

STUDI HOMOLOGI MODELING ENZIM TIROSINASE (*Homo Sapiens*) DENGAN MENGGUNAKAN SWISS-MODEL

STUDY OF HOMOLOGY MODELING USING SWISS-MODEL ON TYROSINASE ENZYME (*Homo Sapiens*)

Junaidin^{1*}, Shinta Chaerani¹, Nur'afifah Husniah Fadla¹

¹Sekolah Tinggi Farmasi Muhammadiyah Tangerang

*Corresponding Author Email: junaidinfarm03@gmail.com

DOI: <http://dx.doi.org/10.47653/farm.v6i1.125>

ABSTRAK

Agen pemutih kulit biasanya bekerja dengan mengurangi pigmen melanin yang merupakan sumber utama warna kulit dengan menghambat kerja enzim tirosinase. Enzim tirosinase adalah target yang menarik untuk pengembangan agen pemutih kulit. Studi *in silico* enzim tirosinase pada manusia masih terbatas dilakukan, dimana struktur 3D dari enzim tirosinase untuk manusia belum tersedia secara eksperimental. Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi struktur 3D dari enzim tirosinase menggunakan program Swiss-Model[®]. Pembuatan model menggunakan metode *homology modeling* untuk memprediksi struktur 3D dari enzim tirosinase manusia. Pembuatan model enzim tirosinase pada manusia menggunakan *template* 5m8q dengan kesamaan 45%. Struktur 3D dari enzim tirosinase yang dihasilkan dari Swiss-Model[®] diperoleh skor QMEAN -2,95 yang menunjukkan kualitas model yang baik. Hasil evaluasi dan optimisasi kualitas model diperoleh dengan mengevaluasi nilai *clashscore*, persentase residu pada daerah yang tidak diizinkan, residu dengan skor rata-rata 3D-1D $\geq 0,2$ dan nilai skor model *molprobit* memenuhi persyaratan model yang baik.

Kata Kunci: Tirosinase, *Homology Modeling*, Swiss-Model[®]

ABSTRACT

Skin whitening agents usually work by reducing the melanin pigment which the main source of skin color by inhibiting the action of tyrosinase enzyme. Tyrosinase enzyme is an interesting target to explore in developing the whitening agents. Studi in silico of tyrosinase enzyme in human are still limited to do, where the 3D structure of the tyrosinase enzyme for humans is not experimentally available yet. This study aims to predict the 3D structure of tyrosinase enzyme using Swiss-Model[®]. Tyrosinase enzyme was modeled with homology modeling method. As the reference of creating tyrosinase enzyme models in humans, we use the 5m8q template with a similarity of 45%. The 3D structure of the tyrosinase enzyme produced from Swiss-Model[®] obtained a QMEAN score -2.95 indicating good quality. Result of evaluation and optimization of tyrosinase enzyme model quality were obtained by evaluating clashscore, percentage of residues on disallowed regions, residues have averaged 3D-1D score ≥ 0.2 , and molprobit score model fulfilling the requirements of a good model.

Keywords: Tyrosinase, *Homology Modeling*, Swiss-Model[®]

PENDAHULUAN

Dewasa ini perkembangan studi bioinformatika tidak hanya berperan untuk perancangan obat yang rasional tetapi juga sudah mulai merambah ke dunia kosmetik. Penggunaan bioinformatika pada dunia kosmetik salah satu diantaranya yaitu berfokus pada skrining agen pemutih kulit. Hal ini diakibatkan adanya peningkatan minat dan permintaan untuk agen pemutih kulit (Lu dkk,

2009). Wilayah asia sedang mendominasi populasi dunia dalam investasi kosmetik sebagai agen pemutih kulit. Agen pemutih kulit yang berkembang dewasa ini biasanya bekerja dengan mengurangi pigmen melanin yang merupakan sumber utama warna kulit dengan cara menghambat kerja enzim tirosinase. Dalam perkembangannya enzim tirosinase menjadi target yang menarik untuk

pengembangan agen pemutih kulit, karena memiliki peran utama dalam melanogenesis (penghasil pigmen melanin) (Pillaiyar dkk, 2017).

