

Studi in silico Peran Gen IL10RB Homo sapiens (reseptor subunit beta interleukin 10) pada Infeksi Hepatitis B

The Role of Homo sapiens IL10RB Gen (beta interleukin subunit receptor 10) in Hepatitis B Infection in silico

Ndaru Andri Damayanti¹, Dwi Hilda Putri²

¹Faculty of Medicine, Lecture, YARSI University, Jakarta
Jalan Letjen. Suprpto, Cempaka Putih, Jakarta 10510
Telephone (021) 4206674, 4206675, 4206676

²Faculty of Science, Lecture, University of Negeri Padang
Correspondence E-mail: ndaru_andri@yahoo.com

Abstrak

Inter leukin, IL-10 dikenal sebagai salah satu elemen imun yang bersifat anti inflamasi memiliki peran penting di dalam sistem homeostasis. Gen IL-10RB yang termasuk kelompok sitokin kelas 2 merupakan lokus utama terhadap kejadian infeksi hepatitis B, yang diperlihatkan dengan adanya data *single nucleotide polymorphisme*, SNPs pada E47K. Studi *in silico* dilakukan untuk mengetahui mutasi dan perubahan fungsi dari protein IL-10RB yang mengalami mutasi terhadap kejadian infeksi oleh virus hepatitis B. Hasil analisis sikuen protein menunjukkan bahwa mutasi 2834167 tidak merubah sifat umum maupun topologi protein IL-10RB terhadap kejadian infeksi hepatitis B. Hasil analisis struktur protein menunjukkan bahwa mutasi juga tidak merubah struktur sekunder maupun struktur Kristal D protein IL-10RB.

Kata kunci; *in silico*, gen, protein, IL-10RB, hepatitis B

Abstract

Inter leukin, IL-10 is known as one of the immune element anti-inflammatory properties have an important role in the system homeostasis. The IL-10RB gene belongs to the class 2 cytokine group is the main locus for the incidence of hepatitis B infection, which is shown by the data of single nucleotide polymorphism, SNPs at E47K. In silico studies were carried out to determine mutations and function changes of IL-10RB proteins that mutated the incidence of infection by hepatitis B virus. The results of protein sequence analysis showed that the mutation 2834167 did not change the general nature and topology of IL-10RB proteins against the incidence of hepatitis B infection. The results of protein structure analysis showed that the mutations also did not change the secondary structure or the structure of the Crystal D protein IL-10RB.

Keywords: *in silico*, gene, protein, IL-10RB, hepatitis B

Pendahuluan

Respons tubuh manusia terhadap patogen yang datang digambarkan sama seperti perlawanan sistem pertahanan tubuh terhadap benda asing apapun yang masuk ke dalam tubuh. Semua mekanisme imun yang melibatkan sejumlah interaksi humoral dan seluler saling bekerja sama berusaha mengeluarkan konfigurasi asing tersebut (Abbas, 2010). Berbagai molekul permukaan sel, seperti reseptor, molekul ko-reseptor dan molekul penyaji berkolaborasi dengan substansi humoral seperti sitokin baik pro dan anti inflamasi dengan tujuan menjaga homeostasis tubuh.

Inter leukin, IL-10 yang dikenal sebagai salah satu elemen imun yang bersifat anti inflamasi memiliki peran penting di dalam sistem homeostasis. IL-10 diproduksi oleh sel T helper, Th-2 yang teraktivasi. Hikami *et al.*, (2007) menjelaskan bahwa aktivasi IL-10 dipengaruhi oleh modulasi kompleks reseptor IL-10 melalui ekspresi *receptor betha inter leukin 10*, IL-10RB atau *receptor dua inter leukin 10*, IL-10R2. Dengan kata lain peranan molekuler gen IL-10RB adalah mengaktivasi reseptor melalui berbagai mekanisme biologi seperti, menjadi mediator jalur sinyal sitokin, respons imun, transduksi sinyal, pertahanan tubuh terhadap infeksi virus sampai dengan menekan mekanisme respons inflamasi

Kompleks reseptor IL-10 pertama kali diperkenalkan oleh Malefyt (1991) melalui penemuannya yang menjelaskan ada dua komponen reseptor yaitu *receptor satu inter leukin sepuluh*, IL-10R1 dan *receptor dua inter leukin sepuluh*, IL-10R2. Dalam mekanisme kerja sebagai anti inflamasi, aktivasi IL-10 akan berikatan dengan protein IL-10R1 kemudian menginduksi gen IL-10RB membentuk kompleks reseptor IL-10. Gen IL-10RB memiliki fungsi

sebagai reseptor permukaan sel yang dibutuhkan untuk mengaktivasi sekelompok sitokin, diantaranya 5 sitokin kelas II yaitu; IL-10, IL-22, IL-26, IL-28 dan *inter feron satu*, IFN-1 (Malefyt, 1991)

