

Studi Interaksi Molekuler UGPase pada Tanaman Umbi Berdasarkan Keberadaan Glukomanan

Muhammad Badiul Ulum, Estri Laras Arumingtyas, Nia Kurniawan
Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Brawijaya

ABSTRAK

UGPase merupakan enzim kunci yang memengaruhi terbentuknya polisakarida dengan ikatan β 1-4 glukosida. Interaksi enzim UGPase dengan substrat (UDP-Glukosa) pada beberapa spesies tanaman umbi terdapat perbedaan. Berdasarkan hal itu, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui interaksi UGPase dan UDP-G pada beberapa tanaman umbi. Hasil molecular docking menunjukkan interaksi *catalytic domain* dari enzim UGPase yang berikatan dengan UDP-G pada *substrate binding loop*, dengan total ΔG pada *A. konjac* paling rendah yaitu -5,06 kcal/mol diikuti oleh *I. batatas* dan *S. tuberosum* secara berturut-turut sebesar -4,60 dan -3,73 kcal/mol dan distabilkan dengan dua tipe interaksi yaitu interaksi elektrostatik dan hidrogen pada *A. konjac* dan *I. Batatas*, serta interaksi hidrofobik pada *S. tuberosum*.

Kata kunci: interaksi, UDP-Glukosa, UGPase.

ABSTRACT

UGPase is an enzyme that affect the conformation of polysaccharide with β 1-4 bond. There are some differences interaction of UGPase enzyme with UDP-Glucose substrate in some tuber plants. So, the aim of this research are to observe the interaction of UGPase and UDP-G in some tuber plants and to observe the relationship among tuber plant based on UGPase sequence. Result of molecular docking shows the catalytic domain interaction of UGPase and UDP-G in substrate binding loop, lower ΔG obtain from *A. konjac* is -5.06 kcal/mol, following by *I. batatas* and *S. tuberosum* is -4,60 dan -3,73 kcal/mol respectively. Interaction was stabilize by some interaction type, there are electrostatic and hydrogen in *A. konjac* and *I. batatas*, and hydrophobic in *S. tuberosum*.

Key words : interaction, UDP-Glucose, UGPase

PENDAHULUAN

Umbi merupakan bagian yang digunakan sebagai tempat menyimpan cadangan makanan bagi beberapa jenis tanaman. Pembentukan cadangan makanan pada tanaman umbi menghasilkan jenis polisakarida yang berbeda-beda, seperti pati, selulosa, manan dan glukomanan. Glukomanan merupakan serat alami yang dapat difermentasi, bersifat larut dalam air dan tidak mengandung kalori sehingga baik untuk dikonsumsi. Glukomanan tersusun atas D-glukosa dan D-mannosa dengan ikatan β 1-4 glukan. Secara umum, pembentukan polisakarida pada umbi adalah melalui glikolisis yang akan menghasilkan UDP-Glukosa. UDP-Glukosa dikatalis oleh enzim sukrosa sintase dan UDP-D-Glukosa-pyrophosphorilase (UGPase) [1]. UGPase merupakan enzim kunci yang memengaruhi terbentuknya polisakarida dengan ikatan β 1-4 dan termasuk dalam famili glikosiltransferase dengan status struktur 3D A (GT-A) yang

membentuk konfigurasi anomerik inverting (UDP-Glukosa \rightarrow β -glukosida) [2].

Interaksi antara enzim UGPase dan substrat UDP-G menentukan produk polisakarida yang akan dihasilkan yaitu berupa *cellulosa fibril* (glukomanan), *mixed link glucan* dan *glucuronoarabinoxylan* [3]. Interaksi antara UGPase dengan UDP-G terletak pada *nucleotide binding loop* Gly87-Lys99 dan *sugar binding loop* Thr248-Ile261[4]. Tujuan yang ingin dicapai pada penelitian ini yaitu mengetahui interaksi UGPase dengan UDP-G pada beberapa tanaman umbi dan mengetahui variasi genetik beberapa tanaman umbi berdasarkan interaksi UGPase dengan UDP-G.

