptidyl) dan E-site (E untuk Exit). Selain memiliki fungsi secara kanonik dalam sintesis protein, EEF1A1 juga memiliki cukup banyak fungsi non-kanonik seperti berperan dalam regulasi dinamika sitoskeletal dengan cara mengikat dan menggabungkan aktin dan mikrotubulus yang berikatan, degradasi protein, regulasi daur ulang reseptor Asetilkolin M4 muscarinic (protein yang berfungsi sebagai penghambat autoreseptor pada asetilkolin) dan perlindungan terhadap apoptosis [23]. Sekuens protein EEF1A1 dengan UniProt ID: P68104 dapat dilihat pada **Lampiran 11**.

2.15 TREX1

TREX1 atau *Three-prime repair exonuclease 1* merupakan protein yang berfungsi sebagai katalis dalam aktivitas DNA eksonuklease pada mayor seluler 3' → 5' yang mencerna DNA beruntai tunggal (ssDNA) dan DNA beruntai ganda (dsDNA) dengan ketidakcocokkan pada ujung 3'. Eksonuklease 3' → 5' memiliki peranan yang sangat penting dalam memperbaiki nukleotida terfragmentasi, nukleotida termodifikasi, nukleotida berpasangan yang salah, atau bahkan nukleotida yang normal untuk menghasilkan ujung 3' termini yang digunakan untuk proses transkripsi (*downstream*). Jika aktivitas eksonuklease 3' terganggu maka akan menyebabkan terganggunya kelangsungan hidup sel, dikarenakan sintesis DNA oleh 3' eksonuklease menentukan stabilitas mutagenesis dan genom dan sel yang kekurangan akan kemampuan ini akan meningkatkan terjadinya kanker [24].

Kemudian protein ini juga berperan untuk mencegah inisiasi autoimunitas pada sel intristik dengan cara bertindak dengan memetabolisme fragmen DNA dari retroelemen endogen. Jika tidak terdegradasi, fragmen DNA ini terakumulasi dalam sitosol dan mengaktifkan respon stimulasi DNA dan sinyal imun bawaan. TREX1 juga memiliki fungsi untuk mencegah rusaknya sensor protein, ataxia-telangiectasia mutated (ATM) yang berfungsi untuk mengirimkan sinyal jika DNA rusak, dengan cara memproses polinukleotida DNA beruntai tunggal (ssDNA) yang dihasilkan dari pengolahan replikasi DNA yang menyimpang. TREX1 memiliki fungsi untuk mengurangi oksidasi DNA yang tidak efisien, seperti yang dihasilkan pada produksi oksigen reaktif antimikroba atau pada penyerapan sinar UV [25]. Urutan Asam Amino dari TREX1 dengan UniProt ID: Q9NSU2 dapat dilihat pada **Lampiran 12**.

2.16 TREX2

TREX2 merupakan protein yang memiliki fungsi yang hampir serupa dengan TREX1, di mana secara garis besar TREX juga berperan dalam pemotongan nukleotida DNA pada ujung 3' yang dapat berpengaruh pada proses replikasi, rekombinasi, dan perbaikan DNA. Sehingga TREX1 dan TREX2 sanggup berfungsi pada peranan ini [26]. TREX2 merupakan eksonuklease 3'→5' ototonon non-prosesif, yang menunjukkan bahwa TREX2 dapat mempertahankan integritas genom. Selain itu juga TREX2 memiliki peran yang sangat penting selama proses metabolisme DNA dan proliferasi seluler [27].

Walaupun TREX1 dan TREX2 memiliki kesamaan, TREX2 lebih fokus pada eksonuklease untuk DNA beruntai ganda dengan ujung 3' yang salah berpasangan. Selain itu, TREX kemungkinan juga berperan dalam perbaikan DNA. TREX2 juga dapat berperan sebagai katalis aktivitas pembelahan eksonukleotik pada 3'→5' untuk menghasilkan fosfat nukleosida 5'-fosfat. TREX memiliki kemampuan sebagai kofaktor Mg^{2+} , di mana mengikat dua ion Mg^{2+} per subunit tetapi setiap ion magnesium yang kedua dapat berinteraksi hanya dengan satu residu saja. Jika terjadi pergantian dengan Mn^{2+} dapat menghasilkan aktivitas parsial. TREX2 dapat bekerja secara maksimal pada pH optimum, yaitu pada pH 7,5 – 8,0 [26]. Sekuens dari protein TREX2 dengan UniProt ID: Q9BQ50 terdapat pada **Lampiran 13**.