Frodshman *et al.* (2006) melaporkan bahwa ada beberapa penyakit terkait dengan polimorfisme gen IL-10RB. Lebih jauh dijelaskan bahwa IL-10RB yang termasuk kelompok sitokin kelas 2 merupakan lokus utama terhadap kejadian infeksi oleh virus hepatitis B, yang diperlihatkan dengan adanya data *single nucleotide polymorphisms*, SNPs pada E47K. Artinya ada perubahan atau mutasi pada urutan rantai asam amino ke 47 yang semula K (lisin) menjadi E (glutamin). Kondisi ini memperlihatkan adanya hubungan dengan resiko kejadian infeksi organ hati manusia oleh virus hepatitis B (Gong *et al.*, 2009)

Infeksi hepatitis B merupakan salah satu penyakit mudah menular yang dapat menjadi penyebab utama hepatitis kronik yang dapat berkembang menjadi sirosis dan berakhir dengan kanker hati sebagai penyebab kematian, dengan kasus 1 juta orang per tahun (Perz *et al.*, 2006). Virus hepatitis B ditularkan dari satu orang ke orang lainnya melalui cairan, seperti darah, air mani, air liur atau cairan tubuh lain yang terkontaminasi virus. Orang dengan sistem kekebalan tubuh lemah berisiko tinggi terinfeksi penyakit hepatitis B (Ott *et al.*, 2012)

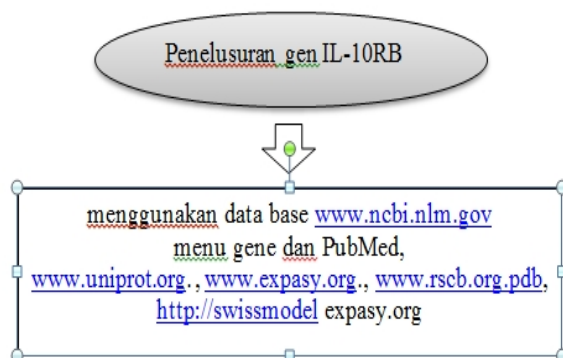
Di Indonesia tercatat sejumlah orang dengan hepatitis B terus mengalami peningkatan pada setiap tahunnya. Berdasarkan Riskesda 2017, sebanyak 7,1 persen penduduk Indonesia tertular oleh infeksi ini. Kemenkes, 2017 memperkirakan terdapat 150 ribu bayi yang 95 persen diantaranya berpotensi mengalami hepatitis kronis pada 30 tahun ke depan. Apabila kondisi ini tidak segera diatasi maka akan

memberikan dampak kerugian ekonomi negara dari segi pendidikan dan kesehatan, terutama produktivitas kerja.

Studi *in silico* dilakukan untuk melihat hasil analisis sikuen dan analisis struktur protein IL10RB. Apakah ada mutasi dan perubahan fungsi protein IL-10RB yang mengalami mutasi terhadap kejadian infeksi oleh virus hepatitis B

Bahan dan Metoda Penelitian

Penelitian ini merupakan penelusuran informasi terhadap gen IL-10RB sebagai bahan awal penelitian dalam studi *in silico* (Gambar 1.). Menurut RefSeq 2008, *Reference sequence genome* pada IL-10RB diperoleh kode NC_00021,9 (DNA) Data ini dapat digunakan untuk menelusuri informasi awal yang spesifik. Selanjutnya akan dilakukan penelusuran informasi untuk homologi protein, baik untuk ortolog dan paralog menggunakan perangkat BLASTP dan mencari informasi keterkaitan IL-10RB dengan infeksi hepatitis B melalui OMIM. Selanjutnya dilakukan analisis protein pada gen IL-10RB dengan *accession number* NM_000628.4 dengan gene ID: 3588 untuk melihat apakah perubahan struktur mempengaruhi perubahan fungsi.



