

Polimorfisme Gen Aquaporin-3 dan Pengaruhnya Terhadap Ikatan dengan *Ligand Uji* Secara *In Silico*

(*AQUAPORIN-3 GENE POLYMORPHISM AND ITS EFFECT ON BONDING WITH IN SILICO TEST LIGANDS*)

**Hamny Sofyan¹, Noni Zakiah²,
Hasriati Hasriati³, Frengki^{1*}
Taufan Hidayat⁴, Siti Aisyah³**

¹Laboratorium Anatomi, Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Syiah Kuala,
Jl. Tgk. Hasan Krueng Kalee No.4, Kopelma Darussalam,
Kec. Syiah Kuala, Kota Banda Aceh, Aceh, Indonesia 23111

²Jurusan Farmasi, Politeknik Kesehatan,
Kementerian Kesehatan Aceh,
Lagang, Kec. Darul Imarah, Kabupaten Aceh Besar,
Aceh Indonesia 23352

³Laboratorium Patologi, Fakultas Kedokteran,
Universitas Andalas,
Limau Manis, Pauh, Padang, Sumatera Barat
Indonesia 25163

⁴Laboratorium Agroklimatologi, Fakultas Pertanian,
Universitas Syiah Kuala

*e-mail: frengki_fkh@unsyiah.ac.id

ABSTRACT

Changes in the genetic code can trigger changes in the function of the proteins it produces. Genetic changes that commonly occur in the form of single nucleotide polymorphism such as in the aquaporin group gene (AQPs) which play an important role in maintaining moisture and elasticity of the skin epidermis. This study aims to analyze the effect of mutations in one of the aquaporin protein groups (AQPs), namely aquaporin 3 (AQP3) by *in silico*. Research material in the form of data sequences and 3D structures of AQP3 wild-type dan AQP3 mutant downloaded from the protein databank (pdb id 1FX8 and 1LDF). These two sequences were aligned using the "ClustalW" method to observe the position of the mutation, while the 3D structures were also aligned using the "Alignment" method to observe changes in the native ligand's "site binding" region. The impact of the conformational changes of mutant AQP3 was also observed on several compounds as test ligands which are known to work to support the function of AQP3 protein such as asiatic acid, madecassic acid, asiaticoside, and alpha-retinoic acid through molecular docking method. Sequence alignment results showed that mutations occurred in the 48th (tryptophan-phenylalanine) and 200th (phenylalanine-threonine) residue sequences. The mutation of the two residues caused a change in the interaction model of all test ligands compared to the normal type of AQP3. The mutation also causes a decrease in the stability of AQP3, but on the contrary does not change the function of AQP3 but only decreases the binding ability of the native ligand molecule which has implications for the decrease in the binding ability of water molecules, glycerol and the test ligand.

Keywords: aquaporin 3 mutant; *in silico*; single nucleotide polymorphism; SNP

ABSTRAK

Perubahan kode genetik dapat menjadi pemicu perubahan fungsi protein yang dihasilkannya. Perubahan genetik yang umum terjadi berupa *single nucleotide polymorphism* (SNP) seperti pada gen kelompok aquaporin (AQPs) yang berperan penting untuk menjaga kelembapan dan elastisitas epidermis

kulit. Penelitian ini bertujuan menganalisis pengaruh mutasi pada salah satu kelompok protein AQPs yaitu aquaporin 3 (AQP3) secara *in silico*. Materi penelitian berupa data *sequence* dan struktur 3D AQP3 *wild-type* dan AQP3 *mutant* yang diunduh dari protein databank (pdb id 1FX8 dan 1LDF). Kedua *sequence* ini disejajarkan dengan metode “*ClustalW*” untuk mengamati posisi mutasi, sedangkan struktur 3D keduanya juga disejajarkan menggunakan metode “*Aligment*” untuk mengamati perubahan daerah “*site binding*” *native ligand*. Dampak perubahan konformasi AQP3 *mutant* juga diamati terhadap beberapa senyawa sebagai *ligand* uji yang diketahui bekerja mendukung fungsi protein AQP3 seperti *asiatic acid*, *madecassic acid*, *asiaticoside*, dan *alpha-retinoic acid* melalui metode *docking* molekuler. Hasil penesejajaran *sequence* menunjukkan mutasi terjadi pada urutan residu ke-48 (tryptophan-phenil alanin) dan ke-200 (phenil alanin-threonine). Mutasi kedua residu menyebabkan terjadinya perubahan model interaksi semua *ligand* uji dibanding AQP3 tipe normal. Mutasi juga menyebabkan penurunan stabilitas AQP3. Namun, sebaliknya tidak menyebabkan fungsi AQP3 berubah tetapi hanya menurunkan kemampuan pengikatan molekul *native ligand* yang berimplikasi pada penurunan kemampuan pengikatan molekul air, gliserol dan ligan uji.

Kata-kata kunci: aquaporin 3 *mutant*; *in silico*; *single nucleotide polymorphism*; SNP

PENDAHULUAN

Protein aquaporin (AQPs) merupakan protein pada membran sel yang bersifat hidrofobik dan membentuk pori untuk mengatur transport air antar sel secara osmotik dan juga gliserol (Li *et al.*, 2010; Zannetti *et al.*, 2020; Wijayadi 2021). Protein AQPs dapat ditemukan pada manusia, hewan dan tanaman yang terdiri atas AQP0 hingga AQP12 (Zannetti *et al.*, 2020). Protein AQP3 merupakan salah satu isoform AQPs yang dikelompokkan ke dalam *aquaglyseroporin* karena memiliki permeabilitas terhadap air (H₂O) dan gliserol (Zannetti *et al.*, 2020). Protein AQP3 dapat ditemukan pada beberapa organ seperti kulit (Boury-Jamot *et al.*, 2009), mata (Schey *et al.*, 2014), organ reproduksi (Huang *et al.*, 2006), jantung (Verkerk *et al.*, 2019), ginjal (Li *et al.*, 2017), usus (Loforenza 2012), hati (Portincasa *et al.*, 2012), paru-paru (Wittekindt dan Dietl, 2019), kelenjar ludah/saliva (D’Agostino *et al.*, 2020), dan lambung (Zhu *et al.*, 2016).

