

Analisis In-silico Sedoheptulose-1,7-Bisfosfatase (SBPase) Mikroalga

Yohanis Irenius Mandik^{1*}, Octolia Togibasa², Agnes Maryuni¹, Frans Augusthinus Asmuruf¹, Maureen Kumaunang³

¹Jurusan Kimia FMIPA Universitas Cenderawasih, Jl. Kamp Walker Waena, Jayapura 99358

²Jurusan Fisika FMIPA Universitas Cenderawasih, Jl. Kamp Walker Waena, Jayapura 99358

³Jurusan Kimia FMIPA Universitas Sam Ratulangi, Jl. Kampus Unsrat Kleak, Manado 95115

*Email korespondensi: yimandik@gmail.com

ABSTRAK

Proses fotosintesis membutuhkan keterlibatan enzim dalam berbagai reaksi yang terjadi. Enzim sedoheptulose-1,7-bisfosfatase (SBPase) berperan kunci dalam semua organisme fotosintetik, termasuk mikroalga. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan studi in-silico terhadap SBPase mikroalga. Studi in-silico dilakukan dengan melakukan pemodelan homologi terhadap struktur SBPase menggunakan berbagai piranti lunak serta berdasarkan *database* protein dalam GenBank. Hasil penelusuran menunjukkan bahwa SBPase mikroalga telah diisolasi dari 3 spesies mikroalga, yaitu *Chlamydomonas reinhardtii*, *Ostreococcus taurii*, dan *Micromonas* sp. RC 299. Terhadap ketiga SBPase mikroalga yang ditemukan, dilakukan analisis fisikokimiawi serta prediksi struktur. Analisis terhadap ketiga SBPase mikroalga menunjukkan bahwa ketiganya bersifat hidrofobik, dengan komposisi residu asam amino non-polar lebih banyak dibandingkan residu asam amino polar. Selain itu, prediksi struktur ketiga SBPase menunjukkan kemiripan dengan struktur SBPase *Toxoplasma gondii* (PDB ID 4IR8). Studi in-silico ini merupakan langkah awal riset molekuler dan studi fungsi fisiologis aktif SBPase dalam mikroalga.

Kata kunci: fotosintesis, SBPase, mikroalga, pemodelan homologi, studi in-silico.

In-silico analysis of Sedoheptulose-1,7-Bisphosphatase from Microalgae

ABSTRACT

Photosynthesis requires several enzymes involved in various reactions. Sedoheptulose-1,7-bisphosphatase (SBPase) is a type of enzyme that plays a vital role in the photosynthesis of all photosynthetic organisms, including microalgae. This study aimed to conduct in-silico studies of SBPase in microalgae. In-silico studies are carried out by conducting homology modeling of the SBPase structure using various software and based on the protein database in GenBank. The results showed that SBPase microalgae has been isolated from 3 species of microalgae, namely *Chlamydomonas reinhardtii*, *Ostreococcus taurii*, and *Micromonas* sp. RC 299. For the three SBPase microalgae found, physicochemical analysis and structure prediction were carried out. Analysis of the three microalgae SBPases showed that all three were hydrophobic, with more non-polar amino acid residual composition than polar amino acid residues. In addition, the prediction of the three structures of SBPases showed similarity with the structure of SBPase from *Toxoplasma gondii* (PDB ID 4IR8). This in-silico study is the first step in molecular research and studies of the active physiological functions of SBPase in microalgae.

Keywords: homology modeling, in-silico study, microalgae, photosynthesis, SBPase.

PENDAHULUAN

Sedoheptulosa-bisphosphatase (SBPase) (EC 3.1.3.37) adalah enzim yang mengkatalisis pemindahan gugus fosfat dari sedoheptulose 1,7-bisfosfat untuk menghasilkan sedoheptulose 7-fosfat (Dunford et al., 1998). SBPase termasuk dalam kelompok enzim hidrolase. Enzim ini terlibat dalam siklus Calvin. SBPase adalah protein homodimerik, artinya terdiri dari dua subunit identik. Ukuran protein ini bervariasi antar spesies, tetapi sekitar 92.000 Da (dua kali 46.000 Da) (Dunford et al., 1998).

