



UNIVERSITAS INDONESIA

**ANALISIS DINAMIKA MOLEKULER HASIL PENAMBATAN
KOMPLEKS α -GLUKOSIDASE DENGAN SULOKRIN**

SKRIPSI

AULIA FARKHANI

0906601323

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI FARMASI

DEPOK

JULI 2012



UNIVERSITAS INDONESIA

**ANALISIS DINAMIKA MOLEKULER HASIL PENAMBATAN
KOMPLEKS α -GLUKOSIDASE DENGAN SULOKRIN**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana farmasi

AULIA FARKHANI

0906601323

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI FARMASI

DEPOK

JULI 2012

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan dibawah ini dengan sebenar-benarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggungjawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 13 Juli 2012




(Aulia Farkhani)

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Aulia Farkhani

NPM : 0906601323

Tanda Tangan : 

Tanggal : 13 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Aulia Farkhani


NPM : 0906601323

Program Studi : Farmasi


Judul Skripsi : Analisis Dinamika Molekuler Hasil Penambatan Kompleks
 α -Glukosidase dengan Sulokrin

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada program studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Dr. Arry Yanuar, M.Si. ()

Penguji I : Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S. ()

Penguji II : Prof. Dr. Atiek Soemiati, M.S. ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 13 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT, karena atas kehendak-Nya sehingga proses penelitian hingga penulisan skripsi ini dapat berjalan lancar. Segala sesuatu yang terjadi dan akan terjadi dalam hidup ini benar-benar luar biasa, dan menunjukkan kebesaran-Mu. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi pada Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia.

Saya menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah sulit bagi saya untuk menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

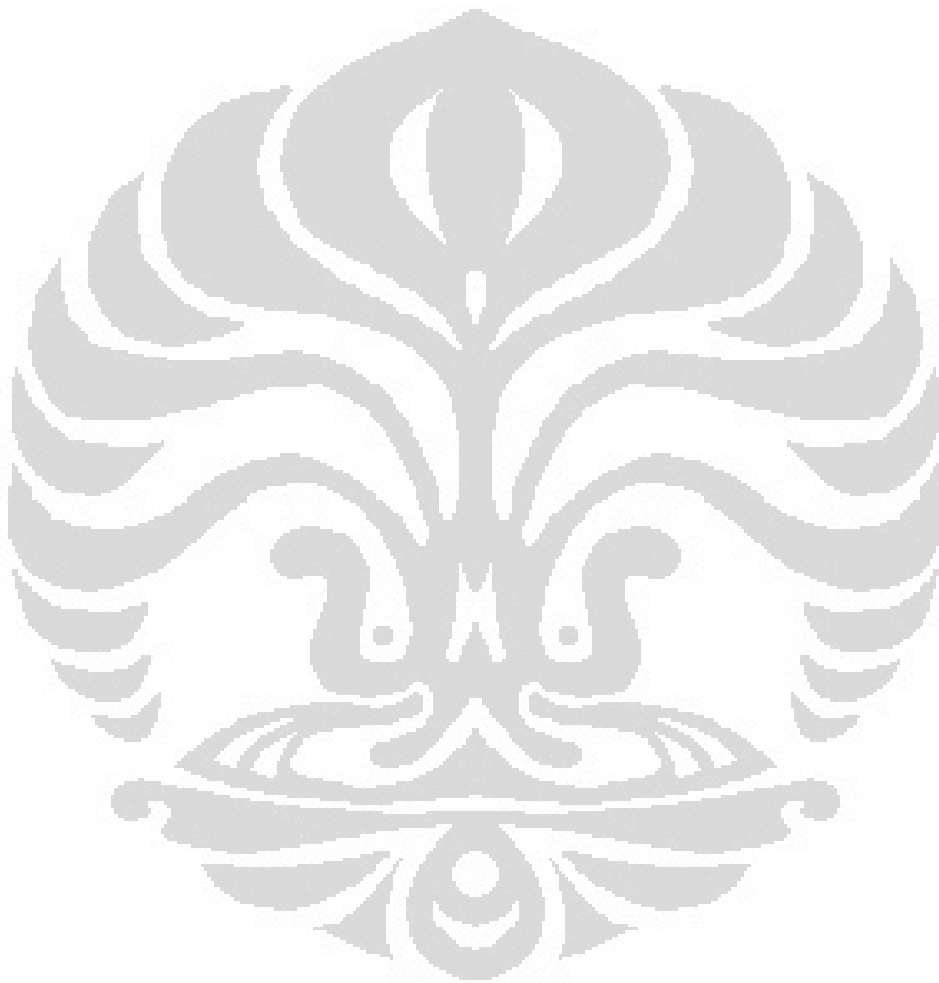
1. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S., selaku Ketua Dept. Farmasi FMIPA UI.
2. Dra. Azizahwati M.S., Apt., selaku Ketua Program Sarjana Ekstensi Farmasi FMIPA UI.
3. Dr. Arry Yanuar, M.Si., selaku dosen pembimbing yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk memberikan pengarahan dan bimbingan penulis dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini.
4. Nadia Farhanah Syafhan, M.Si., Apt., selaku pembimbing akademik yang telah membimbing penulis selama masa kuliah.
5. Seluruh staf pengajar Dept. Farmasi yang dengan tulus memberikan bekal ilmu kepada penulis dan seluruh keluarga besar Farmasi yang telah membantu penulis selama masa kuliah maupun penyusunan skripsi ini.
6. Ibu, ayah, de'Lisa, de'Wilda, atas cinta dan dukungan yang tiada habis-habisnya serta do'a yang teriring selama ini.
7. Sahabat dan teman terbaikku Nana, Ardie, Ajeng, Tami, Nube, Fienda, Vita, Munir, Eki, kalian semua atas semangat dan dukungan serta cinta, persahabatan, dan kebersamaan yang telah diberikan.
8. Rekan seperjuangan Ajid, penghuni tetap lab komputasi mba Eva, kak Rezi yang telah sangat banyak membantu dalam proses penelitian, teman angkatan 2009, kalian semua yang telah berbagi suka, duka dan kebersamaannya selama ini, serta semua pihak yang telah membantu penyusunan skripsi ini yang tidak

dapat disebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, karena itu penulis mengharapkan kritik dan saran dari pembaca yang bersifat membangun dan dapat memacu penulis untuk berkarya lebih baik dimasa yang akan datang.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis khususnya, dan dapat memberikan kontribusi ilmu pengetahuan bagi semua pihak.

Penulis
2012



**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Aulia Farkhani

NPM : 0906601323

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

**Analisis Dinamika Molekuler Hasil Penambatan Kompleks α -Glukosidase
dengan Sulokrin**

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/ pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Depok

Pada tanggal: 13 Juli 2012

Yang menyatakan



(Aulia Farkhani)

ABSTRAK

Nama : Aulia Farkhani
Program Studi : Farmasi
Judul : Analisis Dinamika Molekuler Hasil Penambatan Kompleks α -Glukosidase dengan Sulokrin

Sulokrin telah dilaporkan memiliki aktivitas sebagai inhibitor α -glukosidase. Model tiga dimensi (3D) enzim dikonstruksi berdasarkan struktur kristal α -glukosidase *S. solphataricus* (Ma1A) dan sub-unit N-terminal Maltase-Glucoamilase manusia (NtMGAM) (Saqib & Siddiqi, 2008) menggunakan Modeller9.10. Penambatan sulokrin dilakukan pada dua bentuk konformasi yakni berdasarkan energi terbaik dan kluster terbaik menggunakan Autodock4.2 dan hasilnya menunjukkan nilai ΔG secara berturut-turut yakni -6,90; -6,44 kkal/mol dan $K_i = 8,74; 19,13 \mu\text{M}$, sebagai kontrol inhibitor α -glukosidase digunakan akarbose, miglitol, voglibose, dan salasinol dengan skor nilai $\Delta G = -7,80; -7,60; -6,56$ dan $-4,25$ kkal/mol, serta $K_i = 2,12; 2,77; 15,75$ dan $482,55 \mu\text{M}$. Interaksi sulokrin pada situs aktif α -glukosidase manusia dipelajari melalui simulasi dinamika molekuler menggunakan AMBER dan menunjukkan adanya interaksi kuat dan stabil pada residu Asp587, dibandingkan dengan akarbose yang menunjukkan interaksi dengan residu Asp587, Asp398, Asp511, dan Phe 518, sedangkan voglibose menunjukkan interaksi dengan residu Asp398 dan Asp511.

Kata Kunci : α -Glukosidase, antidiabetes, pemodelan homologi, simulasi dinamika molekuler, sulokrin
xvi + 97 halaman : 36 gambar; 10 tabel; 20 lampiran
Daftar Pustaka : 55 (1991-2011)

ABSTRACT

Name : Aulia Farkhani
Program Study : Pharmacy
Title : Molecular Dynamic Analysis of Docking Product of Complex
 α -Glucosidase with Sulochrin

Sulochrin has reported active as α -glucosidase inhibitor. The three-dimensional (3D) model of enzyme is constructed based on the crystal structures of the *S. solphataricus* α -glucosidase (Ma1A) and Human N-terminal subunit of Maltase-Glucoamylase (NtMGAM) (Saqib & Siddiqi, 2008) by using Modeller9.10 program. Docking of sulochrin performed on two conformational form based on the best energy and best cluster by using Autodock4.2 and the result showed ΔG value = -6.90, -6.44 kcal/mol and K_i value= 8.74, 19.13 μM , respectively, as a control of α -glucosidase inhibitor is used acarbose, miglitol, voglibose, and salacinol with a score of ΔG value= -7.80, -7.60, -6.56, -4.25 kcal/mol and K_i value= 2.12, 2.77, 15.75, 482.55 μM , respectively. Interaction of sulochrin to active site of Human α -glucosidase has been studied by molecular dynamic simulation using AMBER and showed a strong and stable interactions with Asp587 residue, in comparison with acarbose showed interactions with Asp587, Asp398, Asp511, and Phe 518, while voglibose showed interactions with Asp398 and Asp511.

Key Words : α -Glucosidase, antidiabetes, homology modelling, molecular dynamics simulation, sulochrin

xvi + 97 pages : 36 pictures; 10 tables; 20 appendices

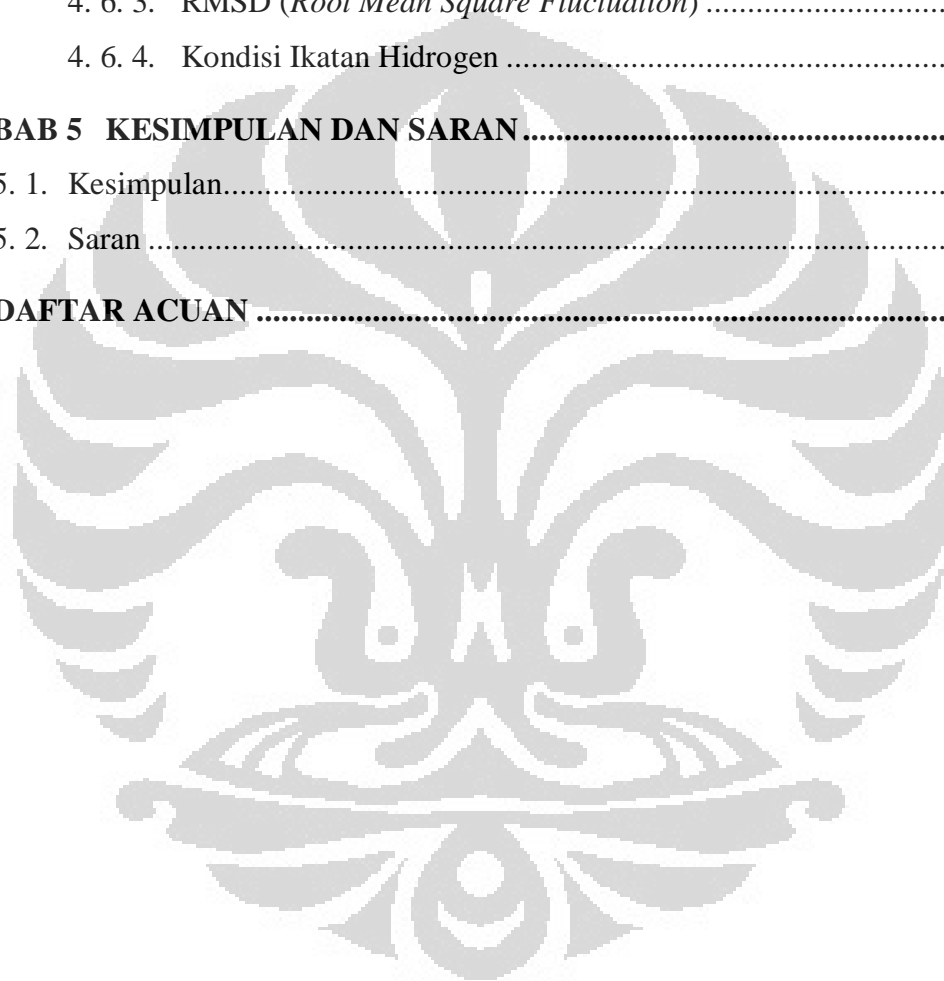
Bibliography : 55 (1991-2011)

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| LEMBAR PENGESAHAN | ii |
| SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS | iv |
| HALAMAN PENGESAHAN | v |
| KATA PENGANTAR | vi |
| LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH | viii |
| ABSTRAK | ix |
| ABSTRACT | x |
| DAFTAR ISI | xi |
| DAFTAR GAMBAR | xiv |
| DAFTAR TABEL | xvi |
| DAFTAR LAMPIRAN | xvii |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1. 1. Latar Belakang..... | 1 |
| 1. 2. Tujuan Penelitian..... | 2 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | 3 |
| 2. 1. Sulokrin..... | 3 |
| 2. 2. Diabetes Melitus | 4 |
| 2. 3. Antidiabetes Oral..... | 5 |
| 2. 4. Inhibitor α -Glukosidase | 6 |
| 2.4.1. Akarbose | 6 |
| 2.4.2. Miglitol | 7 |
| 2.4.3. Voglibose | 7 |
| 2.4.4. Salasinol..... | 8 |
| 2. 5. α -Glukosidase..... | 8 |
| 2. 6. Glukosidase (Glikosil Hidrolase) | 9 |
| 2. 7. Protein | 12 |
| 2. 8. Bioinformatika..... | 18 |
| 2. 9. Pemodelan Homologi..... | 19 |

| | |
|---|-----------|
| 2. 10. Penambatan Molekuler | 19 |
| 2. 11. Dinamika Molekuler | 20 |
| 2. 12. PSI-BLAST | 20 |
| 2. 13. Modeller 9.10 | 20 |
| 2. 14. ClustalW2..... | 21 |
| 2. 15. CCP4 | 21 |
| 2. 16. Plot Ramachandran..... | 21 |
| 2. 17. PyMOL..... | 23 |
| 2. 18. Marvin Sketch | 23 |
| 2. 19. Open Babel..... | 23 |
| 2. 20. Vega ZZ | 24 |
| 2. 21. AutoDock | 24 |
| 2. 22. Amber | 24 |
| 2. 23. VMD | 25 |
| 2. 24. PuTTY..... | 25 |
| BAB 3 METODE PENELITIAN..... | 26 |
| 3. 1. Tempat dan Waktu Penelitian | 26 |
| 3. 2. Alat..... | 26 |
| 3.2.1. Perangkat Keras | 26 |
| 3.2.2. Perangkat Lunak..... | 26 |
| 3. 3. Bahan | 26 |
| 3.3.1. Struktur Tiga Dimensi α -Glukosidase | 26 |
| 3.3.2. Struktur Tiga Dimensi Ligan | 27 |
| 3. 4. Cara Kerja | 27 |
| 3.4.1. Pembuatan Model α -Glukosidase | 27 |
| 3.4.2. Pembuatan Struktur Ligan | 28 |
| 3.4.3. Penambatan Molekul Ligan terhadap Model α -Glukosidase..... | 28 |
| 3.4.4. Analisis Hasil Penambatan Molekuler | 29 |
| 3.4.5. Simulasi Dinamika Molekuler | 30 |
| 3. 5. Skema Penelitian | 34 |
| BAB 4 PEMBAHASAN | 35 |
| 4. 1. Pembuatan Model α -Glukosidase..... | 35 |

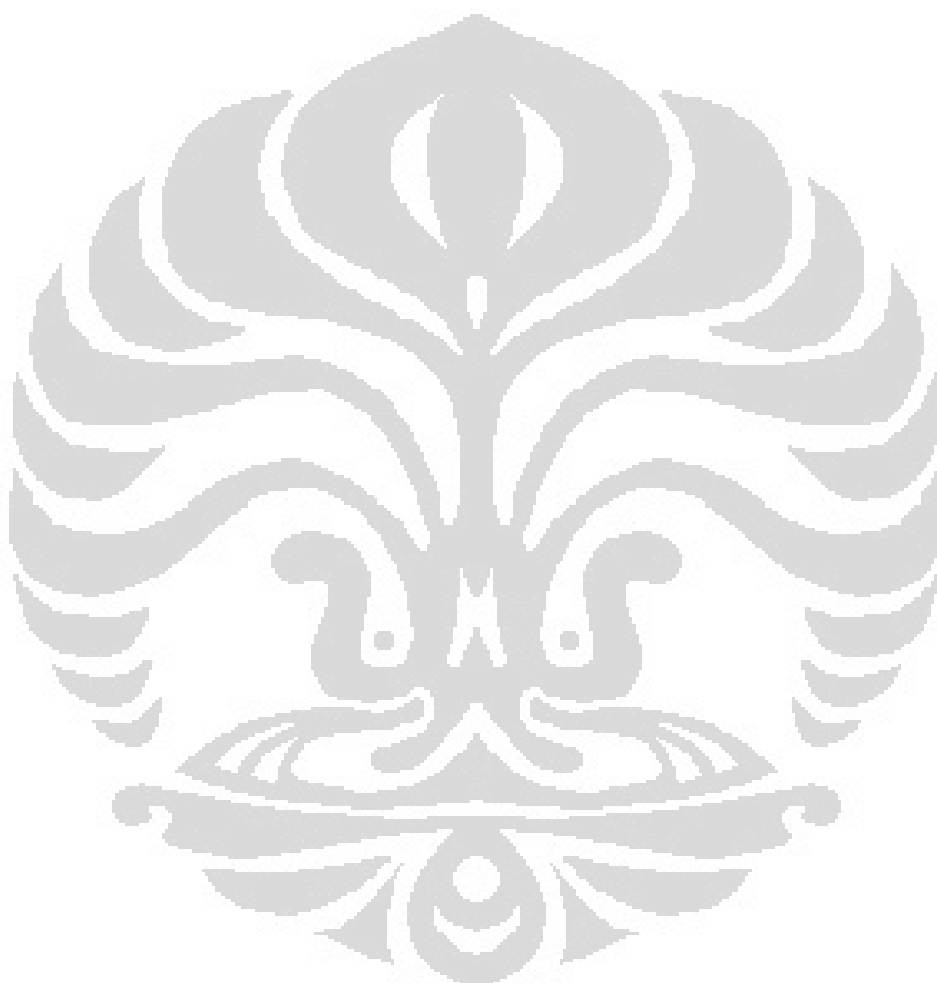
| | |
|--|-----------|
| 4. 2. Pembuatan Struktur Ligan..... | 38 |
| 4. 3. Penambatan Molekul Ligan terhadap Model α -Glukosidase | 39 |
| 4. 4. Analisis Hasil Penambatan Molekuler | 41 |
| 4. 5. Simulasi Dinamika Molekul Ligan terhadap Model α -Glukosidase | 45 |
| 4. 6. Analisis Hasil Simulasi Dinamika Molekuler | 50 |
| 4. 6. 1. Energi Potensial | 50 |
| 4. 6. 2. RMSD (<i>Root Mean Square Deviation</i>) | 51 |
| 4. 6. 3. RMSD (<i>Root Mean Square Fluctuation</i>) | 52 |
| 4. 6. 4. Kondisi Ikatan Hidrogen | 54 |
| BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN..... | 58 |
| 5. 1. Kesimpulan..... | 58 |
| 5. 2. Saran | 58 |
| DAFTAR ACUAN | 59 |