Kulit merupakan salah satu organ penting bagi hewan terestrial yang berfungsi mengatur permeabilitas air dan sebagai pelindung tubuh dari pengaruh stres lingkungan seperti sinar ultraviolet, infeksi mikrob, serta suhu panas dan dingin yang dapat merusak sel. Kulit tersusun atas lapisan epidermis di bagian superfisial, dermis di bagian tengah dan hipodermis di bagian profunda (Bollag *et al.*, 2020). Lapisan epidermis merupakan lapisan terluar kulit yang berperan sebagai *barrier* untuk mengatur pertukaran air dan melindungi kondisi fisiologis kulit dari dehidrasi (Wijayadi 2021). Pada lapisan epidermis ditemukan protein *aquaporin-3* yang disandi oleh gen AQP3 yang merupakan salah satu protein yang berperan dalam proses

hidrasi, retensi air dan penyembuhan luka (Bollag *et al.*, 2020; Wijayadi *et al.*, 2021).

Fungsi AQP3 pada kulit sampai saat ini belum diketahui secara pasti (Bollag *et al.*, 2020), sehingga biologi kulit beserta gen-gen yang terekspresi pada kulit yang berperan pada fungsi fisiologis kulit masih terus dikaji. Kadar air (hidrasi) pada epidermis (khususnya pada lapisan stratum korneum) memiliki pengaruh besar pada penampilan dan sifat fisik kulit (Wijayadi 2021). Berbagai penyakit kulit tidak terlepas dari gangguan pada AQP3 (Bollag *et al.*, 2020; Qin *et al.*, 2011). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa AQP3 merupakan target obat yang potensial. Ekspresi AQP3 pada membran keratinosit dan fibroblast epidermis banyak ditemukan pada individu muda dan berkurang seiring bertambahnya umur (Wijayadi *et al.* 2021).

Perubahan iklim yang terjadi secara global telah mengakibatkan suhu lingkungan semakin panas dan hal tersebut dapat berdampak pada fisiologis kulit manusia maupun hewan. Beberapa studi telah melaporkan bahwa berbagai paparan yang diterima oleh kulit telah mengakibatkan mutasi pada beberapa gen pada kulit (Nelson *et al.*, 2002; Jiang *et al.*, 2011; Naval *et al.*, 2014; Hsu *et al.*, 2015). Hal ini tentu saja harus diwaspadai agar tidak berdampak negatif pada kesehatan kulit manusia maupun hewan. Studi ini bertujuan untuk mempelajari polimorfisme gen AQP3 dan pengaruhnya terhadap ikatan dengan molekul air, gliserol dan ligan uji berdasarkan pendekatan *in silico* menggunakan teknik penesejajaran molekul dan *docking* molekuler terhadap protein AQP3 *wild-type* dan AQP3 F200T *mutant*. Pendekatan *in silico* ini digunakan sebagai landasan awal untuk dapat

dilanjutkan ke penelitian pre klinis *in vitro* dan *in vivo* agar lebih terarah, efektif dan efisien. Penelitian pre klinis tentunya dapat dilanjutkan berdasarkan penelusuran jenis AQP3 *mutant* yang berdampak serius terhadap fungsi kulit, sehingga tak perlu semua jenis AQP3 *mutant* yang diperiksa saat uji preklinis dilakukan. Dengan demikian penggunaan biaya yang besar dan lamanya waktu penelitian pre klinis dapat dipangkas sehemat mungkin.

METODE PENELITIAN

Materi Penelitian

Data *soft copy* berupa struktur 3D *ligand* merujuk pada laporan Yulianti *et al.* (2017) yang dibangun dari struktur "SMILES" dan disimpan dalam format *mdb* menggunakan *software* "MOE builder software" versi 10. 2008. Sementara itu struktur 3D reseptor AQP3 *wild-type* (1FX8) dan AQP3 *mutant* (*pdb* id. 1LDF) diunduh dari situs penyedia struktur 3D protein databank (www.rcsb.org) dan disimpan dalam format *pdb*.

Perangkat *hard copy* berupa komputer *Swab Area 4 GB, Procesor Intel Dual Core RAM 8 GB* dengan tipe *64 Byt Operating System. Software MOE 2008* versi 10, *PyMol* dan *tools gratis ClustalW, I-Mutant 3.0, SIFT Program* yang tersedia secara *online*.

Pensejajaran Molekul AQP3 *Wild-Type* terhadap AQP3 *Mutant*

Sequence dan struktur 3D reseptor AQP3 *wild-type* (1FX8) dan AQP3 F200T *mutant* (1LDF) disejajarkan masing-masing dengan teknik "*clustalw*" menggunakan <https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw> dan "*align*" menggunakan aplikasi *PyMoL*. Kedua reseptor ditampilkan sebagai "*cartoon*", gliserol (*native ligand*) ditampilkan sebagai "*stick*", sedangkan residu asam amino yang mengalami mutasi W48F dan F200T ditampilkan sebagai "*line*". Hasil pensejajaran dianalisa secara deskriptif.