Gambar 1. Penelusuran bioinformatika gen menggunakan program open source

Penelusuran informasi:

Gen IL-10RB memiliki nama lain CRFB4, D21S58 dan D21S66 merupakan rantai asesori penting yang berperan mengaktifasi kompleks reseptor IL-10. Untuk mampu menginduksi kerja IL-10, gen IL-10RB bekerja sama dengan IL-10RA membentuk kelompok gen reseptor kelas-2 dengsn IFAR2, IFNAR1 dan IFNGR2 yang pada manusia berlokasi di lokus kecil pada kromosom 21 yaitu 21q22.11, sedangkan pada animal yaitu *Mus musculus* ditemukan pada kromosom 16

Hasil BLASTP menunjukkan gen IL-10RB memiliki 5 transkrip, namun hanya satu yang berperan sebagai penyandi protein yaitu protein precursor IL-10RB dengan *assession number* NP_00019.3 dan disandi pada *Genom* RNA dengan *assession number* NM_000628.4. IL-10RB merupakan protein eukariot pada *Homo sapiens* yang tersusun atas 325 asam amino, melalui menu *Genom* berukuran 1996 bp dan melalui menu *Nucloetide* yang disandi pada nukleotida urutan ke 1.....30875

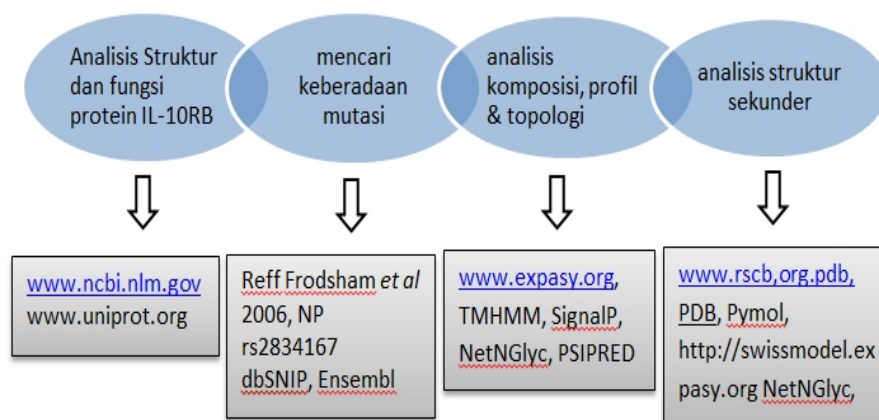
Lokasi utama dari protein IL-10RB berada pada membran plasma dan memiliki fungsi molekuler mengaktifasi reseptor dan fungsi biologi sebagai pertahanan terhadap infeksi virus. Ekspresinya dapat ditemukan dalam bentuk komponen membran di hati, ginjal, paru, jantung, pankreas, plasenta, otot, urin, sel epitel retina dan stem sel

Hasil BLASTP menunjukkan bahwa protein IL-10RB *human* memiliki ortologi (kemiripan) dengan protein IL-10RB pada *Mus musculus* dengan identitas sebesar 69%, dan memiliki paralogi dengan *Homo sapiens* pada CRFB4 dengan identitas sebesar 99%.

Melalui OMIM diketahui ada beberapa variasi nukleotida tunggal yang tidak mempengaruhi fungsi gen IL-10RB, namun ada

satu data missense yang memberikan resiko dampak klinis yaitu pada kejadian infeksi hepatitis oleh virus B, yang ditunjukkan pada asam amino urutan ke-47 dimana pola asam amino K(Lysine) menjadi E(Glutamate). Pada tahap berikutnya dilakukan analisis bioinformatika untuk membandingkan gen IL-10RB *human* yang normal dan mutan dengan menggunakan beberapa program *open source* dari *website* di bawah ini (Gambar 2.).

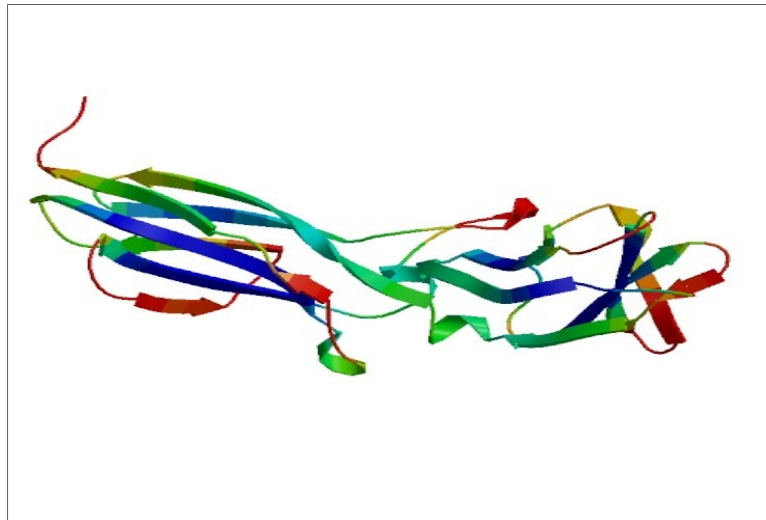
Untuk mengetahui SNP pada gen IL-10RP perlu dilakukan desain primer menggunakan software primer3. Primer akan digunakan dalam mengamplifikasi gen pada proses PCR. Hasil amplifikasi ini kemudian dianalisis dengan metode RFLP menggunakan enzim restriksi. Penelusuran dan analisis situs restriksi dilakukan menggunakan software BioEdit



