

DAMPAK LOGAM BERAT KOBALT DAN MERKURI TERHADAP PROTEIN PADA KEJADIAN DIABETES MELITUS: KAJIAN *IN SILICO*

Nabila Rahman¹, Eko Suhartono², Fujiati², Mashuri³, Bambang Setiawan²

¹Program Studi Kedokteran Program Sarjana, Fakultas Kedokteran,
Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

²Departemen Biokimia dan Biomolekuler, Fakultas Kedokteran,
Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

³Divisi Radiologi Intervensi, Departemen Radiologi, Fakultas Kedokteran,
Universitas Lambung Mangkurat, Banjarmasin, Indonesia

Email Korespondensi: 1910911320040@mhs.ulm.ac.id

Abstract: *Diabetes mellitus is a complicated disease characterized by elevated plasma glucose levels. Multiple cellular pathways, including insulin secretion, insulin resistance, and carbohydrate absorption, were affected by this condition. Cobalt and mercury are metals that contribute to the development of diabetes mellitus. It implies that heavy metals can enhance the cellular process in islet cells and influence pancreatic cell B, resulting in insulin resistance. Despite the mechanisms remain unknown. Adenosine monophosphate protein kinase (AMPK), glutamine fructose-6-phosphatase transferase (GFAT), protein tyrosine phosphatases (PTP), and tyrosine kinase insulin receptor, influence the development of diabetes mellitus. Each protein molecule has its own mechanism for binding metal ions. Whereas AMPK binding ion affinity occurred at the cysteine b sintase allosteric site, which became the amino acid residue-binding domain. The GFAT active site is located on the N-terminal domain, which binds to amino acid residues. PTP can bind the metal ion on its active site, which is located close to the N-terminal domains; it then appears as anion thiolate and is rendered inactive when oxidized. The insulin receptor tyrosine kinase is performing the binding process on its active site, which is located at the C-terminal domains, as tyrosine moves into the activation IRK loop.*

Keywords: *diabetes mellitus, heavy metals, proteins, molecular docking*

Abstrak: *Diabetes melitus merupakan penyakit kompleks dengan keadaan dimana kadar glukosa plasma di atas normal. Penyakit ini dimanifestasikan pada jalur seluler yang berbeda-beda yaitu sekresi insulin, resistensi insulin, dan penyerapan karbohidrat. Kobalt dan merkuri merupakan logam yang berpotensi memiliki peran dalam kejadian diabetes melitus. Disebutkan bahwa logam berat meningkatkan gangguan dari pembentukan sel di pulau-pulau. Langerhans yang pada akhirnya terjadi resistensi insulin. Namun, untuk mekanismenya masih belum diketahui. Terdapat beberapa molekul protein yang keberadaannya berpengaruh besar pada kejadian diabetes melitus antara lain adenosine monophosphate protein kinase (AMPK), glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase (GFAT), protein tyrosine phosphatases (PTP) dan tyrosine kinase insulin receptor. Afinitas pengikatan ion logam berat dengan AMPK terjadi pada sisi alosterik Cysteine B sintase (CBS) menjadi domain tempat terikatnya residu asam amino hasil interaksi. Enzim GFAT dengan ion logam berat terjadi pada binding site dari GFAT terletak pada domain N-terminal. Interaksi antara PTP dengan ion logam pada active site yang terletak di dekat domain N-terminal yang berikatan yang menunjukkan sistein sebagai anion thiolate dan akan terinaktivasi apabila mengalami oksidasi. Tyrosine kinase insulin receptor dengan ion logam berat terjadi pada active site yang terletak di dekat domain C-terminal yang berikatan yang menunjukkan tyrosine yang bergerak menuju lingkaran aktivasi IRK.*

Kata-kata kunci: *diabetes melitus, logam berat, protein, penambatan molekuler*

PENDAHULUAN

Diabetes melitus merupakan penyakit kompleks dengan keadaan dimana kadar glukosa plasma di atas normal. Penyakit ini dimanifestasikan pada jalur seluler yang berbeda-beda yaitu sekresi insulin, resistensi insulin, dan penyerapan karbohidrat.^{1,2} Berdasarkan data Dinas Kesehatan Provinsi Kalimantan Selatan tahun 2017 diabetes melitus menduduki peringkat ke-2 dan tercatat 10.875 penderita diabetes melitus di wilayah Provinsi Kalimantan Selatan.³

Menurut Mellendick dkk² Peningkatan prevalensi diabetes melitus disebabkan oleh faktor genetik, kebiasaan makan dan gaya hidup. Namun, menurut penelitian Bowe dkk⁴ Diabetes melitus tipe II disebabkan oleh paparan polutan pada lingkungan, seperti logam berat. Hal ini didukung oleh penelitian dari Wang dkk, Choudri dan Charabi, Habtemariam.^{5,6,7} Kobalt dan merkuri merupakan logam yang dapat berperan dalam kejadian diabetes melitus. Disebutkan bahwa kobalt dapat meningkatkan gangguan dari pembentukan sel di pulau-pulau langerhans dengan merusak sel B pankreas. Pada akhirnya terjadi resistensi insulin yang menyebabkan diabetes melitus. Namun, untuk mekanismenya masih belum diketahui.

