

IN-SILICO ANALYSIS OF THE BDNF (BRAIN DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR) PROTEIN OF PIGEON (*Columba livia*)

Ni Gusti Ayu Galuh Candra Kirana*, I Made Budiarsa**, I Nengah Kundera, Mohammad Jamhari

Program Studi Pendidikan Biologi P. MIPA, Universitas Tadulako, Jl. Soekarno-Hatta, Palu.

E-mail: *ayugaluh1998@yahoo.com; **budiarsa_imade@yahoo.com

Diterima: 2 Desember 2019. Disetujui: 27 Februari 2020. Dipublikasikan: 26 April 2020

DOI: 10.30870/educhemia.v5i1.6763

Abstract: BDNF protein plays a role in the growth and survival of neurons. BDNF protein has some uniqueness, and information on this protein is still limited reported, especially in pigeons. The purpose of this study is to predict the three-dimensional structure of the pigeon of BDNF protein, to provide information in understanding the characteristics, structure of the protein using a homology approach through in-silico analysis. The BDNF protein is predicted using the SWISS-MODEL server and visualizing the prediction results on the CHIMERA Software. Pigeon BDNF protein was taken from Uniprot with a B4Z8Q access code with a template of 1b8m.1. The analysis shows that BDNF protein has an identity of 93,20% consisting of 226 amino acids with a target QMEAN value of -0.17 and hydrophobic amino acids namely Trp, His, Tyr, Ile, Leu, Gly, Lys, Cys, Ala, Phe, Met, and Val. Carboxyl residues, namely Glu, Asp and Val, and amine residues, namely Lys and Ser, with 82 hydrogen bonds.

Keywords: BDNF; Three Dimensional of Protein; Homology

Abstrak: Protein BDNF berperan dalam pertumbuhan dan kelangsungan hidup neuron serta memiliki beberapa keunikan namun informasi protein ini masih terbatas dilaporkan khususnya pada burung Merpati. Tujuan penelitian ini adalah memprediksi struktur tiga dimensi dan untuk memberikan informasi dalam memahami karakteristik protein BDNF burung Merpati menggunakan pendekatan homologi melalui analisis *in-silico*. Protein BDNF diprediksi menggunakan *server* SWISS-MODEL serta memvisualisasikan hasil prediksi pada *Software* CHIMERA. Protein BDNF burung Merpati diambil dari Uniprot dengan kode akses B4Z8Q8 dan *template* 1b8m.1. Hasil analisis menunjukkan bahwa BDNF memiliki *identity* 93,20%, nilai QMEAN -0,17 serta tersusun atas 226 asam amino dengan asam amino yang bersifat hidrofobik meliputi TRP, HIS, TYR, ILE, LEU, GLY, LYS, CYS, ALA, PHE, MET, dan VAL. Residu karboksil yakni GLU, ASP dan VAL, serta residu amina yakni LYS dan SER, dengan 82 ikatan hidrogen.

Kata kunci: Struktur Tiga Dimensi; BDNF; Homologi.

PENDAHULUAN

Gen *BDNF* (*Brain derived neurotrophic factor*) adalah anggota dari faktor neurotropik (Silakarma & Sudewi, 2019). Letak *BDNF* pada setiap spesies berbeda-beda, *BDNF* pada ayam terletak pada ekson 1 sepanjang 650 bp (Kimball *et al.*, 2009), pada manusia terletak pada ekson 1 sampai 5 (Silakarma & Sudewi, 2019). Gen *BDNF* mensintesis protein BDNF, sebagai prekursor dari prepro-BDNF yang dipecah menjadi pro-BDNF sehingga menjadi protein BDNF (Lessmann *et al.*, 2003). Protein BDNF pada manusia terdiri atas 225 asam amino, tikus sebanyak 249 asam amino dan ayam sebanyak 246 asam amino (Yeh *et al.*, 2015).

Protein BDNF mengikat dua reseptor, yakni *tropomiosin kinase b* (Trk b) (Cattaneo *et al.*, 2016) dan neurotrophin P75 (Hosomi *et al.*, 2003). Trk b mengikat m-BDNF yang berfungsi dalam kelangsungan hidup dan diferensiasi *neuron* sedangkan reseptor neurotrophin p75 mengikat pro-BDNF untuk apoptosis sel.