Docking Molekuler

Proses *docking* molekuler merujuk pada protokol yang tersedia dari program MOE dan modifikasi metode yang dilaporkan Hambal *et al.* (2022). Optimasi geometri dan minimisasi energi *ligand* dan reseptor terlebih dahulu dilakukan dengan cara menambahkan atom hidrogen, mengatur muatan parsial dengan menggunakan *partial charge*, dan melakukan

minimisasi energi dengan *force field MMF94x*. Solvasi yang digunakan adalah *gas phase* dengan RMS gradient 0.001 kkal/mol menggunakan *default* serta *file output* reseptor dalam format *pdb*, sedangkan *file output ligand* berupa *mdb*. Kemudian dilanjutkan ke tahap *docking* yang diawali dengan membuka file reseptor hasil optimasi, lalu dilakukan *docking* dengan membuka jendela "*simulation-dock*", dan dilakukan pengaturan parameter *docking* yaitu :

- a) *Placement method* yang digunakan adalah *triangle matcher* dengan jumlah putaran 1000.
- b) Fungsi *scoring* yang digunakan adalah *London dG* dengan menampilkan data terbaik sebanyak 30.
- c) Selanjutnya dari 30 tampilan data terbaik tersebut dilakukan pengukuran ulang (*refinement*) dengan menggunakan *refinement force field* dengan konfigurasi ukuran pengulangan populasi sebesar 1000 sesuai dengan *default* MOE.
- d) Tampilan hasil keseluruhan proses *docking* yang dipilih adalah satu data terbaik. Parameter lainnya sesuai dengan *default* dari MOE dan *file output* dalam format *.mdb*

Evaluasi hasil *docking* energi bebas ikatan hasil *docking*, dilihat pada *output* dalam format *mdb*. Kompleks *ligand-enzim* yang dipilih adalah kompleks yang memiliki nilai energi bebas ikatan. Kontak residu dan Ikatan hidrogen yang terjadi pada kompleks *ligand-enzim* terbaik hasil *docking* diidentifikasi dan dianalisis dalam media tiga dimensi dengan menggunakan *ligPlot software MOE*, kemudian divisualisasikan pada program *ligand interaction*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pensejajaran *sequence* AQP3 *wild-type* (1FX8) berbanding dengan *sequence* AQP3 *mutant* (1LDF) ditampilkan pada Gambar 1.

Pada Gambar 1 terlihat perbedaan antara *sequence* AQP3 *wild-type* (1FX8) dengan *sequence* AQP3 *mutant* (1LDF) yang terjadi pada residu ke-48 dari asam amino *Tryptophan* ke *Phenylalanine* (W48F) dan residu ke-200 dari asam amino *Phenylalanine* menjadi *Threonine* (F200T).

Asam amino penyusun protein AQP3 *wild-type* berinteraksi dengan tiga molekul gliserol

```

clustalw.aln
CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

1FXB_1|Chain      MSQTSTLKGQCIAEFLGTGLLIFFGVGCVAALKVAGASFGQWEISVIWGLGVAMAIYLTAA
1LDF_1|Chain      MSQTSTLKGQCIAEFLGTGLLIFFGVGCVAALKVAGASFGQWEISVIFGLGVAMAIYLTAA
*****:*****

1FXB_1|Chain      GVSGAHLNPAVTIALWL FACFDKRKVIPIVVSQVAGAFCAAALVYGLYYNLFDFEQTHH
1LDF_1|Chain      GVSGAHLNPAVTIALWL FACFDKRKVIPIVVSQVAGAFCAAALVYGLYYNLFDFEQTHH
*****

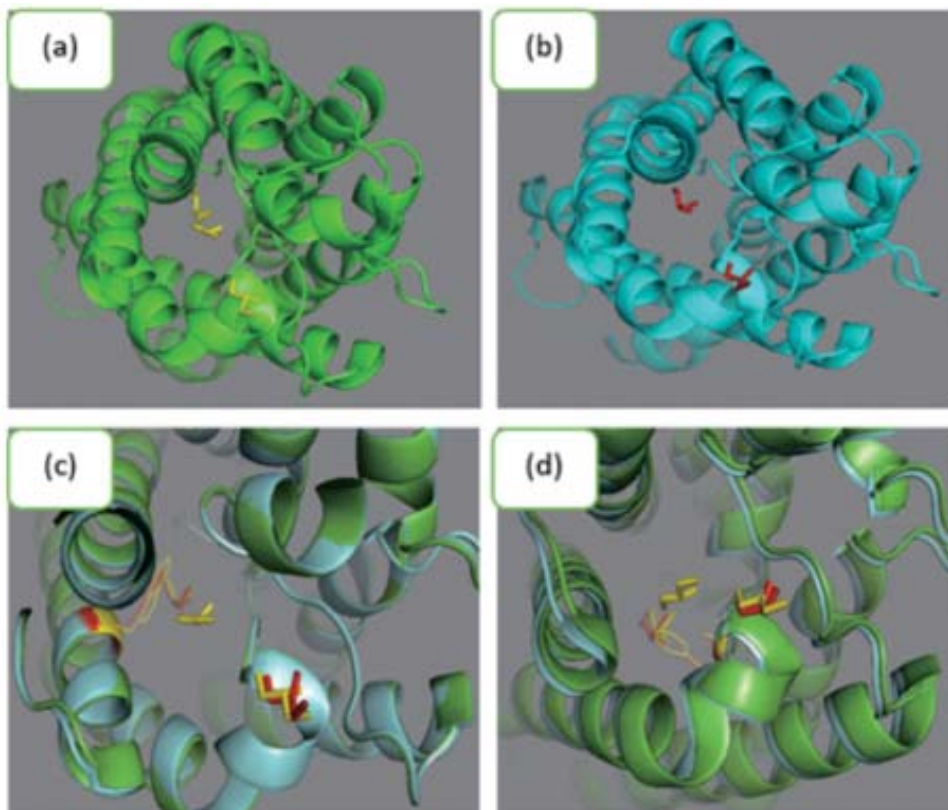
1FXB_1|Chain      IVRGSVESVDLAGTFSTYPNPHINFVQAFVEMVITAILMGLILALDDGNGVPRGPLAP
1LDF_1|Chain      IVRGSVESVDLAGTFSTYPNPHINFVQAFVEMVITAILMGLILALDDGNGVPRGPLAP
*****

1FXB_1|Chain      LLIGLLIAVIGASMGPLTGFAMNPARDFGPKVFAWLAGWGNVAFTGGRDIPYFLVPLFGP
1LDF_1|Chain      LLIGLLIAVIGASMGPLTGTAMNPARDFGPKVFAWLAGWGNVAFTGGRDIPYFLVPLFGP
*****

1FXB_1|Chain      IVGAIVGAFAYRKLIGRHLPCDICVVEEKETTTTPSEQKASL
1LDF_1|Chain      IVGAIVGAFAYRKLIGRHLPCDICVVEEKETTTTPSEQKASL
*****