Tirosinase adalah enzim yang mengandung tembaga, yang mengkatalisasi dua langkah pertama dalam melanogenesis mamalia dan bertanggung jawab atas reaksi pencoklatan enzimetik pada buah atau jamur (Chang, 2009). Tirosinase menunjukkan aktivitas *monophenolase* dan *difhenolase*, yang mengkatalisis hidroksilasi L-tirosin menjadi L-DOPA dan oksidasi L-DOPA menjadi dopaquinone, yang dapat menjalani polimerisasi nonenzimatik untuk menghasilkan pigmen gelap (Cui dkk, 2009). Enzim tirosinase pada manusia masih belum dapat didefinisikan secara eksperimental, sehingga studi *in silico* terhadap enzim tirosinase pada manusia masih terbatas untuk dilakukan. Hal ini kemudian yang menjadi alasan perlunya dilakukan pemodelan enzim tirosinase pada manusia dalam bentuk struktur 3D.

Prediksi bentuk stuktur 3D enzim tirosinase pada manusia salah satunya dapat dilakukan dengan metode *homology modeling*. *Homology modeling* merupakan suatu metode yang didasarkan pada hasil pengamatan yang menunjukkan bahwa semua anggota famili protein memiliki bentuk lipatan yang sama. Penggunaan metode ini bergantung pada struktur protein yang homolog, dimana protein tersebut sudah ditentukan bentuk strukturnya secara eksperimen (*template*) dan memungkinkan pembuatan model yang dimulai dari sekuens protein yang akan dimodelkan (*target*) (Schmidt dkk, 2013). Untuk pemodelan tirosinase pada manusia dengan metode *homology modeling* menggunakan *web server* Swiss-Model®.

Swiss-Model® merupakan *web server* yang sudah 25 tahun merintis bidang pemodelan. Swiss-Model® didukung oleh Swiss-Model *template library* (SMTL) yang berfungsi untuk menggabungkan informasi struktur eksperimental dari PDB dan menambahkannya dengan informasi turunan yang berguna dalam prediksi struktur 3D protein. Keakuratan model yang dihasilkan juga tidak terlepas dari penerapan mesin pemodelan terbaru (ProMod3) dan pengenalan metode estimasi kualitas model lokal baru, QMEANDisCo sehingga dapat meningkatkan ketepatan perkiraan kualitas model, yang mengarah ke hasil model yang lebih akurat (Waterhouse dkk, 2018).

Penelitian ini bertujuan untuk memprediksi struktur 3D enzim tirosinase pada manusia dengan metode *homology modeling* menggunakan program Swiss-Model® serta mengetahui kualitas dari struktur protein model yang dihasilkan.

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan pendekatan metode *homology modeling* didalam memprediksi bentuk struktur 3D dari enzim tirosinase *Homo sapiens* (*Human*).

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain perangkat keras berupa notebook ASUS A456U (Sistem Operasi: Microsoft Windows 10 Pro 64-bit; Memori: 4 GB; Prosesor: Intel Core i5-7200U). Adapun untuk perangkat lunak yang digunakan yaitu BioEdit Version 7.2.6.1, Chimera 1.11.2, Discovery Studio 2016, Selain itu, digunakan *web server* yaitu NCBI®BLAST, MolProbity®, ModRefiner®, Procheck Swiss-Model®, dan Verify3D®.

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan yaitu sekuens enzim tirosinase *Homo sapiens* (*Human*) yang diperoleh dari *database* Uniprot® (ID P14679).

Penyiapan Sekuen Enzim Tirosinase

Penyiapan sekuens enzim tirosinase dilakukan dengan melakukan pencarian sekuens enzim tirosinase *Homo sapiens* (*Human*) pada *database* Uniprot®. Selanjutnya sekuens enzim tirosinase yang diperoleh kemudian di preparasi dengan *software* BioEdit®.

Pembuatan Model Enzim Tirosinase

Pembuatan model enzim tirosinase menggunakan pendekatan *homology modeling* dengan bantuan *web server* Swiss-Model®. Pembuatan model enzim dengan metode *homology modeling* diawali dengan pencarian *template* dengan bantuan *web server* NCBI® BLAST untuk mencari *template* yang memiliki kemiripan dengan sekuens enzim tirosinase *Homo sapiens* (*Human*). Tahap berikutnya dilakukan penjajaran sekuens target dengan *template* dan pembuatan model menggunakan Swiss-Model®. Model yang dihasilkan kemudian dievaluasi menggunakan Procheck®, Molprobity® dan Verify3D®. Selanjutnya dilakukan perbaikan struktur menggunakan