Berdasarkan keunikan dan pentingnya BDNF dalam mempertahankan pertumbuhan, kelangsungan hidup dan fungsi neuron, mengeksplorasi informasi protein BDNF merupakan alternatif yang tepat untuk

memahami protein tersebut. Khususnya pada burung merpati (*Columba livia*) informasi protein BDNF masih terbatas dilaporkan sehingga perlu dilakukan prediksi struktur tiga dimensi protein untuk memberikan informasi tentang karakteristik, struktur dan interaksi protein ditingkat molekuler (Sehar *et al.*, 2013).

Pemahaman struktur tiga dimensi protein dapat dilakukan dengan menggunakan pendekatan homologi melalui analisis *in-silico* (Kresge *et al.*, 1992). Menurut Lukitaningsih *dkk.*, (2009) mengatakan bahwa pendekatan homologi menggunakan protein homolog yang telah diketahui struktur tiga dimensinya sebagai *template* dapat digunakan untuk memodelkan protein target.

METODE

Penelitian ini menggunakan laptop dengan spesifikasi Intel (R) TM (*core*) 2 duo CPU U9400 kecepatan 1,40 GHz kapasitas Ram 2.00 GB dengan sistem operasi *windows* 2007. Perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini berupa *server* Swiss-Model Expaty yang diakses secara *online* yang digunakan untuk memprediksi struktur tiga dimensi protein BDNF sedangkan untuk menampilkan visualisasi struktur tiga

dimensi protein digunakan UCSF CHIMERA.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yakni urutan asam amino protein BDNF dengan kode akses B4Z8Q8 yang di akses melalui *server* UNIPROT serta belum terbangun struktur 3 dimensi pada *database* RSCB PDB. Urutan asam amino yang telah diunduh, di *input* ke dalam *server* SWISS MODEL EXPASY. Prediksi protein target menggunakan *template* yang memiliki *identity* tinggi, evaluasi target dilakukan dengan beberapa parameter yakni *Local Quality Estimation* berupa *QMEAN* dan *GMEQ*. Hasil prediksi divisualisasi pada *Software* CHIMERA, yakni menampilkan, ikatan hidrogen, residu asam amino hidrofobik, residu karboksil dan amina.

HASIL DAN PEMBAHASAN

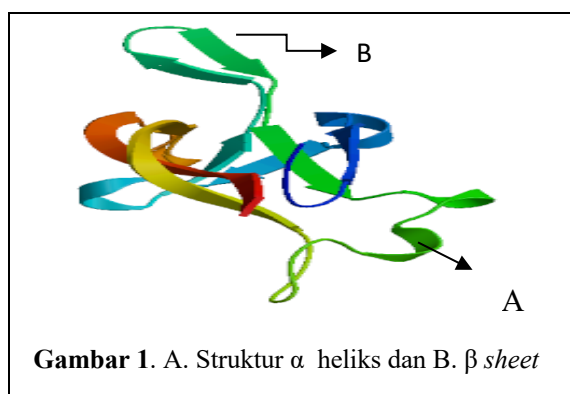
Berkembangnya biologi molekuler serta terungkapnya susunan DNA membuktikan organisme hidup merupakan entitas yang dinamis (Budiarsa *dkk.*, 2009). Regulasi transkripsi DNA akan menghasilkan suatu protein spesifik yang terlibat dalam fungsi biologis tertentu (Mulyati, 2016). Hasil penelitian menunjukkan bahwa protein yang diekspresikan oleh gen *BDNF* burung Merpati tersusun atas 226 asam amino dengan massa 25437,50 Daltons.

Yeh *et al.* (2015) melaporkan bahwa protein BDNF pada beberapa spesies menunjukkan adanya perbedaan jumlah asam amino, pada turkey ditemukan 246, zebrafish sebanyak 270, finch sebanyak 246, simpanse sebanyak 247 dan kera sebanyak 247 asam amino.

Pemodelan *sequence* target dilakukan pada *server* SWISS MODEL yang menyediakan layanan untuk pencarian *template* (Westbrook *et al.*, 2003). *Identity template* yang dipilih sebesar 93,20%, menurut Amelia (2012) *template* dengan *identity* diatas 50% menjadi pilihan utama dalam penentuan struktur tiga dimensi protein. *Identity template* lebih dari 50% dapat digunakan karena memiliki kesalahan yang kecil dalam memprediksi struktur tiga dimensi *sequence* target, yaitu pada rantai samping dan daerah rotametri (Baker & Sali, 2001). *Template* yang digunakan yakni 1b8m.1 A, hasil model yang terbangun terdiri atas rantai α heliks dan β *sheet*. Rantai α heliks distabilkan oleh ikatan hidrogen yang terbentuk dari residu asam amino dan asam amino yang memiliki rantai hidrofobik cenderung dijumpai pada struktur α heliks. Rantai β *sheet* terbentuk antara ikatan hidrogen dengan asam-asam amino yang bersebelahan. Struktur model rantai β *sheet* ditemukan lebih dominan dibandingkan α heliks. Data ini sejalan dengan penelitian