METODOLOGI

Pengambilan Data. Identifikasi *conserve domain* UGPase menggunakan software pencarian *Conserve Domain Database* (CDD), software ini berfungsi untuk menunjukkan

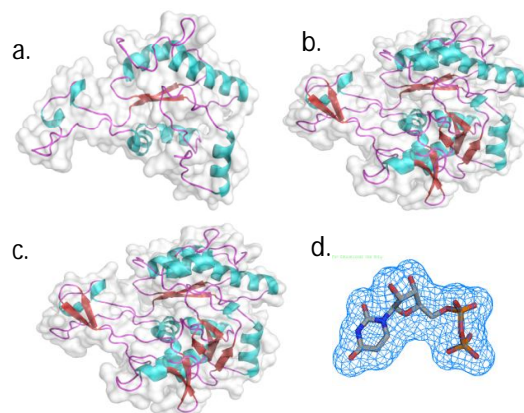
keterangan conserve domain suatu protein berdasarkan homologi sekuen yang ada pada database GeneBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>), kemudian dimasukkan kata kunci UGPase *Amorphophalus konjac*, *Ipomoea batatas*, dan *Solanum tuberosum* pada kolom search, kemudian didapatkan data sekuen yang memiliki *conserve domain* dengan template domain yang sama, sekuen disimpan dalam format FASTA.

Modeling Struktur 3D UGPase. Prediksi struktur 3D dilakukan pada sekuen UGPase yang telah didapatkan dari genbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), modeling dilakukan dengan *mode automated* pada Swissmodel (<http://swissmodel.expasy.org>), *screening* model dilakukan dengan cara dilihat jumlah persentase identitas sekuen model dengan template, kemudian dilihat stabilitas protein menggunakan program Web service ProCheck (http://nihserver.mbi.ucla.edu/SAVES_3). Alignment struktur model 3D dilakukan untuk mengetahui perbedaan struktur pada beberapa protein target, alignment 3D dilakukan dengan metode superimpose menggunakan program PyMol (for educational only).

Molecular Docking. Model protein UGPase yang telah diketahui strukturnya diprediksikan sisi pengikatan dengan UDP-G menggunakan metode molecular docking dengan webservice (<http://dockingserver.com>), skoring pada program ini yang digunakan adalah AutoDock4. Hasil yang akan diperoleh adalah jumlah energy bebas dan interaksi asam amino antara UGPase dengan UDP-G.

HASIL DAN PEMBAHASAN

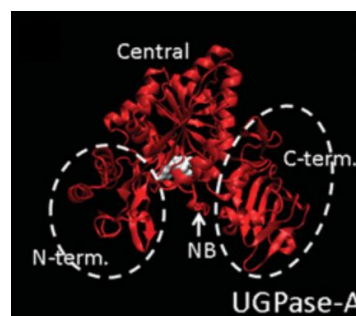
Model 3D UGPase dan UDP-G pada Beberapa Tanaman Umbi. Modeling molekul 3D penting untuk dilakukan dalam mempelajari fungsi enzim secara komprehensif, salah satunya untuk mengetahui interaksi dan hubungan antara enzim dengan ligan. Modeling yang telah dilakukan menggunakan *homologi modeling* dari Swissmodel, hasil menunjukkan pada *A. konjac*, *I. batatas* dan *S. tuberosum* memiliki nilai similaritas dengan template $\geq 75\%$ (Gambar 1). Template yang digunakan adalah 2ICY yang merupakan struktur UGPase yang sudah dikristalkan dengan substrat UDP-G [4].



Gambar 1. Model 3D makromolekul UGPase (a) *A. konjac*, (b) *I. batatas*, (c) *S. tuberosum* dan (d) model 3D UDP-G (Ligan).