ModRefiner[®] untuk selanjutnya model dievaluasi kembali.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyiapan Sekuens Enzim Tirosinase

Sekuens asam amino yang sudah diperoleh dipreparasi dengan bantuan *software* BioEdit[®] sehingga diperoleh format file fasta. Urutan asam amino tirosinase *Homo sapiens* (*Human*) kemudian digunakan dalam pencarian dan identifikasi *template* yang akan digunakan dalam pembuatan model enzim tirosinase.

```
>sp|P14679|TYRO_HUMAN Tyrosinase OS=Homo sapiens GN=TYR
MLLAVLYCLLWSFQTSAGHFPRACVSSKNLMEKECCPPWSGDRSPCGQLSGRGCQNILL
SNAPLGPQFFFTGVDRESWPSVFNRTCCQSGNFMFGNCGNCKPFGWGNPCTERRLLVR
RNIFDLSAPEKDKFFAYLTLAKHTISSDYVPIPIGTGYQMGKNGSTPMFNDINIYDLFVWMH
YYVSMDALLGSEIWRDIDFAHEAPAFLEPHRLFLLRWEQEIQKLTGDEFNTPYWDWRD
AEKCDICTDEYMGQHPNPNLLSPASFFSSWQIVCSRLEEYNSHQSLCNGTPEGPLRRN
PGNHDKSRTPLPSSADVEFCLSLTQYESGSMKAAANFSFRNTELEGFASPLTGIADASQS
SMHNAIHYMNGTMSQVQGSANDPIFLHHAFFVDSIFEQWLRHRRLPQEVYPEANAPIGH
NRESYMPVPIPLRYNGDFEISSKDLGYDSYQLQSDPDSFDQYIKSYLEQASRIWSWLLG
AAMVGAVLALTLAGLVSLLCRHRKQLPEEKPLLMKEKEDYHSLYQSHL
```

Gambar 1. Urutan Sekuens Enzim Tirosinase *Homo sapiens* (*Human*)

Homology Modeling

Prediksi Stuktur 3D enzim tirosinase menggunakan *web server* Swiss-Model[®]. Penggunaan *web server* didalam pembuatan model didasarkan padakemudahan penggunaan dan keakuratan model yang dihasilkan. *Homology modeling* memiliki lima tahapan langkah antara lain yaitu identifikasi *template*, penjajaran sekuens target, pembuatan model untuk target berdasarkan struktur 3D dari *template*, penyempurnaan model (model *refinement*) dan evaluasi model (Joo dkk, 2012).

Identifikasi Template

Pencarian *template* dilakukan dengan menggunakan bantuan *web server*NCBI[®] BLAST untuk menemukan struktur protein yang memiliki kemiripan sekuens tertinggi terhadap sekuens asam amino target yang sudah diketahui struktur 3D secara eksperimen. Salah satu *tools* yang dimiliki oleh NCBI yang biasa digunakan untuk mencari kemiripan sekuens yaitu BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). *Tools* BLAST merupakan salah satu program bioinformatika yang menggunakan algoritma *heuristic* sehingga dapat mempercepat pencarian

template pada *database* dengan menemukan kecocokan dan urutan yang sama secara singkat antara *queri* dan *template* (Altschul dkk, 1990). Penilaian dari hasil pencarian secara *default* berkorelasi dengan *searching program* yang digunakan. Penelitian ini menggunakan *searching program* blastp dengan fungsi penilaian menggunakan matriks penilaian BLOSUM62 (Pearson, 2013). Hasil pencarian *template* menggunakan NCBI[®] BLAST diperoleh *template* dengan % identitas tertinggi yang tersedia untuk enzim tirosinase *Homo sapiens* (*Human*) yaitu sebesar 45% dengan kode pdb 5m8q.