Domain fungsional utama yang mengendalikan fungsi SBPase melibatkan ikatan disulfida antara dua residu sistein. Selain itu, SBPase membutuhkan adanya magnesium (Mg^{2+}) supaya aktif secara fungsional. Beberapa studi menyarankan adanya kemungkinan bahwa SBPase adalah bagian dari multi-enzim kompleks besar (900 kDa) bersama-sama dengan sejumlah enzim fotosintesis lainnya. SBPase dalam mikroalga masih sangat sedikit diteliti, padahal SBPase merupakan enzim penentu laju siklus reduksi karbon (Becker, 1994). Selain itu, Feng et al. (2007) menemukan bahwa ekspresi SBPase *Chlamydomonas reinhardtii* dapat meningkatkan performa fotosintesis dan laju produksi dalam tanaman padi transgenik.

Fungsi fisiologis suatu enzim dapat dipelajari secara awal melalui studi struktur protein enzim tersebut. Studi struktur protein dapat diawali dengan studi in-silico protein target dibandingkan dengan data struktur protein yang telah tersedia dalam *Protein Data Bank* (PDB). Studi struktur protein sangat dibutuhkan untuk mempelajari fungsi dan stabilitas suatu protein yang dapat dilakukan secara in-silico (Radford and Dobson, 1999).

SBPase yang berperan penting dalam proses fotosintesis masih sangat sedikit diteliti, padahal enzim ini merupakan salah satu enzim kunci dalam proses fotosintesis. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan studi in-silico SBPase dalam mikroalga, sehingga data awal enzim ini dapat dijadikan data awal riset lanjutan fungsi enzim ini dalam proses fotosintesis mikroalga.

METODE PENELITIAN

Pencarian data base nukleotida pengkode protein

Enzim yang dipilih untuk dianalisis secara in-silico adalah enzim sedoheptulosa1,7-bisfosfatase yang terlibat dalam proses fotosintesis (dalam hal ini siklus Calvin). *Data base* nukleotida pengkode protein yang terlibat dalam proses fotosintesis mikroalga dicari melalui situs <http://ncbi.nlm.nih.gov>. Proses pencarian dilakukan dengan memasukkan kata-kata kunci: *sedoheptulose-1,7-bisphosphatase in chlorophyta*, dalam kolom *Search All Databases: Gene*.

Prediksi struktur protein

Sebelum dilakukan prediksi struktur protein, dilakukan penjajaran terhadap protein yang diperoleh dari prosedur sebelumnya. Penjajaran dilakukan dengan menggunakan program BLASTp yang juga tersedia dalam situs <http://ncbi.nlm.nih.gov>. Hasil penjajaran ditampilkan menggunakan program *Genedoc* (Nicholas et al., 1997). Selanjutnya dilakukan prediksi protein dengan menggunakan fitur yang tersedia dalam program *Geno3d* (<http://pbil.ibcp.fr/htm/index.php>; Combet et al., 2002).

Analisis struktur protein

Analisis struktur sekunder protein SBPase dilakukan dengan menggunakan program PEPSTATs dalam EXPASY server, www.ebi.ac.uk. Analisis hydrophaty menggunakan fasilitas dalam website <https://omictools.com/hydrophaty-plot-prediction-category>. Struktur 3D hasil prediksi divisualisasi dengan menggunakan program YASARA.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Database SBPase

Hasil pencarian protein SBPase melalui *data base* NCBI diperoleh 3 protein SBPase dicantumkan dalam Tabel 1. Berdasarkan hasil tersebut, dilakukan penjajaran urutan asam-asam amino penyusun SBPase ketiga mikroalga tersebut untuk melihat kemiripan di antara ketiganya. Hasil penjajaran yang menggunakan program *Genedoc* ditampilkan dalam Gambar 1.

Tabel 1. Hasil pencarian protein SBPase melalui *data base* NCBI

No.	Deskripsi gen	Mikro-organisme	Gene ID	Protein ID
1	sedoheptulose-1,7-bisphosphatase (SEBP1)	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	5717440	XP_001691997.1
2	sedoheptulose-1,7-bisphosphatase (SBPase)	<i>Micromonas</i> sp. RCC299	8244980	XP_002503689.1
3	sedoheptulose-1,7-bisphosphatase (SBPase)	<i>Ostreococcus taurii</i>	98337733	XP_003078456.1