```

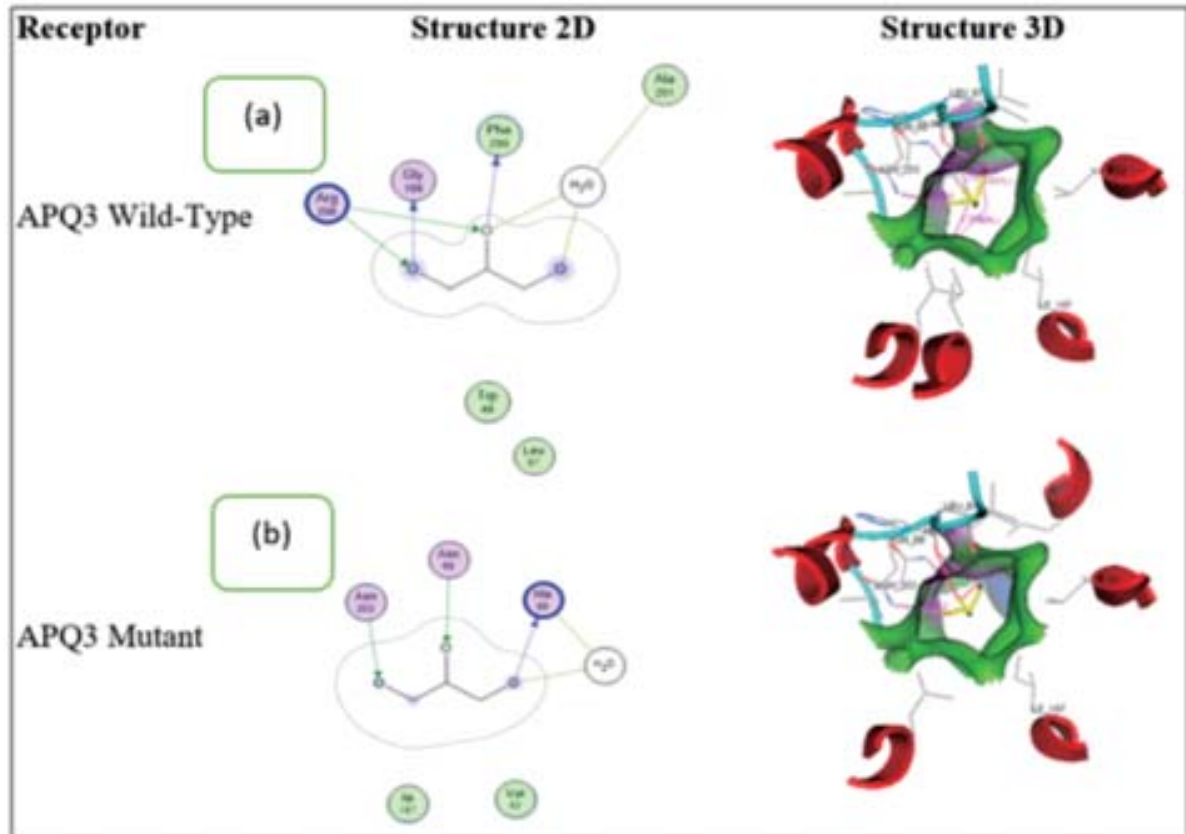
Gambar 1. Pensejajaran *sequence* Aquaporin-3 (AQP3) *wild-type* terhadap *sequence* AQP3 *mutant*.



Gambar 2. (a) Protein aquaporin-3 (AQP3) *wild-type* dengan tiga molekul gliserol (b) Protein AQP3 *mutant* dengan dua molekul gliserol. (c) Protein AQP3 *mutant* W48F. (d) Protein AQP3 *mutant* F200T.