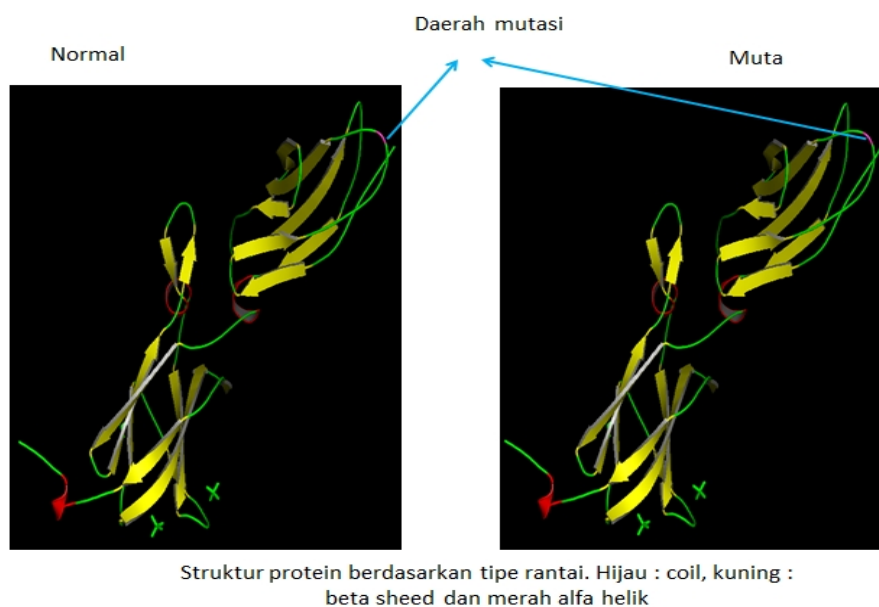
Gambar 2. Skema penelusuran bioinformatika protein menggunakan program *open source*

Hasil Penelitian

1. Hasil analisis yang dilakukan menggunakan gen IL-10RB melalui dua situs ini yaitu; www.ncbi.nlm.gov dan www.uniprot.org ditunjukkan dengan *assession number* NC_0000219.9 dan protein precursor IL-10RB dengan *assession number* NP_000619.3. dan SNP rs 2834167
2. Hasil BLASTN menggunakan situs www.ncbi.nlm.nih.gov. menunjukkan bahwa sekuen kueri homolog dengan *Homo sapiens* gen IL-10RB dengan nilai identifikasi 100%. Dan hasil BLASTP menunjukkan struktur kristal protein IL-10RB memiliki kode 3LQM_A (Gambar 3.).
3. Hasil penelusuran melalui situs <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP> menunjukkan mutasi pada daerah *missense* kromosom 21 dengan variasi alel berupa substitusi A menjadi G. Ini menghasilkan protein mutan yang mampu merubah susunan asam amino pada posisi 47 dari K menjadi E (Gambar 4.).
4. Hasil analisis *Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP menunjukkan terdapat enzim restriksi yang mampu mengenali nukleotida di daerah mutasi, namun tidak terdapat perbedaan situs restriksi antara genom yang mutasi dan normal.



Gambar 3: Struktur Kristal protein IL-10RB melalui 3LQM_A



Gambar 4. Struktur 3D protein IL10RB untuk tipe normal (A) dan tipe mutan (B) dengan titik mutasi yang sama

Diskusi

Karakterisasi mutasi dapat dilihat pada perubahan susunan asam amino K47E yang ditunjukkan dengan perubahan Lisin menjadi Glutamin tetapi tidak memberikan perbedaan sifat antara kedua asam amino tersebut. Walaupun asam amino K bersifat hidrofobik (*non-polar*) berubah menjadi asam amino E yang bersifat hidrofilik (*polar*), namun demikian mutasi

missense yang mengubah susunan asam amino penyusun protein tidak mampu memberikan dampak terhadap sifat protein. Keadaan ini juga tidak mempengaruhi fungsi protein. Diduga mutasi yang terjadi bukan pada sisi aktif protein tersebut.

Prediksi posisi protein IL-10RB pada *transmembrane* diperlihatkan pada skala asam amino di atas angka 0.5 menggunakan analisis

TMHMM. Daerah *transmembrane* terletak pada urutan asam amino 221-242. Hasil analisis tidak ditemukan adanya perbedaan pada posisi protein transmembran pada tipe normal dan mutan.