Pada diabetes melitus, terdapat beberapa molekul protein yang keberadaannya berpengaruh besar pada kondisi resistensi insulin, antara lain *adenosine monophosphate protein kinase* (AMPK), *glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase* (GFAT), *protein tyrosine phosphatases* (PTP) dan *tyrosine kinase insulin receptor*.^{8,9}

Kebanyakan penduduk yang bermukim di Kalimantan Selatan hingga saat ini masih menggunakan air sungai dan air bekas kolam galian tambang dalam kebutuhan sehari-hari, membuat efek dari pencemaran logam berat khususnya Kobalt dan Merkuri yang terjadi diperaian Kalimantan Selatan menjadi sangat berbahaya bagi masyarakat. Berdasarkan data Dinas Kesehatan Kalimantan Selatan

tahun 2018, Kalimantan Selatan mengalami kenaikan total penderita diabetes melitus mulai 11.009 orang ditahun 2016 menjadi 41.117 orang ditahun 2017 menduduki peringkat ke-3 penyakit terbanyak di Kalimantan Selatan dan sebanyak 341 orang meninggal dunia pada tahun 2017 yang disebabkan oleh diabetes.¹⁰

Terkait dengan hal tersebut, mengenai patomekanisme interaksi logam berat kobalt dan merkuri terhadap kerja protein belum banyak di teliti, maka peneliti tertarik untuk meneliti interaksi ikatan logam berat kobalt dan merkuri terhadap kerja protein sebagai penyebab terjadinya penyakit diabetes melitus tipe II.

METODE PENELITIAN

Enzim-enzim sebagai target penambatan dapat diunduh pada situs penyedia makromolekul yaitu *Protein Data Bank* (PDB) yang memuat struktur kristalografi dari empat tipe enzim yang akan digunakan pada penelitian ini, antara lain enzim *AMP activated protein kinase* (PDB ID: 7MYJ), enzim *glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase* (PDB ID: 2ZJ4), *protein tyrosine phosphatase* (PTP) (PDB ID: 1A5Y), dan enzim *tyrosine kinase insulin receptor* (PDB ID: 1K3A). Rantai yang dipilih pada setiap enzim adalah rantai A. Sebelum dilakukan proses penambatan, enzim-enzim tersebut dipreparasi terlebih dahulu menggunakan aplikasi *UCSF Chimera Ver 1.16*. Preparasi yang dilakukan meliputi mengeliminasi rantai selain rantai A dan residu asam amino *non-standard* yang tidak diperlukan. Langkah terakhir yaitu menyimpan *file* enzim yang telah dipreparasi dengan format .pdb.

Interaksi enzim *AMP activated protein kinase* (AMPK), enzim *glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase* (GFAT), enzim *protein tyrosine phosphatase* (PTP), dan enzim *tyrosine kinase insulin receptor* dengan melakukan proses penambatan kristalografi enzim yang telah dipreparasi dengan ion logam merkuri dan kobalt

menggunakan website MIB: *Metal Ion Binding Site and Prediction* (<http://combio.life.nctu.edu.tw/MIB2/>) kemudian memvisualisasikan hasil docking menggunakan aplikasi *Chimera Ver 1.16*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis dari jenis interaksi, panjang ikatan, jenis residu asam amino dengan binding score tertinggi pada website MIB didapatkan dari penambatan logam merkuri dan kobalt terhadap enzim *AMP activated protein kinase* (AMPK), enzim *glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase* (GFAT), enzim *protein tyrosine phosphatase* (PTP), dan enzim *tyrosine kinase insulin receptor* ditampilkan pada tabel 1 dan tabel 2.

Berdasarkan hasil penambatan yang dilakukan, pada enzim-enzim yang telah diinteraksikan dengan logam berat kobalt

dan merkuri, memperlihatkan nilai *binding potential* yang menentukan prediksi kekuatan interaksi antara dua molekul atau lebih. Semakin besar potensi pengikatan antara protein dan logam berat, maka kemungkinan terjadinya interaksi juga semakin besar.¹¹ Pada penelitian ini, *binding potential* merupakan parameter utama yang digunakan untuk menunjukkan potensi kekuatan dan afinitas dari interaksi antara ligan dan reseptor.¹² Residu asam amino yang terprediksi dapat berikatan dengan logam berat akan disorot dengan tanda berwarna biru. Residu asam amino dengan *binding score* tertinggi merupakan hasil perkiraan interaksi yang paling kuat mengikat sisi aktif enzim antara ion logam berat dengan residu asam amino.¹³

Tabel 1. Jarak Ikatan dan Jenis Interaksi Protein dengan Merkuri

Protein	PBD ID	Residu	Jarak Ikatan	Jenis Interaksi	<i>Binding Potential</i>
<i>AMP-activated protein kinase (AMPK)</i>	7YMJ	CYS 209	1.217 Å	Kovalen	4.898
		TYR 205	3.936 Å	koordinasi	4.898
		GLU 34	39.713 Å	Hidrofob	4.681
		HIS 35	44.257 Å	Hidrofob	4.681
<i>Glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase (GFAT)</i>	2ZJ4	HIS 129	4.059 Å	Hidrofob	8.116
		ARG 131	8.231 Å	Hidrofob	8.116
		VAL 26	16.218 Å	Hidrofob	5.308
		HIS 27	24.055 Å	Hidrofob	5.308
<i>Protein Tyrosine Phosphatase (PTP)</i>	1A5Y	GLU 50	23.933 Å	Hidrofob	5.308
		ARG 45	1.813 Å	Kovalen	2.433
		CYS 121	5.939 Å	koordinasi	4.845
		ALA 122	6.532 Å	Hidrofob	4.845
<i>Tyrosine Kinase Insulin Receptor</i>	1K3A	GLY 86	-	Tidak	5.171
		PRO 87	6.370 Å	terdeteksi	5.171
		CYS 1029	1.125 Å	Hidrofob	6.648
		HIS 1030	6.791 Å	Kovalen	6.648
		CYS 1207	23.560 Å	koordinasi	6.395
		PRO 1208	23.545 Å	Hidrofob	6.395
				Hidrofob	6.395