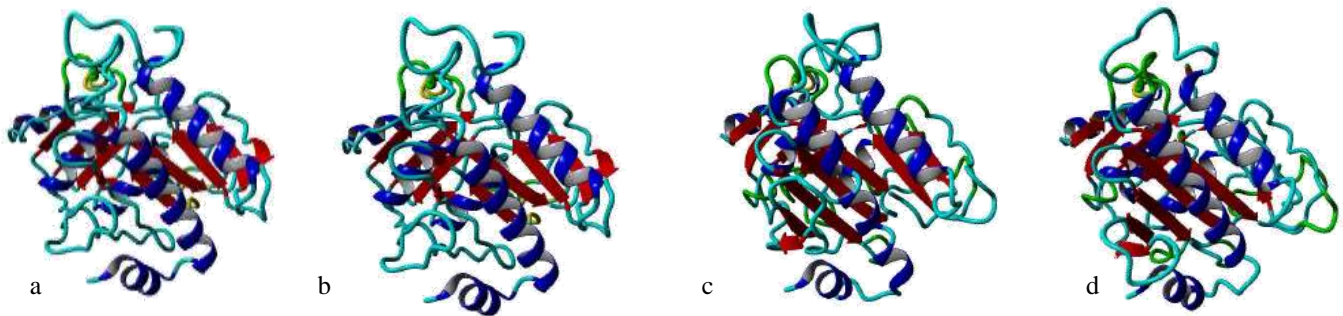


Gambar 1. Penjajaran SBPase ketiga mikroalga yang diperoleh melalui database protein dalam NCBI.

Prediksi struktur

Studi struktur protein dapat menjadi langkah awal studi fungsi fisiologis suatu protein. Hasil prediksi struktur ketiga SBPase dengan menggunakan templat 4IR8 (SBPase *Toxoplasma gondii*) ditampilkan dalam Gambar 2. Berdasarkan hasil prediksi struktur, terlihat bahwa struktur SBPase

ketiga mikroalga memiliki kemiripan satu sama lain, juga apabila dibandingkan dengan templat SBPase yang digunakan, yaitu 4IR8. Perbandingan komposisi kandungan struktur sekunder keempat SBPase dicantumkan dalam Tabel 2.



Gambar 2. Hasil prediksi struktur SBPase (a. *T. gondii* sebagai templat, b. *C. reinhardtii*, c. *O. taurii*, d. *Micromonas* sp.).

Tabel 2. Komposisi penyusun struktur sekunder SBPase

Mikroorganisme	Persentase kandungan struktur sekunder				
	□-Helix	₃₋₁₀ Helix	□-Sheet	Turn	Coil
<i>O. taurii</i>	22.2	1.3	16.5	16.5	43.5
<i>C. reinhardtii</i>	26.2	4.4	12.1	4.0	53.4
<i>Micromonas</i> sp.	25.4	1.6	15.6	14.6	42.9
<i>T. gondii</i> (templat)	32.2	2.8	24.0	14.4	26.7

Analisis struktur

a. Komposisi asam amino

Analisis terhadap struktur sekunder SBPase ketiga mikroalga ditampilkan dalam Tabel 3 dan 4, dengan menggunakan program PEPSTAT yang tersedia dalam *website* EXPASY (Gasteiger et al., 2005). SBPase ketiga mikroalga memiliki rentang bobot molekul dari 40.422,52 Da sampai 41.850,49, sedangkan templat SBPase *T. gondii* memiliki bobot molekul 37.8100,13 Da. Jumlah residu ketiga asam amino berkisar antara 372 – 389 AA. Hasil analisis juga menunjukkan bahwa SBPase *O. taurii*, *Micromonas* sp., dan *T.gondii* bersifat asam, karena berturut-turut bermuatan -9,5; -8,0; dan -3,0 selain itu titik isoelektrik ketiganya lebih rendah (berkisar 4,67 - 6,08) dibandingkan dengan SBPase *C. reinhardtii* Selain itu, SBPase *O. taurii* dan *Micromonas* sp. memiliki jumlah residu asam amino yang bersifat asam (B, D, E, Q) lebih banyak dibandingkan yang bersifat basa (H, K, R), sedangkan SBPase *C. reinhardtii* memiliki residu asam amino bersifat basa lebih banyak dibandingkan yang bersifat asam (Feng et al., 2007).

Tabel 3. Sifat utama SBPase

Mikroalga	Bobot molekul (Da)	Jumlah residu asam amino	Rata-rata bobot residu	muatan	Titik isoelektrik	A ₂₈₀
<i>C. reinhardtii</i>	41850.49	389	107.585	7.5	8.3972	0.583
<i>O. taurii</i>	40422.52	372	108.33	-9.5	4.7171	1.160
<i>Micromonas</i> sp.	40980.16	384	106.719	-8.0	4.6681	1.107
<i>T. gondii</i> (templat)	378100.13	347	108.963	-3.0	6.0807	1.109