Model yang didapatkan dari hasil *homologi modeling* perlu dilakukan validasi stabilitas struktur makromolekulnya, sehingga dapat menggambarkan struktur yang sesuai dengan struktur asli yang sudah ada. Hasil validasi pada makromolekul UGPase menunjukkan nilai residu pada *most favoured region* yang berbeda pada tiap spesies yaitu pada *A. konjac* sebesar 91,9 %, *I. batatas* sebesar 90,4 % dan *S. tuberosum* sebesar 90,4 %, struktur 3D yang memiliki nilai $\geq 90\%$ menunjukkan indikator kualitas *stereochemical* dan kalkulasi struktur sekunder yang baik dari suatu struktur protein dengan konformasi yang stabil [5]. Validasi model 3D menggunakan ProCheck menunjukkan bahwa penyebaran sudut psi ϕ dan phi ψ dapat menentukan kemungkinan konformasi protein pada suatu polipeptida yang relatif kecil [6].

Perbedaan Interaksi UGPase dengan UDP-G pada Beberapa Tanaman Umbi. Interaksi antara UGPase dan UDP-G terletak pada *nucleotide binding loop* Gly87-Lys99 dan *sugar binding loop* Thr248-Ile261 pada *Arabidopsis thaliana* [4].



Gambar 2. Struktur 3D UGPase [7].

Hasil visualisasi interaksi antara enzim UGPase pada beberapa tanaman umbi dengan ligan yang sama menunjukkan *active site* yang berbeda antara *A. konjac* dengan *I. batatas* dan *S. tuberosum*. *Active site* pada *A. konjac* terletak pada gugus asam amino Met142, Asn228, Asp230 dan Gln170, pada *I. batatas* His100, Asn128 dan Gln70, sedangkan pada *S. tuberosum* Val175 dan Ile199 (Tabel 1). Namun seperti yang telah diketahui bahwa pembentukan glukomanan terjadi pada *A. konjac*, maka dapat dikatakan bahwa *active site* yang terdapat pada *A. konjac* merupakan *active site* yang menjadi kunci terbentuknya glukomanan. Ketidakmampuan *I. batatas* dan *S. tuberosum* dalam membentuk glukomanan diduga karena *active site* yang berbeda dibandingkan dengan *A. konjac*.

Tabel 1. Interaksi antara UGPase dengan substrat UDP-G.

Model Interaksi 3D	Energi (kcal/mol)	Tipe interaksi		
		Ikatan Hidrogen	Polar	Hidrofobik
<i>A. konjac</i>	$\Delta G = -5,06$	Met142 Gln170	Asn228 Asp230	
<i>I. batatas</i>	$\Delta G = -4,60$	His100 Asn128	Gln70	
<i>S. tuberosum</i>	$\Delta G = -3,73$			Val175 Ile199

Asam amino UGPase dan UDP-G berinteraksi dengan tiga tipe interaksi, yaitu ikatan hidrogen, polar dan hidrofobik. Interaksi antar protein bisa terjadi karena ada komplementer bentuk, ikatan hidrogen, interaksi hidrofobik dan interaksi elektrostatis yang terjadi antar asam amino [8]. Interaksi hidrofobik antar rantai-rantai samping nonpolar dari residu asam amino merupakan alasan utama protein melipat dan berinteraksi membentuk struktur yang khas. Suatu protein ketika berinteraksi dengan protein lain distabilkan secara eksklusif oleh interaksi non kovalen [9].