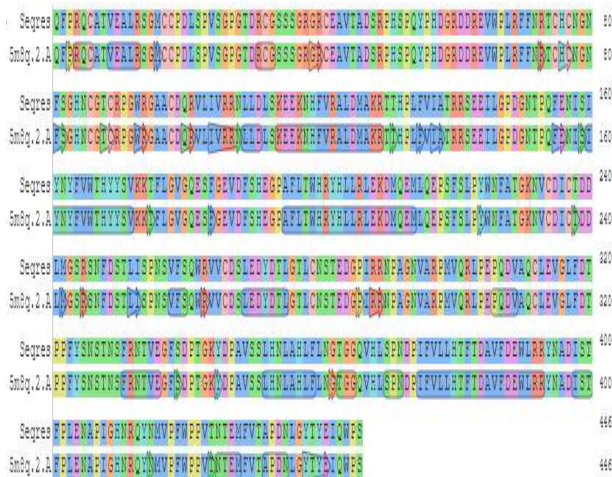
Score	Expect	Method	Identities	Positives	Gaps
391 bits(1004)	1e-131	Compositional matrix adjust.	197/441(45%)	273/441(61%)	11/441(2%)
Query 19	HFPACVSSKNLMEKECCPPWSGDRSP	---CGQLSGRGCQNILL	SNAPLGPQFFFTGVDRESWPSVFNRTCCQSGNFMFGNCGNCKPFGWGNPCTERRLLVR	74	
Sbjct 1	FPR C + + L	CCP S P + + CG	SGRG C + + P PG+P G	60	
Query 75	DDRESWPSVFNRTCCQSGNFMFGNCGNCKPFGWGNPCTERRLLVR	NIIDLSAPEKDKFFAYLTLAKHTISSDYVPIPIGTGYQMGKNGSTPMFNDINIYDLFVWMH	YYVSMDALLGSEIWRDIDFAHEAPAFLEPHRLFLLRWEQEIQKLTGDEFNTPYWDWRD	134	
Sbjct 61	DDREVIPLRFFIRTCCHGNIFSGHICGTCRPGQIRGAACQGRVLLVRRNLLDLSKEEKHNF			120	
Query 135	FAYLTLAKHTISSDYVPIPIGTGYQMGKNGSTPMFNDINIYDLFVWMH	NIIDLSAPEKDKFFAYLTLAKHTISSDYVPIPIGTGYQMGKNGSTPMFNDINIYDLFVWMH	YYVSMDALLGSEIWRDIDFAHEAPAFLEPHRLFLLRWEQEIQKLTGDEFNTPYWDWRD	191	
Sbjct 121	VRALDMAKRTTHPLFVIATRSEELGPDGNTQFENISLYNFWHTHYVSKTFLVGG			180	
Query 192	SEIWRDIDFAHEAPAFLEPHRLFLLRWEQEIQKLTGDEFNTPYWDWRD	NIIDLSAPEKDKFFAYLTLAKHTISSDYVPIPIGTGYQMGKNGSTPMFNDINIYDLFVWMH	YYVSMDALLGSEIWRDIDFAHEAPAFLEPHRLFLLRWEQEIQKLTGDEFNTPYWDWRD	250	
Sbjct 181	QESFGEVDFSHGEPFLTHRYHLLRLEKQEMLEQPSFLYVNFATGKWDICDCTDD			240	
Query 251	YMGQHPNPNLLSPASFFSSWQIVCSRLEEYNSHQSLCNGTPEGPLRRN	GHDKSRTPLPSSADVEFCLSLTQYESGSMKAAANFSFRNTELEGFASPLTGIADASQS	SMHNAIHYMNGTMSQVQGSANDPIFLHHAFFVDSIFEQWLRHRRLPQEVYPEANAPIGH	309	
Sbjct 241	LMGSRNFDSTLSPISVFSQIRVVCOSLQEDYDVLGTLNCTEDGPIRNPAGINVARPHV			300	
Query 310	PRLPSSADVEFCLSLTQYESGSMKAAANFSFRNTELEGFASPLTGIADASQS	SMHNAIHYMNGTMSQVQGSANDPIFLHHAFFVDSIFEQWLRHRRLPQEVYPEANAPIGH	YYVSMDALLGSEIWRDIDFAHEAPAFLEPHRLFLLRWEQEIQKLTGDEFNTPYWDWRD	369	
Sbjct 301	QRLPEPQVAQCLEVGLFDTPPFYSNNSGNSFRNTELEGFASPLTGIADASQS	SMHNAIHYMNGTMSQVQGSANDPIFLHHAFFVDSIFEQWLRHRRLPQEVYPEANAPIGH	YYVSMDALLGSEIWRDIDFAHEAPAFLEPHRLFLLRWEQEIQKLTGDEFNTPYWDWRD	359	
Query 370	MNGTMSQVQGSANDPIFLHHAFFVDSIFEQWLRHRRLPQEVYPEANAPIGH	YYVSMDALLGSEIWRDIDFAHEAPAFLEPHRLFLLRWEQEIQKLTGDEFNTPYWDWRD	YYVSMDALLGSEIWRDIDFAHEAPAFLEPHRLFLLRWEQEIQKLTGDEFNTPYWDWRD	429	
Sbjct 360	LNTEGGQVHLSMNDPEFVLLHTFDVDFEHLRRYVADISTFPLENAPIGHNRQYVNVVDF			419	
Query 430	TPLYRNGDFEISSKDLGYDSYQLQSDPDSFDQYIKSYLEQASRIWSWLLG	AAMVGAVLALTLAGLVSLLCRHRKQLPEEKPLLMKEKEDYHSLYQSHL		449	
Sbjct 420	HPVITTEHPITAPMLGYTV			440	