yang dilaporkan oleh Robinson *et al* (1995) pada protein NGF. Hal ini disebabkan protein yang diekspresikan oleh NGF dan BDNF merupakan keluarga *neurotrophic* yang sama-sama berperan dalam proses pertumbuhan saraf.

Struktur α heliks dan β sheet dapat dilihat pada Gambar 1.



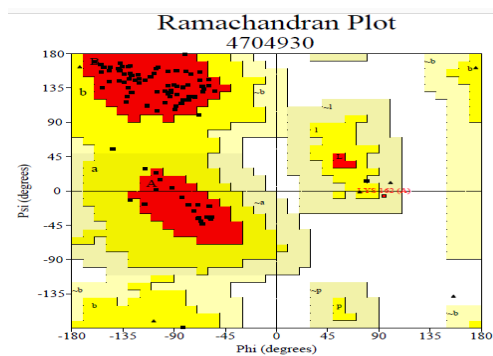
Data *model information* menunjukkan bahwa nilai QMEAN (*Quality Model Energy Estimation*) menggabungkan beberapa fungsi penilaian yang digunakan untuk memperkirakan kualitas model (Wijaya, 2016). Pada analisis ini nilai QMEAN target didapatkan cukup baik yaitu sebesar -0,17, yang ditandai dengan adanya simbol ibu jari yang mengarah keatas tepat disebelah kanan atas. Nilai GMQE menggambarkan sifat-sifat dari penjejakan target dan *template* dengan rentan skor 0 hingga 1 yang mencerminkan ekspektasi akurasi model dibangun (Rekik *et al.*, 2015). Pada analisis ini nilai GMQE model ditemukan sebesar 0,42 sehingga akurasi model yang dibentuk baik (Tabel 1).

Tabel 1. Perbandingan *Template* Dan Target

<i>Global Quality Estimation</i>	Target	<i>Template</i>
QMEAN	-0,17	-0,34
C β	0,27	0,75
All atom	-0,32	0,11
Solvation	-0,61	0,41
Torsion	0,02	0,43
GMQE	0,42	-

Kelayakan model struktur tiga dimensi dapat dilihat pada plot Ramachandran yang terbagi menjadi empat kuadran yakni *most favoured regions*, *additional allowed regions*, *generously allowed regions*, dan *disallowed regions*. Plot Ramachandran Model protein BDNF burung Merpati (B4Z8Q8) memiliki persentase residu asam amino yang berbeda pada setiap region. Pada kuadran I *most favoured regions* sebesar 92,4%, kuadran II *additional regions* sebesar 6,5%, kuadran III *generously allowed regions* sebesar 1,1%, dan kuadran IV *disallowed regions* sebesar 0,0%. Penelitian sebelumnya tentang Model BDNF *Homo sapiens* ditemukan wilayah *disallowed region* pada plot Ramachandran terdapat satu residu non-glicine, Lys-26 yang terdiri 8-116 asam amino dengan kepadatan elektron dengan jarak rantai utama sebesar 60 Å (Robinson *et al.*, 1995). Semakin besar residu asam amino yang berada pada *most favoured region* hal ini menandakan kualitas model semakin baik dan stabil (Ho & Brasseur, 2005).

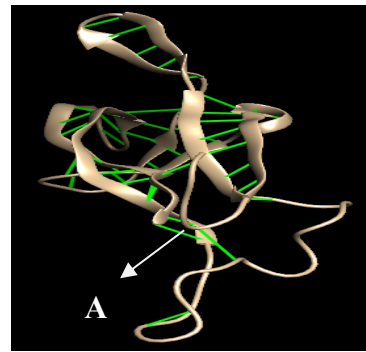
Kualitas struktur protein dikatakan baik jika residu non glisin pada daerah *disallowed region* lebih kecil dari 15%. (Lovell *et al.*, 2003). Pada penelitian ini model protein BDNF merpati memiliki kualitas yang baik dan stabil karena memiliki persentase yang tinggi pada *most favoured regions* dan rendah pada *disallowed region*. Ramachandran plot dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Plot Ramachandran