DAFTAR GAMBAR

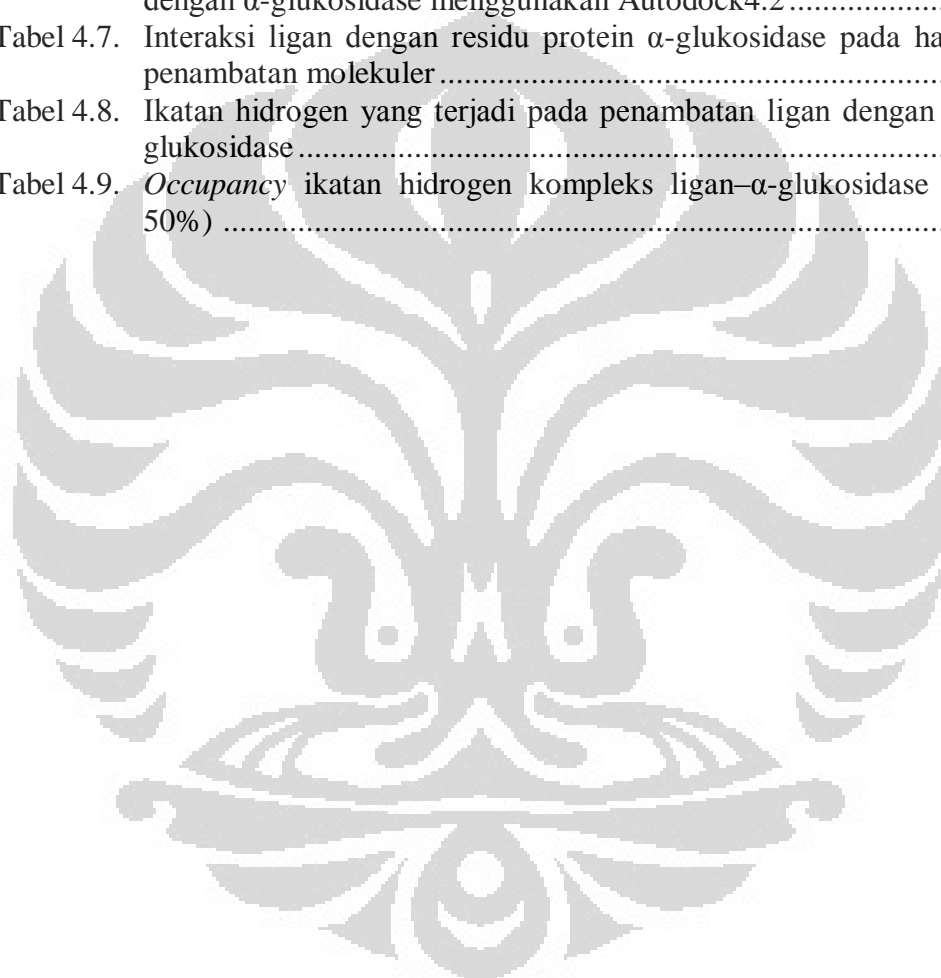
| | | |
|--------------|--|----|
| Gambar 2.1. | Struktur (a) 2 Dimensi, dan (b) 3 Dimensi Sulokrin..... | 3 |
| Gambar 2.2. | Jalur Biosintesis Sulokrin..... | 64 |
| Gambar 2.3. | Skema sintesis sulokrin..... | 65 |
| Gambar 2.4. | Struktur (a) 2 Dimensi dan (b) 3 Dimensi Akarbose..... | 7 |
| Gambar 2.5. | Struktur (a) 2 Dimensi dan (b) 3 Dimensi Miglitol..... | 7 |
| Gambar 2.6. | Struktur (a) 2 Dimensi dan (b) 3 Dimensi Voglibose..... | 8 |
| Gambar 2.7. | Struktur (a) 2 Dimensi dan (b) 3 Dimensi Salasinol..... | 8 |
| Gambar 2.8. | Dua mekanisme utama hidrolisis ikatan glikosidik secara enzimatik yakni (a) mekanisme penahanan, dan (b) inversi..... | 65 |
| Gambar 2.9. | Tiga tipe situs-aktif yang ditemukan pada glikosil hidrolase:(a) kantung, (b) kanal, dan (c) pipa..... | 11 |
| Gambar 2.10. | Struktur asam amino penyusun protein..... | 66 |
| Gambar 2.11. | Hubungan struktural antara asam amino, peptida dan protein ... | 12 |
| Gambar 2.12. | Struktur primer protein..... | 13 |
| Gambar 2.13. | Struktur sekunder protein..... | 13 |
| Gambar 2.14. | Struktur (a) tersier dan (b) kwartener protein..... | 14 |
| Gambar 2.15. | Tingkatan struktur protein..... | 14 |
| Gambar 2.16. | Definisi parameter geometris ikatan hidrogen..... | 15 |
| Gambar 2.17. | Ikatan hidrogen <i>bifurcated</i> | 16 |
| Gambar 2.18. | Sudut pada struktur asam amino..... | 22 |
| Gambar 2.19. | Daerah struktur sekunder pada plot Ramachandran..... | 22 |
| Gambar 4.1. | Model α -glukosidase manusia. (a) Visualisasi model dengan PyMOL, dan (b) Visualisasi model “Saqib & Siddiqi”..... | 38 |
| Gambar 4.2. | Visualisasi struktur 3D ligan dengan PyMOL..... | 39 |
| Gambar 4.3. | Perbandingan visualisasi hasil penambatan senyawa ligan sulokrin (ungu), akarbose (coklat), miglitol (hijau), voglibose (kuning), dan salasinol (merah muda) terhadap α -glukosidase .. | 43 |
| Gambar 4.4. | Konformasi ikatan hidrogen pada hasil penambatan sulokrin dengan α -glukosidase manusia (<i>best energy</i>)..... | 67 |
| Gambar 4.5. | Konformasi ikatan hidrogen pada hasil penambatan sulokrin dengan α -glukosidase manusia (<i>best cluster</i>)..... | 67 |
| Gambar 4.6. | Konformasi ikatan hidrogen pada hasil penambatan akarbose dengan α -glukosidase manusia..... | 68 |
| Gambar 4.7. | Konformasi ikatan hidrogen pada hasil penambatan voglibose dengan α -glukosidase manusia..... | 68 |
| Gambar 4.8. | Konformasi ikatan hidrogen pada hasil penambatan miglitol dengan α -glukosidase manusia..... | 69 |
| Gambar 4.9. | Konformasi ikatan hidrogen pada hasil penambatan salacinol dengan α -glukosidase manusia..... | 69 |
| Gambar 4.10. | Fluktuasi suhu pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase selama ekuilibrasi..... | 48 |
| Gambar 4.11. | Fluktuasi berat jenis pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase selama ekuilibrasi..... | 48 |
| Gambar 4.12. | Fluktuasi energi potensial pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase selama ekuilibrasi..... | 49 |

| | |
|--|----|
| Gambar 4.13. Fluktuasi RMSD pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase selama ekuilibrasi..... | 49 |
| Gambar 4.14. Fluktuasi energi potensial pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase selama produksi 2 ns..... | 50 |
| Gambar 4.15. Fluktuasi RMSD pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase selama produksi 2 ns..... | 52 |
| Gambar 4.16. Fluktuasi RMSF pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase selama produksi 2 ns..... | 53 |
| Gambar 4.17. Fluktuasi jumlah ikatan hidrogen pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase selama produksi 2 ns..... | 54 |



DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel 2.1. Klasifikasi ikatan hidrogen | 16 |
| Tabel 4.1. Analisis stereokimia model hasil homologi yang diminimisasi..... | 70 |
| Tabel 4.2. Analisis stereokimia model hasil homologi | 37 |
| Tabel 4.3. Statistik plot Ramachandran dari model α -glukosidase manusia.... | 38 |
| Tabel 4.4. Perbandingan hasil penambatan ligan dengan α -glukosidase | 41 |
| Tabel 4.5. Energi bebas (ΔG) pada hasil penambatan senyawa ligan dengan α -glukosidase menggunakan Autodock4.2 | 42 |
| Tabel 4.6. Konstanta inhibisi (K_i) pada hasil penambatan senyawa ligan dengan α -glukosidase menggunakan Autodock4.2..... | 43 |
| Tabel 4.7. Interaksi ligan dengan residu protein α -glukosidase pada hasil penambatan molekuler..... | 71 |
| Tabel 4.8. Ikatan hidrogen yang terjadi pada penambatan ligan dengan α -glukosidase | 72 |
| Tabel 4.9. <i>Occupancy</i> ikatan hidrogen kompleks ligan- α -glukosidase (> 50%) | 56 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | | |
|--------------|--|----|
| Lampiran 1. | Berkas .pir Hasil Penyejajaran Sekuens oleh <i>software</i> interaksi ClustalW2..... | 73 |
| Lampiran 2. | Keterangan Sekuens Residu Cetakan yang Hilang (Data PDB)..... | 74 |
| Lampiran 3. | Tampilan pengaturan alignment-multiple.ali..... | 75 |
| Lampiran 4. | Pengaturan model-multiple.py..... | 77 |
| Lampiran 5. | Perintah Modeller 9.10..... | 77 |
| Lampiran 6. | Plot Ramachandran model 1..... | 78 |
| Lampiran 7. | Berkas masukan minimisasi ligan (min.in)..... | 79 |
| Lampiran 8. | Perintah Amber pada optimasi ligan..... | 79 |
| Lampiran 9. | Berkas masukan minimisasi makromolekul (init_min.in)..... | 80 |
| Lampiran 10. | Perintah Amber pada optimasi makromolekul..... | 80 |
| Lampiran 11. | Berkas parameter grid (.gpf)..... | 81 |
| Lampiran 12. | Berkas parameter penambatan (.dpf)..... | 82 |
| Lampiran 13. | Perintah Autodok 4.2..... | 83 |
| Lampiran 14. | Berkas masukan pembuatan parameter topologi dan koordinat (mmpbsa_leap.in)..... | 83 |
| Lampiran 15. | Berkas masukan minimisasi makromolekul-ligan..... | 84 |
| Lampiran 16. | Berkas masukan ekuilibrasi makromolekul-ligan..... | 85 |
| Lampiran 17. | Berkas masukan produksi dinamika molekuler..... | 86 |
| Lampiran 18. | Berkas masukan analisis Ptraj..... | 87 |
| Lampiran 19. | Perintah Amber pada simulasi dinamika molekuler..... | 88 |
| Lampiran 20. | <i>Occupancy</i> ikatan hidrogen antara senyawa ligan dengan α -glukosidase dalam produksi selama 2 ns..... | 93 |

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Diabetes Melitus (DM) adalah penyakit kronis yang disebabkan oleh ketidakmampuan tubuh untuk memproduksi hormon insulin atau karena penggunaan yang tidak efektif dari produksi insulin (Corwin, 2009). Hal ini ditandai dengan tingginya kadar glukosa dalam darah. Penyakit ini membutuhkan perhatian dan perawatan medis dalam waktu lama baik untuk mencegah komplikasi maupun perawatan.

Data epidemiologi menunjukkan 171 juta orang di dunia mengidap penyakit diabetes pada tahun 2000 dan diperkirakan meningkat menjadi 366 juta pada tahun 2030. Indonesia merupakan negara ke-4 setelah India, China, dan Amerika dengan jumlah kasus diabetes tertinggi di dunia yakni sebesar 8,4 juta pada tahun 2000 dan diperkirakan terjadi peningkatan prevalensi DM pada tahun 2030 mencapai 21,3 juta orang (Wild, *et. al.*, 2004). Sedangkan laporan nasional Riset Kesehatan Dasar tahun 2007 yang diterbitkan Balai Penelitian dan Pengembangan Kesehatan (2008), menunjukkan bahwa proporsi penyebab kematian akibat DM pada semua umur menduduki peringkat ke-6 yaitu 5,7%, sedangkan pada kelompok usia 45-54 tahun di daerah perkotaan menduduki ranking ke-2 yaitu 14,7%, dan di daerah pedesaan, DM menduduki ranking ke-6 yaitu 5,8%.

Obat antidiabetik oral menjadi semakin penting dengan adanya peningkatan prevalensi diabetes tipe 2 yang tidak terkontrol oleh intervensi diet saja, di Indonesia maupun di seluruh dunia. Salah satunya agen terapeutik seperti inhibitor enzim α -glukosidase yang menargetkan tahap awal diabetes tipe 2, menurunkan hiperglikemia postprandial dan hiperinsulinemia, sekarang memiliki peran yang lebih menonjol pada penanganan diabetes (Laube, 2002).

Beberapa inhibitor α -glukosidase seperti akarbose, miglitol, dan voglibose telah tersedia di pasaran. Begitu pula dengan salasinol yang telah digunakan pada pengobatan tradisional ayurveda (Nakamura, *et. al.*, 2010) dan beberapa inhibitor α -glukosidase lainnya. Namun, inhibitor yang lebih kuat dalam menghambat enzim α -glukosidase tetap diperlukan.

Sulokrin (2-(2,6-Dihidroksi-4-metil-benzoil)-5-hidroksi-3-metoksi-ester metil asam benzoat) telah diketahui sejak lama memiliki aktivitas menghambat degranulasi, aktivasi dan kemotaksis eosinofil (Ohashi, et al., 1997; 1998; 1999), namun baru-baru ini telah dilaporkan bahwa sulokrin memiliki aktivitas inhibisi α -glukosidase dalam pengujian *in vitro* (IC_{50} 8,5 μ g/ml), dan memungkinkan digunakan sebagai suatu senyawa inhibitor α -glukosidase yang poten (Dewi, et al., 2009).

Mekanisme interaksi antara α -glukosidase dan inhibitornya, dapat diteliti melalui metode *in vivo*, *in vitro*, maupun *in silico*. Studi mengenai interaksi enzim α -glukosidase dengan ligananya (sulokrin, akarbose, miglitol, salasinol, dan voglibose) dapat lebih efisien apabila dilakukan dengan metode *in silico* dibandingkan dengan *in vitro* dan *in vivo*. Metode *in silico* yang dapat digunakan untuk menganalisis interaksi tersebut adalah penambatan molekuler (*docking*), namun analisis penambatan molekuler belum dapat digunakan untuk mengamati kestabilan ikatan yang terjadi terhadap ruang dan waktu sehingga diperlukan simulasi dinamika molekuler untuk menganalisis dinamika interaksi inhibisinya dan mengamati kestabilan ikatan yang terjadi dan interaksinya secara lebih lanjut.

Dan studi mengenai inhibisi aktivitas enzim dengan penambatan molekuler maupun simulasi dinamika molekuler ini diharapkan dapat memberikan gambaran interaksi antara sulokrin dengan α -glukosidase.

1.2. Tujuan Penelitian

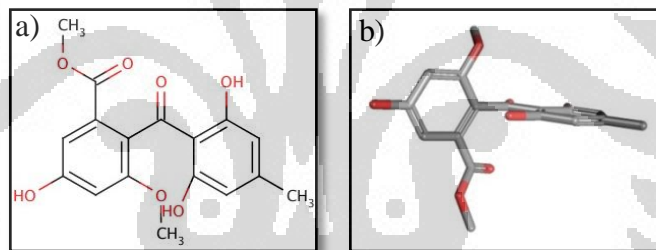
- (1) Mendapatkan model interaksi penambatan molekuler ligan sulokrin, dan kontrol positif (akarbose, miglitol, voglibose, dan salasinol) terhadap model lengkap α -glukosidase hasil pemodelan homologi.
- (2) Memperoleh gambaran dinamika molekul kompleks molekul α -glukosidase dengan ligan sulokrin dan kontrol positif (akarbose dan voglibose) hasil penambatan molekuler menggunakan simulasi dinamika molekuler.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sulokrin

Sulokrin merupakan metabolit dari jamur yang diisolasi baik dari *Penicillium sp.* maupun *Aspergillus sp.* Biosintesis sulokrin sebagai ko-metabolit pada fermentasi *Aspergillus terreus* terjadi melalui jalur poliketida sintase (PKS) dan dibentuk dari malonil Ko-A dan asetil Ko-A (**Gambar 2.2**). Kondensasi dekarboksilatif 1 asetil Ko-A dan 7 malonil Ko-A mengarah pada pembentukan endokrokin. Selanjutnya terjadi dekarboksilasi dan dehidrasi sehingga terbentuk emodin anthron, yang kemudian teroksidasi menjadi emodin. Metilasi emodin dengan menggunakan S-adenosilmetionin (SAM) membentuk kuestin dan pembentukan S-adenosilhomosistein (SAH). Oksidasi berikutnya dan metilasi kuestin membentuk sulokrin. Sulokrin dapat dimodifikasi lebih lanjut untuk membentuk asam geodin atau astartat (Couch & Gaucher, 2004).



[Sumber: PubChem]

Gambar 2.1. Struktur (a) 2 Dimensi, dan (b) 3 Dimensi Sulokrin

Selain melalui fermentasi, sulokrin juga dapat diperoleh melalui sintesis. Sulokrin disintesis seperti skema pada **Gambar 2.3**. Ester benzil asam benzoat (**5**) diperoleh melalui kondensasi 2-bromo benzil alkohol (**2**) dan asam benzoat (**4**). *Rearrangement* yang diinduksi anion pada (**5**) membentuk 1-benzoil benzil alkohol, yang merupakan benzoil asam benzoat teroksidasi. Esterifikasi benzil asam benzoat diikuti dengan debenzilasi yang kemudian membentuk sulokrin (Ohashi, et al., 1999).