Tabel 2. Jarak Ikatan dan Jenis Interaksi Protein dengan Kobalt

Protein	PBD ID	Residu	Jarak Ikatan	Jenis Interaksi	Binding Potential
AMP-activated protein kinase (AMPK)	7YMJ	CYS 209	1.217 Å	Kovalen koordinasi	4.898
		TYR 205	3.936 Å	Hidrofob	4.898
		GLU 34	39.713 Å	Hidrofob	4.681
		HIS 35	44.257 Å	Hidrofob	4.681
Glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase (GFAT)	2ZJ4	HIS 129	4.059 Å	Hidrofob	8.116
		ARG 131	8.231 Å	Hidrofob	8.116
		VAL 26	16.218 Å	Hidrofob	5.308
		HIS 27	24.055 Å	Hidrofob	5.308
Protein Tyrosine Phosphatase (PTP)	1A5Y	GLU 50	23.933 Å	Hidrofob	5.308
		ARG 45	1.813 Å	Kovalen koordinasi	2.433
		CYS 121	5.939 Å	Hidrofob	4.845
		ALA 122	6.532 Å	Hidrofob	4.845
Tyrosine Kinase Insulin Receptor	1K3A	GLY 86	-	Tidak terdeteksi	5.171
		PRO 87	6.370 Å	Hidrofob	5.171
		CYS 1029	1.125 Å	Kovalen koordinasi	6.648
		HIS 1030	6.791 Å	Hidrofob	6.648
		CYS 1207	23.560 Å	Hidrofob	6.395
		PRO 1208	23.545 Å	Hidrofob	6.395

Hasil analisis residu asam amino AMPK dengan ion logam kobalt, terdapat *Histidine* (HIS-40) dengan nilai *potential binding* tertinggi, namun lebih rendah dibandingkan dengan nilai *potential binding* tertinggi pada AMPK dengan ion logam merkuri, oleh karena itu, afinitas interaksi permukaan pada residu asam amino berada di jarak yang sedikit lebih jauh yaitu 1.429 Å menghasilkan ikatan kovalen koordinasi. Kemudian, untuk residu asam amino AMPK interaksi dengan ion kobalt lainnya yaitu *Histidine* (HIS-30) ; *Glutamine* (GLU-41) ; *Lysine* (LYS-41) ; *Histidine* (HIS-265) berada pada rentang 6.321 - 41.416 Å dengan afinitas interaksi permukaan pada residu asam amino tersebut melebihi 3 Å yang menjadikan ikatan tersebut sebagai ikatan hidrofobik. Rentang afinitas interaksi pada AMPK yang diinteraksikan dengan ion logam kobalt dan merkuri merupakan indikasi bahwa interaksi AMPK dengan ion logam kobalt berada pada jarak yang panjang, namun rentangnya lebih sempit daripada interaksi AMPK dengan ion logam merkuri.

AMPK tersusun dari tiga sub unit yang berbeda antara lain α , β , γ . Pada mamalia kompleks heterotrimer mengkombinasikan

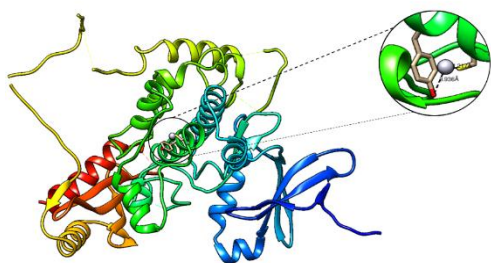
subunit katalitik α (α_1 atau α_2), dengan β (β_1 atau β_2) dan γ (γ_1 , γ_2 , atau γ_3) merupakan sub unit regulator yang dikodekan dengan gen yang menghasilkan kombinasi 12 heterotrimer yang terpisah.¹⁴

Sub unit α yang memuat protein kinase dari domain katalitik pada sisi N-terminal. Domain katalitik memiliki sebuah sisi dari fosforilasi pada residu asam amino *Threonine* (Thr) dalam lingkaran sisi aktif (T-loop) yang merupakan *target site* pada enzim AMPK yang teraktivasi oleh kinase yang berasal dari hulu. Di dalam terminal C, yaitu sebuah wilayah yang dimana dibutuhkan 150 hingga tak terhingga residu asam amino untuk bergabung dengan β dan γ subunit dimana merupakan bagian sentral yang dapat memiliki fungsi inhibitor. AMPK dapat secara langsung diaktivasi dengan menargetkan α , β , atau γ subunit. Subunit γ memiliki 3 isoform (γ_1 , γ_2 atau γ_3).¹⁵