(stick kuning), namun mutasi asam amino W48F dan F200T menyebabkan penurunan jumlah gliserol menjadi dua molekul (stick merah). Penurunan kemampuan protein AQP3 mengikat gliserol berimplikasi pada penurunan pengikatan molekul air. Mutasi AQP3 W48F menyebabkan residu ke-48 berubah dari asam amino *Tryptophan* (line kuning) menjadi *Phenylalanine* (line merah). Kedua residu asam amino tersebut memiliki struktur aromatis yang

cenderung mendekati satu molekul gliserol (Gambar 2C). Mutasi AQP3 F200T menyebabkan residu ke-200 berubah dari asam amino *Phenylalanine* (line kuning) menjadi *Threonine* (line merah). *Phenylalanine* pada AQP3 *wild-type* tersebut memiliki struktur aromatis yang cenderung mendekati satu molekul gliserol, sebaliknya *Threonine* pada AQP3 F200T tidak menunjukkan kecenderungan tersebut (Gambar 2D).



Gambar 3. (a) Model interaksi ikatan hidrogen gliserol terhadap reseptor aquaporin-3 (AQP3) *wild-type*. (b) Model interaksi ikatan hidrogen gliserol terhadap reseptor AQP3 *mutant*.

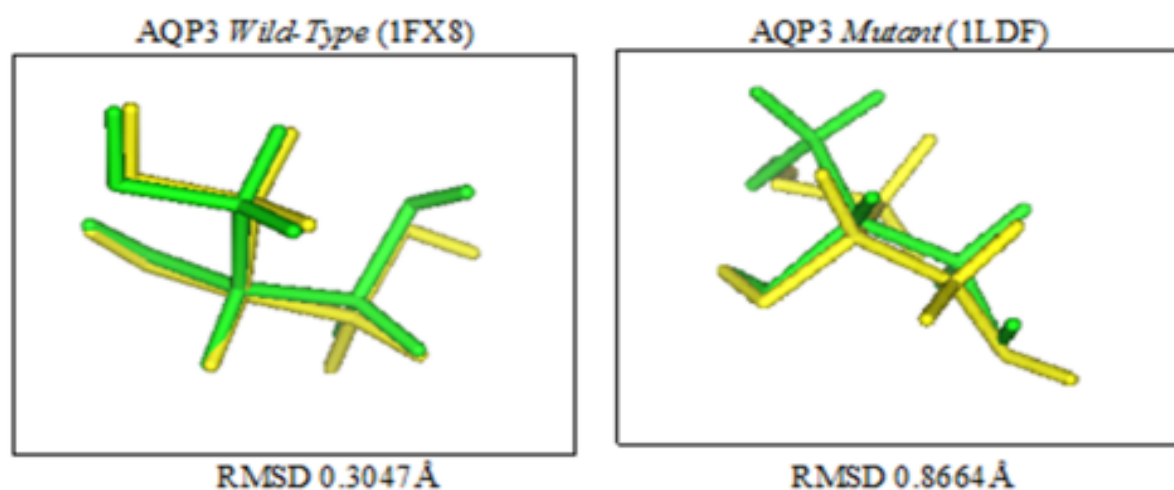
Tabel 1. Struktur “Smiles” ligand yang diunduh dari PubChem.

Compounds	PubChem ID	Smiles Structure
Asiatic acid	119034	<chem>CC1CCC2(CCC3(C(=CCC4C3(CCC5C4(CC(C(C5(C)CO)O)O)C)C)C2C1C)C)C(=O)O</chem>
Madecassic acid	73412	<chem>CC1CCC2(CCC3(C(=CCC4C3(CC(C5C4(CC(C(C5(C)CO)O)O)C)O)C)C2C1C)C)C(=O)O</chem>
Asiaticoside acid	108062	<chem>CC1CCC2(CCC3(C(=CCC4C3(CCC5C4(CC(C(C5(C)CO)O)O)C)C)C2C1C)C)C(=O)OC6C(C(C(C(O6)COC7C(C(C(C(O7)CO)OC8C(C(C(C(O8)C)O)O)O)O)O)O)O)O</chem>
alpha-Retinoic acid	11130378	<chem>CC1=CCCC(C1C=CC(=CC=CC(=CC(=O)O)C)C)C</chem>

Protein AQP3 *wild-type* (Gambar 3a) memperlihatkan gliserol membentuk dua ikatan hidrogen dengan molekul air bersama satu ikatan hidrogen dengan asam amino Alanin 201. Gliserol juga membentuk empat ikatan hidrogen masing-masing dengan dua ikatan hidrogen dengan asam amino *Arginine* 206, satu ikatan hidrogen dengan *Glycine* 199, dan satu ikatan hidrogen dengan *Phenylalanine* 200. Sebaliknya pada protein AQP3 *mutant* (W48F dan F200T) (Gambar 3b), gliserol membentuk satu ikatan hidrogen dengan molekul air bersama satu ikatan hidrogen dengan asam amino *Histidine* 66. Selain itu gliserol juga membentuk dua ikatan hidrogen masing-masing satu ikatan hidrogen dengan asam amino *Asparagine* 68 dan *Asparagine* 203.

Agar mendapatkan *score docking* yang

dapat dipercaya, maka terlebih dahulu dilakukan validasi metode *docking* terhadap “*native ligand*” yang terdapat di dalam reseptor target baik reseptor AQP3 *wild-type* (1FX8) maupun reseptor AQP3 *mutant* (1LDF) menggunakan teknik *redocking*. Parameter validasi metode ini berupa besaran penyimpangan pose “*ligand copy*” terhadap “*native ligand*” yang dikenal dengan istilah *root means aquare deviation* (RMSD). Hasil validasi ini memperoleh nilai penyimpangan pose sebesar 0.3047 Å terhadap reseptor AQP3 *wild-type* (1FX8) dan 0.8664 Å terhadap reseptor AQP3 *mutant* (1LDF) (Gambar 4). Nilai penyimpangan pose tersebut masih dalam batas toleransi yang dibenarkan ($d \approx 2$ Å) (Hambal *et al.*, 2022), sehingga proses *docking* dapat dilanjutkan pada senyawa lainnya.