Gambar 2. Hasil pencarian *template* dengan bantuan NCBI[®] BLAST

Pemilihan 5m8q sebagai *template* didasarkan pada kemiripan identitas antara sekuens target dan *template* diatas 30% serta *template* 5m8q berada pada urutan pertama pencarianNCBI[®] BLAST. Perlu diketahui bahwa urutan sekuens asam amino antara target dan *template* apabila % identitasnya diatas 30% maka sturktur yang dihasilkan dari pemodelan akan memberikan hasil prediksi dengan akurasi yang setara dengan struktur hasil sinar-X dengan resolusi yang rendah (Xiang, 2006). Disamping itu, *template* dengan pdb ID 5m8q merupakan enzim *Tyrosinase related protein 1* (TYRP1) mutan pada manusia. Adapun enzim tirosinase dan TYRP1 ikut terlibat dalam biosintesis melanin bersama-sama dengan TYRP2 (Lai dkk, 2017). Pembuatan model enzim tirosinase menggunakan *web server* Swiss-Model[®] dilakukan secara otomatis (*automated mode*) akan tetapi pemilihan *template* dapat dipilih sesuai dengan *template* hasil dari pencarian menggunakan NCBI[®] BLAST.

Penjajaran Sekuens Target Dan *Template*

Penjajaran sekuens atau yang lebih dikenal dengan *alignment sequence* ditujukan untuk mengetahui similaritas antara sekuens asam amino target dengan sekuens asam amino *template*. Penjajaran sekuens antara target (enzim tirosinase) dan *template* (pdb ID 5m8q) dilakukan menggunakan bantuan *web server* Swiss-Model®.



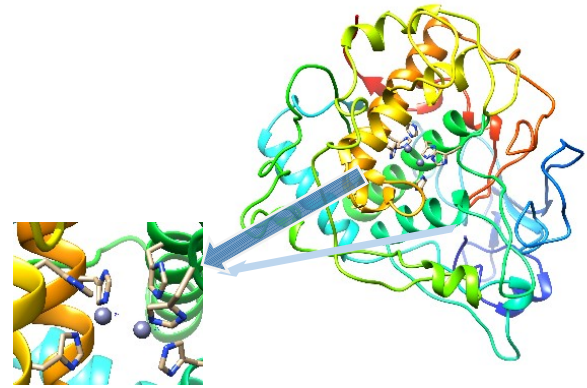
Gambar 3. Hasil Penjajaran Sekuens Dengan Swiss-Model

Pembuatan Model Enzim Tirosinase

Sistem pemodelan struktur protein dengan bantuan Swiss-Model® didukung oleh perpustakaan *template* yang menyediakan anotasi suatu struktur kuartener, ligan, dan kofaktor yang penting sehingga memungkinkan pembangunan struktur protein model yang lengkap termasuk struktur oligomernya. Setelah *template* dipilih untuk pembuatan model 3D enzim maka secara *default* model 3D enzim akan dibangun menggunakan sistem *homooligomeric* (kesamaan struktur oligomer), dimana struktur oligomernya sudah diprediksi dengan bantuan Swiss-Model *template library* (SMTL) (Benkert dkk, 2007).