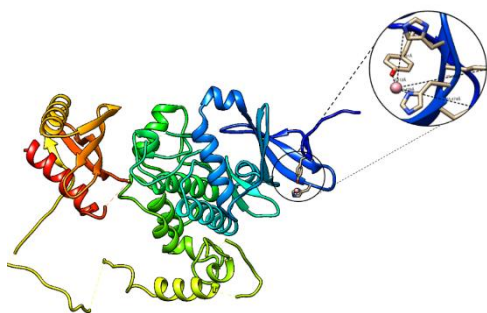
AMP yang merupakan aktivator alami untuk AMPK dan berikatan pada sisi allosteric dari *Cystein B* sintase (CBS) domain dari subunit γ dan dapat secara tidak langsung mendukung aktivitas katalitik dari domain sub unit α . Ketika terjadi mutasi, *binding* AMP untuk mengaktivasi AMPK terlokalisasi pada

domain CBS dari subunit γ . 5-aminoimidazole-4-carboxamide riboside (AICAR) yang merupakan aktivator AMPK yang poten dan berikatan dengan domain CBS pada subunit γ . AICAR yang diinjeksikan secara intravena dapat mengurangi output glukosa hepatic dan menghambat lipolisis menuju seluruh tubuh pada pasien diabetes melitus tipe II.¹⁶

Terkait dengan skor *potential binding*, jarak ikatan, afinitas interaksi, serta pengikatan pada sisi alosterik enzim, membuktikan bahwa potensi interaksi antara AMPK dengan ion logam merkuri (Hg^{2+}) lebih kuat dari pada interaksi dengan ion kobalt (Co^{2+}).



Gambar 1. Hasil Visualisasi Ikatan Logam Merkuri dengan Residu CYS-209, TYR-205, GLU-34, HIS-35 pada AMP activated protein kinase (AMPK).



Gambar 2. Hasil Visualisasi Ikatan Logam Kobalt dengan Residu HIS-40, HIS-30, GLU-34, LYS-41, HIS-286 pada AMP activated protein kinase (AMPK).

Hasil analisis residu asam amino GFAT, peneliti menemukan secara umum, setelah diinteraksikan dengan ion logam berat merkuri menghasilkan residu asam amino *Histidine* (HIS-129); *Arginine*

(ARG-131); *Valine* (VAL-26); *Histidine* (HIS-27); *Glutamate* (GLU-50), jarak antara residu asam amino GFAT dengan ion merkuri (Hg^{2+}) berada di rentang jarak antara 4.059 - 23.933 Å dengan afinitas interaksi permukaan pada residu asam amino melebihi 3 Å yang menjadikan ikatan tersebut sebagai ikatan hidrofobik. Maka dari keseluruhan jenis interaksi residu asam amino adalah interaksi hidrofobik yang disebabkan oleh adanya proses penyerapan ion logam merkuri terhadap selulosa karena adanya ikatan antara ion merkuri (Hg^{2+}) dengan gugus OH dari selulosa sehingga akan terjadi proses adsorpsi secara kimia.¹⁷

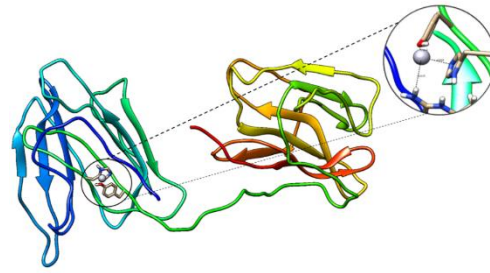
Serta interaksi antara ion merkuri (Hg^{2+}) dengan protein melalui gugus sulfhidril (-SH) yang menyebabkan terhambatnya aktivitas enzim. Residu asam amino GFAT dengan ion logam kobalt paling memungkinkan untuk berinteraksi dengan residu asam amino *Lysine* (LYS-44) dengan jarak antara residu asam amino 2.264 Å dan *Aspartate* (ASP-45) menghasilkan interaksi kovalen koordinasi dengan binding score yang sama 4.403 Å dan untuk residu asam amino GFAT lainnya yaitu, *Glutamine* (GLU-53) jarak antara residu asam amino 20.491 Å dan *Histidine* (HIS-54) 24.471 Å dengan afinitas interaksi permukaan pada residu asam amino tersebut melebihi 3 Å yang menjadikan ikatan tersebut sebagai ikatan hidrofobik. Rentang afinitas interaksi GFAT antara ion logam merkuri dan kobalt didapatkan indikasi bahwa interaksi GFAT dengan ion logam kobalt (Co^{2+}) berada pada jarak yang panjang, namun terdapat asam amino yang masih memungkinkan untuk melakukan interaksi kovalen koordinasi. Sedangkan ion logam merkuri (Hg^{2+}) dengan rentang jarak yang lebih sempit cenderung berada pada interaksi hidrofobik secara keseluruhan.

Terdapat tiga jenis isoform GFAT yang telah diidentifikasi, antara lain GFAT, GFAT2, dan GFAT1L Isoform GFAT yang secara dominan berada di dalam hati dan lemak; sekaligus menjadi target utama

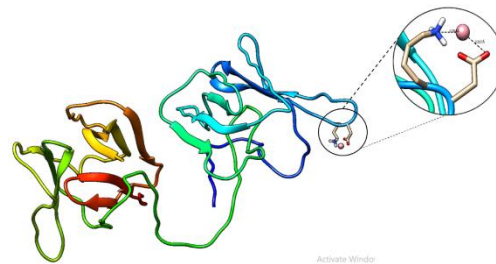
untuk regulasi obesitas dan diabetes. Isoform terajgir, GFAT1L yang merupakan bagian irisan dari GFAT1 yang berada di dalam sel otot. Kedua GFAT dan GFAT1L berhubungan dekat, memiliki perbedaan segmen asam amino sebanyak 18 insersi pada pengkodean sekuensnya. Protein GFAT memiliki 681 macam residu asam amino rantai panjang yang berisi dua struktur dan domain fungsional yang berbeda, yaitu domain terminal-N dan domain terminal-C. Domain terminal-N glutaminase merupakan domain dari 27 kDa (residu nomor 1 - 310) yang mengkatalis hidrolisis dalam molekul glutamin menjadi molekul glutamat dan amonia, sedangkan 40 kDa domain terminal-C merupakan domain dari isomerase yang memanfaatkan amonia untuk konversi dari *fructose-6-phosphate* menjadi *glucosamin-6-phosphate* (residu asam amino nomor 311-680).^{18,19}