Gambar 4. Hasil validasi “*native ligand*” (yellow) reseptor aquaporin-3 atau AQP3 *wild-type* (1FX8) dan AQP3 *mutant* (1LDF).
RMSD= *root means aquare deviation*

Tabel 2. Hasil *docking* senyawa agen “*wound healing*”.

Senyawa	Reseptor			
	1FX8		1LDF	
	<i>Affinity</i> (kcal/mol)	H Bond	<i>Affinity</i> (kcal/mol)	H Bond
<i>Asiatic acid</i>	-12.96	Thr 167(2), Asn 68	-13.21	Met 202, Asn 68, Asn 203
<i>Madecassic acid</i>	-12.41	Thr 167(2), Asn 68	-12.47	Asn 68
<i>Asiaticoside acid</i>	-18.65	Leu 67, Ala 201, Asn 68 (2), Asn 203, Arg 206	-17.25	His 66, Asp 169 (2), Asn 203
<i>alpha-Retinoic acid</i>	-12.26	Gly 64, Ala 65	-11.71	Asn 203

Keterangan: reseptor aquaporin-3 atau AQP3 *wild-type* (1FX8) dan AQP3 *mutant* (1LDF).

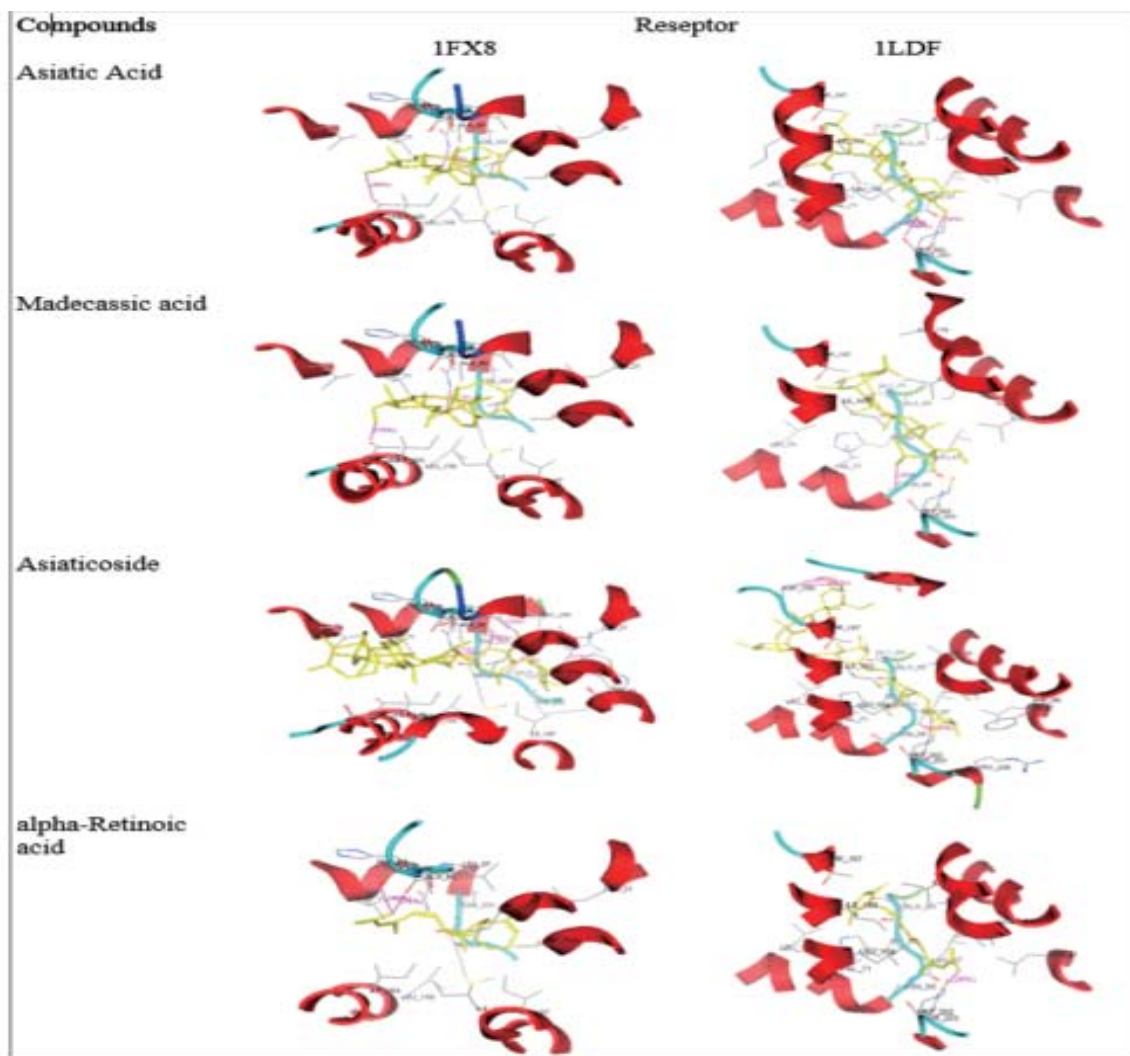
Docking dilakukan terhadap empat senyawa yang dilaporkan berperan sebagai agen “wound healing” pada sel epidermis kulit (Yulianti *et al.*, 2017). Keempat senyawa tersebut adalah *asiatic acid*, *madecassic acid*, *asiaticoside acid*, dan *alpha-retinoic acid*. Hasil *docking* ditabulasikan seperti pada Tabel 2.