2.17 NIP7

NIP7 adalah salah satu dari sekian banyak protein faktor *trans-acting* yang dibutuhkan untuk biogenesis ribosom pada eukariotik, di mana NIP7 berinteraksi dengan partikel preribosomal yang baru timbul dan terdisosiasi saat setelah proses pematangan selesai dan dikeluarkan atau dieksport ke sitoplasma. Tetapi NIP7 memiliki kinerja yang berbeda pada tiap organisme, seperti NIP7 pada ragi bekerja pada sintesis subunit 60S sedangkan pada organisme manusia NIP7 terlibat pada biogenesis subunit 40S yang berperan sangat penting dalam sintesis protein [28]. Secara umum, protein NIP7 memiliki peranan dalam pemrosesan pra-RNA dan biosintesis ribosom. Ortolog NIP7 sangatlah dilindungi, dan protein ini memiliki sekitar 160-180 residu asam amino dan terdapat dua bentuk domain dengan masing-masing memiliki daerah terminal C yang sesuai dengan domain PUA (*pseudouridine synthases and archaeosin-specific transglycosylases*) dengan aktivitas interaksi RNA yang telah terprediksi [29]. Sekuens asam amino dari protein NIP7 dengan UniProt ID: Q9Y221 dapat dilihat pada **Lampiran 14**.

2.18 Faktor-faktor Pengaruh Interaksi Antara Protein dengan Protein

Penelitian yang dilakukan secara *in-silico* digunakan untuk mengetahui interaksi yang terjadi antara ligan dengan reseptor makromolekul yang dianalisis secara *Molecular docking* dengan bantuan menggunakan *software* Discovery studio sebagai *software* untuk memvisualisasikan hasil *docking*, sedangkan untuk proses *docking* sendiri menggunakan bantuan *docking* server, yaitu Patchdock/Firedock dan pyDOCKweb. Hasil yang diperoleh menggunakan *docking* server berupa berbagai kemungkinan konformasi yang terbentuk serta berbagai macam energi hasil interaksi. Energi-energi ini mempengaruhi interaksi yang terbentuk antara ligan dengan reseptor makromolekulnya. Energi-energi tersebut antara lain adalah energi Van Der Waals, energi Elektrostatis, energi desolvasi, energi bebas Gibbs, konstanta inhibisi, ikatan hidrogen, root mean square deviation (RMSD) dan lain-lain. Metode *Molecular docking* ini bekerja sesuai dengan teori *lock and key*, di mana reaksi yang terjadi antara reseptor makromolekul dengan ligan terjadi karena kesesuaian bentuk dan ruang antara ligan dengan sisi aktif dari reseptor makromolekul, sehingga akan diketahui sisi aktif

dari makromolekul yang dapat bekerja pada ligannya yang dipengaruhi oleh faktor berbagai energi yang telah disebutkan.

Energi bebas Gibbs merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kesesuaian interaksi antara ligan dengan makromolekul. Energi bebas Gibbs dilambangkan dengan ΔG^0 yang memiliki definisi sebagai perbedaan antara energi entalpi dengan energi yang tidak digunakan untuk kerja berupa entropi pada temperature absolut sehingga dapat meramalkan arah reaksi kimia yang terjadi. Selain itu, nilai dari energi bebas Gibbs dapat menyatakan reaksi kimia tersebut terjadi secara spontan atau tidak spontan. Reaksi kimia secara spontan terjadi apabila nilai dari energi Gibbs semakin rendah atau lebih kecil dari pada nol ($\Delta G^0 < 0$) atau memiliki nilai yang negatif sedangkan reaksi yang terjadi secara tidak spontan memiliki nilai ΔG^0 lebih besar dari pada nol ($\Delta G^0 > 0$) atau memiliki nilai yang positif. Jika nilai energi bebas Gibbs semakin rendah maka reaksi tersebut semakin mudah untuk menghasilkan produk dikarenakan mudahnya berikatan, selain itu menandakan kestabil atau kekuatan ikatan antara ligan dengan reseptor semakin kuat karena sistem lebih cenderung berada pada keadaan dengan energi yang minimum. Secara *Molecular docking*, jika nilai dari ΔG^0 memiliki nilai yang spontan atau $\Delta G^0 < 0$ merupakan skoring yang terbaik yang diperoleh dari berbagai hasil konformasi *docking* karena konformasi yang memiliki nilai ΔG^0 yang paling rendah memiliki ikatan antara ligan dengan reseptor yang paling kuat [30].