Sulokrin dijelaskan dapat menghambat degranulasi, aktivasi dan kemotaksis eosinofil. Selain itu, Sulokrin juga diketahui dapat menghambat produksi eosinofil O₂ dan IL-8, dan pelepasan LTC₄ (Ohashi, et al., 1997, 1998, 1999). Pada studi

produksi lovastatin hasil fermentasi *Aspergillus terreus* dilaporkan adanya keberadaan sulokrin sebagai ko-metabolit selama fermentasi (Couch & Gaucher, 2004), sulokrin sebagai ko-metabolit yang tidak diinginkan, namun potensial sebagai antidiabetes karena dapat menghambat α -glukosidase (Dewi, et al., 2011).

2.2. Diabetes Melitus

Diabetes berasal dari bahasa Yunani yang berarti “mengalirkan atau mengalihkan” (*siphon*). Melitus berasal dari bahasa Latin yang bermakna manis atau madu. Penyakit diabetes melitus dapat diartikan individu yang dapat mengalirkan volume urin yang banyak dengan kadar glukosa tinggi. Diabetes melitus adalah penyakit hiperglikemia yang ditandai dengan ketiadaan absolut insulin atau penurunan relatif insensitivitas sel terhadap insulin (Corwin, 2009).

Dokumen konsensus tahun 1997 oleh *American Diabetes Association's Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus* menjabarkan empat kategori utama diabetes :

- a. Diabetes melitus tipe 1, yakni penyakit hiperglikemia akibat ketiadaan absolut insulin. Diabetes jenis ini timbul bila pankreas kehilangan kemampuannya untuk menghasilkan insulin. Sebelumnya, tipe diabetes ini disebut sebagai diabetes melitus dependen insulin (IDDM), karena individu pengidap penyakit ini harus mendapat insulin pengganti (Corwin, 2009).
- b. Diabetes melitus tipe II, merupakan hiperglikemia yang tidak tergantung dari keberadaan insulin maka disebut *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM). Pada tipe ini, pankreas masih berfungsi tetapi menunjukkan defisiensi relatif, sehingga tubuh kehilangan kemampuan untuk memanfaatkan insulin secara efektif (Corwin, 2009).
- c. Diabetes Melitus tipe III, merupakan hiperglikemia yang berkaitan dengan penyakit-penyakit lain seperti penyakit pankreas dan kelainan genetik pada kerja insulin (Corwin, 2009).
- d. Diabetes Melitus tipe IV diabetes gestasional, adalah diabetes yang terjadi pada wanita hamil yang sebelumnya tidak mengidap diabetes (Corwin, 2009).

Untuk memperkecil risiko makin parahnya penyakit dan menurunkan risiko komplikasi diabetes melitus, diperlukan penanganan secara disiplin yang

mencakup terapi non-obat dan terapi obat. Pengobatan diabetes melitus dapat dilakukan dengan pemberian Insulin, antidiabetes oral, dan obat herbal.

2.3. Antidiabetes oral

Mekanisme kerja obat hipoglikemik oral antara lain melalui perangsangan sekresi insulin, sensitiser insulin dan penghambatan aktivitas α -glukosidase.

1) Peningkat Sekresi Insulin (*Insulin Secretagogues*)

a. Sulfonilurea

Sulfonilurea telah digunakan secara luas pada pengobatan diabetes tipe 2 dalam 50 tahun terakhir. Derivat sulfonil urea generasi I termasuk tolbutamid, asetoheksamid, tolazamid, dan klorpropamid, serta generasi kedua termasuk glibenklamid, gliklazid, glipizid dan glimeprid. Sulfonilurea memiliki efek langsung pada produksi insulin. Sulfonilurea bekerja dengan merangsang sekresi insulin dari granul sel β -langerhans pankreas. Obat berikatan dengan reseptor sulfonilurea (SUR-1), kanal K *ATP-sensitive* pada membran sel-sel β yang menimbulkan depolarisasi membran, keadaan ini akan membuka kanal Ca. Dengan terbukanya kanal Ca maka ion Ca akan masuk ke sel β , merangsang granul yang berisi insulin dan akan terjadi sekresi insulin (Krentz & Bailey, 2005).

b. Pelepas Insulin Prandial (*Rapid-Acting Prandial Insulin Releaser*)

Yang termasuk dalam golongan ini yakni benzoamido, dan golongan meglitinid (repaglinid dan nateglinid). Mekanisme kerjanya sama dengan sulfonilurea tetapi struktur kimianya sangat berbeda. Golongan ini merangsang insulin dengan menutup kanal K *ATP-sensitive* di sel β pankreas dengan onset yang sangat cepat 20-60 menit dan durasi panjang 5-8 jam (Krentz & Bailey, 2005).

2) Sensitiser Insulin

a. Biguanid

Golongan biguanid telah dikenal sejak tahun 1950 termasuk didalamnya fenformin, buformin dan metformin, namun yang masih digunakan saat ini adalah metformin. Biguanid merupakan obat antihiperqlikemik, tidak menyebabkan rangsangan sekresi insulin dan umumnya tidak menyebabkan hipoglikemia. Metformin menurunkan produksi glukosa di

hepar dan meningkatkan sensitivitas jaringan otot dan adiposa terhadap insulin (Krentz & Bailey, 2005).

b. Tiazolidindion

Tiazolidindion merupakan antagonis poten dan selektif PPAR γ (*peroxisome proliferator activated receptor γ*), mengaktifkan PPAR γ membentuk kompleks PPAR γ -RXR (*retinoid X receptor*) dan terbentuklah GLUT-4. Di jaringan adiposa PPAR γ mengurangi keluarnya asam lemak menuju ke otot, dan karenanya dapat mengurangi resistensi insulin (Krentz & Bailey, 2005).

3) Inhibitor α -Glukosidase

Inhibitor α -Glukosidase akan dijelaskan pada poin **2.4**.

2.4. Inhibitor α -glukosidase

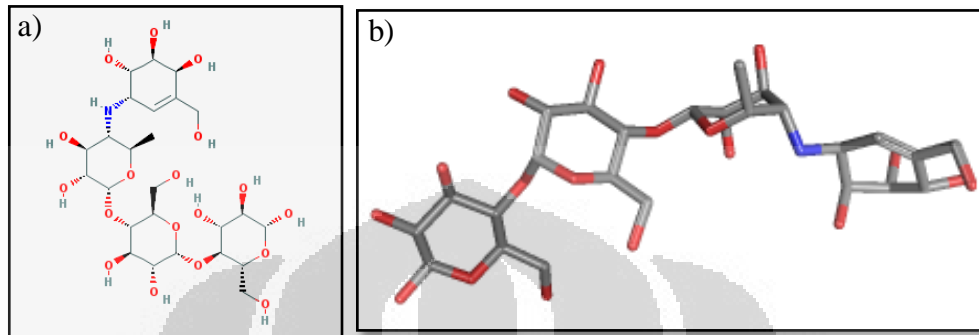
Inhibitor α -glukosidase digunakan sebagai obat antidiabetes oral untuk penyakit diabetes melitus tipe 2. Inhibitor α -glukosidase merupakan inhibitor reversibel dari α -glukosidase yang berada pada *brush border* usus kecil (Krentz & Bailey, 2005). Inhibitor α -glukosidase menunda penyerapan karbohidrat kompleks dan dengan demikian menghambat puncak glukosa postprandial sehingga menyebabkan penurunan kadar insulin postprandial (Van de Laar, et al., 2005). Aktivitas inhibitor α -D-glukosidase terutama dengan menurunkan hidrolisis disakarida dan dengan demikian mengurangi jumlah monosakarida bebas yang tersedia untuk penyerapan. Beberapa inhibitor α -glukosidase yang telah dikenal yakni akarbose, miglitol, voglibose, dan salasinol.

2.4.1. Akarbose

Akarbose merupakan inhibitor glukosidase pertama dan diperkenalkan ke pasar pada awal 1990-an (Bösenberg, 2008), secara klinis digunakan pada penderita diabetes tipe 2 (Krentz & Bailey, 2005). Akarbose adalah pseudotetrasakarida, produk mikroba alami yang berasal dari kultur kaldu galur *Actinoplanes* SE 50 (Laube, 2002).

Akarbose berikatan secara reversibel, kompetitif dan tergantung dosis dengan situs pengikatan oligosakarida dari enzim α -glukosidase dalam *brush border* mukosa usus kecil (Laube, 2002) sehingga reaksi penguraian polisakarida

menjadi monosakarida terhambat. Dengan demikian glukosa dilepaskan lebih lambat dan absorpsinya ke dalam darah juga kurang cepat, lebih rendah dan merata, sehingga memuncaknya kadar gula darah bisa dihindari (Tjay dan Rahardja, 2007).

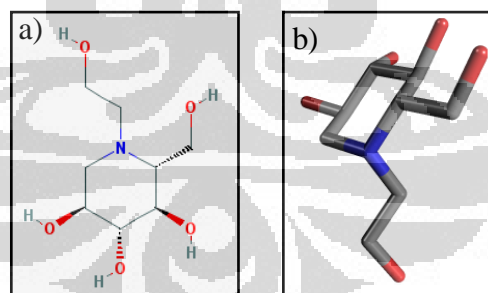


[Sumber: Pubchem]

Gambar 2.4. Struktur (a) 2 Dimensi dan (b) 3 Dimensi Akarbose

2.4.2. Miglitol

Miglitol merupakan turunan 1-desoksinojirimisin, adalah inhibitor α -glukosidase pseudomonosakarida pertama dengan struktur mirip dengan glukosa. Miglitol (1,5-dideoksi-1,5-[2-hidroksi etil] iminol)-D-glusitol yang digunakan sebagai agen anti hiperglikemik dalam pengobatan NIDDM dan telah disetujui penggunaannya oleh FDA pada tahun 1996.

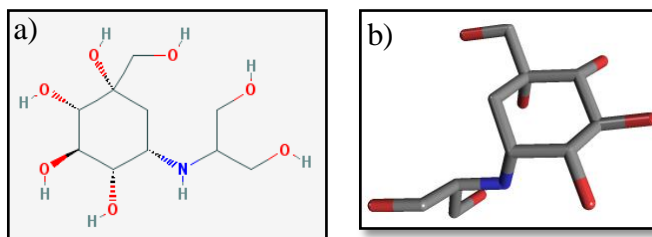


[Sumber: Pubchem]

Gambar 2.5. Struktur (a) 2 Dimensi dan (b) 3 Dimensi Miglitol

2.4.3. Voglibose

Voglibose merupakan derivat N-tersubstitusi dari valiolamin. Senyawa menunjukkan aktivitas antidiabetes dan antiobesitas yang kuat, merupakan inhibitor glukosidase poten dan obat yang digunakan untuk NIDDM di Jepang, Cina, dan Korea (Chen, Zheng & Shen, 2006).



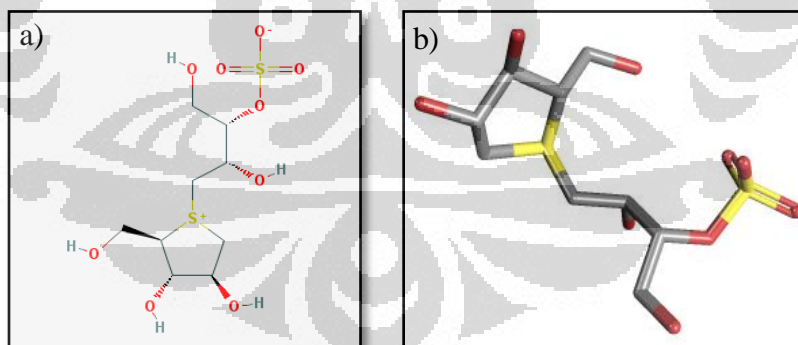
[Sumber: Pubchem]

Gambar 2.6. Struktur (a) 2 Dimensi dan (b) 3 Dimensi Voglibose

2.4.4. Salasinol

Salasinol merupakan inhibitor glikosidase poten yang diisolasi dari ekstrak air akar dan batang tanaman genus *Hippocrateaceae* (seperti *Salacia reticulata*, *Salacia oblonga*, dan *Salacia prinoidea*), yang secara tradisional digunakan di Sri Lanka dan India (disebut Ayurveda) untuk pengobatan diabetes (Muraoka, et al., 2001; Nakamura, et al., 2010).

Senyawa ini memiliki struktur yang unik, yang terdiri dari *thiosugar* sulfonium siklik dan rantai samping sulfat. Salasinol membentuk jembatan garam intramolekular antara pusat sulfonium dan anion sulfat dalam keadaan terisolasi. Sedangkan, obat-obatan antidiabetes yang berada dipasaran saat ini (seperti voglibose dan akarbose) adalah gula amino diperkirakan akan membentuk gugus ion amonium tersier pada keadaan terikat (Nakamura, et al., 2010).



[Sumber: Pubchem]

Gambar 2.7. Struktur (a) 2 Dimensi dan (b) 3 Dimensi Salasinol

2.5. α -Glukosidase

α -Glukosidase (EC 3.2.1.20) termasuk dalam keluarga glikosil hidrolase 31 (GH 31), memiliki fungsi utama hidrolisis terminal, residu rantai cabang 1,4- α -D-glukosa dengan melepaskan α -D-glukosa (Saqib & Siddiqi, 2008). α -Glukosidase yang memiliki topologi situs-aktif bentuk kantung (Sim, et al., 2008)

Universitas Indonesia

menunjukkan penghambatan aktivitas katalitik mengakibatkan penghambatan penyerapan glukosa dan penurunan kadar glukosa darah postprandial. α -Glukosidase terletak di permukaan membran *brush border* sel usus, dan bertanggung jawab terhadap konversi karbohidrat menjadi glukosa.

Karbohidrat akan dicerna oleh enzim di dalam mulut dan usus menjadi gula yang lebih sederhana yang kemudian akan diserap ke dalam tubuh dan meningkatkan kadar gula darah. Proses pencernaan karbohidrat tersebut menyebabkan pankreas melepaskan enzim α -glukosidase ke dalam usus yang akan mencerna karbohidrat menjadi oligosakarida yang kemudian akan diubah lagi menjadi glukosa oleh enzim α -glukosidase yang dikeluarkan oleh sel-sel usus halus yang kemudian akan diserap ke dalam tubuh. Dengan dihambatnya kerja enzim α -glukosidase, kadar glukosa dalam darah dapat dikembalikan dalam batas normal (Bösenberg, 2008).

Pada penggolongan yang tidak berdasarkan *EC number* dari *Carbohydrate Active Enzyme Database (CAZY)*, setidaknya terdapat enam α -Glukosidase manusia yang mampu menghidrolisis rantai cabang α -glukosa sederhana dan karbohidrat kompleks serta dapat dijelaskan secara biokimia dan genetik. Enzim-enzim ini memiliki perbedaan dalam hal spesifisitas substrat, pH optimal, berat molekul, tempat aktif, dan lokalisasi kromosom. Enzim-enzim tersebut adalah α -Glukosidase asam lisosom (GAA), dual katalitik sukrase-isomaltase intestinal (SI) dan maltase-glukoamilase intestinal (MGA), unit katalitik enzim retikulum endoplasma glukosidase II (GANAB) dan glukosidase I (CGSI), dan α -Glukosidase C (GANC). GANC dan GANAB merupakan enzim yang optimal pada pH netral, sedangkan GAA, SUI, MGA, dan CGSI optimal pada pH asam (Hirschhorn, Hiue & Casper, 2002; Sikora et al., 2010).

2.6. Glukosidase (Glikosil hidrolase)

Glukosidase (glikosil hidrolase atau glukanohidrolase, EC 3.2.1.-) mengkatalisis langkah terakhir dalam proses pencernaan karbohidrat dengan menghidrolisis ikatan glikosidik pada oligosakarida. Glukosidasae ditemukan pada tiga kingdom utama yakni archaebacteria, eubacteria dan eukariota (Henrissat, 1991). Glukosidase bertanggungjawab atas pemecahan katalitik dari ikatan glikosidik dengan spesifisitas tergantung pada jumlah monosakarida, posisi

tempat pembelahan, dan konfigurasi dari kelompok hidroksil dalam substrat (Park, et al., 2008).

Mekanisme utama hidrolisis ikatan glikosidik secara enzimatik diusulkan oleh Koshland, yakni melalui mekanisme penahanan dan inversi pada konfigurasi anomerik. Hidrolisis enzimatik ikatan glikosidik terjadi melalui katalisis asam, membutuhkan dua residu penting: donor proton dan basa/ nukleofil. Penjelasan mekanisme tersebut adalah sebagai berikut (Henrissat & Davies, 1995):

a. Mekanisme penahanan (*retaining*)

Pada mekanisme ini (**Gambar 2.8a**) oksigen glikosidik diprotonasi dengan katalis asam (AH) dan bantuan nukleofilik untuk pelepasan aglikon disediakan oleh basa B⁻. Enzim yang dihasilkan glikosil dihidrolisis oleh molekul air dan substitusi nukleofilik kedua pada karbon anomerik karbon menghasilkan produk dengan stereokimia yang sama dengan substrat .

b. Mekanisme inversi (*inverting*)

Pada mekanisme ini (**Gambar 2.8b**) protonasi oksigen glikosidik dan pelepasan aglikon disertai dengan serangan bersamaan dari sebuah molekul air yang diaktivasi oleh residu basa (B⁻). Substitusi nukleofilik tunggal menghasilkan produk dengan stereokimia berlawanan dengan substrat.

Glukosidase telah diklasifikasikan hingga 130 famili menurut *Carbohydrate Active Enzyme Database* (CAZY), berdasarkan kemiripan sekuens asam amino dengan kemungkinan bahwa hal ini dapat memudahkan derivatisasi informasi penting untuk struktur dan fungsi enzim (Henrissat, 1991). Yang mendasari klasifikasi ini adalah pendapat bahwa protein dalam masing-masing famili akan memiliki lipatan yang cukup serupa pada pemodelan homologi.