Hasil *docking* menunjukkan terjadinya perubahan nilai afinitas agen “wound healing” saat ditambahkan ke reseptor AQP3 yang mengalami mutasi dari asam amino *Tryptophan* menjadi *Phenylalanine* pada urutan residu ke-48 dan asam amino *Phenylalanine* menjadi *Threonine* pada urutan residu ke-200. Peningkatan nilai afinitas terlihat pada senyawa *asiaticoside acid* dan *madecassic acid* tanpa diiringi dengan kenaikan jumlah ikatan hidrogen.

Sebaliknya penurunan afinitas terlihat pada senyawa *asiaticoside acid* dan *alpha-retinoic acid* yang diiringi dengan lepasnya ikatan hidrogen saat membentuk kompleks dengan reseptor AQP3 *mutant* (Tabel 2).

Perubahan nilai afinitas di antara kedua reseptor AQP3 *wild-type* dan AQP3 *mutant* tidak terlalu berbeda, namun asam amino yang membentuk ikatan hidrogen dengan agen “wound healing” antara kedua reseptor tersebut sangat berbeda (Tabel 2). Model interaksi tersebut lebih jelas teramati dari gambaran interaksi antara *ligand* agen “wound healing” terhadap reseptor AQP3 *wild-type* dan reseptor AQP3 *mutant* (Gambar 5).

Mutasi pada reseptor AQP3 mampu menurunkan kemampuannya dalam mengikat



Gambar 5. Visualisasi model interaksi senyawa agen “wound healing” dengan reseptor aquaporin3 atau AQP3 *wild-type* (1FX8) dan AQP3 *mutant* (1LDF).

Tabel 3. Prediksi stabilitas dan fungsi aquaporin-3 (AQP3) *mutant* (W48F dan F200T) menggunakan *I-Mutant 3.0* dan *SIFT Program server online*.

Posisi asam amino	Perubahan asam amino	DDG (kkal/mol)	Stabilitas protein	Indeks toleransi	Fungsi protein
48 (W-F)	<i>Tryptophan-Phenylalanine</i>	-0,95	Menurun	1.00	<i>Tolerated</i>
200 (F-T)	<i>Phenylalanine-Tyrosine</i>	-0.57	Menurun	1.00	<i>Tolerated</i>

Keterangan: DDG>0 stabilitas meningkat; DDG<0 stabilitas menurun; *Tolerated* >0.05; *Affect Activity* <0.05

molekul air melalui ikatan hidrogen dengan gliserol, namun keberadaan agen “*wound healing*” saat membentuk kompleks baik terhadap reseptor AQP3 *wild-type* maupun AQP3 *mutant* tidak terlalu berbeda. Reseptor AQP3 *mutant* diduga masih berfungsi baik sebagaimana AQP3 *wild-type*. Hal ini didukung oleh hasil analisis mutasi menggunakan *I-Mutant 3.0 software* dan *SIFT Program* yang disajikan pada Tabel 3.

Beberapa studi melaporkan bahwa terjadinya mutasi pada beberapa *sequence* asam amino dapat memengaruhi kekuatan stabilitas ikatan dengan *ligand* (Hamny *et al.*, 2017). Demikian pula yang ditemukan pada studi ini. *Single nucleotide polymorphism* (SNP) pada AQP3 menyebabkan penurunan stabilitas ikatan dengan *ligand*. Mutasi AQP3 dari residu asam amino *Tryptophan* menjadi *Phenylalanine* pada posisi residu ke-48 dan *Phenylalanine* menjadi *Threonine* pada posisi residu ke-200 mengalami penurunan stabilitas yang ditandai dengan nilai DDG <0 (masing-masing sebesar -0.95 kkal/mol dan -0.57 kkal/mol) berdasarkan model analisis prediksi stabilitas menggunakan *I-Mutant 3.0 server online* (Capriotti *et al.*, 2005). Namun, fungsi AQP3 *mutant* (W48F dan F200T) tidak mengalami perubahan karena mutasi yang terjadi masih dapat ditoleransi akibat perubahan asam aminonya dengan nilai *score index tolerated* masing-masing sebesar 1.00 (>0.05), berdasarkan model analisis prediksi perubahan fungsi aktivitas protein menggunakan *SIFT Program server online* (Pauline dan Henikoff, 2003)

SIMPULAN

Hasil pensejajaran AQP3 *wild-type* terhadap AQP3 *mutant* ditemukan adanya dua *single nucleotide polymorphism* (SNP) pada posisi residu asam amino ke-48 (*Tryptophan-Phenylalanine*) dan ke-200 (*Phenylalanine-*

Threonine) yang menyebabkan perubahan konformasi daerah “*site binding*” reseptor AQP3. Mutasi tersebut menyebabkan menurunnya stabilitas dan kemampuan reseptor AQP3, namun tidak merubah fungsi reseptor dalam pengikatan molekul air, gliserol dan beberapa ligan uji.

SARAN

Perlu diidentifikasi lebih jauh jenis mutasi yang terjadi pada protein aquaporin dan dibuat hubungannya terhadap berbagai kasus gangguan kulit pada manusia ataupun pada hewan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan sinergi kerjasama Laboratorium Riset, Laboratorium Farmakologi dan Laboratorium Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Andalas.

