

Reaktivitas Reseptor Nmda (N-Metil-D-Aspartat)Ensefalitis terhadap Glisin-Prolin, Glisin- Prolin-Hidroksiprolin secara Uji *In Silico*

Siti Hardianti*, Taufik Muhammad.Fakih, Diar Herawati

Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, UniversitasIslam Bandung, Indonesia.

*shardianti081@gmail.com,taufikmuhammadf@gmail.com, diarmunawar@gmail.com

Abstract. Capsule shells are generally made of gelatin from pigs or cows (Lestari et al., 2021). Gelatin is a protein derivative from collagen fibers found in skin, bone, and cartilage (Arima & Fithriyah, 2015). Gelatin contains the amino acids glycine, hydroxyproline, and proline which can affect gel formation. Glycine contains 26%, hydroxyproline 14%, and proline contains 16% (Febriana et al., 2021). According to research conducted by (Maryawan et al., 2020) in conducting safety studies between hydroxyproline compounds against NMDA receptors tested in silico, the affinity for the receptor is very strong so it has a low safety risk. So that from this study used peptide bonds derived from gelatin, namely glycine-proline, and glycine-proline-hydroxyproline (Santoso et al., 2015). This study was conducted to observe the interaction between glycine-proline, glycine-proline-hydroxyproline compounds on the NMDA receptor (N- methyl-D-aspartate) using the in silico test method, and to investigate the model of the relationship between glycine-proline-hydroxyproline and NMDA receptors. (N-methyl- D-aspartate) on the binding site. This research was carried out in several stages, namely modeling the structure of the test compound, searching for the structure of the NMDA receptor, simulating the docking between the receptor and the test compound, and analyzing the results of the docking. Based on the results of the study, it was shown that glycine-proline-hydroxyproline had a low safety risk against the binding free energy NMDA receptor (ΔG) which was -117.542 kJ/mol.

keywords: *glycine-proline, glycine-proline-hydroxyproline, NMDA*

Abstrak. Cangkang kapsul pada umumnya terbuat dari bahan gelatin yang berasal dari babi atau pun sapi (Lestari et al., 2021). Gelatin adalah derivat protein dari serat kolagen yang terdapat pada kulit, tulang, dan tulang rawan (Arima & Fithriyah, 2015). Didalam gelatin terdapat asam amino glisin, hidrorksiprolin, dan prolin yang dapat mempengaruhi terbentuknya gel. Glisin mengandung 26%, hidroksiprolin 14%, dan prolin mengandung 16% (Febriana et al., 2021). Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh (Maryawan et al., 2020) dalam melakukan studi keamanan antara senyawa hidroksiprolin terhadap reseptor NMDA yang diujikan secara *in silico*, afinitas terhadap reseptor sangat kuat sehingga memiliki resiko keamanan yang rendah. Sehingga dari penelitian ini digunakan ikatan peptida yang berasal dari gelatin yakni glisin-prolin, dan glisin-prolin- hidroksiprolin (Santoso et al., 2015). Penelitian ini dilakukan untuk mengamati adanya interaksi antara senyawa glisin-prolin, glisin-prolin-hidroksiprolin terhadap reseptor NMDA (N-metil-D- aspartat) dengan menggunakan metode uji *in silico*, serta menyelidiki model hubungan antara glisin-prolin-hidroksiprolin dengan reseptor NMDA (N-metil-D- aspartat) pada sisi pengikatan.

Penelitian ini dilakukan dilakukan beberapa tahap yaitu pemodelan struktur senyawa uji, pencarian struktur NMDA, simulasi *docking* antara reseptor dan senyawa uji, dan analisis hasil *docking*. Berdasarkan hasil penelitian, menunjukkan bahwa glisin-prolin- hidroksiprolin memiliki resiko keamanan yang rendah terhadap reseptor NMDA energi ikatan (ΔG) yaitu -117,542 kJ/mol

Kata kunci: *glisin-prolin, glisin-prolin-hidroksiprolin, NMDA*

A. Pendahuluan

Pembentuk cangkang kapsul adalah gelatin kerana bersifat edible (mudah dimakan) serta larut (Sumiati et al., 2020). Cangkang kapsul pada umumnya terbuat dari bahan gelatin yang berasal dari babi atau pun sapi (Lestari et al., 2021). Gelatin adalah derivat protein dari serat kolagen yang terdapat pada kulit, tulang, dan tulang rawan (Arima & Fithriyah, 2015). Didalam gelatin terdapat asam amino glisin, hidroksprolin, dan prolin yang dapat mempengaruhi terbentuknya gel. Glisin mengandung 26%, hidroksprolin 14%, dan prolin mengandung 16% (Febriana et al., 2021).