Saat ini, pelipatan dari sebagian besar asam amino telah diketahui dalam bentuk struktur 3 dimensi, namun topologi situs-aktif enzim dibagi menjadi tiga kelas, terlepas dari mekanisme enzim penahan maupun inversi, yakni:

a. Kantung

Topologi ini (**Gambar 2.9a**) optimal untuk pengenalan dari sakarida non-reduksi dan ditemui dalam monosakarida seperti β -galaktosidase, β -glukosidase, sialidase dan neuraminidase, dan dalam ekso-polisakarida seperti

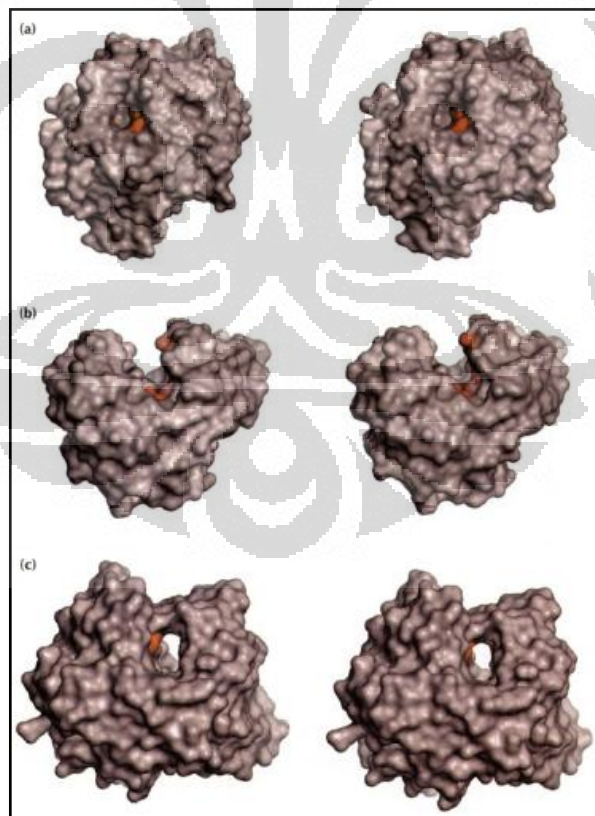
glukoamilase dan β -amilase (Henrissat & Davies, 1995) serta α -glukosidase (Sim, et al., 2008).

b. Kanal

Topologi ini merupakan struktur 'terbuka' (**Gambar 2.9b**) yang memungkinkan pengikatan secara acak beberapa unit gula substrat polimer dan umumnya ditemukan di endo-polisakaridase seperti lisozim, endosellulase, kitinase, α -amilase, ksilanase, β -1,3-1,4-glukanase dan β -1,3-glukanase (Henrissat & Davies, 1995).

c. Pipa

Topologi ini (**Gambar 2.9c**) terbentuk ketika protein berkembang membentuk gelungan panjang yang menutupi sebagian dari celah. Sejauh ini hanya di temukan di sellobiohidrolase, terowongan yang terbentuk memungkinkan rantai polisakarida berulir melaluinya. Topologi ini memungkinkan enzim melepaskan produk namun tetap terikat kuat pada rantai polisakarida (Henrissat & Davies, 1995).



[Sumber: Henrissat & Davies, 1995)

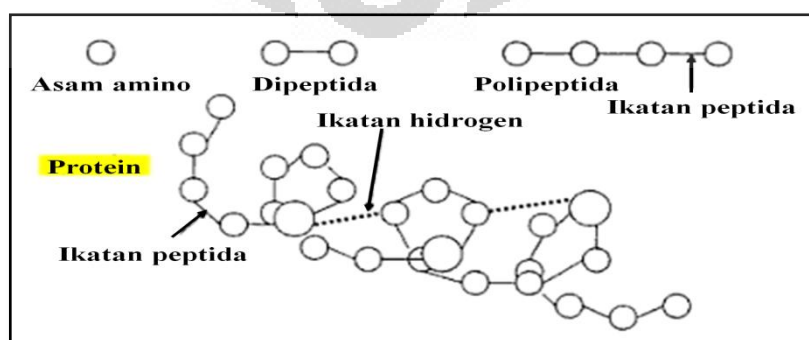
Gambar 2.9. Tiga tipe situs-aktif yang ditemukan pada glikosil hidrolase: (a) kantung, (b) kanal, dan (c) pipa

Pada manusia, ada empat enzim yang terlibat dalam pencernaan lengkap pati dan gula menjadi glukosa (Sim, et al., 2008; 2010), enzim merupakan protein yang mengkatalisis reaksi biokimia, meningkatkan laju reaksi tanpa mengubah posisi kesetimbangan. α -Amilase saliva dan pankreas (EC 3.2.1.1) adalah endohidrolase yang memecah ikatan $\alpha(1-4)$ internal pati menjadi dekstrin lebih pendek rantai linier dan bercabang. Campuran resultan dekstrin kemudian dihidrolisis lebih lanjut di ujung non-reduksi menjadi glukosa oleh eksohidrolase *brush-border* usus kecil: maltase-glukoamilase (MGAM; EC 3.2.1.20 dan 3.2.1.3) dan sukrase-isomaltase (SI; EC 3.2.1.48 dan 3.2.10) (Sim, et al., 2008; 2010).

2.7. Protein

Protein merupakan suatu polipeptida atau makromolekul yang tersusun atas asam-asam amino dan terbentuk secara alami dengan berat molekul lebih dari 5000 (Kuchel & Ralston, 2006; Joyce, et al., 2008). Protein mengandung lebih dari 50 asam amino yang saling berikatan melalui ikatan peptida, akan tetapi sebagian besar protein mengandung beribu-ribu asam amino karena merupakan makromolekul. Terdapat 20 jenis asam amino penyusun protein, yang bersifat netral, bermuatan positif, negatif, hidrofilik maupun hidrofobik (**Gambar 2.10**).

Setiap protein memiliki jumlah dan urutan asam amino yang spesifik. Struktur dan sifat asam amino bergantung pada sekuens asam amino dalam polipeptida, perubahan asam amino dalam rantai akan menghasilkan protein baru dengan struktur dan fungsi berbeda (Kuchel & Ralston, 2006; Joyce, et al, 2008). Meskipun protein hanya tersusun atas asam amino yang ada 20 jenis saja, namun untuk dapat berfungsi, asam amino akan melipat-lipat dan membentuk suatu struktur tertentu yang sangat presisi.



[Sumber: Joyce, et al., 2008]

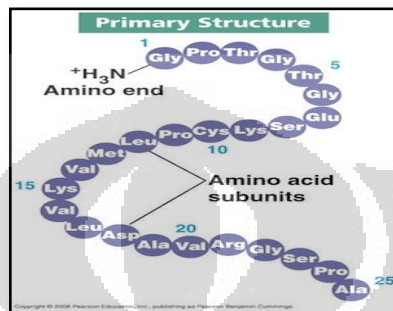
Gambar 2.11. Hubungan struktural antara asam amino, peptida dan protein

Universitas Indonesia

Struktur protein terbagi menjadi beberapa tingkatan:

1. Struktur primer

Struktur primer suatu protein adalah urutan linear asam amino dalam rantai polipeptida dan tidak terjadi percabangan rantai (Marks, et al., 2000). Atau Secara sederhana, struktur primer protein adalah urutan asam amino penyusun protein yang disebutkan dari kiri (N-terminal) ke kanan (C-terminal).

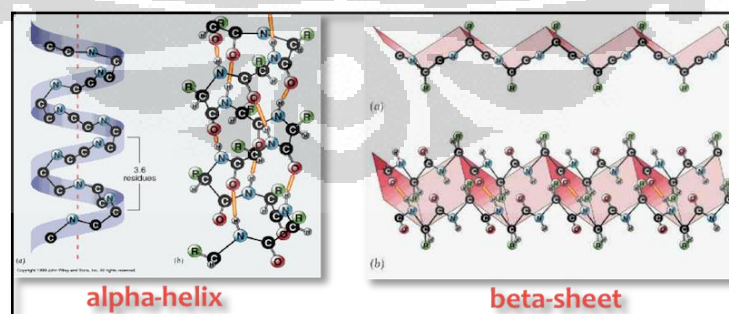


[Sumber: Joyce, et al., 2008]

Gambar 2.12. Struktur primer protein

2. Struktur sekunder

Struktur sekunder (yang mencakup heliks- α dan lembar- β) terdiri dari daerah lokal rantai polipeptida yang memiliki konformasi regular yang distabilkan oleh ikatan hidrogen. Atau dengan kata lain, daerah di dalam rantai peptida dapat membentuk struktur regular, berulang dan lokal yang terjadi akibat adanya ikatan hidrogen antara atom-atom ikatan peptida. Daerah tersebut yang dikenal sebagai struktur sekunder, mencakup heliks- α dan lembar- β . (Marks, et al., 2000)



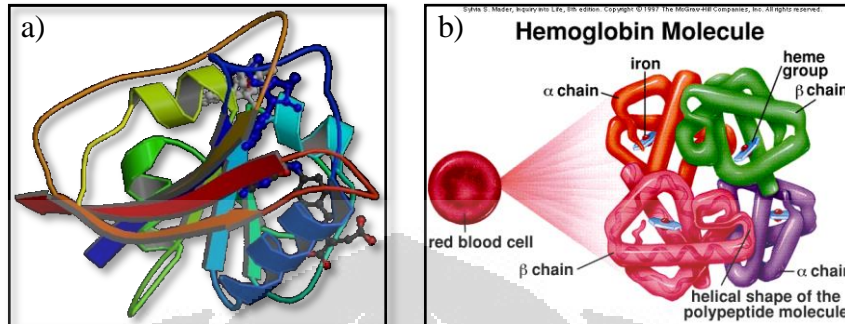
[Sumber: Joyce, et al., 2008]

Gambar 2.13. Struktur sekunder protein

3. Struktur tersier

Struktur tersier suatu protein adalah konformasi tiga dimensi total dari keseluruhan suatu rantai polipeptida yang mencakup heliks- α dan lembar- β ,

dan daerah berbentuk globular atau sferis (Marks, et al., 2000). Pada struktur tersier rantai polipeptida akan melipat membentuk struktur 3 dimensi. Pelipatan ini dipengaruhi oleh interaksi antar gugus samping (R) satu sama lain.

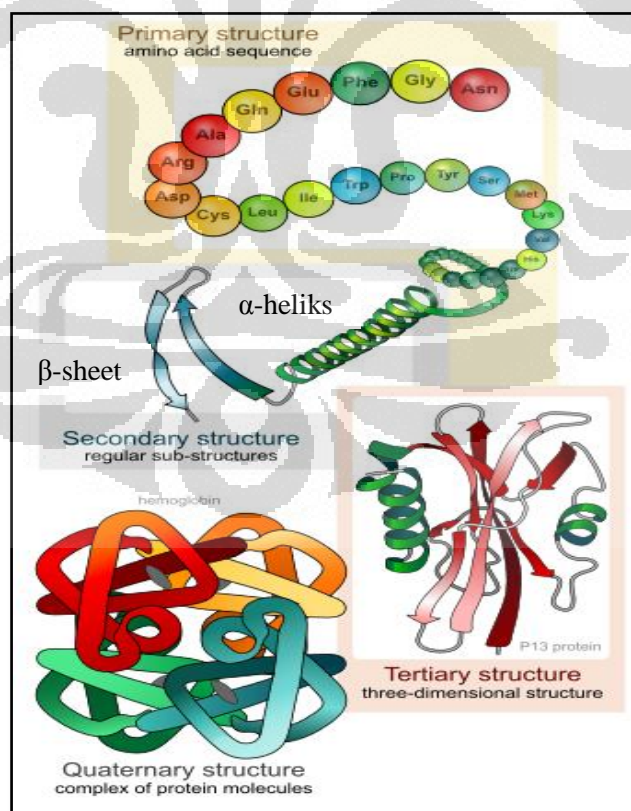


[Sumber: Joyce, et al., 2008]

Gambar 2.14. Struktur (a) tersier dan (b) kuartener protein

4. Struktur kuartener

Struktur kuartener protein merupakan konformasi tiga dimensi suatu protein multisubunit yang terdiri dari sejumlah rantai polipeptida (atau subunit) yang disatukan oleh interaksi nonkovalen (Marks, et al., 2000).



[Sumber: Nelson & Cox, 2001]

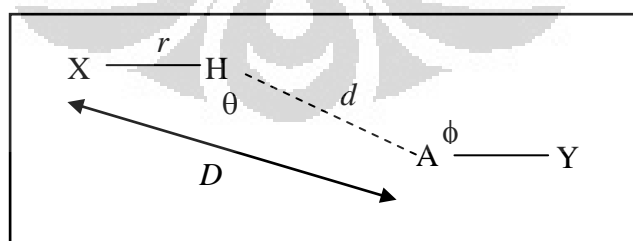
Gambar 2.15. Tingkatan struktur protein

Struktur protein sangat dipengaruhi oleh ikatan hidrogen dalam proses pelipatannya. Selain itu ikatan hidrogen juga berpengaruh pada interaksi yang terjadi antara protein dengan ligan, disamping interaksi van der Waals dan interaksi hidrofobik.

1. Interaksi Hidrogen

Interaksi hidrogen adalah ikatan yang terjadi antara hidrogen dengan atom O, N, F (Bruice, 2003). Normalnya, atom hidrogen membentuk ikatan kovalen dengan atom lain, namun atom hidrogen yang terikat secara kovalen dengan atom donor tersebut juga dapat berinteraksi membentuk ikatan hidrogen dengan atom akseptor. Dalam pembentukan ikatan hidrogen, atom donor harus elektronegatif sehingga ikatan kovalen antara atom donor dengan H bersifat polar. Atom akseptor juga harus elektronegatif dan harus mempunyai setidaknya sepasang elektron sunyi sehingga dapat menyerang δ^+ dari atom hidrogen (Lodish, et al., 2000). Ikatan hidrogen terjadi paling kuat ketika molekul berada dalam orientasi interaksi elektrostatik yang maksimum. Keadaan ini terjadi ketika atom hidrogen dan dua atom lain yang berikatan berada dalam satu garis, dimana atom akseptor berada segaris dengan ikatan kovalen antara atom donor dan atom H (Nelson & Cox, 2001).

Secara umum, ikatan hidrogen didasari dengan donor X-H dan akseptor A, yakni X-H...A. Ikatan dapat digambarkan dalam hal d , D , θ dan r seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 2.16**. Jika ikatan hidrogen diperpanjang di sisi akseptor sebagai X-H...A-Y, sudut akseptor H...A-Y juga dapat didefinisikan (Desiraju & Steiner, 1999).

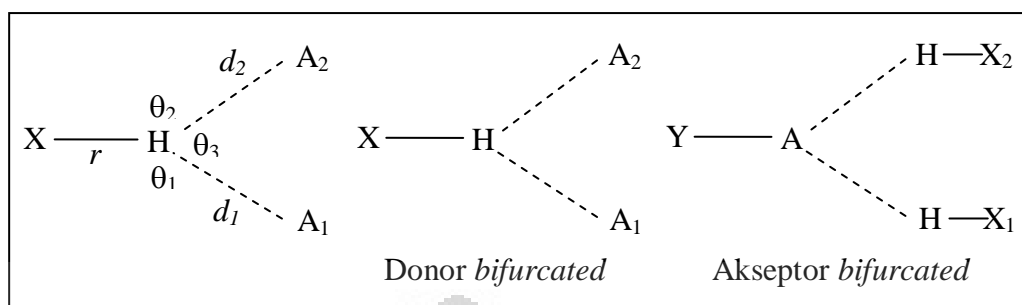


[Sumber: Desiraju & Steiner, 1999]

Gambar 2.16. Definisi parameter geometris ikatan hidrogen

Ikatan hidrogen adalah jarak interaksi, maka X-H dapat terikat lebih dari satu akseptor A pada satu waktu yang sama (**Gambar 2.17**). Jika X-H memiliki dua akseptor A1 dan A2, maka disebut dengan ikatan hidrogen

bifurcated X-H---(A1, A2). Sedangkan jika X-H memiliki tiga akseptor, maka disebut dengan *trifurcated* (Desiraju & Steiner, 1999).



[Sumber: Desiraju & Steiner, 1999]

Gambar 2.17. Ikatan hidrogen *bifurcated*

Desiraju & Steiner (1999) mengklasifikasikan ikatan hidrogen berdasarkan sifat-sifatnya menjadi ikatan hidrogen sangat kuat, kuat dan lemah. Sifat ini berkaitan dengan geometris, energi, termodinamika dan fungsional di alam (Tabel 2.1).

Tabel 2.1. Klasifikasi ikatan hidrogen

| | Sangat Kuat | Kuat | Lemah |
|--|--|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Energi ikatan (-kkal/mol) | 15 – 40 | 4 – 15 | 15 – 40 |
| Contoh | [F---H---F] ⁻ [N---H---N] ⁺ P-OH---O=P | O-H---O=C N-H---O=C O-H---O-H | C-H---O O-H--- π Os-H---O |
| IR vs relative shift | 25% | 5 – 25% | <5% |
| Panjang ikatan | O-H \approx X-H | H---A > X-H | H---A \gg X-H |
| Perpanjangan X – H (Å) | 0,05 – 0,2 | 0,01 – 0,05 | < 0,01 |
| Jarak D (X---A) (Å) | 2,2 – 2,5 | 2,5 – 3,2 | 3,0 – 4,0 |
| Jarak d (H---A) (Å) | 0,05 – 0,2 | 1,5 – 2,2 | 2,0 – 3,0 |
| < panjang ikatan vdW | 100% | Hampir 100% | 30 – 80 % |
| Rentang θ (X-H---A) (°) | 175 – 180 | 130 – 180 | 90 – 180 |
| kT (pada temperatur ruang) | > 25 | 7 – 25 | < 7 |
| Efek pada kemasan kristal | Kuat | Khas | Bervariasi |
| Manfaat dalam rekayasa kristal | Tidak diketahui | Berguna | Sebagian berguna |
| Kovalensi | Nyata | Lemah | Hilang |
| Elektrostatik | Signifikan | Dominan | Sedang |

2. Interaksi van der Waals

Interaksi van der Waals merupakan ikatan yang terbentuk ketika dua atom mendekat satu sama lain dan membentuk gaya tarik yang lemah dan nonspesifik. Interaksi nonspesifik dihasilkan oleh fluktuasi acak dalam distribusi elektron dari semua atom yang menyebabkan kenaikan distribusi elektron sementara yang tak seimbang yakni dipol elektrik sementara. Jika dua atom yang terikat secara kovalen berdekatan, dipol sementara pada satu atom akan mengganggu awan elektron atom lainnya. Gangguan ini menyebabkan dipol sementara dari atom kedua, dan kedua dipol tersebut akan tertarik satu sama lain secara lemah. Sama halnya dengan suatu ikatan kovalen yang polar dalam satu molekul akan menarik dipol yang berlawanan dari molekul lain (Lodish, et al., 2000).

Kekuatan interaksi van der Waals berkurang drastis ketika jarak molekul meningkat, sehingga interaksi ini hanya terbentuk ketika atom-atom terletak sangat dekat. Namun, jika atom terletak terlalu dekat, maka atom-atom tersebut saling tolak menolak karena adanya muatan negatif pada kulit elektron terluar. Energi dari interaksi van der Waals adalah sekitar 1 kkal/mol, hanya sedikit lebih tinggi dari energi termal rata-rata dari molekul pada suhu 25°C. Oleh karena itu, interaksi van der Waals lebih lemah dibanding ikatan hidrogen yang biasanya memiliki energi antara 1-2 kkal/mol dalam larutan encer (Lodish, et al., 2000).