Bentuk interaksi antara UGPase dengan substrat UDP-G. Perbedaan produk yang dihasilkan dari substrat UDP-G dapat dikarenakan perbedaan lokasi terjadinya proses kompleks enzim dan substrat di dalam sel dan atau modifikasi hasil translasi. Pembentukan

glukomanan terjadi melalui ikatan 1-4 antara GDP glukosa dan GDP manosa [1]. *Complex* interaksi enzim UGPase dengan UDP-G yang memiliki *global energy* paling rendah yaitu pada *A. konjac* sebesar $-5,06$ kcal/mol diikuti oleh *I. batatas* dan *S. tuberosum* secara berturut-turut sebesar $-4,60$ dan $-3,73$ kcal/mol. Nilai *global energy* (ΔG) tersebut merupakan energi bebas yang penting dalam perhitungan nilai konstanta dari kecepatan reaksi, dan merupakan parameter kekuatan afinitas pengikatan ligan terhadap reseptor. Semakin rendah harga ΔG , ikatan ligan dengan reseptor akan semakin stabil [10].

KESIMPULAN

Interaksi enzim UGPase dengan UDP-G berbeda antara *A. konjac* dengan *I. batatas* dan *S. tuberosum*. *Active site* pada *A. konjac* terletak pada gugus asam amino Met142, Asn228, Asp230 dan Gln170, pada *I. batatas* His100, Asn128 dan Gln70 dan pada *S. tuberosum* Val175 dan Ile199. *Global energy* pada *A. konjac* paling rendah yaitu $-5,06$ kcal/mol diikuti oleh *I. batatas* dan *S. tuberosum* secara berturut-turut sebesar $-4,60$ dan $-3,73$ kcal/mol.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Gille, S., Cheng, K., Skinner, M. E., Liepman, A. H., Wilkerson, C. G., & Pauly, M. (2011). Deep sequencing of voodoo lily (*Amorphophallus konjac*): an approach to identify relevant genes involved in the synthesis of the hemicellulose glucomannan. *Planta*, 234(3), 515-26
- [2]. Lairson LL, Henrissat B, Davies GJ, Withers SG (2008) Glycosyltransferases: structures, functions, and mechanisms. *Annu Rev Biochem*. 77:521-555
- [3]. Keeling, P. L., & Myers, A. M. (2010). Biochemistry and genetics of starch synthesis. *Annual review of food science and technology*, 1, 271-303. doi:10.1146
- [4]. McCoy, J. G., Bitto, E., Bingman, C. A., Wesenberg, G. E., Bannen, R. M., Kondrashov, D. A., & Jr, G. N. P.

- (2007). Structure and Dynamics of UDP-Glucose Pyrophosphorylase from *Arabidopsis thaliana* with Bound UDP-Glucose and UTP. *NIH Public Access*, 366(3), 830-841.
- [5]. Dym, O., Eisenberg, D. and Yeastes O. 2006. Detection of Errors in Protein Models. *International Tables for Crystallography*. Vol. F, Section 21.3.2, p. 520.
- [6] Rachmayati, A.R., Rahmat, K., Indriastuti, M., Wulandari. 2010. Gaya-Gaya yang Terlibat dalam Denaturasi Protein. Program Keahlian Analisis Kimia Direktorat Program Diploma. Institut Pertanian Bogor (IPB).
- [7]. Kleczkowski, L. A., Geisler, M., Fitzek, E., & Wilczynska, M. (2011). REVIEW ARTICLE A common structural blueprint for plant UDP-sugar-producing pyrophosphorylases, 379, 375–379. doi:10.1042/BJ20110730
- [8]. Andrea, S. 2010. Protein Prediction: Binding Site Analysis. TU München. Germany.
- [9]. Murray, R.K., Granner, D.K. and Rodwell, V.W. 2009. *Biokimia Harper*. Alih Bahasa, Brahm U. Pendit; editor edisi bahasa indonesia, Nanda Wulandari..[et al.] ed.27. jakarta: EGC, 2009.
- [10].Pebriana, R.B., Romadhon, A.F. Yunianto, A., Rokhman, M.R., Fitria N.Q., Jenie, R.I., Meiyanto, E. 2008. Docking of Curcumin and its Analogues on Progesterone Receptor: Interaction Studies for Selective Progesterone Receptor Modulators (SPRMS). *PHARMACON*. Vol. 9, No.1.14-20.