Glisin ialah asam amino yang paling sederhana dengan rantai samping atom H yang terikat pada atom C yang tidak asimetris (Sudjana, 2002). Hidroksprolin merupakan asam amino hasil modifikasi asam amino prolin yang dikatalisis oleh enzim prolin 4-hidroksilase pada proses post translasi protein (Gorres & Raines, 2010). Asam amino prolin dan hidroksprolin berperan dalam stabilitas struktur molekul kolagen *triple helix* melalui ikatan hidrogen antara molekul air bebas dan grup hidroksil dari prolin dan hidroksprolin (Suryanti et al., 2018).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh (Maryawan et al., 2020) dalam melakukan studi keamanan antara senyawa hidroksprolin terhadap reseptor NMDA yang diujikan secara *in silico*, afinitas terhadap reseptor sangat kuat sehingga memiliki resiko keamanan yang rendah. Sehingga dari penelitian ini digunakan ikatan peptida yang berasal dari gelatin yakni glisin- prolin, dan glisin-prolin-hidroksprolin (Santoso et al., 2015).

Ensefalitis adalah infeksi yang mengenai sistem saraf pusat (SSP) yang disebabkan oleh virus atau mikroorganisme lain (Arif, 2008). Menurut data memperkirakan kasus ensefalitis yang disebabkan oleh infeksi virus mencapai 68.000 orang setiap tahunnya (Mulvey et al., 2021). Pengobatan ensefalitis anti reseptor NMDA (N-metil-D-aspartat) berpusat pada imunoterapi (Peery et al., 2012). Reseptor NMDA (N-metil-D-aspartat) merupakan reseptor ionotropik glutamat yang terdiri dari 2 subunit NR1 (GluN1) dan 2 subunit NR2/3 (GluN2/3) (VanDongen, 2008).

Keamanan merupakan perlindungan dari ancaman atau bahaya yang mengancam kesehatan seperti senyawa yang berbahaya, virus, dan bakteri (Heymann et al., 2015). Uji *in silico* ialah dengan *docking* molekul yang akan diprediksi aktivitasnya pada sel sasaran yg dipilih. Docking merupakan suatu upaya buat menyelaraskan antara ligan yg adalah molekul kecil ke dalam sel sasaran yang artinya molekul protein yang akbar (Jensen, 2017).

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat disimpulkan rumusan masalah dari penelitian ini yaitu bagaimana aktivitas glisin-prolin, glisin-prolin-hidroksprolin terhadap reseptor NMDA (N- metil-D-aspartat) secara *in silico*, dan interaksi antara glisin-prolin, glisin-prolin-hidroksprolin terhadap sisi pengikat (*binding site*) reseptor NMDA (N-metil-D-aspartat).

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk melakukan studi keamanan berdasarkan kegiatan antara glisin-prolin, glisin-prolin-hidroksprolin terhadap reseptor NMDA (N-metil-D-aspartat) secara *in silico*, serta menyelidiki model hubungan antara glisin-prolin-hidroksprolin dengan reseptor NMDA (N-metil-D-aspartat) pada sisi pengikatan.

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan informasi bagaimana glisin-prolin-hidroksprolin berinteraksi menggunakan reseptor NMDA (N-metil-D-aspartat), sehingga keamanan glisin-prolin, glisin-prolin-hidroksprolin dapat dikaji lebih lanjut.

B. Metodologi Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk mengamati adanya interaksi antara senyawa glisin-prolin, glisin- prolin-hidroksprolin terhadap reseptor NMDA (N-metil-D- aspartat) dengan menggunakan metode uji *in silico*. Penelitian ini dilakukan beberapa tahap yaitu pemodelan struktur senyawa uji, pencarian struktur reseptor NMDA, simulasi *docking* antara reseptor dan senyawa uji, dan analisis hasil *docking*.