3. Interaksi Hidrofobik

Molekul nonpolar tidak mengandung ion, memiliki momen dipol atau terhidrasi. Karena molekul tersebut tak larut atau hampir tak larut dalam air, molekul itu disebut hidrofobik. Ikatan kovalen antara dua karbon dan antara karbon dan hidrogen adalah ikatan nonpolar yang paling umum dalam sistem biologis. Hidrokarbon, molekul yang terbentuk dari karbon dan hidrogen, bersifat tak larut dalam air. Gaya yang menyebabkan molekul-molekul hidrofobik dari bagian molekul nonpolar untuk lebih menyatu daripada terlarut dalam air disebut ikatan hidrofobik (Lodish, et al., 2000).

Sebagian besar informasi struktur protein maupun sekuens asam aminonya dapat diperoleh melalui bioinformatika. Data-data protein yang sudah dianalisa bebas diakses oleh siapapun, baik struktur 3D-nya yang tersedia pada *Protein Data Bank* (PDB) (<http://www.rscb.org/pdb/>) maupun data sekuens asam aminonya seperti yang ada di SWISS-PROT (<http://www.ebi.ac.uk/swissprot/>).

2.8. Bioinformatika

Bioinformatika didefinisikan sebagai aplikasi dari alat komputasi dan analisis untuk menginterpretasikan data biologi. Bioinformatika merupakan bidang lintas disiplin yang memanfaatkan ilmu komputer, matematika, fisika, dan biologi. Bioinformatika ini penting untuk manajemen data dalam biologi modern dan kedokteran (Bayat, 2002). Dalam bidang kedokteran, peran bioinformatika diantaranya sebagai informasi klinis, untuk identifikasi agen penyakit baru, diagnose penyakit baru, dan untuk penemuan obat.

Penemuan obat melalui bioinformatika biasanya dilakukan dengan menemukan zat/senyawa yang dapat menekan perkembangbiakan suatu agent penyebab penyakit. Perkembangbiakan agent tersebut dipengaruhi oleh banyak faktor seperti enzim-enzim yang diperlukan untuk perkembangbiakan yang kemudian dapat dijadikan target. Analisa struktur dan fungsi enzim ini dilakukan dengan cara mengganti asam amino tertentu dan menguji efeknya. Setelah asam amino yang berperan sebagai situs-aktif dan kestabilan enzim tersebut ditemukan, kemudian dicari atau disintesa senyawa yang dapat berinteraksi dengan asam amino tersebut. Bioinformatika dapat memperkirakan senyawa yang berinteraksi dan menekan fungsi suatu enzim, walaupun hasilnya harus dikonfirmasi dahulu melalui penelitian di laboratorium. Namun, dengan bioinformatika proses tersebut dapat dilakukan lebih cepat dan efisien baik dari segi waktu maupun finansial (Bayat, 2002).

Dengan adanya bioinformatika, maka dapat dilihat struktur 3D suatu enzim termasuk situs-aktifnya di *Protein Data Bank* (PDB), sehingga bisa diperkirakan bentuk senyawa yang akan berinteraksi dengan situs-aktif tersebut. Untuk enzim yang belum diketahui struktur 3D-nya maka dapat dilakukan pemodelan homologi menggunakan enzim yang sudah ada struktur 3D-nya sebagai referensi sehingga diperoleh model yang sesuai.

2.9. Pemodelan Homologi

Pemodelan homologi adalah pembuatan model struktur berdasarkan perbandingan sekuens homolog antara protein target dengan cetakan protein lain yang telah diketahui struktur tiga dimensinya. Prinsip dari metode ini adalah kesamaan pelipatan antara dua protein yang berkembang dari protein yang memiliki derivat sama. Proses pencarian homolog yang sesuai atau pencarian kemiripan sekuens dapat dilakukan menggunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) yang tersedia di NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>), di EMBL (<http://www.ebi.ac.uk/>), dan di DDBJ (<http://www.ddbj.nig.ac.jp/E-mail/homology.html>). Selain itu, juga ada FASTA yang dapat diakses dari EMBL dan DDBJ. Untuk mengetahui analisa posisi sejauh mana perbedaan sekuens maka dapat digunakan program ClustalW2 (software untuk penyejajaran sekuens) yang dapat diakses di EMBL.

Pembuatan model struktur dapat dilakukan dengan menggunakan program seperti Modeller dan SWISS-Model (<http://swissmodel.expasy.org>). Kualitas model yang dihasilkan bergantung pada persamaan residu antar protein homolog, yaitu protein yang memiliki kesamaan sekuens. Untuk menghasilkan model yang baik dibutuhkan kesamaan antar sekuens dengan cetakan lebih dari 30% (Sanchez & Sali, 1997). Setelah diperoleh model yang baik maka senyawa, ligan, maupun protein yang diperkirakan berinteraksi dianalisa dengan penambatan molekuler.

2.10. Penambatan Molekuler

Penambatan molekuler adalah prosedur komputasi yang mencoba untuk memprediksi pengikatan non-kovalent makromolekul, atau yang lebih sering adalah memprediksi pengikatan makromolekul (reseptor) dan molekul kecil (ligan) secara efisien, mulai dari struktur yang tidak terikat, struktur yang diperoleh dari simulasi dinamika molekuler, atau pemodelan homologi. Tujuannya adalah untuk memprediksi konformasi pengikatan dan afinitas pengikatan (Olson & Trott, 2010).

Penambatan molekuler diaplikasikan pada beberapa tingkat proses pengembangan obat dengan tiga tujuan utama, yaitu: memprediksi model ikatan dari ligan yang diketahui aktif, pencarian ligan baru dengan *virtual screening*, dan

memprediksi afinitas ikatan dari beberapa seri senyawa aktif (Leach, et al., 2006). Penambatan molekuler dapat dilakukan dengan program seperti Autodock, Dock, maupun FlexX. Namun, metode penambatan molekuler yang ada saat ini mengasumsikan protein bersifat kaku, sedangkan faktanya protein bersifat fleksibel. Untuk mengatasi kelemahan ini maka dilakukan simulasi dinamika molekuler untuk mengeksplorasi pergerakan serta perubahan konformasi protein.

2.11. Dinamika Molekuler

Dinamika molekuler merupakan suatu metode simulasi dengan media komputer yang memungkinkan untuk merepresentasikan interaksi molekul-molekul atom dalam jangka waktu tertentu. Teknik ini berdasarkan pada persamaan hukum Newton dan hukum mekanika klasik. Dinamika molekuler mensimulasikan molekul-molekul yang saling menarik dan mendorong dan menabrak satu sama lain. Simulasi dinamika molekul memberikan informasi statik dan dinamik pada skala atomik, seperti posisi dan kecepatan. Informasi ini lalu dapat diolah menjadi informasi pada skala makroskopis seperti tekanan, suhu dan lain-lain. Dinamika molekul bersifat deterministik. Jika keadaan suatu materi diketahui pada waktu tertentu, maka keadaan materi tersebut pada waktu berbeda dapat ditentukan dengan sempurna (Allen, 2003). Simulasi dinamika molekuler dapat dilakukan menggunakan program seperti Amber dan Gromac.

2.12. PSI-BLAST

PSI BLAST merupakan program pencari kesamaan sekuens pada database protein dan DNA. Program ini merupakan pengembangan dari Gapped BLAST sehingga lebih sensitif. PSI-BLAST menerima sekuens protein target sebagai input dan membuat profil dari penyejajaran ganda. Algoritma menghitung nilai posisi spesifik untuk setiap posisi penyejajaran. Residu asam amino yang sama pada posisi tertentu akan diberi skor tinggi, sedangkan yang tidak sama diberi skor mendekati nol (Schaffer, et al., 2001; Altschul, et al., 1997).

2.13. Modeller 9.10

Modeller merupakan program computer untuk membuat struktur protein berdasarkan pemodelan homologi. Input yang digunakan adalah penyejajaran sekuens cetakan dan target model yang akan dicetak, koordinat atom cetakan dan

Universitas Indonesia

berkas perintah sederhana. Pembuatan model dengan modeler ini dilakukan secara otomatis. Modeller dapat pula melakukan pekerjaan tambahan seperti penyejajaran sekuens protein, penyejajaran sekuens dan struktur protein ganda, dan pembuatan model loop pada struktur protein (Fiser & Sali, 2001).

2.14. ClustalW2

ClustalW2 merupakan program yang digunakan secara luas dalam biologi molekuler untuk membuat penyejajaran ganda, baik sekuens asam nukleat atau protein. ClustalW2 dirilis tahun 1994 dengan pengembangan dari ClustalV dan ClustalX. Kini telah tersedia server yang menyediakan ClustalW2 seperti EBI (European Bioinformatics Institute) dengan URL <http://www.ebi.ac.uk/clustalw/> (Fiser & Sali, 2001).

2.15. CCP4

CCP4 (*The Collaborative Computational Project, Number 4*) merupakan suatu kumpulan program dan data yang terkait dan pustaka perangkat lunak yang dapat digunakan untuk penentuan struktur makromolekul dengan kristalografi sinar-X (Collaborative Computational Project, Number 4, 1994). Program yang digunakan dalam penelitian ini adalah Superpose dan PROCHECK.

Superpose merupakan suatu program yang dirancang untuk melakukan superposisi dengan mencocokkan struktur tiga dimensi dari suatu protein. Superposisi adalah penyejajaran struktur sekunder yang satu dengan struktur lainnya (Collaborative Computational Project, Number 4, 1994). SuperPose menghasilkan alignment sekuens, alignment struktur, koordinat PDB (Protein Data Bank), dan statistik RMSD, serta plot perbedaan jarak dan gambar (baik statis dan interaktif) dari molekul yang di-superimpose (Wishart, et al., 2004).

PROCHECK merupakan suatu program yang dirancang untuk memeriksa kualitas stereokimia dari struktur protein, menghasilkan plot Ramachandran dalam bentuk *post script* yang menganalisis struktur geometris secara keseluruhan maupun residu ke residu (Laskowski, et al., 1993).

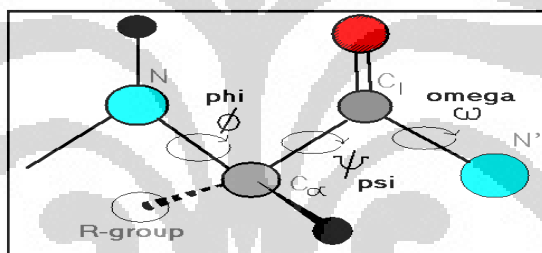
2.16. PLOT RAMACHANDRAN

Plot Ramachandran atau peta Ramachandran dikembangkan oleh G.N. Ramachandran, merupakan plot-plot dua dimensi yang menggambarkan residu

Universitas Indonesia

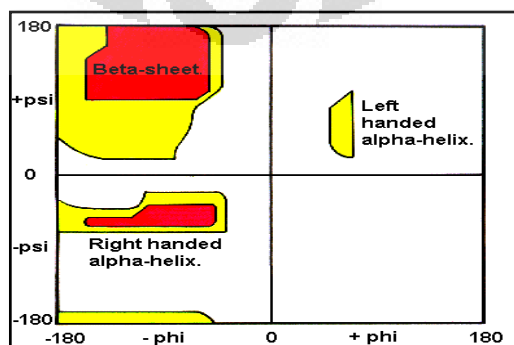
asam amino pada struktur protein, juga visualisasi koordinat tiga dimensi protein yang telah direalisasikan melalui eksperimen ke dalam koordinat internal yang terdiri dari sudut dihedral Φ sebagai sumbu x dan sudut Ψ sebagai sumbu y residu asam amino dari struktur protein. Plot ini memperlihatkan konformasi yang memungkinkan dari sudut Φ dan Ψ untuk polipeptida (Laskowski, et al.,1993).

Sudut torsi rantai utama dari protein disebut Φ (phi), Ψ (psi), dan ω (omega) (**Gambar 2.18**). Rotasi antara ikatan N dan $C\alpha$ dijelaskan dengan sudut Φ , rotasi antara ikatan $C\alpha$ dan C' dinamakan Ψ , rotasi antara ikatan peptide C' dan N disebut ω . Sudut torsi rantai samping disebut χ_i (chi) dimana i adalah jumlah ikatan yang dihitung dari luar atom $C\alpha$. Setiap residu asam amino mempunyai satu sudut Φ dan satu sudut Ψ , sehingga tiap residu dapat digambarkan dalam satu plot. Sudut Φ dan Ψ inilah yang dianalisis oleh Ramachandran, et al. (Hooft, Sander & Vriend, 1997).



Gambar 2.18. Sudut pada struktur asam amino

Plot Ramachandran terdiri dari empat kuadran/ wilayah. Keempat wilayah tersebut adalah *most favoured region*, *additional regions*, *generously allowed regions*, dan *disallowed regions*. Pada plot Ramachandran, kluster yang terbentuk dari beberapa residu menunjukkan struktur sekunder yang terbentuk (**Gambar 2.19**)



[Sumber: Holtje, et al., 2008]

Gambar 2.19. Daerah struktur sekunder pada plot Ramachandran

Kualitas struktur dari suatu protein dapat diketahui dengan melihat plot residu non-glisin yang terletak pada sudut dihedral yang dilarang (*disallowed regions*). Glisin tidak memiliki rantai samping sehingga sudut Φ dan Ψ yang dimilikinya berada pada empat kuadran dari plot Ramachandran. Sudut Φ dan Ψ merupakan deskripsi komplit secara virtual dari konformasi *backbone*, plot Ramachandran dua dimensi ini menjadi penting dan menjadi salah satu cara dalam menganalisis validasi struktur tiga dimensi suatu protein (Holtje, et al., 2008)

2.17. PyMOL

PyMOL merupakan salah satu program visualisasi yang digunakan untuk memahami suatu struktur biologi dan dapat menampilkan gambar tiga dimensi yang berkualitas dan mampu menyajikan tampilan struktur dalam beberapa warna dari suatu molekul kecil maupun makromolekul seperti protein. Visualisasi sangatlah penting untuk lebih memahami dan mendalami struktur suatu molekul. Perangkat lunak ini dikomersilkan oleh DeLano Scientific LLC (Delano & Bromberg, 2004).

2.18. Marvin Sketch

Marvin sketch merupakan suatu program yang dapat digunakan untuk menggambar dan mengedit struktur, reaksi, atau menghitung struktur data kimia dengan operasi yang intuitif. MarvinSketch juga dapat menetapkan stereokimia, *charge*, valensi, radikal dan isotop untuk setiap atom. MarvinSketch juga dapat digunakan untuk penambahan hidrogen dan membuat struktur 2 dimensi dan 3 dimensi (ChemAxon, 2008). Program ini dapat diunduh secara gratis melalui alamat situs <http://www.chemaxon.com/products/marvin/marvinsketch/>.

2.19. Open Babel

Masalah yang sering dalam pemodelan komputasi adalah interkonversi struktur kimia antara format yang berbeda. Open Babel merupakan suatu program yang digunakan untuk memproses suatu data kimia, umumnya dalam pengubahan format atau representasi berkas senyawa kimia. Open babel juga menyediakan berbagai fungsi, mulai dari pencarian conformer dan penggambaran 2D, konversi batch, serta pencarian kesamaan dan substruktur (O'Boyle, et al., 2011).

2.20. Vega ZZ

Vega ZZ adalah suatu proyek kimia komputasi yang dikembangkan untuk menciptakan suatu software untuk *molecular modeling* dengan antarmuka grafik 3 dimensi. Vega ZZ dilengkapi dengan fitur-fitur seperti tampilan grafis untuk pengguna, perangkat lunak untuk mengedit, dan perangkat lunak untuk melakukan kalkulasi terhadap molekul. Saat ini, Vega ZZ dapat digunakan untuk menyelesaikan permasalahan kimia komputasi baik untuk desain obat, optimasi ligan, homologi modelling dari suatu protein, serta kalkulasi penggambaran QSAR (*Quantitative Structural Analysis Relationship*) molekuler (Pedretti, Mazzolari & Vistoli, 2004).

2.21. AutoDock

AutoDock merupakan program penambatan molekuler yang efektif yang secara cepat dan akurat dapat memprediksi konformasi dan energi dari suatu ikatan antara ligan dan target makromolekul. AutoDock terdiri dari dua program utama, yaitu Autodock dan Autogrid. Autodock melakukan penambatan molekuler ligan protein target dengan set grid yang telah terdeskripsi. Pendeskripsian ini dilakukan sebelumnya oleh Autogrid. Untuk memungkinkan pencarian konformasi, AutoDock membutuhkan ruang pencarian dalam sistem koordinat di mana posisi ligan dianggap akan terikat (Morris, et al., 2009).

2.22. Amber

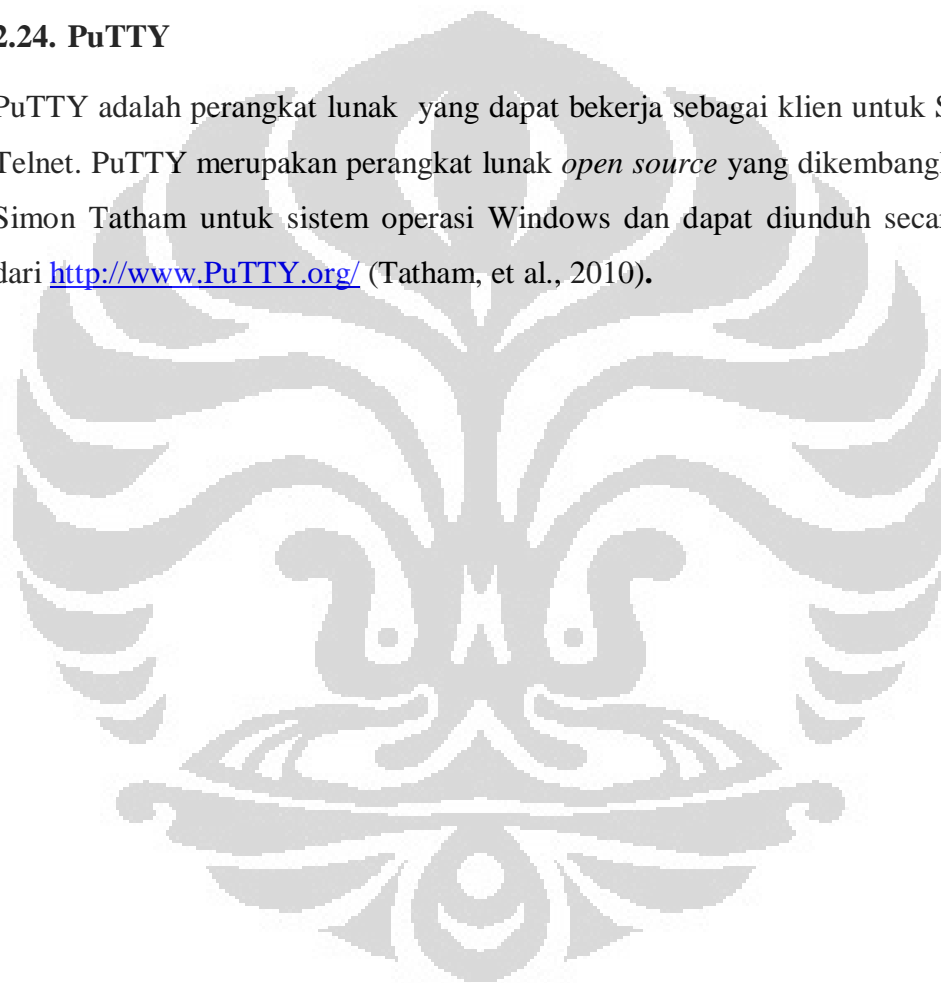
Amber adalah nama kolektif untuk suite program yang memungkinkan pengguna untuk melakukan simulasi dinamika molekul, terutama pada biomolekul. Amber dibagi menjadi dua bagian: AmberTools, koleksi program yang sebagian besar bebas tersedia di bawah lisensi GPL, dan Amber11, yang berpusat pada program simulasi pmemd dan sander. Penginstalan program memerlukan kedua bagian, dan dimulai dengan AmberTools. Amber 11 merupakan versi terbaru dengan perubahan yang signifikan dibandingkan dengan versi sebelumnya Amber 10 (Case, et al., 2010).