Penilaian prediksi model 3D enzim tirosinase yang dihasilkan oleh Swiss-Model® menggunakan fungsi penilaian QMEAN. Fungsi penilaian QMEAN (*Qualitative Model Energy Analysis*) merupakan fungsi penilaian komposit yang menggambarkan aspek utama struktur geometris protein (Benkert dkk, 2007). Dari hasil pemodelan enzim tirosinase menggunakan Swiss-Model® diperoleh satu model terbaik yang memiliki skor QMEAN sebesar -2,95 dari *template* dengan kode pdb 5m8q. Skor QMEAN ini menunjukkan kualitas

dari model yang dibuat menunjukkan hasil yang baik. Nilai skor QMEAN $\leq -4,0$ mengindikasikan bahwa model yang dibuat memiliki kualitas yang rendah. Hasil dari prediksi model 3D enzim tirosinase *Homo sapiens* (*Human*) menggunakan Swiss-Model® dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil Prediksi Struktur 3D Enzim Tirosinase Dengan Swiss-Model®

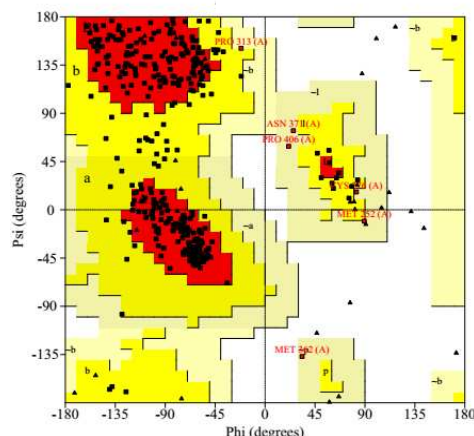
Prediksi struktur 3D model enzim tirosinase pada manusia dengan menggunakan Swiss-Model® akan menghasilkan model dengan sisi aktif enzim yang mempunyai ion seng (Zn). Pembuatan model tersebut tidak terlepas dari peran SMTL sebagai penyedia *template* yang representatif sehingga memungkinkan pembangunan struktur protein model yang lengkap dan akurat menyerupai *template* aslinya seperti yang ditunjukkan pada gambar 4 diatas.

Evaluasi dan Optimisasi Model

Evaluasi yang dilakukan pada model enzim tirosinase *Homo sapiens* (*Human*) dari hasil *homology modeling* meliputi evaluasi sifat stereokimia dan sifat ruang dari model. Evaluasi sifat stereokimia model dilakukan menggunakan *web server* Procheck® dengan menganalisis plot Ramachandran dan Molprobitiy® untuk mengetahui perolehan nilai *clashscore* dan skor molprobitiy dari model. Plot Ramachandran merupakan plot dua dimensi yang menggambarkan residu asam amino pada struktur enzim, dimana sudut ϕ (*phi*) sebagai sumbu x dan ψ (*psi*) sebagai sumbu y dibagi kedalam empat kuadran (Laskowski dkk, 1993). Kombinasi dari sudut ϕ (*phi*) dan ψ (*psi*) dapat dijadikan dasar didalam menilai kualitas stereokimia suatu model protein atau enzim. Penilaian tersebut didasarkan pada persentase residu asam amino yang berada pada wilayah yang sangat

disukai (*most favoured regions*) dan daerah yang tidak diizinkan (*disallowed regions*) dari plot Ramachandran.

Evaluasi kontak antar atom didasarkan pada penilaian *clashscore*. *Clashscore* merupakan jumlah *overlap sterik* per 1000 atom. Dalam *web server Molprobitry*[®] terdapat salah satu fitur tambahan penilaian yaitu skor molprobitry. Skor molprobitry merupakan kombinasi *clashscore*, persentase *disallowed regions*, dan presentasi *bad rotamer* yang mencerminkan nilai dari resolusi kristalografi yang sesuai untuk model. Skor molprobitry dengan nilai yang lebih rendah daripada resolusi kristalografi aktualnya, dari segi kualitas, lebih baik daripada rata-rata struktur pada resolusi tersebut (Chen dkk, 2010).



Gambar 5. Plot Ramachandran Untuk Model Enzim Tirosinase

Tabel 1. Hasil Evaluasi Model Enzim Tirosinase *Homo sapiens*

Model	Clashscore	Plot Ramachandran		Residu dengan skor rata-rata 3D-1D $\geq 0,2$	MolProbitry Score
		Favoured Regions	Disallowed Regions		
Tirosinase-SM	2,51	85,3%	0	91,97%	1,87

Evaluasi sifat ruang model enzim tirosinase *Homo sapiens (Human)* dilakukan dengan menggunakan bantuan *web server Verify3D*[®] yang melibatkan perhitungan statistik untuk menentukan kriteria residu pada daerah yang terpendam dibagian dalam protein. *Verify3D*[®] digunakan untuk menganalisis profil 3D-1D struktur protein dengan menentukan kompatibilitas model 3D atom dengan urutan dari 1D asam aminonya untuk kemudian ditetapkan kelompok strukturnya berdasarkan lokasi dan lingkungan dimana residu asam amino tersebut berada serta membandingkan hasilnya dengan struktur yang baik. Hasil evaluasi model enzim tirosinase *Homo sapiens (Human)* dapat dilihat pada tabel 1.

