

ANALISIS IN-SILICO PROTEIN TIOL-DISULFIDA ISOMERASE *Bacillus* sp. RP1

Vanda S. Kamu¹⁾, Jemmy Abidjulu¹⁾, Maureen Kumaunang¹⁾

¹⁾Program Studi Kimia FMIPA Universitas Sam Ratulangi
Jl. Kampus Unsrat Manado, 951115

e-mail: Vandakamu@yahoo.com; jabidjulu@yahoo.com; Maureen273@yahoo.com

ABSTRAK

Pelipatan protein membutuhkan bantuan molekul *chaperone* serta katalis pelipatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengkarakterisasi produk gen tiol-disulfida oksidoreduktase dari sumber organisme termofilik *Bacillus* sp. RP1. Metode yang dilaksanakan untuk mencapai tujuan tersebut, adalah mengkarakterisasi produk gen yang dihasilkan dengan menggunakan analisis in-silico. Dari hasil penelitian diperoleh bahwa karakterisasi terhadap produk gen yang dihasilkan menunjukkan adanya tiga protein, yaitu Bdbdred, Bdbdox, dan Etda, yang memiliki motif tioredoksin dan DsbA, serta sisi aktif dan sisi pengikatan dengan atom Zn. Prediksi struktur ketiga protein tersebut menunjukkan kemiripan satu sama lain.

Kata kunci: Bdbd, chaperone, DsbA, tiol-disulfida oksidoreduktase, tioredoksin

ANALYSIS OF IN-SILICO TIOL DISULFIDE ISOMERASE PROTEIN *Bacillus* sp. RP1

ABSTRACT

Protein folding is facilitated by chaperone molecule as well as folding catalysts. The aim of this research was to characterize the gene product of thiol-disulfide oxidoreductase gene from thermophilic organism *Bacillus* sp. RP1, by using in-silico analysis. The characteristic of the gene product indicated three proteins, i.e. Bdbdred, Bdbdox, and Etda, which have thioredoxin motif, DsbA motif, active site and bonding site with Zn. The structure predicted of these three proteins showed similarity among them.

Keywords: Bdbd, chaperone, DsbA, thiol-disulfide oxidoreductase, thioredoxin

PENDAHULUAN

Protein merupakan penyusun kunci dari sel-sel hidup dan terlibat dalam semua proses dasar kehidupan. Oleh karena itu, kemampuan untuk memproduksi protein secara fungsional menjadi prasyarat penting untuk dapat diaplikasikan dalam bidang medis, industri, dan bernilai ekonomis tinggi.

Tiol-disulfida oksidoreduktase adalah kelompok enzim yang memiliki fungsi *chaperone* dan dibutuhkan dalam pelipatan protein serta pembentukan ikatan disulfida protein yang keluar dari sitoplasma (Hartl, 1996). Kesalahan pelipatan protein dapat menyebabkan protein mengalami degradasi. Degradasi protein merupakan pemicu timbulnya sejumlah penyakit, misalnya *cystic fibrosis*, retinitis pigmentosa,

dan penyakit Gaucher (Dobson, 2001). Famili tiol-disulfida oksidoreduktase dari *Escherichia coli* merupakan kelompok oksidoreduktase yang paling baik dipelajari sebagai contoh di antara semua organisme. *E. coli* memiliki enam kelompok tiol-disulfida oksidoreduktases yang bertindak di luar periplasma dari lingkungan sitoplasma tereduksi, adalah: DsbA, DsbB, DsbC, DsbD, DsbE, dan DsbG (Ritz and Beckwith, 2001).

Tiol-disulfida oksidoreduktase pertama yang telah diidentifikasi dalam famili *Bacillus* adalah protein Bdb dari *Bacillus brevis* (*Bacillus* **d**isulfide **b**ond oxidoreductase yang terlihat merupakan komplemen DsbA *E. coli* yang mengalami mutasi (Ishihara et al., 1995). Tiol-disulfida oksidoreduktase dalam *B. subtilis* dilaporkan oleh Bolhuis et al (1999) yang diberi nama

BdbA, BdbB, and BdbC. Protein-protein ini diidentifikasi berdasarkan kesamaan urutan dengan protein tiol-disulfida oksidoreduktase yang ada dalam basis data. Analisis *in-silico* menggunakan perangkat komputer dapat menjadi salah satu metode awal dalam penelitian bioteknologi medis (Radford and Dobson, 1999).

Berdasarkan pemikiran adanya aktivitas tiol-disulfida oksidoreduktase yang dimiliki organisme termofilik *Bacillus*, membuat penelitian ini akan dilaksanakan untuk mengkarakterisasi produk gen pengkode *chaperone* dari sumber organisme termofilik *Bacillus* sp. RP1.