Kemudian salah satu hasil yang diperoleh dari *docking* adalah konstanta inhibisi. Nilai dari konstanta inhibisi dapat dihitung berdasarkan nilai dari energi bebas Gibbs (ΔG^0). Nilai konstanta inhibisi yang disimbolkan dengan K_i merupakan nilai atau kemampuan dari suatu inhibitor untuk menurunkan aktivitas suatu reaksi. Inhibitor merupakan suatu molekul yang dapat mengikat enzim sehingga mengakibatkan penurunan aktivitasnya. Tetapi tidak semua molekul yang dapat mengikat enzim disebut inhibitor. Inhibitor berperan dalam menghambat atau menghentikan sebuah substrat dari enzim memasuki situs aktif atau menghalangi enzim dari reaksi katalisnya. Proses penghambatan ini dapat dilihat dari penurunan laju kecepatan reaksi enzimatik dari proses metabolisme yang terjadi. Contoh dari kerja inhibitor adalah jika pada keadaan tertentu suatu reaksi enzimatik dapat membentuk dua atau lebih

produk, hambatan dapat ditunjukkan hanya pada satu produk, sedangkan pembentukan produk yang lain tidak dipengaruhi atau mungkin ditingkatkan. Oleh sebab itu, jika nilai dari konstanta inhibisi semakin kecil atau semakin rendah menunjukkan bahwa aktivitas dari enzim dan substratnya untuk menghasilkan suatu produk semakin tinggi. Dari segi hasil *docking*, digunakan nilai konstanta inhibisi yang semakin rendah karena menunjukkan bahwa kemungkinan interaksi yang terjadi antara sisi aktif dari ligan dengan sisi aktif dari reseptor makromolekul adalah sesuai atau bekerja pada tempatnya sehingga interaksi yang terjadi semakin kuat dan memungkinkan menghasilkan suatu produk yang baru [31].

Selain itu energi Van Der Waals juga berpengaruh pada penentuan interaksi yang terjadi antara ligan dengan reseptor. Energi Van Der Waals adalah energi tarik-menarik yang terjadi antara atom atau molekul, di mana energi ini relatif jauh dan lebih lemah dibandingkan energi yang timbul karena ikatan valensi. Interaksi yang menghasilkan energi Van Der Waals adalah jikalau terjadi interaksi antara molekul senyawa non polar dan senyawa polar yang tidak memiliki ikatan hidrogen, sehingga interaksi tersebut akan menghasilkan energi antar molekul yang lemah. Besar kecilnya nilai dari energi Van Der Waals berdasarkan pada sifat kepolaran dari molekul yang berinteraksi, jikalau semakin kecil kepolarannya maka akan semakin kecil juga energi Van Der Waals yang terbentuk. Berdasarkan kepolarannya, energi Van Der Waals dibagi menjadi empat jenis, yaitu interaksi ion-dipol (molekul polar), interaksi dipol-dipol, interaksi ion-dipol terinduksi, dan interaksi dipol-dipol terinduksi. Ikatan Van Der Waals dapat bekerja pada jarak yang tidak dapat menyebabkan pertumpang tindihan atau pengalihan electron sehingga dapat dikatikan dengan energi yang lebih kecil. Secara *Molecular docking*, nilai dari Van Der Waals yang semakin tinggi atau semakin besar dapat menunjukkan bahwa ikatan atau interaksi yang terjadi pada ligan dan reseptor semakin lemah dikarenakan energi yang dihasilkan sangat kecil. Sehingga kemungkinan tidak akan terjadinya pertambahan pada sisi aktif dari reseptor dikarenakan energi Van Der Waals yang dimiliki cukup besar [32,33,34,35].