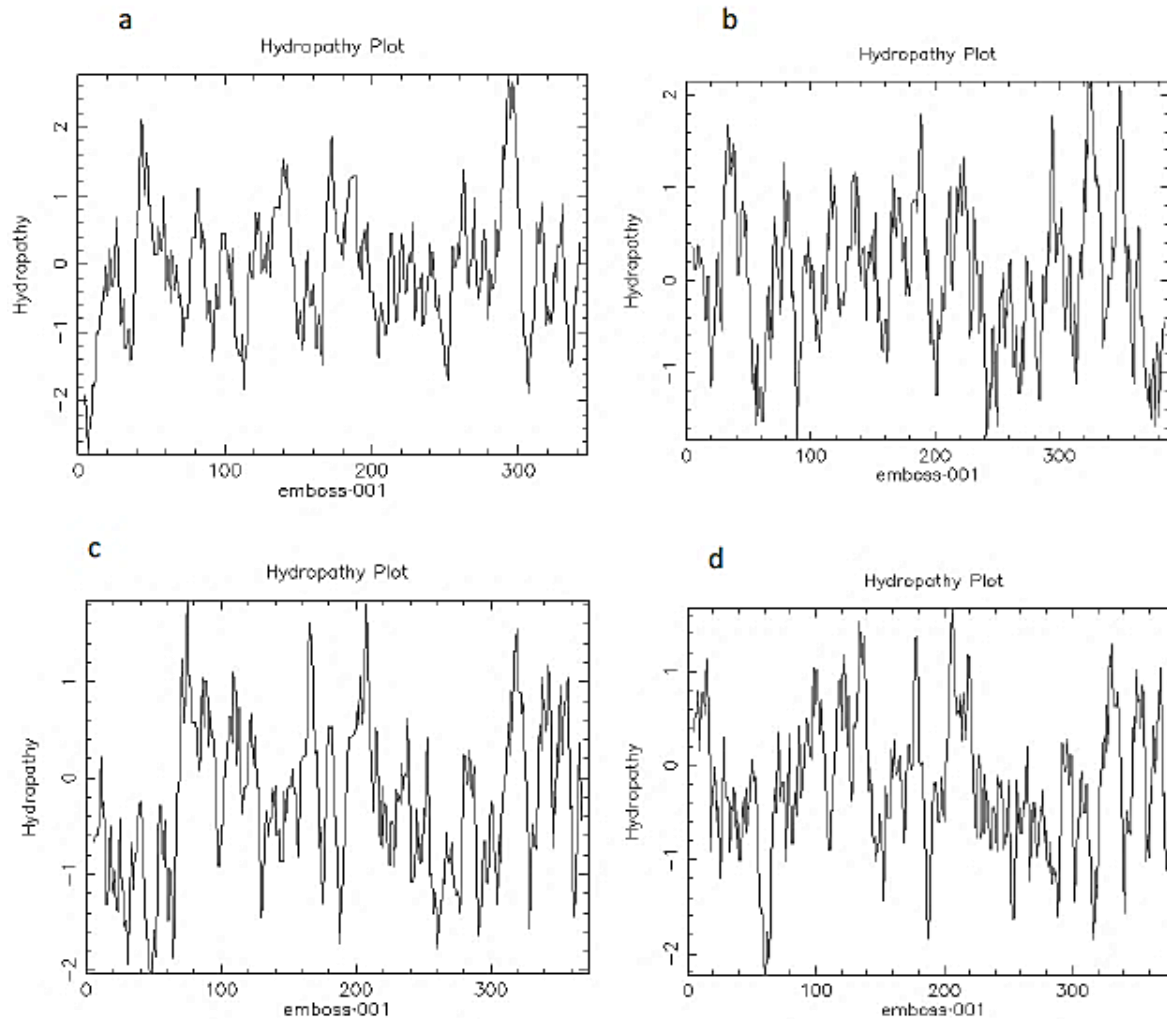
b. Plot hydropathy

Plot hidropathy menunjukkan sifat kelarutan suatu protein dalam air. Protein dengan komposisi asam amino bersifat non-polar mendominasi struktur, mengakibatkan protein tersebut memiliki kelarutan yang rendah dalam air atau dengan kata lain bersifat hidrofobik. Sebaliknya, apabila protein tersebut memiliki kandungan asam-amino bersifat polar yang lebih banyak, berarti protein tersebut bersifat hidrofilik, atau mudah larut dalam air (Guruprasad et al., 2007).