METODE PENELITIAN

Analisis *in-silico* protein tiol-disulfida oksidoreduktase dilakukan terhadap urutan nukleotida *dnaJ* yang telah disekuensing (Kumaunang dan Natalia, 2007). Perangkat lunak yang digunakan adalah DNASTar, ClustalX, GeneDoc, YASARA, dan Geno3D, menggunakan komputer dengan spesifikasi prosesor AMD Sempron™ SI-42, 2 GB DDR2 RAM, 250 GB HDD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Urutan nukleotida *dnaJ* *Bacillus* sp. RP1 yang telah disekuensing (Kumaunang dan Natalia, 2007) diterjemahkan menjadi urutan protein menggunakan program DNASTar, dan dikarakterisasi sebagai produk gen tiol-disulfida oksidoreduktase. Sebagai hasilnya, diperoleh protein: Bdbred (rantai A protein Bdb *Bacillus* dalam keadaan tereduksi), Bdbbox (rantai A protein Bdb *Bacillus* dalam keadaan teroksidasi), dan Etda (rantai A protein Bdb *Etda-treated Bacillus*).

Karakterisasi Produk Gen *Chaperone Bacillus*

Produk gen *Chaperone Bacillus* sp. dikarakterisasi dengan menggunakan program Clustal X, Genedoc, dan Geno3D. Berturut-turut hasilnya ditampilkan dalam Gambar 1, 2, dan 3.

Berdasarkan Gambar 1 dan Gambar 2, terlihat bahwa urutan asam-asam amino penyusun ketiga protein ini memiliki

kesamaan, yang terlihat pada kesamaan pada warna dan urutan asam aminonya.

Karakterisasi produk gen tiol-disulfida oksidoreduktase dilakukan dengan menganalisis struktur hasil prediksi dengan program Geno3D. Penggambaran visual struktur ketiga protein tersebut menggunakan YASARA dan ditampilkan dalam Gambar 3.

Dalam Gambar 3 terlihat bahwa ketiga struktur memiliki kemiripan. Bdbred memiliki sisi aktif dan pengikatan dengan Zn, begitu juga dengan Bdbbox dan Etda. Sisi aktif merupakan daerah pengenalan motif tioredoksin dan DsbA *E. coli* (dalam Gambar 3 direpresentasikan dalam lingkaran), yang memiliki empat motif mirip dengan urutan asam amino -CXXCXGXG-. Urutan ini merupakan motif lestari tioredoksin, suatu protein pengkode oksidoreduktase (Bolhuis *et al*, 1999; Linke *et al*, 2003). Sebagai rangkuman karakterisasi struktur ketiganya, ditampilkan dalam Tabel 1.

Adanya motif tioredoksin dan DsbA menunjukkan bahwa ketiga protein ini termasuk dalam famili protein tiol-disulfida oksidoreduktase.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa:

1. Motif pengenal protein tiol-disulfida oksidoreduktase, yaitu motif tioredoksin dan DsbA, dimiliki oleh ketiga protein Bdbred, Bdbbox, dan Etda
2. Ketiga protein tersebut memiliki kemiripan struktur

DAFTAR PUSTAKA

- Bolhuis, A., G. Venema, W.J. Quax, S. Bron, and J.M. van Dijl. 1999. Functional analysis of paralogous thiol-disulfide oxidoreductases in *Bacillus subtilis*. *J. Biol. Chem.* **274**, 24531-24538.
- Dobson, C.M. 2001. The Structural Basis of Protein Folding and its Links with Human Disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, **356**, 133.

Hartl, F.U. 1996. Molecular chaperones in cellular protein folding, *Nature*, **381**.

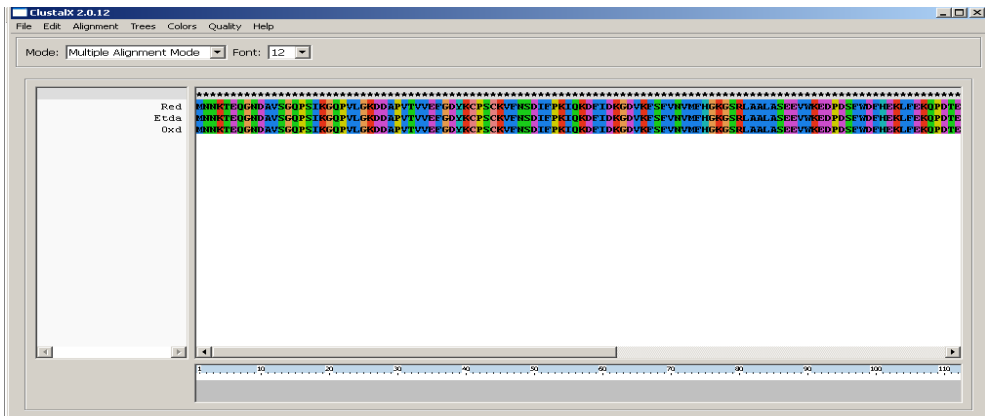
Kumaunang, M., D. Natalia. Isolasi dan Kloning *dnaJ* *Bacillus* sp. RP1. 2007. *Sains*. 7:2.