Ikatan hidrogen berkontribusi penting dalam membebaskan energi makromolekul biologis (Morozov & Kortemme, 2005), yang terjadi antar atom hidrogen dengan salah satu unsur N, O dan F (Effendy 2006). Ikatan hidrogen dicirikan oleh orientasi donor dan akseptor yang berbeda dan berfungsi menjaga stabilitas ikatan protein, fungsi ini terkait dengan sifat protein yang dapat terdenaturasi dan terkoagulasi sebagai akibat oleh pemanasan suhu tinggi, dan penurunan atau kenaikan pH (Wijayanti, 2017). Kekuatan ikatan hidrogen

mempengaruhi mobilitas protein pada sistem terluar (Sheu *et al.*, 2009). Lebih lanjut Vinsiah (2018) ikatan hidrogen berperan penting dalam penentuan struktur, sifat dan fungsi suatu molekul. Ikatan yang terjadi dapat berupa ikatan gaya antar atom yang memiliki keelektronegatifan yang tinggi dengan atom hidrogen yang terikat secara kovalen (Rachmania, *dkk.*, 2015). Pada model ditemukan 82 ikatan hidrogen yang dapat dilihat pada Gambar 3.



Keterangan

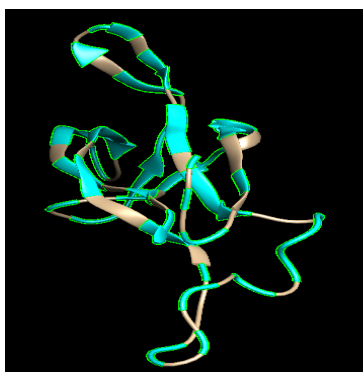
A. Ikatan hidrogen berwarna hijau

Gambar 3. Ikatan Hidrogen

Interaksi hidrofobik struktur protein berperan dalam mengatur pelipatan dan stabilitas protein (Gowder *et al.*, 2014). Asam amino hidrofobik melakukan pelipatan ke arah dalam ketika berada di lingkungan aquaeous (Zhu *et al.*, 2016). Pada analisis ini diperoleh asam amino yang bersifat hidrofobik adalah LYS, VAL, MET, ALA, TRP, THR, ILE, GLY, HIS, TYR, CYS, dan PHE.

Menurut Gowder *et al.*, (2014) menyatakan bahwa asam amino hidrofobik seperti VAL, LEU, ILE, PHE,

dan MET cenderung terdapat dibagian dalam rantai samping kutub yang terkena pelarut, residu ini menstabilkan tulang punggung polipeptida. Ketika protein melipat sebagian besar residu non polar (~80%) akan berada di bagian interior permukaan protein, terlindungi dari pelarut sehingga menyebabkan suatu protein dapat mempertahankan integritasnya (Malau dan Sianturi, 2019). Gambar residu hidrofobik dapat dilihat pada Gambar 4.

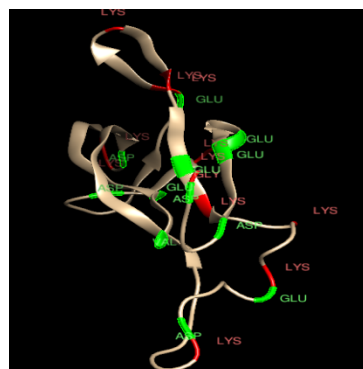


Gambar 4. Residu hidrofobik berwarna biru

Residu karboksil mengandung sebuah gugus karbonil dan hidroksil, aksi antar kedua gugus tersebut menghasilkan gugus yang bersifat asam dan polar sehingga reaksinya tidak dipengaruhi oleh sisa molekul. Asam karboksilat merupakan asam lemah, sehingga gugus -COOH diperlukan untuk membentuk ikatan hidrogen intramolekuler (Sumarlin, *dkk.*, 2012).