Energi elektrostatik adalah energi yang dihasilkan akibat dari gaya yang timbul karena interaksi antara dua atau lebih partikel subatomik yang memiliki muatan listrik statik dan medan

elektromagnetik. Gaya yang timbul karena energi ini adalah gaya tarik-menarik jika memiliki muatan yang berbeda dan gaya tolak-menolak jika memiliki muatan yang sama. Energi elektrostatik ini terjadi karena adanya kecenderungan suatu unsur menarik elektron dalam suatu molekul senyawa. Hal ini dipengaruhi oleh energi ionisasi dan afinitas elektron berkaitan dengan besarnya daya tarik elektron. Semakin besar daya tarik elektron semakin besar energi ionisasi, juga semakin besar (semakin negatif) afinitas elektron. Semakin besar elektrostatik, unsur cenderung makin mudah membentuk ion negatif. Semakin kecil elektrostatik, unsur cenderung makin sulit membentuk ion negatif, dan cenderung semakin mudah membentuk ion positif. Secara *Molecular docking*, jika nilai dari energi elektrostatik semakin rendah (negative) maka ikatan yang terbentuk semakin kuat dikarenakan senyawa akan mudah membentuk ion negative di mana energi ionisasi dan afinitas elektron juga semakin besar [36].

Semakin besar kontak yang terjadi atau semakin banyak muatan yang bertukar (muatan berbeda antara dua partikel) maka energi yang dihasilkan akan semakin besar. Sehingga kekuatan ikatan antara dua partikel subatomic tersebut akan semakin kuat. Pada penerapan *Molecular docking*, energi elektrostatik yang dihasilkan setelah hasil skoring menunjukkan kekuatan ikatan yang terjadi, jika semakin besar energi yang dihasilkan maka ikatan yang terjadi pada sisi aktif atau pada tempat penambatan akan semakin kuat [37].

Energi desolvasi adalah energi yang dihasilkan karena adanya proses pergantian molekul air yang mengelilingi substrat dengan enzim. Molekul air yang ada pada sekeliling substrat digantikan dengan enzim untuk meningkatkan interaksi antara substrat dengan enzim, selain itu juga untuk meningkatkan entropi reaksi dan juga meningkatkan pembentukan kompleks yang terjadi antara substrat dengan enzim terbentuk. Semakin kecil atau semakin rendah energi desolvasi yang terbentuk maka semakin mudah molekul air digantikan dengan enzim atau dengan kata lain akan semakin mudah berinteraksi dengan enzim. Secara *Molecular docking*, hal ini berarti bahwa energi desolvasi yang semakin rendah memungkinkan peningkatan terjadinya penambatan oleh ligan pada sisi aktif dari reseptor karena molekul air dapat digantikan dengan mudah. Sedangkan jikalau energi desolvasi semakin tinggi berarti molekul air yang berikatan dengan reseptor sungkar untuk digantikan

sehingga akan menurunkan kemungkinan terjadinya penambatan [38,39, 40].

Ikatan hidrogen adalah ikatan yang terjadi antara molekul yang memiliki sifat yang sangat polar. Dalam makromolekul seperti protein dan asam nukleat, ikatan hidrogen ini dapat terjadi antara dua bagian dari molekul yang sama dan dapat berperan sebagai penentu bentuk molekul. Ikatan hidrogen akan terjadi jikalau suatu molekul mengandung atom N, O, atau F yang memiliki pasangan elektron bebas. Hidrogen dari molekul lain akan berinteraksi dengan pasangan elektron bebas pada atom N, O, atau F dan akan membentuk suatu ikatan hidrogen yang memiliki berbagai variasi besaran kekuatan ikatan, mulai dari yang lemah hingga yang kuat. Kekuatan ikatan hidrogen dipengaruhi oleh perbedaan elektrostatis antara atom-atom dalam molekul tersebut, semakin besar perbedaan maka akan semakin besar ikatan hidrogen yang terbentuk. Pada *Molecular docking*, interaksi pada residu asam amino yang terjadi antara ligan dengan reseptor juga perlu dilihat ikatan hidrogen yang terbentuk. Semakin besar ikatan hidrogen yang terbentuk karena perbedaan keelektronegatifan, maka semakin kuat juga interaksi antara residu asam amino yang terbentuk. Hal ini berarti tempat penambatan dari ligan kepada reseptor terjadi pada tempat yang sesuai [41].