Ishihara, T., H. Tomita, Y. Hasegawa, N. Tsukagoshi, H. Yamagata and S. Udaka. 1995. Cloning and characterization of the gene for a protein thiol-disulfide oxidoreductase in *Bacillus brevis*. *J. Bacteriol.* **177**, 745-749.

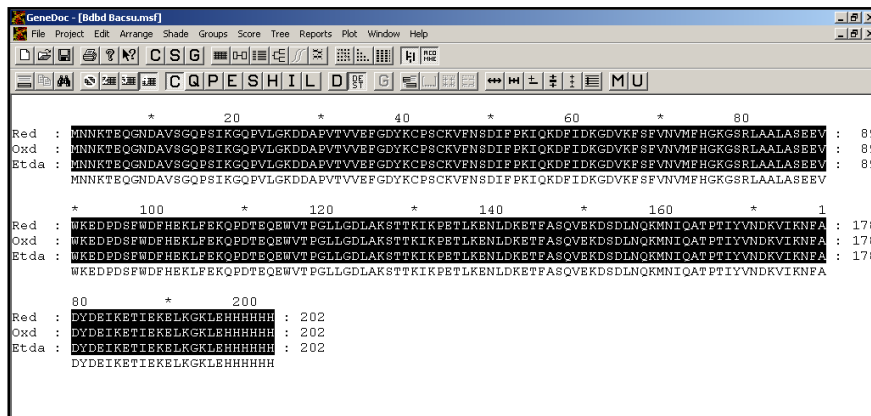
Linke, K., T. Wolfram, J. Bussemer, U. Jakob. 2003. The roles of the two zinc binding sites in DnaJ. *J Biol Chem*, **278**.

Radford, S.E., and C.M. Dobson. 1999. From computer simulations to human disease: emerging themes in protein folding, *Cell*, **97**.

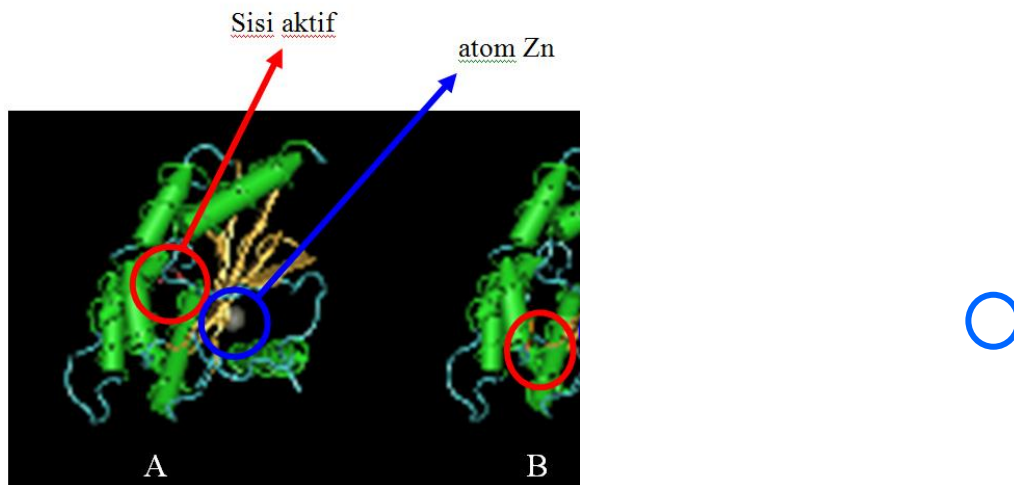
Ritz, D. and J. Beckwith. 2001. Roles of Thiol-Redox pathways in bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* **55**, 21-48.



Gambar 1. Hasil ClustalX



Gambar 2. Hasil Genedoc



Gambar 3. Prediksi struktur *chaperone Bacillus* (A. Struktur Bdbred, B. Struktur Bdbdcox, C. Struktur Etda)

Tabel 1. Karakterisasi protein *chaperone Bdb Bacillus sp. RP1*

Karakter	Jenis Protein		
	Bdbdred	Bdbdcox	Etda
Jumlah asam amino penyusun	202	202	202
Sisi aktif	Ada	Ada	Ada
Sisi pengikatan Zn	Ada	Ada	Ada
Jumlah untai β	5	5	5
Jumlah untai α	8	8	8
Posisi motif tioredoksin	25 – 188	25 – 188	25 – 188
Posisi motif DsbA	32 – 174	32 – 174	32 – 174