Tabel 4. Komposisi kelompok residu asam amino SBPase mikroalga

Kelompok asam amino	Residu	Mikroalga							
		<i>C. reinhardtii</i>		<i>O. taurii</i>		<i>Micromonas</i> sp.		<i>T. gondii</i> (templat)	
Sifat	Residu	Jumlah	%mol	Jumlah	%mol	Jumlah	%mol	Jumlah	%mol
Tiny	(A+C+G+S+T)	140	35.99	131	35.21	142	36.97	111	31.98
Kecil	(A+B+C+D+G+N+P+S+T+V)	217	55.78	215	57.79	237	61.71	178	51.29
		4		6		9		7	
Alifatik	(A+I+L+V)	129	33.16	107	28.76	115	29.94	114	32.85
		2		3		8		3	
Aromatik	(F+H+W+Y)	34	8.74	31	8.333	30	7.812	34	9.798
		234	60.15	200	53.76	216	56.25	194	55.90
Non-polar	(A+C+F+G+I+L+M+P+V+W+Y)	4		3				8	
		155	39.84	172	46.23	168	43.75	153	44.09
Polar	(D+E+H+K+N+Q+R+S+T+Z)	6		7				2	
		92	23.65	92	24.73	86	22.39	85	24.49
Bermuatan	(B+D+E+H+K+R+Z)	1		1		6		6	
		51	13.11	42	11.29	39	10.15	44	12.68
Asam	(H+K+R)	1				6			
		41	10.54	50	13.44	47	12.24	41	11.81
Basa	(B+D+E+Z)					1		6	

Berdasarkan Tabel 4 terlihat bahwa keempat SBPase memiliki kandungan asam amino non-polar lebih banyak dibandingkan asam amino non-polar, sehingga keempatnya bersifat hidrofobik. Selain itu, hasil penelitian plot hydropathy terhadap keempat SBPase ditunjukkan dalam Gambar 3, yang menunjukkan pola hidropathy keempat SBPase di atas 0. Hal ini menunjukkan bahwa komposisi asam amino non-polar lebih banyak dibandingkan asam amino polar, sehingga keempat SBPase bersifat hidrofobik.



Gambar 3. Plot hidropathy keempat SBPase (a. SBPase *T. gandii*; b. SBPase *C. reinhardtii*; c. SBPase *O. taurii*; d. SBPase *Micromonas* sp.)

KESIMPULAN

Hasil analisis in-silico terhadap ketiga SBPase mikroalga menunjukkan bahwa SBPase *O. taurii*, *Micromonas* sp., dan *C. reinhardtii* bersifat hidrofobik. SBPase *O. taurii* dan *Micromonas* sp. didominasi oleh residu asam amino bersifat asam, sedangkan SBPase *C. reinhardtii* didominasi oleh residu asam amino bersifat basa. Ketiga SBPase memiliki kemiripan struktur satu sama lain, juga dengan templat SBPase *T. gandii*.

DAFTAR PUSTAKA

- Becker, E.W. 1994. Microalgae: biotechnology and microbiology. Cambridge University Press. Cambridge. UK.
- Combet, C., Jambon, M., Deleage, G., Geourjon, C. 2002. Geno3D, *Bioinformatics* 18: 213-217.
- Dunford R.P., Catley M.A., Raines C.A. 1998. Purification of active chloroplast sedoheptulose-1,7-bisphosphatase expressed in *Escherichia coli*. *Protein Expression and Purification* 14:139-145.

Feng, L.L., Wang, K., Li, Y., Tan, Y.P., Kong, J., Li, H., Li, Y.S., and Zhu, Y.G. 2007. Overexpression of SBPase enhances photosynthesis against high temperature stress in transgenic rice plants. *Plant Cell Reports* 26: 1635–1646.

Gasteiger E., Hoogland C., Gattiker A., Duvaud S., Wilkins M.R., Appel R.D., and Bairoch A. (2005). *Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy Server*; (In) John M. Walker (ed): The Proteomics Protocols Handbook, Humana Press. pp. 571-607.

Guruprasad, K., Reddy, B.V.B. and Pandit, M.W. 1990. Correlation between stability of a protein and its dipeptide composition: a novel approach for predicting *in vivo* stability of a protein from its primary sequence. *Protein Engineering* 4: 155-161.

Nicholas, K.B., Nicholas H.B. Jr., and Deerfield, D.W. 1997. GeneDoc: Analysis and Visualization of Genetic Variation. *EMBNEWS* 4:14.

Radford, S.E., Dobson, C.M. 1999. From computer simulations to human disease: emerging themes in protein folding, *Cell* 97: 291-296.