RMSD atau *Root Mean Square Deviation* merupakan ukuran jarak rata-rata antara atom pada protein. Secara umum, RMSD digunakan sebagai pengukur secara kuantitatif kesamaan antara dua atau lebih struktur protein. Selain itu dapat berperan sebagai penilai seberapa baik atau sesuai struktur protein yang diteliti dengan struktur protein target yang diketahui. Semakin rendah nilai dari RMSD yang dihasilkan berarti semakin sesuai dengan struktur protein target. Nilai RMSD yang baik berkisaran pada 2 Å atau lebih rendah [42].

2.19 Protein Data Bank

Database adalah kumpulan data yang disimpan secara sistematis di dalam komputer yang dapat diolah atau dimanipulasi dengan menggunakan perangkat lunak untuk menghasilkan informasi. Kebutuhan akan database yang memadai adalah syarat utama pada bioinformatika. Berbagai macam database tersedia secara online, seperti database untuk DNA yaitu GenBank, database untuk protein tersedia di *Swis-Prot* dan *Protein Data Bank* (PDB) yang berisikan

struktur secara tiga dimensi (3D) dari protein. Sumber utama dari data struktural protein adalah *Protein Data Bank* (PDB) yang dapat diakses secara online melalui situsnya, yaitu <http://www.rscb.org/pdb/>. Arsip-arsip yang berada pada PDB dikelola oleh lembaga tertentu di Universitas New Jersey yaitu *Research Collaboratory for Structural Bioinformatics* (RSCB). Data yang berada pada PDB mengandung berbagai informasi tentang protein terkait, sekuens dari protein terkait, struktur sekunder, sumber depositor dan koordinat tiga dimensinya [43].

2.20 *Molecular Docking*

Dalam pengembangan dunia biokimia, pengetahuan akan suatu kemampuan protein yang akan digunakan sebagai marker adalah salah satu bidang yang penting dan sedang dikembangkan. Dalam pengaplikasiannya, untuk menentukan kinerja suatu protein sebagai marker dibutuhkan waktu dan biaya yang cukup besar. Untuk membantu mempersingkat waktu dan memperkecil biaya, digunakan metode perancangan marker dengan menggunakan metode *molecular docking* secara *in-silico* [44].

Docking adalah suatu metode yang mampu memprediksi ikatan yang terjadi antara satu molekul dengan molekul yang lain ketika berikatan dalam bentuk kompleks yang paling stabil. *Molecular docking* merupakan suatu teknik untuk mempelajari interaksi yang terjadi dalam kompleks molekul yang telah *terdocking*. Pada *Molecular docking*, terdapat dua aspek yang terpenting yaitu fungsi scoring dan penggunaan algoritma [45].

Fungsi scoring digunakan untuk memperkirakan afinitas ikatan dan penentuan posisi antara ligan dengan makromolekul atau reseptor. Identifikasi hasil ini berdasarkan beberapa teori termasuk teori energi bebas Gibbs. Nilai energi bebas Gibbs (ΔG) menunjukkan kestabilan dari konformasi yang telah terbentuk, di mana semakin kecil energi bebas Gibbs yang dihasilkan maka akan semakin stabil konformasi yang terbentuk. *Molecular docking* saat ini banyak diaplikasikan dalam berbagai bidang, karena *Molecular docking* digunakan untuk memprediksikan orientasi ikatan antar molekul berupa ligan dengan makromolekul target [45].