Hasil struktur protein BDNF terdapat beberapa asam amino berupa GLU, ASP dan VAL. Asam aspartat dan glutamat merupakan asam amino yang bersifat

asam karena keduanya memiliki rantai samping dan mengandung gugus karboksil serta cenderung mengalami deprotonasi pada pH netral. Pada asam amino yang memiliki residu amina terdapat LYS dan GLY. Lisin merupakan asam amino yang bersifat basa karena bermuatan positif pada pH netral dan berperan dalam stabilisasi interaksi elektrostatis di dalam protein. Gambar asam amino karboksil dan amina dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Residu karboksil warna hijau dan residu amina warna merah

KESIMPULAN

Protein BDNF merpati, dengan kode akses B4Z8Q8 dan *template* 1b8m.1 mempunyai *identity* sebesar 93,20% dengan nilai QMEAN target sebesar -0,17. Asam amino yang bersifat hidrofobik berupa TRP, HIS, TYR, ILE, LEU, GLY, LYS, CYS, ALA, PHE, MET dan VAL. Residu karboksil berupa GLU, ASP dan VAL serta residu amina yakni LYS dan SER, dengan 82 ikatan hidrogen dari 226 asam amino

penyusunnya. Implikasi dari penelitian ini yakni untuk memberikan informasi

awal mengenai struktur protein BDNF dalam pengembangan desain vaksin.

DAFTAR RUJUKAN

- Amelia. (2012). Comparative Modelling Protein Vaksin NA BTB H5N1 menggunakan Swiss Model. *Jurnal Sainstek*, vol. 4, no. 2, hh.165-169.
- Baker, D. & Sali, A. (2001). Protein Structure Prediction and Structural Genomic. *Science*, vol. 294, no. 5540, hh. 93-96.
- Budiarsa, I. M., Artama, I. W. T., Sembiring, L., & Situmorang, J. (2009). Diversitas Genetik Burung Maleo (*Macrocephalon maleo*) Berdasarkan Sekuen Gen Dehydrogenase Sub-Unit 2 (ND2) Mitokondria. *Berkala Penelitian Hayati Edisi Khusus*, 3B, hh. 11–15.
- Cattaneo, A., Cattane, N., Begni, V., Pariante, C. M. & Riva, M. A. (2016). The Human BDNF Gene: Peripheral Gene Expression and Protein Levels as Biomarkers For Psychiatric Disorders. *Translational Psychiatry*, vol. 6, hh. 1-10.
- Effendy. 2006. *Teori VSEPR Kepolaran, dan Gaya Antar molekul*. Bayumedia Publishing : Malang.
- Gowder, M. S., Chatterjee, J., Chaudhuri, T. & Paul, K. (2014). Prediction and Analysis of Surface Hydrophobic Residues In Tertiary Structure Of Proteins. *The Scientific World Journal*, hh. 1-7.
- Ho, B. K. & Brasseur, R. (2005). The Ramachandran Plots of Glycine and Pre-Proline. *BMC Struc Bio*, vol. 11, hh. 1–11.
- Hosomi, S., Yamashita, T., Aoki, M. & Tohyama, M. (2003). The p75 Receptor is Required for BDNF-Induced differentiation of Neural Precursor Cells. *Biochemical and Biophysical. Journal Research Communications*, vol. 30, no. 4, hh. 1011–1015.
- Kimball, R. T., Braun, E. L., Barker, F. K., Bowie, R. C. K., Braun, M. J., Chojnowski, J. L., Hackett, S. J., Han, K. L., Harshman, J., Heimer-Torres, V., Holznagel, W., Huddleston, C. J., Marks, B. D., Miglia, K. J., Moore, W. S., Reddy, S., Sheldon, F. H., Smith, J. V., Witt, C. C. & Yuri, T. (2009). A Well-Tested Set of Primers to Amplify Regions Spread Across the Avian Genome. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, vol. 50, no. 3, hh. 654–660.
- Kresge, C. T., Leonowicz, M. E., Roth, W. J., Vartuli, J. C. & Beck, J. S. (1992). One Thousand Families For