Binding site (tempat berikatan) dari molekul glutamine dengan residu asam amino berada pada domain N-terminal, sedangkan binding site dari *glutamine-6-phosphate* berada pada C-terminal domain.⁷⁴ Residu asam amino yang mengikat ion merkuri dan kobalt terletak pada domain terminal-N, berikatan secara ikatan kovalen koordinasi yang penting dalam transisi ikatan logam dengan ligan milik protein GFAT maupun secara ikatan hidrofobik pada sisi alosterik enzim yang dekat dengan pusat reaksi.²⁰

Interaksi hidrofobik memiliki peran penting terhadap kestabilan ligan terhadap reseptor dan merupakan interaksi yang bersifat menghindari lingkungan cair dan cenderung berkelompok di bagian dalam dari struktur globular protein untuk meminimalkan interaksi dengan air yang dapat merusak struktur protein dan menyebabkan kerja enzim terhambat.²¹



Gambar 3. Hasil Visualisasi Ikatan Logam Merkuri dengan Residu HIS-129, ARG-131, VAL-26, HIS-27, GLU-50 pada *Glutamine Fructose-6-phosphate Amidotransferase* (GFAT)



Gambar 4. Hasil Visualisasi Ikatan Logam Kobalt dengan Residu LYS-44, ASP-45, GLU-53, HIS-54 pada *Glutamine Fructose-6-phosphate Amidotransferase* (GFAT)

Hasil analisis residu asam amino PTP dengan ion logam merkuri paling memungkinkan untuk berinteraksi dengan residu asam amino *Arginine* (ARG-45) dengan afinitas interaksi permukaan pada jarak 1.813 Å menghasilkan ikatan kovalen koordinasi dengan dan untuk residu asam amino PTP lainnya, yaitu *Cysteine* (CYS-121) ; *Alanine* (ALA-122) ; *Proline* (PRO-87), jarak antara residu asam amino dan logam merkuri (Hg^{2+}) berada di rentang jarak antara 5.939 - 6.370 Å dengan afinitas interaksi permukaan pada residu asam amino tersebut melebihi 3 Å yang menjadikan ikatan tersebut sebagai ikatan hidrofobik. Serta terdapat residu asam amino *Glycine* (GLY-86) dengan binding score terbesar namun afinitas interaksi permukaannya tidak terdeteksi ketika penambatan enzim dilakukan. Sedangkan untuk hasil analisis residu asam amino PTP dengan ion logam kobalt, terdapat *Arginine* (ARG-156) dengan nilai jarak ikatan yang

paling dekat yaitu 1.355 Å dengan afinitas interaksi permukaan pada jarak tersebut, menghasilkan ikatan kovalen koordinasi, selanjutnya untuk residu asam amino PTP lainnya, antara lain *Histidine* (HIS-175) ; *Histidine* (HIS-173) ; *Leucine* (LEU-59) ; *Histidine* (HIS-60) yang berada pada rentang 3.563 - 25.455 Å dengan afinitas interaksi permukaan pada residu asam amino tersebut melebihi 3 Å yang menjadikan ikatan tersebut sebagai ikatan hidrofobik.

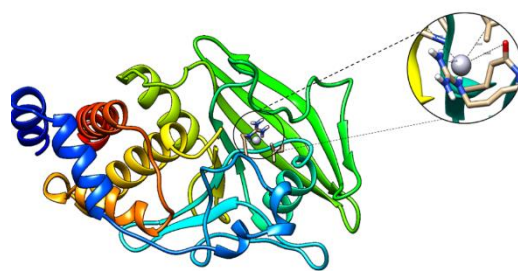
Rentang afinitas interaksi pada PTP yang diinteraksikan dengan ion logam kobalt dan merkuri merupakan indikasi bahwa interaksi PTP dengan ion logam merkuri lebih memungkinkan untuk berikatan, karena *score binding potential* yang lebih tinggi, serta rentang jarak antara afinitas interaksi antara residu asam amino dengan residu asam amino lainnya tidak melebar.

Protein tyrosine phosphatase (PTP) merupakan enzim yang sangat aktif dan memiliki spesifitas yang tinggi. Aktivitas dari PTP tiga kali lipat lebih baik dibandingkan protein tirosin kinase. PTP memiliki domain katalitik yang sangat terstruktur yang berisi sekuens aktif HCX₅R. Akibatnya, tampak spesifisitas substrat yang tidak terlalu jelas dan berpotensi mendefosforilasi sebagian besar substrat yang mengandung fosfotirosin.²²