2.23. VMD

VMD adalah perangkat lunak grafis yang dibuat untuk visualisasi dan analisis struktur molekuler, khususnya biopolimer seperti protein dan asam nukleat. VMD dapat menampilkan beberapa struktur secara bersamaan menggunakan atau tanpa menggunakan seleksi, serta menggunakan metode pewarnaan dan penampilan yang bervariasi. (Humphrey, Dalke, & Schuelten, 1996).

2.24. PuTTY

PuTTY adalah perangkat lunak yang dapat bekerja sebagai klien untuk SSH dan Telnet. PuTTY merupakan perangkat lunak *open source* yang dikembangkan oleh Simon Tatham untuk sistem operasi Windows dan dapat diunduh secara gratis dari <http://www.PuTTY.org/> (Tatham, et al., 2010).



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Komputer Departemen Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia selama bulan Februari hingga Mei 2012.

3.2. Alat

3.2.1. Perangkat keras

Komputer terhubung internet dengan spesifikasi *Quad Core processor* CPU Q8200 @ 2,33 GHz (Intel® Core™, Amerika), RAM 4 GB (ASUSTek Computer In., Amerika), *Graphic Card* NVIDIA Ge Force GTS 295 (nVidia, Amerika), dan sistem operasi Windows XP2 (Microsoft, Amerika). Kelengkapan komputer yakni *monitor* (AOC, China), *mouse* (Simbadda, Indonesia) dan *keyboard* (Simbadda, Indonesia).

3.2.2. Perangkat lunak

PSI-BLAST (*National Center for Biotechnology Information*, Amerika), Modeller 9.10 (*University of Illioniss*, Amerika), ClustalW2 (*European Bioinformatics Institute*, Inggris), MarvinSketch (ChemAxon), Open Babel (Hutchison, et al.), PyMOL (*DeLano Scientific LLC*, Italia), CCP4 (*The Collaborative Computing Project Number 4*, Inggris), AutoDock Tools (*The Scripps Research Institute*, Amerika), Autodock4.2 (*The Scripps Research Institute*, Amerika), Amber MD (*University of California*, San Francisco), AmberTools (*University of California*, San Francisco).

3.3. Bahan

3.3.1. Struktur Tiga Dimensi α -Glukosidase

Struktur tiga dimensi α -Glukosidase diperoleh setelah proses pemodelan homologi mengikuti metode Saqib & Siddiqi (2008). Target adalah α -Glukosidase C Netral (GANC) manusia diperoleh dari Swiss-Prot dengan identitas Q8TET4. Cetakan diperoleh dari database PDB yakni Maltase-Glucoamilase (MGAM)

manusia dengan identitas 2QMJ, dan α -Glukosidase (MalA) *Sulfolobus solfataricus* dengan identitas 2G3M.

3.3.2. Struktur Tiga Dimensi Ligan

Struktur tiga dimensi ligan dari sulokrin dan kontrol positifnya (akarbose, miglitol, voglibose, dan salasinol) dibuat dengan menggunakan program MarvinSketch dan Open Babel.

3.4. Cara Kerja

3.4.1. Pembuatan Model α -Glukosidase

Pemodelan homologi α -glukosidase dilakukan dengan menggunakan program Modeller 9.10. Tahapan pembuatan model α -glukosidase dilakukan sebagai berikut:

a. Pemilihan homolog

Homolog yang digunakan sebagai cetakan mengikuti metode Saqib & Siddiqi (2008).

b. Penyejajaran target-cetakan

Homolog yang terpilih disejajarkan terhadap target GANC dengan software ClustalW2 dan diperoleh keluaran berupa berkas PIR (**Lampiran 1**).

c. Pembuatan model α -glukosidase

Berkas PIR disalin ke berkas `align-multiple.ali` dengan penyesuaian berdasarkan penyejajaran sekuens yang dilakukan Saqib & Siddiqi (2008) dan keterangan residu yang hilang pada berkas PDB (**Lampiran 2**). Pengaturan berkas `.ali` dapat dilihat pada **Lampiran 3**. Subprogram modeler 9.10 yang digunakan adalah `model-multiple.py` sebelum penjalanan program, dibuat berkas masukan `model-multiple.py` berisi pengaturan program (**Lampiran 4, Lampiran 5**).

d. Evaluasi model α -glukosidase

Evaluasi model α -glukosidase dilakukan dengan program PyMOL untuk melihat visualisasi model yang dihasilkan, dan PROCHECK menghasilkan Plot Ramachandran untuk mengevaluasi stereokimia dengan melihat nilai persentase region yang paling disukai. Evaluasi juga dilakukan dengan membandingkan rantai utama menggunakan fungsi *superpose* yang terdapat

dalam software CCP4. Model yang dipilih harus baik dalam ketiga proses evaluasi tersebut.

3.4.2. Pembuatan Struktur Ligan

Persiapan berkas ligan meliputi proses pembuatan dan optimasi struktur tiga dimensi ligan dengan tahapan sebagai berikut:

a. Pembuatan struktur tiga dimensi ligan

Sulokrin dan kontrol positifnya (akarbose, miglitol, voglibose, dan salasinol) digambar dengan program MarvinSketch, kemudian dibuat struktur tiga dimensinya dengan penambahan hidrogen pada tiap-tiap ujung atom. Data dari gambar tersebut kemudian disimpan dalam bentuk `.mol`. Format `.mol` diubah ke dalam bentuk `.pdb` dengan menggunakan program Open Babel.

b. Optimasi struktur tiga dimensi ligan

Optimasi struktur tiga dimensi ligan dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak Antechamber dan tLeap. Optimasi tersebut meliputi: penambahan atom hidrogen, perbaikan muatan dengan menambahkan muatan bcc dan penerapan minimisasi. Minimisasi dilakukan dengan metode *steepest descent* dan *conjugate gradients* sebanyak masing-masing 250 kali. Pembuatan parameter topologi dan koordinat dari ligan dilakukan setelah proses minimisasi, kemudian data dari ligan hasil minimisasi tersebut disimpan sebagai bentuk `.pdb` (**Lampiran 7, Lampiran 8**).

3.4.3. Penambatan Molekul Ligan terhadap Model α -Glukosidase

Penambatan molekuler ligan terhadap target model α -glukosidase dilakukan menggunakan program Autodock Tools (ADT), dan Autodock4.2, dengan tahapan sebagai berikut (**Lampiran 13**):

- Berkas makromolekul diubah dari `.pdb` menjadi `.pdbqt` menggunakan program ADT.
- Berkas ligan diubah dari `.pdb` menjadi `.pdbqt` menggunakan program ADT.
- Pembuatan *Grid Parameter File* (`.gpf`) menggunakan program ADT, meliputi pembuatan berkas map yang disesuaikan dengan ligan dan penentuan batasan ruang penambatan molekuler (*grid box*). Parameter ukuran grid yang

digunakan yakni $50 \times 50 \times 50 \text{ \AA}$, dengan pusat koordinat $X = -21,727$; $Y = -6,323$; dan $Z = -5,281$ (**Lampiran 11**).

- d. Proses komputasi berkas `.gpf` menjadi `.glg` dijalankan dengan program Autodock4.2 melalui PuTTY.
- e. Pembuatan *Docking Parameter File* (`.dpf`) menggunakan program ADT, meliputi penentuan berkas `.pdbqt` dari makromolekul dan ligan yang digunakan serta penentuan parameter *docking algorithm* (**Lampiran 12**).
- f. Penambatan molekuler/ proses komputasi berkas `.dpf` menjadi `.dlg` dijalankan dengan program Autodock4.2 melalui PuTTY.

3.4.4. Analisis Hasil Penambatan Molekuler

Analisis hasil penambatan molekuler dilakukan dengan PyMOL, dan ADT. Afinitas dan selektivitas ligan yang ditambatkan terhadap target makromolekul dilihat dari skor penambatan molekuler dari hasil penambatan molekuler. Skor ini mencakup energi bebas (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i). Tahapan yang dilakukan pada analisa hasil penambatan molekuler adalah sebagai berikut:

- a. Berkas `.dlg` yang dihasilkan setelah penambatan molekuler dibuka dengan Wordpad untuk melihat keterangan hasil klaster maupun penambatan terbaik.
- b. Konformasi terbaik dipilih dari histogram pada berkas `.dlg`, data yang diamati adalah nilai bebas (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i) dari klaster terbaik maupun hasil penambatan terbaik.
- c. Berkas `.dlg` dibuka dengan ADT untuk mengamati konformasi terbaik yang telah dipilih dan diekstrak menjadi berkas `.pdbqt` untuk memisahkan hasil penambatan molekuler yang terdiri dari konformasi ligan menjadi satuan ligan yang dipilih dari hasil klaster maupun penambatan terbaik (**Lampiran 13**).
- d. Berkas `.pdbqt` konformasi ligan hasil penambatan molekuler diubah menjadi berkas `.pdb` melalui PuTTY (**Lampiran 13**).
- e. Berkas `.pdb` konformasi ligan hasil penambatan molekuler dianalisa secara visual dengan menggunakan program PyMOL.

3.4.5. Simulasi Dinamika Molekuler

Simulasi dinamika molekuler kompleks α -glukosidase dan ligan dilakukan dengan program Amber. Simulasi dinamika molekuler dilakukan dengan beberapa tahapan, yakni:

a. Persiapan berkas masukan

Dalam simulasi dinamika molekuler berkas masukan yang harus disiapkan meliputi persiapan makromolekul, ligan, serta topologi dan koordinat.

1) Persiapan makromolekul α -glukosidase dari hasil penambatan molekuler

- a) Berkas `.dlg` hasil kalkulasi penambatan molekuler dibuka dengan menggunakan piranti lunak VegaZZ.
- b) Frame terbaik berdasarkan energi terendah (*best energy*) maupun kluster (*best cluster*) dipilih dan masing-masing disimpan dalam format `.pdb`.
- c) Berkas `.pdb` yang dihasilkan oleh VegaZZ kemudian dibuka dengan UCSF Chimera untuk memisahkan ligand dari makromolekul.
- d) Berkas `.pdb` makromolekul hasil pemisahan UCSF Chimera dilakukan perubahan pada isinya, yaitu dengan penghilangan informasi *CONNECT* dan penambahan kata TER sebelum kata END pada akhir berkas `.pdb`.

2) Persiapan ligan dari hasil penambatan molekuler

- a) Berkas `.pdb` ligan hasil pemisahan UCSF Chimera dilakukan perubahan pada isinya, yaitu dengan penghilangan informasi *CONNECT* dan penambahan kata TER sebelum kata END pada akhir berkas `.pdb`.
- b) Berkas `.pdb` kemudian diubah menjadi `.mol2` dengan OpenBabel. Pada antarmuka OpenBabel, opsi *Add hydrogens (make explicit)* dipilih, kemudian format `.mol2` dipilih sebagai keluaran dan opsi *convert* dipilih.

3) Pembuatan topologi dan koordinat (**Lampiran 19**)

Topologi dan koordinat yang akan dibuat adalah: ligan, makromolekul, kompleks ligan-makromolekul dalam suasana vakum dan dalam pelarut air. Pada tahapan ini struktur ligan harus diberikan penambahan muatan AM1-

BCC menggunakan piranti lunak Antechamber yang diakses melalui PuTTY. Diperoleh berkas keluaran `.mol2` hasil dari antechamber harus dibuat berkas `.frmod`. Setelah semua berkas disiapkan, pembuatan topologi dan koordinat dengan piranti lunak tLeap dapat dilakukan dengan pembuatan berkas `leap.in` (**Lampiran 14**) terlebih dahulu. Pada tahap ini, diperlukan penambahan *counter-ions* (Ion Na^+) untuk membuat sistem menjadi netral dan seluruh sistem dilarutkan pada air TIP3P dengan kotak oktahedron dengan jarak kotak minimal 12 Å.

b. Minimisasi energi

Untuk memudahkan pengaturan dalam penyimpanan berkas hasil minimisasi, ekuilibrasi dan produksi, maka harus dibuatkan *folder* pada masing-masing langkah. Berkas topologi dan koordinat yang digunakan adalah kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air. Minimisasi dilakukan dalam dua tahapan: tahap pertama merupakan minimisasi terhadap molekul air saja, dan tahap kedua merupakan minimisasi terhadap seluruh sistem yaitu ligan dan molekul air (**Lampiran 15**). Penjelasan lebih lanjut mengenai tahapan ini dijelaskan pada **Lampiran 19**.

c. Ekuilibrasi (**Lampiran 19**)

Tahap ekuilibrasi dilakukan dalam 3 tahapan. Pada tahapan pertama, dilakukan ekuilibrasi untuk membuat volume yang konstan dan menaikkan suhu dari 0° K menjadi 300° K. Ekuilibrasi tahapan kedua dan ketiga dilakukan untuk membuat seluruh sistem berada pada suhu dan tekanan yang konstan. Parameter untuk ekuilibrasi diatur pada berkas `eq1.in`, `eq2.in` dan `eq3.in` (**Lampiran 16**).

Sebelum produksi dimulai, harus dilakukan pengecekan pada empat parameter yakni suhu, berat jenis, energi potensial dan RMSD (*Root Mean Square Deviation*) untuk mengetahui apakah sistem sudah siap untuk dilakukan produksi dinamika molekuler atau belum. Suhu, berat jenis dan energi potensial harus berada angka yang konstan, yakni 300° K untuk suhu, 1 gram/ml untuk berat jenis. Parameter suhu, berat jenis, dan energi potensial dapat dilihat pada berkas keluaran `.out`. yang kemudian diekstrak menjadi berkas `.dat` dan dikonversi menjadi *Microsoft Excel*, kemudian masing-

masing parameter dibuat plot terhadap waktu. Sedangkan parameter RMSD dilakukan dengan Ptraj terhadap proses hasil ekulibrasi terakhir, produksi dapat dilakukan apabila kurva plot RMSD terhadap waktu menunjukkan nilai konstan.

d. **Produksi (Lampiran 19)**

Berkas `.rst` hasil ekulibrasi tahapan ketiga dijadikan sebagai *restart file* pertama untuk memulai produksi. Pada penelitian ini ingin dihasilkan simulasi dinamika molekuler selama 2ns. Oleh karena itu, produksi dilakukan selama 10 kali dimana satu kali produksi akan menghasilkan simulasi selama 200ps. Berkas `prod.in` (**Lampiran 17**) harus dibuat terlebih dahulu untuk pengaturan parameter produksi. Proses produksi dilakukan dengan piranti lunak sander yang dapat diakses dengan PuTTY. Untuk menjalankan produksi, diperlukan berkas `run_md.x` (**Lampiran 17**) yang berfungsi menjalankan produksi secara otomatis selama 10 kali. Kemudian juga diperlukan berkas `do.run` (**Lampiran 17**) untuk menjalankan berkas `run_md.x` dan membuat *log file* produksi.

e. **Analisis (Lampiran 19)**

Analisis hasil simulasi dinamika molekuler yang berupa berkas keluaran dan berkas *trajectory* dilakukan dengan program ptraj dan VMD dari AmberTools. Parameter yang akan dianalisis adalah fluktuasi energi potensial, RMSD (*Root Mean Square Deviation*), RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*), dan kondisi ikatan hidrogen.

1) Energi Potensial

Energi potensial dianalisis dari berkas `.out` hasil produksi yang kemudian diekstrak dan diubah kedalam format `.dat` melalui PuTTY. Berkas `.dat` hasil ekstrak dibuka dengan program Excel dan dibuat kurva hubungan antara energi potensial terhadap waktu.

2) RMSD (*Root Mean Square Deviation*)

Analisa RMSD dilakukan menggunakan program Ptraj terhadap seluruh berkas `.mdcrd` hasil produksi dengan pengaturan pada berkas masukan `rmsd.in` (**Lampiran 18**). Hasil komputasi dari Ptraj berupa berkas

.out dibuka dengan program *Excel* dan dibuat kurva hubungan antara RMSD terhadap waktu.

3) RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*)

Analisa RMSF dilakukan menggunakan program Ptraj terhadap seluruh berkas .mdcrd hasil produksi dengan pengaturan pada berkas masukan rmsf.in (**Lampiran 18**). Hasil komputasi dari Ptraj berupa berkas .apf dibuka dengan program *Excel* dan dibuat kurva hubungan antara RMSF terhadap residu.