- The Molecular Biologist. *Nature*, vol. 359, hh. 710–713.
- Lessmann, V., Gottmann, K. & Malcangio, M. (2003). Neurotrophin Secretion : Current Facts and Future Prospects. *Plos One*, vol. 69, hal. 341–374.
- Lovell, S. C., Davis, I. W., III, W. B. A., Bakker, P. I. W. de, Word, J. M., Prisant, M. G., Richardson, J. S. & Richardson, D. C. (2003). Structure Validation by C α Geometry: ϕ, ψ and C β deviation. *Proteins: Structure, Function and Genetics*, vol. 50, no. 3, hh. 437–450.
- Lukitaningsih, E., Wisnusaputra, A. & Sudarmanto, B. S. A. (2009). Scrining in Silico Active Compound of *Pachyrrhizus erosus* as Antitirosinase on *Aspergillus oryzae* (Computattional Study with Homology Modeling and Molecular Docking). *Majalah Obat Tradisional*, vol. 20, no. 1, hh. 7–15.
- Malau, N. D. & Sianturi, M. (2019). Analisa Interaksi Hidrofobik terhadap Kestabilan Termal Enzim Xilanase *Aspergillus niger*. *Jurnal EduMatSains*, vol. 3, no. 2, hh. 215–227.
- Morozov, A. V. & Kortemme, T. (2005). Potential Functions for Hydrogen Bonds in Protein Structure Prediction and Design Advances in Protein. *Chemistry*, vol. 72, no. 5, hh. 1–38.
- Mulyati, B. (2016). Studi Komputasi Interaksi Isoflavon dengan Reseptor Estrogen β menggunakan Metode Oniom. *Educhemia*, vol. 1 no. 2 hh. 148.
- Rekik, I., Chaabene, Z., Grubb, C. D., Drira, N., Cheour, F. & Elleuch, A. (2015). In Silico Characterization and Molecular Modeling of Double-Strand Break Repair Protein MRE11 from Phoenix dactylifera V Deglet Nour. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, vol. 12 no. 1 hh. 1–14.
- Rachmania, R. A. & Supandi, O. A. L. 2015. Senyawa Diterpenoid Lakton Herba Sambiloto. *Pharmacy*, vol. 12, no. 2, hh. 210-222.
- Robinson, R. C., Stuart, D. I., Jones, E. Y. & Radziejewski, C. (1995). 1995. Structure of the Brain-Derived Neurotrophic Factor/Neurotrophin 3 Heterodimer. *Biochemistry*, vol. 34, no. 13, hh. 4139–4146.
- Sehar, U., Mehmood, M. A., Nawaz, S., Nadeem, S., Hussain, K., Sohail, I., Tabassum, M. R., Gill, S. S. & Saqib, A. (2013). Three Dimensional (3D) Structure Prediction and Substrate-Protein Interaction Study of the Chitin Binding Protein CBP24 from *B. thuringiensis*. *Bioinformatics*, vol. 9, no. 14, hh. 725–729.

- Sheu, S. Y., Schlag, E. W., Selzle, H. L. & Yang, D. Y. (2009). Hydrogen Bonds in Membrane Proteins. *Journal of Physical Chemistry*, vol. 113 no. 15, hh. 5318–5326.
- Silakarma, D & Sudewi, A. A. R. (2019). The Role of Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in Cognitive Functions. *Bali Medical Journal* vol. 8, no. 2, hh. 427–434.
- Sumarlin, L. O., Nurbayti, S. & Fauziah, S. 2012. Penghambatan Enzim Pemecah Protein (Enzim Papain) oleh Ekstrak Rokok, Minuman Beralkohol dan Kopi secara In Vitro. *Jurnal Kimia Valensi*, vol. 2, no. 3, hh. 449-458.
- Vinsiah, R. (2018). tуди Ikatan Hidrogen Sistem Metanol-Metanol dan Etanol-Etanol dengan Metode Molekular Dinamik. *Sainmatika*, vol. 15, no. 1, hh. 14–22.
- Westbrook, J., Feng, Z., Chen, L., Yang, H. & Berman, H. M. (2003). The Protein Data Bank and Structural Genomics. *Nucleic Acids Research*, vol. 31, no. 1, hh. 489–491.
- Wijaya, H. (2016). Prediksi Struktur Tiga Dimensi Protein Alergen Pangan dengan Metode Homologi menggunakan Program Swiss-Model. *Biopropal Industri*, vol. 7, no. 2, hh. 83–94.
- Wijayanti, I. E. (2017). Analisis Asam Amino pada Minyak Kelapa dengan Proses Pengasaman Menggunakan HPLC. *Educhemia*, vol. 2, no. 1, hh. 40-51.
- Yeh, F. C., Kao, C. F. & Kuo, P. H. (2015). Explore the Features of Brain-Derived Neurotrophic Factor in Mood Disorders. *Plos one*, vol. 10, no. 6, hh. 1–20.
- Zhu, C., Gao, Y., Li, H., Meng, S., Li, L., Francisco, J. S. & Zeng, X. C. (2016). Characterizing Hydrophobicity of Amino Acid Side Chains in a Protein Nanodroplet on Planar Peptide Network. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 113, no. 46, hh. 12946–12951.