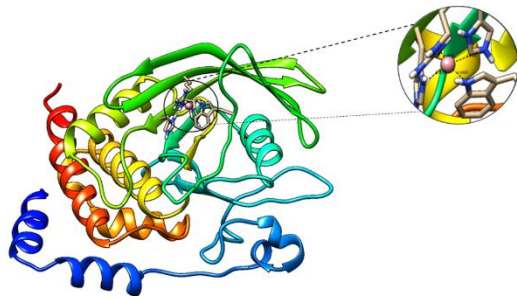
Salah satu enzim yang sangat reaktif, dimana sisi katalitik (*catalytic site*) dari *protein tyrosine phosphatase* (PTP) berisi residu sistein berisi sekuens aktif HCX₅R, pada lingkaran ikatan fosfat atau lingkaran P.²² Hasil penelitian *genome sequencing* yang dilakukan oleh Alonso⁸² diketahui bahwa terdapat 125 gen yang dapat mengkodekan PTPs pada genom manusia. Tapak aktif (*active site*) pada *protein tyrosine phosphatase* terletak di dekat domain N-terminal dan didemonstrasikan dengan sekuens homolog yang terbatas antara *protein tyrosine phosphatase* lainnya dengan motif katalitik yang telah dikembangkan.²³

Pada sisi aktif (*active site*) dimana bagian yang berikatan dengan logam berat menunjukkan bahwa sistein yang sebagai *anion thiolate* pada pH netral, serta muatan ion negatif distabilisasi oleh residu asam amino arginin. Sistein katalitik dari PTP sangat rentan untuk mengalami oksidasi. Agen yang menyebabkan oksidasi dapat melepaskan bagian nukleofilik dari PTP dan menyebabkan perubahan konformasi pada sisi aktif (*active site*). Kemudian, stress oksidatif karena ROS merubah sistein menjadi asam sulfida sebagai hasil permanen dari inaktivasi PTP.²⁴

Fosforilasi yang abnormal dapat menyebabkan mutasi, disregulasi, atau penggandaan ekspresi PTP yang berhubungan dengan banyak gangguan patologis yang juga terlibat dalam etiologi dari diabetes melitus. Insulin merupakan hormon yang penting dalam menekan glukoneogenesis dengan meregulasi homeostasis glukosa di dalam hati. Ini juga diketahui pengikatan insulin juga diikuti oleh fosforilasi insulin reseptor dan mengarah ke kaskade pensinyalan. IRS-1 yang merupakan sinyal hilir yang berasal dari insulin reseptor yang difosforilasi oleh PTPN1 dan PTPN11. Fungsi dari PTP yang abnormal dapat mengarah menuju resistensi insulin.²⁴



Gambar 5. Hasil Visualisasi Ikatan Logam Merkuri dengan Residu ARG-45, CYS-121, ALA-122, GLY-86, PRO-87 pada *Protein Tyrosine Phosphatase* (PTP)



Gambar 6. Hasil Visualisasi Ikatan Logam Kobalt dengan Residu ARG-156, HIS-175, HIS-173, LEU-59, HIS-60 pada Protein Tyrosine Phosphatase (PTP)

Hasil analisis residu asam amino *tyrosine kinase insulin receptor* dengan ion logam merkuri paling memungkinkan untuk berinteraksi dengan residu asam amino Cystein (CYS-1029) dengan afinitas interaksi permukaan pada jarak 1.125 Å menghasilkan ikatan kovalen koordinasi dan untuk residu asam amino *tyrosine kinase insulin receptor* lainnya, yaitu Histidine (HIS-1030) ; Cystein (CYS-1207) ; Proline (PRO-1208), jarak antara residu asam amino dan ion merkuri berada di rentang jarak antara 6.791 – 23.545 Å dengan afinitas interaksi permukaan pada residu asam amino tersebut melebihi 3 Å yang menjadikan ikatan tersebut sebagai ikatan hidrofobik. Sedangkan untuk hasil analisis residu asam amino *tyrosine kinase insulin receptor* dengan ion logam kobalt, terdapat Glutamine (GLU-1152) yang memiliki jarak ikatan paling dekat, namun *score binding potential* residu asam amino tersebut lebih rendah dibandingkan dengan nilai *potential binding* tertinggi pada AMPK dengan ion logam merkuri, oleh karena itu, afinitas interaksi permukaan pada residu asam amino berada di jarak yang lebih dekat yaitu 1.032 Å dan menghasilkan ikatan kovalen koordinasi.

Selanjutnya, untuk residu asam amino *tyrosine kinase insulin receptor* yang berinteraksi dengan kobalt lainnya yaitu Aspartate (ASP-1156); Asparagine (ASN-1028); Histidine (HIS-1030) berada pada rentang 8.034 – 35.708 Å dengan afinitas interaksi permukaan pada residu asam

amino tersebut melebihi 3 Å yang menjadikan ikatan tersebut sebagai ikatan hidrofobik. Rentang afinitas interaksi pada *tyrosine kinase insulin receptor* yang diinteraksikan dengan ion logam kobalt dan merkuri merupakan indikasi bahwa interaksi *tyrosine kinase insulin receptor* dengan ion logam kobalt berada pada jarak yang panjang dan rentangnya jaraknya lebih lebar daripada interaksi enzim *tyrosine kinase insulin receptor* dengan ion logam merkuri.