Kemudian dilakukan pemodelan struktur tiga dimensi (3D) dari senyawa glisin-prolin, glisin-prolin-hidroksprolin menggunakan *server pep-fold versi 3.5*. Lalu dilakukan pencarian

struktur tiga dimensi (3D) asal reseptor NMDA yang diunduh pada website rcsb.org (Protein Data Bank) dengan kode 1PB8. Selanjutnya dilakukan metode *docking* pertama penghapusan molekul air, lalu dipisahkan reseptor NMDA dengan ligan alami. Lalu dilakukan preparasi meliputi penambahan atom hidrogen, penambahan muatan parsial Gasteiger charge kemudian disimpan dalam bentuk arsip pdb.

Simulasi *docking* dilakukan antara reseptor NMDA menggunakan glisin-prolin, glisin-prolin-hidroksiprolin dengan menggunakan website *HPEPDOCK*. hasil *docking* pada sisi *binding site* yang dapat dianalisis dengan menggunakan software *BIOVIA Discovery Studio Visualizer* 2016, yang meliputi interaksi sisa asam amino. Penambatan molekul antara senyawa glisin-prolin, glisin-prolin-hidroksiprolin dengan reseptor NMDA (nilai energi ikatan serta konstanta nhibusi) memakai software *BIOVIA Discovery Studio Visualizer* 2019.

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pemodelan dilakukan menggunakan perangkat lunak PEP-FOLD, PEP-FOLD merupakan suatu perangkat untuk memodelkan sekuensing peptida bioaktif sebagai konformasi struktur3D dengan memanfaatkan metode de novo (Thévenet et al., 2012).



Gambar 5. 1 Permodelan tiga dimensi (a) glisin-prolin, (b) glisin-prolin-hidroksiprolin

Berikutnya dipilih hasil pemodelan yang terbaik berdasarkan energi sOPEP.

Tabel 5. 1 Energi sOPEP (Optimez Potential for Effcient)

Sekuensing peptida bioaktif	Model
a	-33.291
b	-367.062

ket. *) (a) glisin-prolin, (b) glisin-prolin-hidroksiprolin

Energi sOPEP merupakan energi yang terintegrasi pada server PEP-FOLD yang menggambarkan konformasi struktur melekul peptida bioaktif yang telah dimodelkan mendekati keadaan aslinya (Thévenet et al., 2012).

Preparasi struktur makromolekul, reseptor NMDA diunduh pada website rcsb.org (*Protein Data Bank*) dengan kode 1PB8. Preparasi struktur makromolekul dilakukan dengan perangkat

lunak *BIOVIA Discovery Studio Visualizer* 2019. Kemudian dilakukan penghapusan molekul air agar tidak mengganggu proses validasi dan *docking*, lalu dipisahkan reseptor NMDA dengan ligan alaminya agar mempermudah proses *docking* senyawa uji.

Molecular docking antara reseptor dengan senyawa uji, dilakukan menggunakan server *HpepDock* yang diakses secara *online*. *Docking* dilakukan terhadap senyawa uji glisin-prolin, dan glisin-prolin-hidroksiprolin untuk melihat afinitas terbaik diantara kedua senyawa

tersebut. Validasi *docking* dilakukan dengan mendocking kembali ligan pembanding dengan ligan alaminya untuk memastikan bahwa *molecular docking* telah tervalidasi.

Tabel IV. Data energi bebas ikatan

No	Nama Senyawa	Energi
		Bebas Ikatan
1	Glisin-Prolin	-110,791
2	Glisin-Prolin-Hidroksiprolin	-117,542

senyawa glisin-prolin-hidroksiprolin menghasilkan energi bebas ikatan yang lebih besaryaitu sebesar -117,542 kJ/mol. Sehingga semakin besar energi ikatan maka semakin besar afinitas pengikatan senyawa glisin-prolin-hidroksiprolin terhadap reseptor NMDA (Ruswanto *et al.*, 2015). Sehingga diperkirakan senyawa glisin-prolin memiliki ikatan afinitas terhadap reseptor NMDA sangat kuat.

Analisis hasil *docking* dilakukan menggunakan perangkat lunak *Biovia discovery studio visualizer* 2019 untuk menampilkan visualisasi interaksi residu asam amino antara senyawa glisin-prolin terhadap reseptor NMDA. Interaksi berupa ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik, dan ikatan elektrostatis, serta pengikatan residu asam amino pada sisi aktif reseptor, dan jarak interaksi. Interaksi dari kedua senyawa tersebut berisi residu asam amino meliputi tipe ikatan, serta jarak interaksi senyawa glisin-prolin, dan glisin-prolin-hidroksiprolin terhadap reseptor NMDA yang dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel IV. 4 Interaksi Glisin Prolin terhadap Reseptor NMDA