Tahap berikutnya yaitu dilakukan refinement atau perbaikan terhadap model

enzim tirosinase *Homo sapiens (Human)* yang diperoleh dengan menggunakan *ModRefiner*[®]. Perbaikan struktur perlu dilakukan karena sebagian besar algoritma yang digunakan dalam memprediksi bentuk struktur 3D enzim bekerja dengan mempercepat pencarian konformasi dengan mereduksi jumlah atom yang mewakili asam amino sehingga sulit untuk memastikan bahwa model atom dapat mempertahankan topologi global yang diinginkan sambil mempertahankan geometri atom lokal. Perbaikan ini ditujukan untuk menghasilkan model yang memiliki posisi rantai samping yang lebih akurat, posisi ikatan hidrogen yang baik, dan mengurangi tumpang tindih atom (Xu dkk, 2011). Hasil evaluasi model yang telah mengalami perbaikan dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Evaluasi Model Enzim Tirosinase *Homo sapiens (Sesudah Perbaikan)*

Model	Clashscore	Plot Ramachandran		Residu dengan skor rata-rata 3D-1D $\geq 0,2$	MolProbitry Score
		Favoured Regions	Disallowed Regions		
Tirosinase-SM	0	87,7%	0	95,87%	0,82

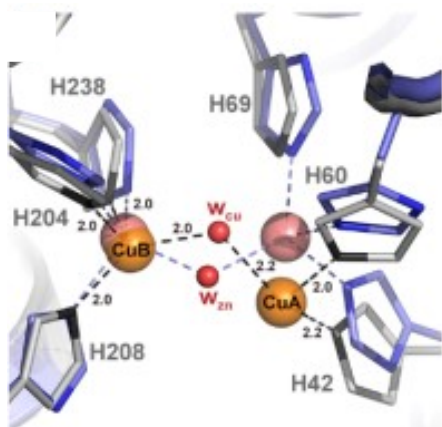
Nilai *clashscore* pada model enzim tirosinase *Homo sapiens (Human)* dari hasil perbaikan model dengan *ModRefiner*[®] menunjukkan tidak adanya

tumpang tindih antar atom yang ditandai dengan nilai *clashscore* model yaitu 0. Hasil evaluasi plot Ramachandran model memperlihatkan terjadinya peningkatan residu

asam amino yang berada pada daerah yang dipersyaratkan serta tidak terdapat residu asam amino yang berada didaerah yang tidak diizinkan (*disallowed regions*). Dari hasil perbaikan model juga diketahui terjadi penurunan nilai skor molprobit. Secara numerik nilai skor molprobit yang rendah menunjukkan kualitas resolusi dari model yang dihasilkan sudah baik.

Penilaian menggunakan Verify3D[®] didasarkan pada persen residu skor rata-rata residu $3D-1D \geq 0,2$ yang dimiliki model. Suatu model dikatakan memiliki kualitas yang baik apabila nilai persentase residu asam amino dari penilaian Verify3D[®] untuk rata-rata skor residu $3D-1D \geq 0,2$ berada diatas 80%. Hasil perbaikan model menunjukkan adanya peningkatan residu dengan skor rata-rata residu $3D-1D \geq 0,2$ dari 91,97% menjadi 95,87%. Hasil ini menggambarkan bahwakompatibilitassekuens dengan struktur tiga dimensinya sudah baik.

Secara teoritis model enzim tirosinase yang dimodelkan dengan TYRP1 (pdb 5m8q) yang digunakan sebagai *template* memiliki perbedaan yang mendasar pada daerah sisi aktifnya. Enzim tirosinase dan TYRP1 pada manusia merupakan glikoprotein yang mengandung logam yang terlokalisasi dalam melanosomtempat sintesis melanin terjadi. Pada TYRP1 memperlihatkan bahwa sisi aktif enzim terdapat ion seng (Zn), sedangkan pada enzim tirosinase sisi aktifnya memiliki ion tembaga (Cu) seperti yang terlihat pada gambar 1 (Lai dkk, 2017).