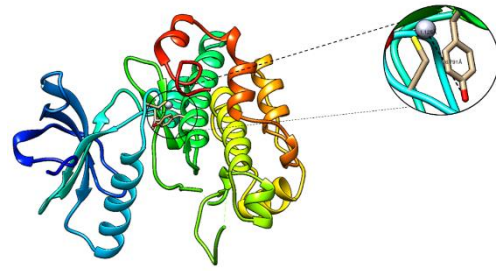
Tyrosine kinase insulin receptor merupakan reseptor dengan rantai tunggal yang dapat teraktivasi dengan induksi ligan oligomerisasi, sedangkan insulin reseptor merupakan $\alpha_2\beta_2$ heterotetramer yang terkait dengan disulfida antara dua rantai α dan diantara rantai α dan β . Insulin berikatan dengan rantai α yang menginduksi adanya penyusunan kembali struktural dalam reseptor, menghasilkan autofosforilasi dari *tyrosine* spesifik pada rantai β : Tyr972 pada regio *juxtamembrane*, Tyr1158, Tyr1162, dan Tyr1163 sebagai lingkaran aktivasi di dalam domain kinase, serta Tyr1328 dan Tyr1134 di dalam regio terminal-C. Fosforilasi dari Tyr1162 dan Tyr1163 yang merupakan lingkaran aktivasi menstimulasi aktivitas katalitik dan fosforilasi Tyr972 yang berfungsi sebagai sisi penambatan (*docking sites*) untuk hilir pensinyalan protein. Peran fungsional dari fosforilasi tirosin pada regio terminal-C hingga saat ini masih belum sepenuhnya memiliki ketetapan.²⁵

Sebuah mekanisme kunci dimana *tyrosine kinase insulin receptor* meregulasi aktivitas katalitik adalah melalui posisi reversibel dari lingkaran aktivasinya. Lingkaran aktivasi dari reseptor insulin dengan tiga sisi autofosforilasi (Tyr1158, Tyr1162, dan Tyr1163) dimulai dengan mengelompokkan protein kinase Pro1172. Dalam struktur kristalografi dari *tyrosine kinase insulin receptor* dimana lingkaran aktivasinya berada di belahan antara dua lengan kinase, dengan Tyr1162 yang terikat pada sisi aktif.²⁶

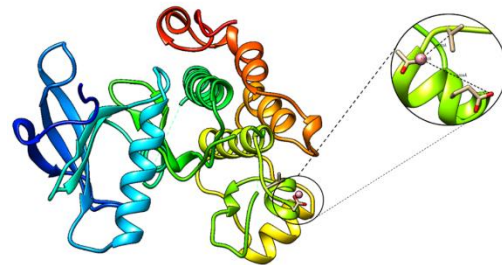
Sisi fosfotirosin pada *tyrosine kinase insulin receptor* biasanya berada pada segmen polipeptida yang merupakan domain terminal-N menuju domain kinase (*juxtamembrane region*) atau domain terminal-C menuju domain kinase atau berada dalam region sisipan kinase (berada diantara α -heliks D dan E). Segmen polipeptida tersebut biasanya tidak terstruktur dan dapat dengan mudah menarik konformasi yang dibutuhkan untuk fosforilasi, dan di antara fosforilasi, untuk pengikatan domain SRC homolog-2 (SH2).²⁵

Formasi dari pengikatan dimer *thwarts* menjadi sekuens fosfotirosin canonical yang memuat residu asam amino yang berjarak lebih dari 3 Å, terjadi interaksi hidrofobik. Setiap protomer dari SH2B2 SH2 dimer mengkoordinasi sebuah fosfotirosin tunggal dimana setiap protomernya yang pertama Tyr1158 dalam *canonical* (berisi arginin) yang merupakan fosfat binding pocket dan yang kedua adalah Tyr1162 dengan dua lisin dalam β -strand. Dalam aktivasi lingkaran fosforilasi dari SH2B2 pada insulin reseptor tirosin kinase yang dimana memanjang aktivasinya. Lebih dari 130 residu terminal-C pada domain SH2. Selektivitas dari Tyr618 ternyata terjadi karena binding dari SH2B2 SH2 dimer yang menuju lingkaran aktivasi kinase, yang memfasilitasi Tyr618 dekat dengan terminal-C dari SH2B2 menuju *active site* IRK.²⁵

Terkait dengan residu asam amino yang berikatan dengan logam kobalt dan merkuri pada *insulin receptor tyrosine kinase*, peneliti mendapatkan bahwa tempat berikatan logamnya berada pada domain tempat utama autofosforilasi tirosin, mengikat atom yang berada pada belahan diantara dua lengan enzim pada bagian tirosin yang berisi segmen dari atom yang mengikat di dalam lingkaran C (*C-loop*), dengan Tyr1162 yang terikat pada sisi aktifnya.²⁶



Gambar 7. Hasil Visualisasi Ikatan Logam Merkuri dengan Residu CYS-1029, HIS-1030, CYS-1207, PRO-1208 pada enzim *Tyrosine Kinase Insulin Receptor*



Gambar 8. Hasil Visualisasi Ikatan Logam Kobalt dengan Residu GLU-1152, ASN-1028, HIS-1030 pada enzim *Tyrosine Kinase Insulin Receptor*

PENUTUP

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, peneliti menyimpulkan bahwa logam berat kobalt berpotensi paling tinggi berikatan dengan enzim *glutamine fructose-6-phosphate amidotransferase* (GFAT). Logam berat merkuri berpotensi paling tinggi berikatan dan berinteraksi dengan *AMP activated protein kinase* (AMPK) dan lebih berpotensi berinteraksi dengan enzim *AMP activated protein kinase* (AMPK), *protein tyrosine phosphatase* (PTP), dan enzim *tyrosine kinase insulin receptor* dibandingkan dengan logam berat kobalt.

DAFTAR PUSTAKA

1. Hendryx M, Luo J, Chojenta C, Byles JE. Exposure to heavy metals from point pollution sources and risk of incident type II diabetes among women: a prospective cohort analysis.