No	Residu asam amino	Jarak (Å)	Ikatan
1	GLY249	3,2633	Hidrogen
2	GLY3	1,53968	Hidrogen
3	GLY5	2,34985	Hidrogen
4	GLY7	2,28599	Hidrogen
5	VAL189	3,45987	Hidrofobik
6	PRO4	5,0987	Hidrofobik
7	TYR184	5,24918	Hidrofobik
8	PHE246	4,75314	Hidrofobik
9	PHE246	5,353	Hidrofobik

Tabel IV. 5 Interaksi Glisin Prolin Hidroksiprolin terhadap Reseptor NMDA

No	Residu asam amino	Jarak (Å)	Ikatan
1	THR129	3,77653	Hidrogen
2	GLY4	2,13121	Hidrogen
3	PRO6	3,01603	Hidrogen
4	GLY7	2,67204	Hidrogen
5	PRO8	2,79563	Hidrogen
6	PRO8	3,04399	Hidrogen
7	PRO12	2,52831	Hidrogen
8	ARG187	3,61564	Hidrofobik
9	TYR184	5,38064	Hidrofobik
10	PHE246	5,08129	Hidrofobik

Pada interaksi senyawa glisin-prolin terhadap reseptor NMDA memiliki 4 ikatan hidrogen (dengan GLY249, GLY3, GLY5, GLY7), 5 ikatan hidrofobik (dengan VAL189, PRO4, TYR184, PHE246, PHE246). Sedangkan untuk interaksi senyawa glisin-prolin-hidroksiprolin terhadap reseptor NMDA memiliki 7 ikatan hidrogen (dengan THR129, GLY4, PRO6, GLY7, PRO8, PRO8, PRO12), 3 ikatan hidrofobik (dengan ARG187, TYR184, PHE246). Ikatan hidrogen merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kestabilan protein dan ikatan hidrogen dapat terbentuk meskipun jarak antara ligan dan reseptor cukup jauh (Elfi et al., 2021).

hidrogen (dengan GLY249, GLY3, GLY5, GLY7), 5 ikatan hidrofobik (dengan VAL189, PRO4, TYR184, PHE246, PHE246). Sedangkan untuk interaksi senyawa glisin-prolin- hidroksiprolin terhadap reseptor NMDA memiliki 7 ikatan hidrogen (dengan THR129, GLY4, PRO6, GLY7, PRO8, PRO8, PRO12), 3 ikatan hidrofobik (dengan ARG187, TYR184, PHE246). Ikatan hidrogen merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi kestabilan protein dan ikatan hidrogen dapat terbentuk meskipun jarak antara ligan dan reseptor cukup jauh (Elfi et al., 2021).

D. Kesimpulan

Pada penelitian yang telah dilakukan reaktivitas reseptor NMDA (n-metil-d-aspartat) ensefalitis terhadap senyawa glisin-prolin, glisin-prolin-hidroksiprolin secara uji *in silico*. Berdasarkan simulasi *docking* antara senyawa glisin-prolin, glisin-prolin-hidroksiprolin terhadap reseptor NMDA.

1. senyawa glisin-prolin-hidroksiprolin mempunyai resiko keamanan yang rendah terhadap reseptor NMDA sebab secara kuantitatif berdasarkan hasil *docking* didapatkan energi bebas ikatan (ΔG) yaitu -117,542 kj/mol, Sehingga menyebabkan.
2. Hubungan afinitas ikatan gisin-prolin-hidroksiprolin terhadap reseptor NMDA sangat kuat.

Acknowledge

Penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada Universitas Islam Bandung, para Dosen dan Keluarga juga rekan-rekan yang telah membantu penulis dalam penelitian tugas akhir ini.

Daftar Pustaka

- [1] Ruswanto, R., Ratnasari, A., & Tuslinah, L. (2015). SINTESIS SENYAWA N'-(3,5-DINITROBENZOYL)-ISONICOTINOHYDRAZIDE DAN STUDI INTERAKSINYA
- [2] PADA Mycobacterium tuberculosis ENOYL ACYL CARRIER PROTEIN REDUCTASE (INH A). *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada: Jurnal Ilmu-Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan Dan Farmasi*, 14(1), 63. <https://doi.org/10.36465/jkbth.v14i1.112> Thévenet, P., Shen, Y., Maupetit, J., Guyon, F., Derreumaux, P., & Tufféry, P. (2012). PEP-