4) Kondisi Ikatan Hidrogen

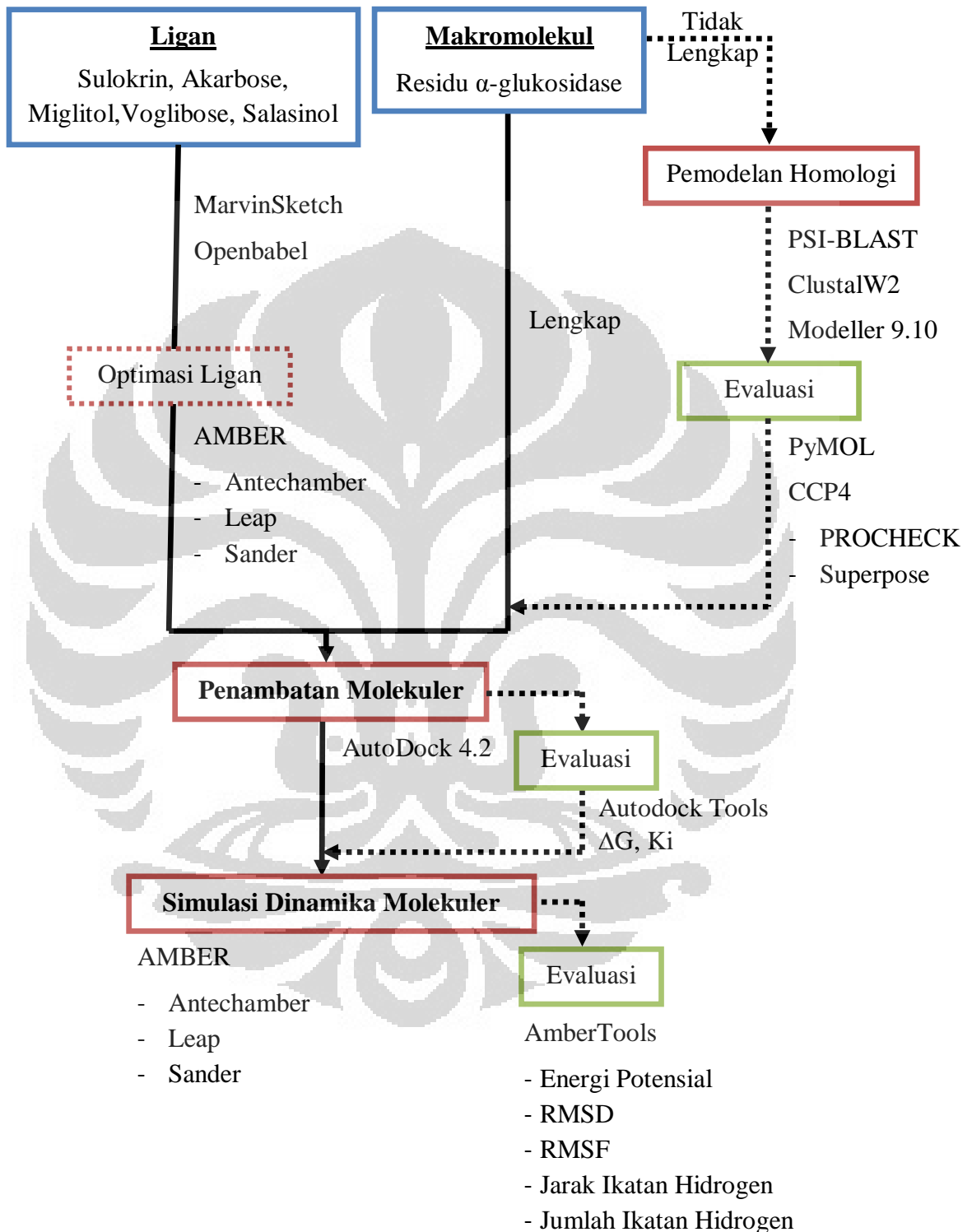
Kondisi ikatan hidrogen dianalisa menggunakan program VMD. Pertama, dilakukan pemilihan terhadap ikatan hidrogen yang memiliki occupancy > 50% dari keseluruhan data hasil analisis ikatan hidrogen. Pada tampilan antarmuka program VMD, berkas .prmtop dan berkas .mdcrd yang merupakan *trajectory* gabungan dibuka kemudian dipilih opsi *extension > analysis > hydrogen bonds*. Pengaturan jarak antara donor dan akseptor ikatan hidrogen diatur pada 3.5 Å, kemudian *angle cutoff* diatur pada 60°.

Setelah dilakukan pemilihan, selanjutnya dilakukan penghitungan jumlah dan jarak ikatan hidrogen antara residu protein dengan atom spesifik dari ligan. Berkas .prmtop dan berkas .mdcrd yang merupakan *trajectory* gabungan dibuka kemudian dipilih opsi *extension > TKconsole*. Dari subprogram ini, nomor residu dan nomor atom spesifik dari makromolekul dan ligan yang ingin dilihat ikatan hidrogennya harus didefinisikan. Berkas keluaran yang dihasilkan berupa .dat.

3.5. Skema Penelitian

PERSIAPAN LIGAN

PERSIAPAN MAKROMOLEKUL



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Pembuatan Model α -Glukosidase

Pemodelan Homologi merupakan metode yang biasa dipilih ketika kaitan yang jelas dari homologi antara urutan protein target dan sedikitnya satu struktur yang dikenal telah ditemukan. Keseluruhan metode pemodelan homologi terbagi dalam empat tahap yakni pemilihan homolog, penyejajaran sekuens dengan cetakan, pembuatan model dan evaluasi model.

Tahapan pertama adalah identifikasi protein dengan struktur 3D yang diketahui yang berkaitan dengan sekuens target atau pemilihan homolog. Sekuens target yang dipilih adalah α -glukosidase manusia. Berdasarkan penelusuran literatur dipilih α -glukosidase C netral manusia (GANC) dengan 914 residu asam amino yang diambil dari Swiss-Prot dengan identitas Q8TET4. Pada pemodelan homologi ini diperlukan cetakan, dan cetakan yang digunakan adalah MalA dan NtMGAM. Dalam hal ini peneliti merekonstruksi pembuatan model yang dilakukan oleh Saqib & Siddiqi (2008).

MalA merupakan α -Glukosidase dari *Sulfolobus solfataricus* (2G3M). Protein ini terdiri atas 693 residu asam amino. Kristal 2G3M memiliki resolusi 2,55 Å dan menempati volume sebesar 103,17 x 173,56 x 154,08 Å (Ernst, et al., 2006). Sedangkan NtMGAM merupakan N-terminal maltase-glukoamilase pada usus manusia (2QMJ) yang berikatan dengan akkarbose. Protein ini terdiri atas 870 residu asam amino. Kristal 2QMJ memiliki resolusi 1,9 Å dan menempati volume sebesar 86,97 x 109,37 x 109,27 Å (Sim, et al., 2008).

Tahap kedua adalah menyejajarkan sekuens target dan struktur 3D yang diketahui yang akan digunakan sebagai cetakan. Pada α -glukosidase yang termasuk dalam famili GH 31 domain katalitik yang berfungsi dalam hidrolisis yakni residu 334-779, namun variabel gelungan dari N-terminal yang berkontribusi terhadap bentuk situs aktif pengikatan adalah residu 271-288. Penyejajaran sekuens target dengan cetakan MalA dan NtMGAM dilakukan menggunakan program PSI-BLAST dan menghasilkan berkas .pir (**Lampiran 1**) yang kemudian disesuaikan residu-residu penting yang berperan secara

fungsional. Penyesuaian dilakukan pada residu 270-780 mengikuti metode Saqib & Siddiqi (2008) dan hasil penyejajaran sekuens ditunjukkan pada **Lampiran 3**.

Tahap ketiga adalah membangun model untuk sekuens target yang telah disejajarkan dengan struktur cetakan. Pembuatan model dilakukan menggunakan program Modeller 9.10 dengan berkas masukan `.ali` dan `.py` yang berisi pengaturan sekuens target GANC (Q8TET) serta cetakan NtMGAM (2QMJ) dan MalA (2G3M), dan diperoleh 10 model hasil homologi dalam format `.pdb` (**Lampiran 4, Lampiran 5**).

Tahapan keempat yakni melakukan proses evaluasi pada model-model protein yang dihasilkan dengan menggunakan beberapa kriteria. Model protein dievaluasi secara stereokimia maupun secara visual. Evaluasi stereokimia model dilakukan dengan PROCHECK dengan menganalisis plot Ramachandran yang dihasilkan. Persentase residu yang berada pada wilayah yang sangat disukai (*most favoured region*) dari plot Ramachandran merupakan petunjuk untuk mengetahui kualitas stereokimia model protein.

Evaluasi dilakukan terhadap 10 model hasil homologi dan ditunjukkan bahwa terdapat empat model yang cukup baik berdasarkan hasil analisis plot Ramachandran dan RMSD, yakni model 1, 4, 5, dan 9. Pada keempat model ini kemudian dilakukan proses minimisasi energi dengan harapan diperolehnya konformasi model yang lebih baik. Minimisasi dilakukan dengan metode steepest descent dan conjugate gradients dengan jumlah langkah bervariasi, hasil minimisasi terbaik diperoleh pada metode *steepest descent* sebanyak 250 langkah dan *conjugate gradients* sebanyak 750 langkah menggunakan program Sander dari Amber (**Tabel 4.1, Tabel 4.2, Lampiran 10**).

Hasil evaluasi stereokimia menunjukkan bahwa model protein terbaik adalah model 1 dengan persentase residu pada wilayah yang sangat disukai (*most favoured region*) sebesar 88,5% dan pada wilayah yang tidak disukai (*disallowed region*) sebesar 0,7% dengan nilai RMSD 1,101 Å (**Tabel 4.2, Lampiran 6**). Dari **Tabel 4.2** juga diketahui bahwa model yang diminimisasi energinya memberikan hasil yang tidak lebih baik dibandingkan dengan model yang tidak diminimisasi, sehingga kemudian dipastikan bahwa model yang digunakan adalah model1.

Tabel 4.2. Analisis Stereokimia Model Hasil Homologi

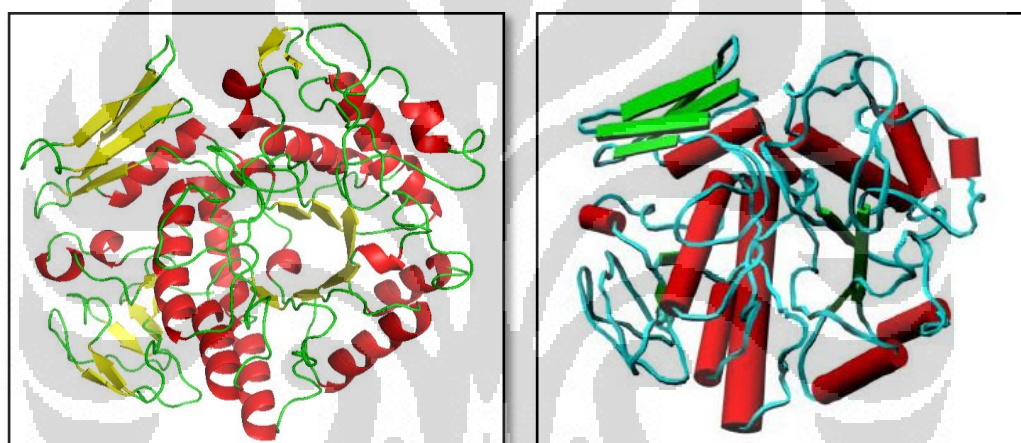
| Model α - Glukosidase | Region (%) | | | | Jumlah Dissallo wed Region | RMSD model terhadap 2QMJ (Å) |
|---------------------------------|----------------|-----------------------|-----------------------|-----------------|-------------------------------------|---------------------------------------|
| | Most Favour | Additional Allowed | Generously Allowed | Dissallo wed | | |
| Model 1 | 88,5 | 10,4 | 0,5 | 0,7 | 3 | 1,101 |
| Model 2 | 87,6 | 10,0 | 1,4 | 1,1 | 5 | 1,029 |
| Model 3 | 87,3 | 10,6 | 0,9 | 1,1 | 5 | 1,394 |
| Model 4 | 88,5 | 9,0 | 1,6 | 0,9 | 4 | 1,065 |
| Model 5 | 88,7 | 8,8 | 1,4 | 1,1 | 5 | 1,304 |
| Model 6 | 86,2 | 11,1 | 1,6 | 1,1 | 5 | 1,410 |
| Model 7 | 87,6 | 10,2 | 1,6 | 0,7 | 3 | 1,187 |
| Model 8 | 87,8 | 10,6 | 0,9 | 0,7 | 3 | 1,370 |
| Model 9 | 87,6 | 11,5 | 1,1 | 0,7 | 3 | 1,137 |
| Model 10 | 86,4 | 10,9 | 2,0 | 0,7 | 3 | 1,363 |
| Model 1* | 81,2 | 17,2 | 0,9 | 0,7 | 3 | 1,049 |
| Model 4* | 81,3 | 16,3 | 1,6 | 0,5 | 2 | 1,154 |
| Model 5* | 83,3 | 14,7 | 0,6 | 1,6 | 7 | 1,154 |
| Model 9* | 81,2 | 16,7 | 1,6 | 0,5 | 2 | 1,154 |

Ket: * = minimisasi dengan *steepest descent* 250 langkah dan *conjugate gradients* 750 langkah

Model 1 yang diperoleh dari hasil penelitian menunjukkan adanya kemiripan hasil dibandingkan dengan model yang dibuat oleh Saqib & Siddiqi (2008) yakni persentase residu pada wilayah yang sangat disukai 88,2% dan pada wilayah yang tidak disukai sebesar 0,5% (**Tabel 4.3**). Walaupun idealnya, suatu struktur dikatakan baik apabila memiliki residu lebih dari 90% pada daerah tersebut (Collaborative Computational Project, Number 4, 1994). Sedangkan evaluasi model secara visual dilakukan menggunakan PyMOL. Visualisasi dilakukan untuk melihat kemiripan model hasil homologi yang dibandingkan dengan cetakan. Perbandingan visualisasi model 1 dan model “Saqib & Siddiqi” dapat dilihat pada **Gambar 4.1**.

Tabel 4.3. Statistik plot ramachandran dari model α -glukosidase manusia

| Distribusi wilayah residu | Model 1 | | Model "Saqib & Siddiqi" | |
|---|---------------|------------|-------------------------|------------|
| | Jumlah residu | Persentase | Jumlah residu | Persentase |
| Residu pada <i>most favoured regions</i> | 391 | 88,5 % | 390 | 88,2 % |
| Residu pada <i>additional allowed regions</i> | 46 | 10,4 % | 45 | 10,2 % |
| Residu pada <i>generously allowed regions</i> | 2 | 0,5 % | 5 | 1,1 % |
| Residu pada <i>disallowed regions</i> | 3 | 0,7 % | 2 | 0,5 % |
| Total jumlah residu | 511 | | 511 | |



Gambar 4.1. Model α -glukosidase manusia. a) Visualisasi model 1 dengan PyMol, dan b) Visualisasi model "Saqib & Siddiqi".

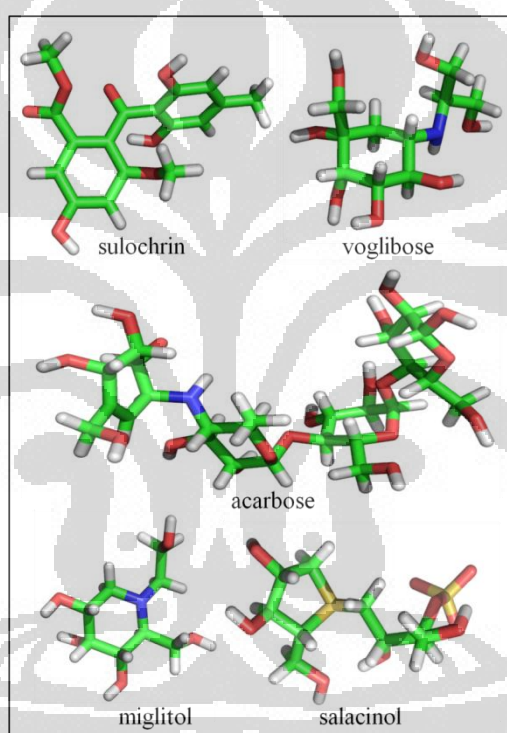
Berdasarkan hasil evaluasi dan dibandingkan dengan model yang dilaporkan oleh Saqib & Siddiqi (2008), disimpulkan bahwa model 1 dapat digunakan pada tahapan selanjutnya yakni penambatan molekuler dan simulasi dinamika molekuler.

4.2. Pembuatan Struktur Ligan

Ligan yang digunakan dalam penelitian ini adalah akarbose, miglitol, salasinol, dan voglibose sebagai kontrol, serta sulokrin yang merupakan senyawa yang dianalisis. Struktur tiga dimensi ligan dibuat menggunakan program MarvinSketch, yang kemudian diberi atom hidrogen dengan menggunakan OpenBabel dan pemberian muatan dengan menggunakan metode AM1-BCC pada

Antechamber. Struktur yang lebih baik diperoleh setelah melalui minimisasi dengan menggunakan Sander dan siap untuk digunakan dalam proses penambatan molekuler (**Lampiran 7, Lampiran 8**).

Torsi merupakan gaya putar dari suatu poros elastis dengan putaran kaku yang terikat pada poros sehingga semakin banyak torsi maka proses optimasi dan penambatan molekuler akan semakin lama. Diketahui bahwa nilai torsi pada akarbosa, miglitol, salasinol, voglibosa, dan sulokrin secara berturut-turut adalah sebagai berikut 22, 8, 12, 8, dan 12. Gambaran struktur ligan yang dibuat dapat dilihat pada **Gambar 4.2**.



Gambar 4.2. Visualisasi struktur 3 dimensi ligan dengan PyMOL

4.3. Penambatan Molekul Ligan terhadap Model α -Glukosidase

Sebelum dilakukan penambatan molekuler, parameter-parameter yang digunakan yakni parameter *grid* dan parameter penambatan disiapkan terlebih dahulu. Pengaturan *grid* meliputi penentuan koordinat dan volume (**Lampiran 11**). Koordinat penambatan diperoleh setelah proses pemotongan ligan akarbosa dengan cetakan 2QMJ yang kemudian ditambatkan kembali menggunakan Autodock4.2. Koordinat ini yang kemudian digunakan dalam penambatan molekuler yakni dengan pusat koordinat (X,Y,Z) -21,727; -6,323; dan -5,281.

Volume *grid* penambatan yang digunakan pada penelitian ini adalah 50x50x50 Å dengan *spacing* 0,375, volume ini menunjukkan nilai yang ΔG yang relatif lebih baik dengan proses penjalaran yang relatif lebih cepat dibandingkan dengan volume *grid* penambatan 40x40x40 Å dan 60x60x60 Å.

Pengaturan parameter penambatan meliputi penentuan algoritma, toleransi RMSD, jumlah penjalaran komputasi penambatan dan kecepatan evaluasi (**Lampiran 12**). Penambatan molekuler dijalankan dengan program Autodock4.2 melalui PuTTY dengan algoritma *Lamarckian Genetic Algorithm* (*Lamarckian GA*), algoritma ini dipilih karena merupakan perpaduan antara pencarian optimum lokal (*local search*) dan pencarian optimum global (*genetic algorithm*). Batas toleransi dan jumlah penjalaran komputasi penambatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah masing-masing sebesar 2.0 Å dan 256 kali, nilai ini merupakan batas standar yang diberikan oleh program Autodock4.2. Sedangkan kecepatan evaluasi evaluasi yang digunakan dalam penelitian ini yakni sebanyak 25 juta kali, nilai yang digunakan ditentukan berdasarkan hasil percobaan dan nilai tersebut merupakan jumlah yang memberikan skor penambatan relatif lebih baik dengan waktu yang paling efisien.