Gambar 6. Overlay perbedaan sisi aktif enzim antara enzim tirosinase-Cu (abu-abu orange) dan TYRP1-Zn (biru-pink)

Perbaikan model enzim tirosinase *Homo sapiens (Human)* pada penelitian ini menghasilkan model yang sudah representatif,

dimana logam Zn yang ikut termodelkan selama proses pemodelan berlangsung menggunakan Swiss-Model[®] telah dieliminasi. Dari data evaluasi diatas diketahui prediksi model enzim tirosinase *Homo sapiens (Human)* dari Swiss-Model[®] memiliki hasil evaluasi yang baik dan memenuhi persyaratan yang sudah ditetapkan untuk model hasil pemodelan dengan pendekatan *homology modeling*. Model enzim tirosinase *Homo sapiens (Human)* yang sudah dimodelkan, perlu dilakukan minimisasi energi dan penambahan ion tembaga (Cu) pada sisi aktif enzim untuk mendapatkan model yang lebih akurat sebelum digunakan untuk studi lebih lanjut (*molecular docking* dan *molecular dynamics simulation*).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil prediksi struktur 3D enzim tirosinase pada manusia dengan metode *homology modeling* menggunakan program Swiss-Model[®] diperoleh model enzim yang memiliki kualitas struktur yang baik. Hal ini didasarkan pada nilai *clashscore* 0, persentase residu pada *disallowed regions* 0, residu dengan skor rata-rata $3D-1D \geq 0,2$ memiliki persentase 95,87%, dan nilai skor molprobit model 0,82.

DAFTAR PUSTAKA

- Altschul, S., Gish, W., Miller, W., Myers, E., dan Lipman, D. 1990. Basic local alignment search tool. *Journal of Molecular Biology*, 215(3), 403–410.
- Benkert, P., Tosatto, S.C.E., dan Schomburg, D. 2007. QMEAN: A comprehensive scoring function for model quality assessment. *Proteins*, 71, 261–277.
- Chang, TS. 2009. An update review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*. 10, 2440-2475.
- Chen, V.B., Arendall III, W.B., Headd, J.J., Keedy, D.A., Immormino, R.M., Kapral, G.J., Murray, L.W., Richardson, J.S., dan Richardson, D.C. 2010. MolProbity: all-atom structure validation for macromolecular crystallography. *Biological Crystallography*, 66, 12-21.
- Cui, H., Duan, F., Jia, S., Cheng, F., dan Yuan, K. 2018. Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of seed oil from *torreya grandis* fort. ex lindl. *Biomed Research International*.
- Joo, K., Lee, J., dan Lee, J. 2012. Methods for accurate homology modeling by

- global optimization. *Methods Mol Biol*, 857, 175–88.
- Lai, X., Wichers, H.J., Soler-Lopez, M., dan Dijkstra, B.W. 2017. Structure of human tyrosinase related protein 1 reveals a binuclear zinc active site important for melanogenesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 56: 9812-9815.
- Laskowski, R.A., Mac Arthur, M.W., Moss, D.S., dan Thornton, J.M. 1993. PROCHECK: A program to check the stereochemical quality of protein structures. *J. Appl. Crystallogr*, 26, 283-291.
- Lu, Y., Chen, J., Wei, D., Wang, Z., dan Tao, X. 2009. Tyrosinase inhibitory effect and inhibitory mechanism of tiliroside from raspberry. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 24(5): 1154-1160.
- Pearson, W.R. 2013. Selecting the right similarity-scoring matrix. *Curr Protoc Bioinformatics*, 43, 351–359.
- Pillaiyar, T., Manickam, M., dan Namasivayam, V. 2017. Skin whitening agent: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 403-425.
- Schmidt, T., Bergner, A. dan Schwede, T. 2013. Modelling three-dimensional protein structures for applications in drug design. *Drug Discov Today*, 19(7), 890–897
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F.T., de Beer, T.A.P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., dan Schwede, T. 2018. Swiss-Model: homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Res*, 46(W1), W296-W303.
- Xiang, Z. 2006. Advances in homology protein structure modeling. *National Institutes of Health*, 7(3), 217-227.
- Xu, D. dan Zhang, Y. 2011. Improving the physical realism and structural accuracy of protein models by a two-step atomic-level energy minimization. *Biophysical Journal*, 101(10), 2525-2534.