DAFTAR PUSTAKA

- Bollag WB, Aitkens L, White J, Hyndman KA. 2020. Aquaporin-3 in the epidermis: more than skin deep. *American journal of Physiology-Cell Physiology* 318(6): 1144-1153
- Boury-Jamot M, Daraspe J, Bonte F, Perrier E, Schnebert S, Dumas M, Verbavatz JM. 2009. Skin Aquaporins: Function in Hydration, Wound Healing, and Skin Epidermis Homeostasis. Dalam: Beitz E (ed). *Handbook of Experimental Pharmacology*. Berlin. Springer. Hlm. 190.
- Capriotti E, Fariselli P, Calabrese R, Casadio R. 2005. Predicting protein stability changes from sequences using support vector

- machines. *Bioinformatics* 21 (Suppl. 2): ii54–ii58.
- D'Agostino C, Elkashty OA, Chivasso C, Perret J, Tran SD, Delporte C. 2020. Insight into salivary gland aquaporins. *Cells* 9(6): 1547
- Hambal M, Frengki F, Sari WE, Vanda H. 2022. *In silico* prediction of flavan-3-ol as a bioactive compound of *Calophyllum macrophyllum* as a potential drug against angiostrongylus eosinophilic meningitis. *Veterinary World* 15(5): 1305-1313.
- Hamny H, Jalaluddin M, Aisyah S, Wahyuni S, Widodo, Aulanni'am A. 2017. Polymorphism of follicle stimulating hormone receptor influences the 3D structure and its binding pattern to FSH in *Bos taurus*. *Indian Journal of Animal Research* 51(4): 630-634.
- Hsu LI, Wu MM, Wang YH, Lee CY, Yang TY, Hsiao BY, Chen CJ. 2015. Association of environmental arsenic exposure, genetic polymorphisms of susceptible genes, and skin cancers in Taiwan. *BioMed Research International* 2015(Article ID 892579): 10 pages
- Huang HF, He RH, Sun CC, Zhang Y, Meng QX, Ma YY. 2006. Function of aquaporins in female and male reproductive systems. *Human Reproduction Update* 12(6): 785–795
- Jiang DK, Wang WZ, Ren WH, Yao L, Peng B, Yu L. 2011. TP53 Arg72Pro polymorphism and skin cancer risk: a meta-analysis. *Journal of Investigative Dermatology* 131(1): 220-228
- Li J, Tang H, Hu X, Chen M, Xie H. 2010. Aquaporin-3 gene and protein expression in sun-protected human skin decreases with skin ageing. *Australasian Journal of Dermatology* 51(2): 106–112
- Li Y, Wang W, Jiang T, Yang B. 2017. *Aquaporins In Urinary System*. Dalam: Yang B (ed). *Advances in Experimental Medicine and Biology* Berlin. Springer, Dordrecht Hlm/131-148.
- Laforenza U. 2012. Water channel proteins in the gastrointestinal tract. *Molecular Aspects of Medicine* 33(5-6): 642–650
- Naval J, Alonso V, Herranz MA. 2014. Genetic polymorphisms and skin aging: the identification of population genotypic groups holds potential for personalized treatments. *Clinical Cosmetic and Investigational Dermatology* 7: 207–214
- Nelson HH, Kelsey KT, Mott LA, Karagas MR. 2002. The XRCC1 Arg399Gln polymorphism, sunburn, and non-melanoma skin cancer: evidence of gene-environment interaction. *Cancer Research* 62(1): 152–155.
- Pauline C, Ng, and Henikoff S. 2003. SIFT: predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic Acids Research* 31(13): 3812–3814
- Portincasa P, Calamita G. 2012. Water channel proteins in bile formation and flow in health and disease: when immiscible becomes miscible. *Molecular Aspects of Medicine* 33(5-6): 651–664
- Qin H, Zheng X, Zhong X, Shetty AK, Elias PM, Bollag WB. 2011. Aquaporin-3 in keratinocytes and skin: its role and interaction with phospholipase D2. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 508(2): 138–143
- Schey KL, Wang Z, Wenke JL, Qi Y. 2014. Aquaporins in the eye: expression, function, and roles in ocular disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 1840(5): 1513–1523.
- Yulianti L, Restuadi, Mardiyati E, Bramono K, Hans Freisleben J. 2017. In silico molecular modeling and docking studies of aquaporin-3 with centella asiatica active compound. *International Journal of Pharma Sciences and Scientific Research* 3(6): 71-73
- Verkerk AO, Lodder EM, Wilders R. 2019. Aquaporin channels in the heart: physiology and pathophysiology. *International Journal of Molecular Sciences* 20(8): 2039
- Wijayadi LY. 2021. Aktivasi ekspresi protein dan gen aquaporin 3 (AQP3) sebagai target pengobatan hidrasi kulit. *Jurnal Muara Medika dan Psikologi Klinis* 1(1): 89-97
- Wittekindt OH, Dietl P. 2019. Aquaporins in the lung. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology* 471(4): 519–532
- Zannetti A, Benga G, Brunetti A, Napolitano F, Avallone L, Pelagalli A. 2020. Role of aquaporins in the physiological functions of mesenchymal stem cells. *Cells* 9(12): 2678
- Zhu C, Chen Z, Jiang Z. 2016. Expression, distribution and role of aquaporin water channels in human and animal stomach and intestines. *International Journal of Molecular Sciences* 17(9): 1399.