Hasil analisis TMHMM prediksi membran heliks tidak berbeda baik untuk protein IL-10RB yang mutan dan normal. Demikian halnya dengan hasil analisis protein IL-10RB menggunakan perangkat *SignalP* menunjukkan situs protein transmembran dengan motif *signal peptide* tidak berbeda antara IL-10Rb yang mutan dan normal.

Hasil penelusuran program PSIPRED menunjukkan struktur sekunder protein IL-10RB tersusun atas lipatan rantai polipeptida, yang menghasilkan berbagai bentuk seperti; bentuk *alpha* ()-heliks berupa pilinan rantai asam amino yang berbentuk spiral, bentuk beta ()-sheet berbentuk lembaran lebar yang tersusun atas sejumlah rantai asam amino yang saling terikat melalui ikatan hidrogen atau tio, dan bentuk struktur koil yang berbentuk tali. Perubahan susunan asam amino K47E terdapat pada struktur koil dari protein IL10RB.

Mutasi yang terjadi tidak menyebabkan *missense*, walaupun *missense* yang terjadi pada sr2834167 disebabkan karena polimorfisme (Frodsham *et al.*, 2006). Pengaruh mutasi tidak memberikan perubahan karakteristik protein IL-10RB pada parameter yang dianalisis dengan program ProtParam dari web www.expasy.org.

Simpulan

1. Hasil analisis sikuen protein menunjukkan bahwa mutasi 2834167 tidak merubah sifat umum maupun topologi protein IL-10RB terhadap kejadian infeksi hepatitis B
2. Hasil analisis struktur protein menunjukkan bahwa mutasi juga tidak merubah struktur

sekunder maupun struktur Kristal D protein IL-10RB

Saran

Diharapkan dapat dilakukan penelitian *in silico* untuk protein lain yang secara mekanisme terkait respons imun terhadap suatu kejadian penyakit infeksi.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih disampaikan kepada Universitas YARSI yang telah memberikan kesempatan publikasi tulisan ini. Tidak lupa terima kasih disampaikan kepada semua pihak yang terlibat dalam pekerjaan penelitian sampai selesai

Daftar Pustaka

- Abbas AK, LA, and Pilai S. 2012. Cellular and molecular immunology. Philadelphia, Elsevier/ Saunders., 2012
- Cheng S, Lutfalla G, Uze G, Chumakov IM, Gardiner K. GART, SON, IFNAR and CRF2-4 genes cluster on human chromosome 21 and mouse chromosome 16. *Mammalian Genome* 4: 338-342, 1993.
- Cho O, Cheong JY, Jun KJ, Kim SS, Chwae YJ, Kim K, Park S, Cho SW. 2013. Relevance of interleukin-10RB to chronic hepatitis B virus infection and biological activities of interferon-k and interleukin-22. *Hepato Int* 7:111–118
- Frodsham AJ, Zhang L, Dumpis U, Taib NA, Best S, Durham A, Hennig BJ, Hellier S, Knapp S, Wright M, Chiaramonte M, Bell JI, Graves M, Whittle HC, Thomas, Thursz HC, Hill AV. 2006. Class II cytokine receptor gene cluster is amajor locus for

- hepatitis B persistence, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 9148–9153
- Gong QM, Kong XF, Yang ZT, Xu J, Wang L, Li XL, Jin GD, Gao J, Zhang DH, Jian, g JH, Lu ZM, Zhang XX. 2009. Association study of IFNAR2 and IL10RB genes with the susceptibility and interferon response in HBV infection. *J Viral Hepat* 16(9):674-80
- Malefyt RW, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, Vries JE. 1991. Interleukin 10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes, *J. Exp. Med.* 174 1209–1220
- Ott JJ, Stevens GA, Grogger J, Wiersma ST. 2012. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. *J. Vaccine.* 9;30(12):2212-9
- Riskesdas 2017. Data dan Informasi Profil Kesehatan Indonesia. Kementerian Kesehatan RI.
- Romporn S, Hirankarn N, Tangkijvanich P and Kimkong. 2013. I Association of IFNAR2 and IL10RB genes in chronic hepatitis B virus infection. *Tissue Antigens*, **82**, 21–25
- Rousset F, Garcia E, Defrance T, Peronne C, Vezzio N, Hsu DH, Kastelein R, Moore KW, Banchereau J. 1992. Interleukin 10 is a potent growth and differentiation factor for activated human B lymphocytes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89 1890–1893.