

ABSTRAK

Lebih dari 30 penyakit degeneratif pada manusia disebabkan oleh agregasi protein. Agregasi protein terjadi akibat protein yang tidak terlipat atau salah melipat (*misfolded*). Ini dapat dipicu oleh gaya hidup yang tidak sehat seperti mengonsumsi gula terlalu banyak yang kemudian mengarah pada pembentukan *Advanced Glycation End Products* (AGEs) hasil reaksi glikasi lalu membentuk plak amiloid. Hasil penelitian *in vitro* maupun *in silico* menunjukkan agregasi protein *Bovine Serum Albumin* (BSA) sebagai representasi dari *Human Serum Albumin* (HSA) mampu dihambat oleh asam askorbat, asam galat, dan kuersetin. Penelitian *in silico* sebelumnya menginteraksikan protein BSA dengan bioaktif menggunakan model II (setelah pemutusan ikatan disulfida) hanya selama 20 ns. Kualitas hasil simulasi bergantung pada durasi. Simulasi yang lebih lama dapat meningkatkan akurasi hasil. Penelitian ini melanjutkan penelitian tersebut dengan memperpanjang waktu simulasi interaksi bioaktif menjadi 50 ns yang bertujuan untuk menentukan pengaruhnya terhadap kestabilan konformasi dan kekuatan interaksi serta memperoleh prediksi potensi anti-agregasi yang lebih optimal.

Penelitian ini diawali dengan mensimulasikan protein BSA *native* (kode PDB: 3V03) dan tiga mutan (protein BSA termodifikasi yang diinduksi oleh pemutusan ikatan disulfida di posisi 75-91 (M1), 513-558 (M2), dan 75-91_513-558 (M3) dengan tiga bioaktif (asam askorbat, asam galat, dan kuersetin) selama 50 ns. Selanjutnya hasil simulasi dianalisis. Analisis tersebut meliputi analisis kestabilan konformasi berdasarkan nilai RMSD dan jari-jari girasi, analisis kekuatan interaksi berdasarkan energi interaksi elektrostatis dan Van der Waals, dan terakhir, analisis potensi anti agregasi menggunakan server Aggrescan3D 2.0.

Hasil penelitian menunjukkan asam galat dan kuersetin memiliki konformasi yang lebih stabil dilihat dari nilai RMSD dan jari-jari girasi (R_g) yang cenderung lebih rendah (RMSD BSA-Asam Galat = 0,298 – 0,5 nm; RMSD BSA-Kuersetin = 0,31 – 0,501 nm; RMSD BSA-Asam Askorbat = 0,34 – 0,601 nm; R_g BSA-Asam Galat = 2,726 – 2,835 nm; R_g BSA-Kuersetin = 2,736 – 2,836 nm; dan R_g BSA-Asam Askorbat = 2,698 – 2,858 nm). Kekuatan interaksi asam galat tidak lebih kuat daripada kuersetin yang mendominasi di interaksi Van der Waals dan asam askorbat yang mendominasi di interaksi elektrostatis (EI_{total} BSA-Asam Askorbat = -251,217 kJ/mol; EI_{total} BSA-Kuersetin = -207,058 kJ/mol; dan EI_{total} BSA-Asam Galat = -159,925 kJ/mol), tetapi asam galat menunjukkan potensi anti agregasi yang lebih kuat dilihat dari jumlah residu non-polar di permukaan yang lebih sedikit, disusul kuersetin dan terakhir asam askorbat. Penelitian ini juga menemukan bahwa posisi pengikatan lebih berpengaruh pada potensi anti agregasi daripada kekuatan interaksi. Hasil uji *in silico* yang telah dilakukan menunjukkan keselarasan dengan penelitian *in vitro* sebelumnya. Hal ini membuktikan bahwa lamanya waktu interaksi mempengaruhi efektivitas bioaktif dalam mencegah agregasi protein. Oleh karena itu, penelitian ini menegaskan pentingnya mempertimbangkan waktu interaksi dalam desain terapi anti agregasi protein.

Kata Kunci: Agregasi Protein, *Bovine Serum Albumin*, Perpanjangan Waktu Simulasi

ABSTRACT

More than 30 degenerative diseases in humans are caused by protein aggregation. Protein aggregation occurs due to unfolded or misfolded proteins. This can be triggered by unhealthy lifestyles such as consuming too much sugar which then leads to the formation of Advanced Glycation End Products (AGEs) resulting from glycation reactions and then forming amyloid plaques. In vitro and in silico studies have shown that aggregation of Bovine Serum Albumin (BSA) protein as a representation of Human Serum Albumin (HSA) can be inhibited by ascorbic acid, gallic acid, and quercetin. Previous in silico studies interacted BSA proteins with bioactives using model II (after disulfide bond breaking) for only 20 ns. The quality of the results depends on the duration of the simulation, where longer simulations can improve the accuracy of the results. This study continues that research by extending the bioactive interaction simulation time to 50 ns, aiming to determine its effect on conformational stability and interaction strength and obtain a more optimal prediction of anti-aggregation potential.

This study began by simulating the native BSA protein (PDB code: 3V03) and three mutants (modified BSA protein induced by disulfide bond breaks at positions 75-91, 513-558, and 75-91_513-558) with three bioactives (ascorbic acid, gallic acid, and quercetin) for 50 ns. Furthermore, the simulation results were analyzed. The analysis includes conformational stability analysis based on RMSD value and radius of gyration, interaction strength analysis based on electrostatic and Van der Waals interaction energy, and finally, anti-aggregation potential analysis using Aggrescan3D 2.0 server.

The results showed that gallic acid and quercetin have a more stable conformation than ascorbic acid as seen from the RMSD value and the radius of gyration (Rg) which tends to be lower (RMSD BSA-Gallic Acid = 0.298 - 0.5 nm; RMSD BSA-Quercetin = 0.31 - 0.501 nm; RMSD BSA-Ascorbic Acid = 0.34 - 0.601 nm; Rg BSA-Galic Acid = 2.726 - 2.835 nm; Rg BSA-Quercetin = 2.736 - 2.836 nm; and Rg BSA-Ascorbic Acid = 2.698 - 2.858 nm). Although the interaction strength of gallic acid is not stronger than quercetin which dominates in Van der Waals interaction and ascorbic acid which dominates in electrostatic interaction (EItotal BSA-Ascorbic Acid = -251.217 kJ/mol; EItotal BSA-Quercetin = -207.058 kJ/mol; and EItotal BSA-Galic Acid = -159.925 kJ/mol), gallic acid showed stronger anti-aggregation potential as seen from the less number of non-polar residues on the surface, followed by quercetin and finally ascorbic acid. This study also found that the binding position has more influence on the anti-aggregation potential than the interaction strength. These in silico results are consistent with previous in vitro studies. This proves that the length of interaction time affects the effectiveness of bioactives in preventing protein aggregation. Therefore, this study confirms the importance of considering the interaction time in the design of protein anti-aggregation therapeutics.

Keywords: Protein Aggregation, Disulfide Bonds, *Bovine Serum Albumin*, Longer Simulation Time