- International Journal of Environmental Health Research. 2021;31(4):453-464.
2. Mellendick K, Shanahan L, Wideman L, Calkins S, Keane S, Lovelady C. Diets rich in fruits and vegetables are associated with lower cardiovascular disease risk in adolescents. *Nutrients*. 2018;10(2):1-15.
3. Mildawati M, Diani N, Wahid A. Hubungan usia, jenis kelamin dan lama menderita diabetes dengan kejadian neuropati perifer diabetik. *Caring Nursing Journal*. 2019;3(2):30-37.
4. Krämer U, Herder C, Sugiri D, Strassburger K, Schikowski T, Ranft U, et al. Traffic-related air pollution and incident type II diabetes: results from the SALIA cohort study. *Environment Health Perspective*. 2010;118(9):1273-1279.
5. Chiu HF, Chang CC, Tsai SS, Yang CY. Does arsenic exposure increase the risk for diabetes melitus. *Journal Occupation Environment Medical*. 2006;48(3):63-67.
6. Becker A, Axelrad D. Arsenic and type II diabetes: commentary on association of inorganic arsenic exposure with type II diabetes melitus: a meta-analysis by Wang et al. *Journal Epidemiology Community Health*. 2014;68(5):393-395.
7. Choudri BS, Charabi Y. Health effects associated with wastewater treatment, reuse, and disposal. *Water Environment Research*. 2019;91(10):976-983.
8. International Diabetes Federation (IDF). IDF diabetes atlas eighth edition 2017. *Atlas of Diabetes Melitus IDF*. 2017;20-23.
9. Salsabila AE. Analisis potensi antidiabetik senyawa palmitic acid melalui aktivasi AMPK secara *in silico*. Doctoral Dissertation Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. 2022;50-60.
10. Nisa C, Irawati U, Sunardi S. Model adsorpsi timbal (Pb) dan seng (Zn) dalam sistem air-sedimen di Waduk Riam Kanan Kalimantan Selatan. *Konversi*. 2013;2(1):7-14.
11. Ningsih UP. Studi *in silico* senyawa arecoline (*areca cathecu l.*) sebagai kandidat obat antidepresan. *Jurnal Universitas Riau*. 2021;3:1-12
12. Natarajan A, Sugumar S, Bitragunta S, Balasubramanyan N. Molecular docking studies of (4Z, 12Z)-cyclopentadeca-4, 12-dienone from *Grewia hirsuta* with some targets related to type 2 diabetes. *BMC Complementary and Alternative Medicine* 2012;15(1):1-8.
13. Pratidina EA, Suhartono E, Setiawan B. Impact of heavy metals on hexokinase isoforms: an *in silico* study. *Jurnal Berkala Kedokteran*. 2021;18(1):29-35.
14. Kemp BE, Stapleton D, Campbell DJ, Chen ZP, Murthy S, Walter M, et al. AMP-activated protein kinase, super metabolic regulator. *Biochemical Society Transactions*. 2003;31(1):162-168.
15. Richez C, Boetzel J, Floquet N, Koteskwa K, Stevens J, Badet B, et al. Expression and purification of active human internal his(6)-tagged l-glutamine: d-fructose-6p amidotransferase. *Protein Expr Purif*. 2007;54:45-53
16. Ruegenberg S, Horn M, Pichlo C, Allmeroth K, Baumann U, Denzel MS. (2020) Loss of GFAT-1 feedback regulation activates the hexosamine pathway that modulates protein homeostasis. *Nat Commun*. 2020;11:1-16
17. Du D, Edelstein L, Rossetti IG, Fantus H, Goldberg F, Ziyadeh J, et al. Hyperglycemia induced mitochondrial superoxide overproduction activates the hexosamine pathway and induces plasminogen activator inhibitor-1 expression by increasing Sp1 glycosylation. *Proc Natl Acad Sci*. 2000;97:12222–12226.
18. Martz E. Protein Explorer: easy yet powerful macromolecular visualization. *Trends in Biochemical Sciences*. 2002;27(2):107-109.

19. Malau ND, Azzahra SF. Analysis docking of plasmodium falciparum enoyl acyl carrier protein reductase (pfenr) with organic compounds from virtual screening of herbal database. *Journal of Applied Chemical Science*. 2018;5(2):491-496.
20. Kongot M, Reddy DS, Singh V, Patel R, Singhal NK, Kumar A. ONS donor entwined iron (III) and cobalt (III) complexes with exemplary safety profile as potent anticancer and glucose uptake agents. *New Journal of Chemistry*. 2019;43(27):10932-10947.
21. Elchebly M, Payette P, Michaliszyn E, Cromlish W, Collins S, Loy AL, et al. Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. *Science*. 2009;323:1544-1548.
22. Monteiro LF, Ferruzo PYM, Russo LC, Farias JO, Forti FL. DUSP3/VHR: a druggable dual phosphatase for human diseases. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 2019;176:1-35.
23. Saltiel AR, Pessin JE. Insulin signaling pathways in time and space. *Trends Cell Biol*. 2002;12:65–71.
24. Hubbard SR. Structure and mechanism of the insulin receptor tyrosine kinase. *Academic Press*. 2017. p. 307-313.
25. Kern NM, Lawrence MC, Streltsov VA, Lou MZ, Adams TE, Lovrecz GO, et al. Structure of the insulin receptor ectodomain reveals a folded-over conformation. *Nature*. 2006;443:218-21.
26. Hubbard SR, Till JH. Protein tyrosine kinase structure and function. *Annu Rev Biochem*. 2000;69:373-98.