Dengan pengaturan parameter-parameter seperti yang disebutkan di atas, proses komputasi penambatan molekul ligan terhadap α -Glukosidase berlangsung selama lebih kurang 110 jam untuk akarbose, 22 jam untuk miglitol, 36 jam untuk salasinol, 24 jam untuk sulokrin, dan 21 jam untuk voglibose.

Pada penambatan molekul ligan terhadap α -Glukosidase terdapat satu tahapan yang terlewat yakni penambahan atom hidrogen pada α -Glukosidase, tahapan ini cukup penting mengingat ikatan hidrogen pada α -Glukosidase dengan senyawa ligan mempengaruhi kestabilan dari penambatan molekul ligan. Peneliti kemudian melakukan penambatan molekul ligan terhadap α -Glukosidase yang telah ditambahkan atom hidrogen untuk memastikan sejauh mana perbedaan hasil penambatan. Hasil dari penambatan tersebut menunjukkan tidak terjadinya perbedaan yang cukup berarti, memang nilai ΔG dan K_i cenderung lebih baik (**Tabel 4.4**), namun perbedaan tersebut relatif rendah dan pose atau interaksi ligan terhadap α -glukosidase tidak terjadi perubahan atau dapat dikatakan sama persis. Maka dari itu peneliti yakin bahwa hasil penambatan pertama (dengan α -

Glukosidase tanpa penambahan hidrogen) tetap dapat digunakan untuk melanjutkan proses selanjutnya yakni simulasi dinamika molekuler. Walaupun untuk penelitian selanjutnya disarankan penggunaan model α -Glukosidase dengan penambahan hidrogen.

Pada penelitian ini, juga dilakukan percobaan untuk melihat sejauh mana torsi aktif berpengaruh pada nilai ΔG dan K_i dari hasil penambatan molekuler. Pengaruh torsi aktif tersebut dapat dilihat pada akarbose. Akarbose memiliki torsi aktif berjumlah 22, sedangkan pada akarbose* jumlah torsi aktif dikurangi menjadi 9 berdasarkan torsi aktif pada ligan kristal yang dilaporkan Sim, et al. (2008) pada *database* PDB. Pada **Tabel 4.4** ditunjukkan bahwa nilai ΔG dan K_i akarbose yang memiliki torsi aktif 22 masih lebih baik dibandingkan torsi aktif 9, yakni -7,80 dan -5,64 kkal/mol, serta 2,12 dan 74,47 μM . Hal ini dapat disebabkan oleh makin banyaknya torsi aktif maka semakin besar kemungkinan konformasi ikatan yang terjadi.

Tabel 4.4. Perbandingan hasil penambatan ligan dengan α -glukosidase

| Nama | Model 1 tanpa hidrogen | | | | Model 1 dengan hidrogen | | | |
|-----------|------------------------|-------|-------------------------|--------|-------------------------|-------|-------------------------|--------|
| | ΔG (kkal/mol) | | K_i (μM) | | ΔG (kkal/mol) | | K_i (μM) | |
| | BE | BC | BE | BC | BE | BC | BE | BC |
| Sulokrin | -6,90 | -6,44 | 8,74 | 19,13 | -7,02 | -4,85 | 7,20 | 276,91 |
| Akarbose | -7,80 | -7,80 | 2,12 | 2,12 | -7,29 | -7,11 | 4,51 | 6,15 |
| Akarbose* | -5,64 | -5,16 | 74,47 | 159,23 | -5,76 | -5,76 | 60,33 | 60,33 |
| Voglibose | -7,60 | -7,28 | 2,77 | 5,57 | -7,84 | -7,34 | 1,80 | 4,15 |
| Miglitol | -6,56 | -6,45 | 15,57 | 17,87 | -6,74 | -6,52 | 11,52 | 16,68 |
| Salasinol | -4,75 | -4,40 | 482,55 | 841,45 | -5,50 | -4,08 | 93,16 | 103,00 |

Ket: Model 1 tanpa hidrogen: rata-rata dari $n = 3$, baik untuk ΔG dan K_i ; BE: *Best Energy*; BC: *Best Cluster*; akarbose*: jumlah torsi = 9 (menyesuaikan torsi ligan kristal)

4.4. Analisis Hasil Penambatan Molekuler

Analisis ligan yang telah ditambatkan pada α -glukosidase dapat dilihat melalui skor penambatan molekuler hasil penambatan molekuler dan melalui visual dengan melihat pose dan residu dari α -glukosidase yang berinteraksi dengan masing-masing ligan.

Skor penambatan molekuler mencakup energi bebas dan konstanta inhibisi (K_i), tercantum pada berkas `.dlg` hasil penambatan molekuler menggunakan

Autodock4.2 berupa data yang telah diurutkan dalam klaster. Setiap hasil penambatan molekuler yang berjumlah 256 konformasi, dikelompokkan atas klaster-klaster dan energi berdasarkan kemiripan posisi dengan toleransi RMSD maksimum = 2 Å. Dari hasil penambatan dengan Autodock4.2 dapat diperoleh hasil yang konvergen dan divergen (**Tabel 4.5**, **Tabel 4.6**). Hasil yang konvergen adalah hasil penambatan dengan energi terendah terdapat pada konformasi klaster terbanyak, sedangkan hasil divergen didapatkan ketika energi terendah tidak terdapat pada klaster terbanyak.

Nilai energi bebas pada hasil penambatan molekul ligan menunjukkan bahwa akarbosa masih menunjukkan nilai yang lebih baik dibandingkan dengan ligan-ligan lain. Berdasarkan peringkat nilai ΔG pada **Tabel 4.5** menunjukkan bahwa akarbosa berada pada urutan pertama dan selanjutnya disusul oleh voglibosa, sulokrin, miglitol, dan terakhir salasinol dengan nilai masing-masing yakni -7,80; -7,46; -6,96; -6,54 dan -4,80 kkal/mol. Hasil yang sama juga ditunjukkan pada nilai konstanta inhibisi yakni peringkat pertama adalah akarbosa yang disusul oleh voglibosa, sulokrin, miglitol, dan salasinol dengan nilai masing-masing yakni 2,12; 2,77; 8,74; 15,47 dan 482,55 μM (**Tabel 4.6**). Semakin rendah nilai energi bebas (ΔG) menunjukkan semakin stabilnya ikatan antara ligan dengan protein target, sedangkan semakin rendah nilai konstanta inhibisi (K_i) maka penghambatan yang ditunjukkan oleh ligan terhadap aktivitas protein target semakin efektif.

Tabel 4.5. Energi bebas (ΔG) pada hasil penambatan senyawa ligan terhadap α -Glukosidase menggunakan Autodock4.2

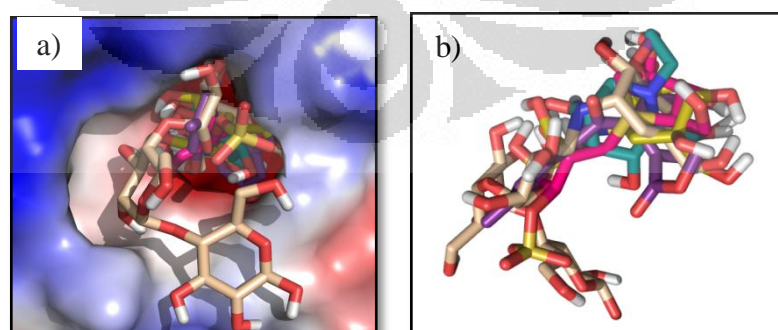
| Nama | Data ΔG | | | | | | | | | |
|------------------|-----------------|-------|-------|-------------------------------|------|--------------|-------|-------|-------------------------------|------|
| | Best Energy | | | | | Best Cluster | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | Mean ΔG (kkal/mol) | SD | 1 | 2 | 3 | Mean ΔG (kkal/mol) | SD |
| Sulokrin | -6,89 | -6,86 | -6,96 | -6,90 | 0,05 | -6,45 | -6,42 | -6,44 | -6,44 | 0,02 |
| Akarbose | -7,45 | -7,98 | -7,96 | -7,80 | 0,30 | -7,45 | -7,98 | -7,96 | -7,80 | 0,30 |
| Akarbose* | -5,63 | -5,54 | -5,74 | -5,64 | 0,10 | -5,47 | -4,86 | -5,15 | -5,16 | 0,31 |
| Voglibosa | -7,79 | -7,54 | -7,46 | -7,60 | 0,17 | -7,52 | -7,12 | -7,19 | -7,28 | 0,21 |
| Miglitol | -6,49 | -6,64 | -6,54 | -6,56 | 0,08 | -6,49 | -6,41 | -6,45 | -6,45 | 0,04 |
| Salasinol | -4,25 | -4,66 | -4,80 | -4,57 | 0,29 | -4,25 | -4,66 | -4,28 | -4,40 | 0,23 |

Tabel 4.6. Konstanta inhibisi (Ki) pada hasil penambatan senyawa ligan terhadap α -Glukosidase menggunakan Autodock4.2

| Data Ki | | | | | | | | | | |
|------------------|-------------|--------|-------|--------------------|--------|--------------|--------|--------|--------------------|--------|
| Nama | Best energy | | | | | Best Cluster | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | Mean Ki (μ M) | SD | 1 | 2 | 3 | Mean Ki (μ M) | SD |
| Sulokrin | 8,88 | 9,41 | 7,94 | 8,74 | 0,74 | 18,81 | 19,58 | 18,99 | 19,13 | 0,40 |
| Akarbose | 3,47 | 1,42 | 1,46 | 2,12 | 1,17 | 3,47 | 1,42 | 1,46 | 2,12 | 1,17 |
| Akarbose* | 75,04 | 86,24 | 62,14 | 74,47 | 12,06 | 98,47 | 272,97 | 106,24 | 159,23 | 98,58 |
| Voglibose | 1,96 | 2,97 | 3,38 | 2,77 | 0,73 | 5,33 | 6,04 | 5,33 | 5,57 | 0,41 |
| Miglitol | 17,56 | 13,61 | 16,08 | 15,75 | 2,00 | 17,56 | 19,98 | 16,08 | 17,87 | 1,97 |
| Salasinol | 760,48 | 383,88 | 303,3 | 482,55 | 244,04 | 760,48 | 1030,0 | 733,87 | 841,45 | 163,83 |

Pada Tabel 4.6 ditunjukkan bahwa salasinol memiliki nilai Ki dengan standar deviasi tinggi 244,04 dan 163,83. Hal ini dapat disebabkan karena adanya muatan pada struktur salasinol (**Gambar 2.7**), sehingga membutuhkan preparasi khusus pada proses penambatan molekuler, mungkin seperti penambahan model air, pengaturan fleksibilitas residu asam amino, dan lain-lain yang harus di validasi lebih lanjut.

Analisis secara visual dilakukan dengan membandingkan pose dan interaksi antara ligan dengan residu protein pada α -glukosidase. Secara umum, ligan telah menempati situs aktif yang sesuai pada α -glukosidase. Perbandingan visualisasi hasil penambatan senyawa ligan dengan α -glukosidase dapat dilihat pada **Gambar 4.3**. Terlihat bahwa pose masing-masing ligan saling berhimpitan satu sama lain dan berada pada situs aktif yang sama.



Ket: a) Tampak depan, b) Tampak samping (diputar 90° berlawanan arah jarum jam)

Gambar 4.3. Perbandingan visualisasi hasil penambatan senyawa ligan sulokrin (ungu), akarbose (coklat), miglitol (hijau), voglibose (kuning) dan salasinol (merah muda) terhadap α -glukosidase manusia.

Situs aktif α -glukosidase berbentuk kantung dengan domain residu GH 31 khususnya Asp398, Asp587, His645, dan Arg571. Pada salah satu cetakan NtMGAM, domain residu penting adalah Asp 203 yang membantu dalam pengikatan substrat. Meskipun pada α -glukosidase residu tersebut diganti oleh His274. Residu Trp472 dan Phe518 menjadi residu yang penting pada pembukaan situs aktif dan berkontribusi terhadap bentuk situs pengikatan substrat. Residu tambahan lain yang terkait dengan tempat pengikatan gula termasuk Asp511, Trp370, Ile399, Ile435, Trp509, dan Met512. Asp511 bekerja sebagai nukleofil katalitik, sedangkan Asp587 merupakan bagian dari GH 31 yang sangat terkonservasi sehingga cenderung membuatnya menjadi kandidat untuk katalis asam/basa. Sebagian besar famili GH31 memiliki residu aromatik pada posisi yang berkaitan dengan Trp370 (Saqib & Siddiqi, 2008).

Hasil penambatan molekul-molekul ligan terhadap α -glukosidase menunjukkan bahwa telah terjadi interaksi yang sesuai pada residu protein dari α -glukosidase (GANC). Terdapat beberapa perbedaan interaksi antara masing-masing ligan dengan residu protein α -glukosidase. Hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan struktur dari masing-masing ligan. Secara keseluruhan, hampir semua ligan berinteraksi dengan residu-residu penting seperti His274, Arg571, Asp587, Asp511, Asp398, His645, Trp370, Trp472, dan Phe518. Sedangkan pada residu tambahan lain yang terkait dengan pengikatan gula, hampir semua ligan berinteraksi dengan Phe620, Ile399 dan Trp509 serta satu atau dua ligan berinteraksi dengan Asn649, Ile621, Ile435, Met 512, Thr647, Leu276, Arg519, Met648, Gly622, Thr650, Trp584, Asp516, Asn623 dan Lys 275. Untuk lebih jelasnya dapat dilihat pada **Tabel 4.7**.

Hasil penambatan sulokrin pada α -glukosidase menunjukkan adanya ikatan hidrogen dengan residu Asp587, His645, Asp398, dan Arg571 untuk konformasi *best energy* dan pada Asp587, Arg571, dan Asn588 untuk konformasi *best cluster*. Ikatan hidrogen pada residu tersebut terjadi dengan gugus elektronegatif dari sulokrin seperti O pada nomor 2, dan -OH pada nomor 12 dan 6. Ikatan hidrogen yang terjadi pada konformasi *best energy* dan *best cluster* masing-masing memiliki jarak antara 1,75-2,58 Å dan 1,9-2,7 Å (**Tabel 4.8**, **Gambar 4.4**, **Gambar 4.5**).

Hasil penambatan akarbose pada α -glukosidase menunjukkan adanya ikatan hidrogen dengan residu Asp587, His645, Asp398, Arg571. Ikatan hidrogen pada residu tersebut terjadi dengan gugus elektronegatif -OH. Ikatan hidrogen yang terjadi memiliki jarak antara 1,83-2,98 Å (**Tabel 4.8, Gambar 4.6**).

Hasil penambatan voglibose pada α -glukosidase menunjukkan adanya ikatan hidrogen dengan residu Asp587, Asp511, Asp398, dan Arg571. Ikatan hidrogen pada residu tersebut terjadi dengan gugus elektronegatif dari voglibose yakni -OH pada nomor 3, 8, 9, 11, dan 14. Ikatan hidrogen yang terjadi memiliki jarak antara 1,76-2,84 Å (**Tabel 4.8, Gambar 4.7**).

Hasil penambatan miglitol pada α -glukosidase menunjukkan adanya ikatan hidrogen dengan residu His645, Asp398, Asp 587, Arg 571, Trp472, dan Asp437. Ikatan hidrogen pada residu tersebut terjadi dengan gugus elektronegatif dari miglitol yakni -OH pada nomor 4, 8, 9, 15, dan 16. Ikatan hidrogen yang terjadi memiliki jarak antara 1,8-2,9 Å (**Tabel 4.8, Gambar 4.8**).

Hasil penambatan salasinol pada α -glukosidase menunjukkan adanya ikatan hidrogen dengan residu His274, His645, Asp587, Asp511, dan Asp398. Ikatan hidrogen pada residu tersebut terjadi dengan gugus elektronegatif dari salasinol yakni -OH pada nomor 3, 7, 5, 16, dan 17. Ikatan hidrogen yang terjadi memiliki jarak antara 1,7-2,1 Å (**Tabel 4.8, Gambar 4.9**).

Konformasi kontrol positif hasil penambatan molekul ligan terhadap α -glukosidase yang selanjutnya dipilih untuk proses simulasi dinamika molekuler berdasarkan analisis adalah akarbose sebagai kontrol positif dengan molekul besar, voglibose sebagai kontrol positif dengan molekul kecil. Kedua molekul ini dipilih berdasarkan kesesuaian hasil analisis pada skor penambatan (ΔG dan K_i) maupun pose dan interaksi antara ligan dengan residu protein α -glukosidase yang relatif lebih baik dan sesuai dibandingkan dengan salasinol dan miglitol.

4.5. Simulasi Dinamika Molekul Ligan terhadap Model α -Glukosidase

Simulasi dinamika molekuler kompleks α -glukosidase dan ligan dilakukan dengan program Amber. Simulasi dinamika molekuler dilakukan dengan beberapa tahapan yakni persiapan berkas masukan, pembuatan koordinat dan topologi ligan, minimisasi, ekuilibrasi, produksi, dan analisis.

Simulasi dinamika molekuler memerlukan berkas masukan yang harus disiapkan terlebih dahulu meliputi persiapan makromolekul dan molekul ligan. Ligan yang digunakan pada simulasi dinamika molekuler adalah dua konformasi sulokrin yakni berdasarkan energi dan klaster terbaik sebagai senyawa ligan yang diuji, kemudian akarbose dengan konformasi berdasarkan energi dan klaster terbaik sebagai kontrol positif untuk molekul besar dan voglibose dengan konformasi berdasarkan klaster terbaik sebagai kontrol positif untuk molekul kecil. Konformasi tersebut diekstrak dengan menggunakan VegaZZ dan disimpan dalam berkas .pdb. Berkas tersebut kemudian dibuka dengan UCSF Chimera untuk memisahkan ligand dari makromolekul. Berkas .pdb makromolekul maupun ligan hasil pemisahan UCSF Chimera dilakukan perubahan pada isinya, yaitu dengan penghilangan informasi *CONNECT* dengan maksud agar berkas dapat terbaca oleh AMBER. Sedangkan penambahan kata TER sebelum kata END pada akhir berkas .pdb menunjukkan kata terminal. Dalam hal ini berkas .pdb makromolekul sudah dapat digunakan untuk simulasi, sedangkan berkas .pdb ligan harus diubah terlebih dahulu menjadi berkas .mol2 menggunakan OpenBabel. Atom hidrogen yang hilang pada molekul ligan ditambahkan melalui OpenBabel saat konversi format berkas, sedangkan untuk atom hidrogen yang hilang pada makromolekul α -glukosidase ditambahkan menggunakan program tLeap pada *software* Amber.

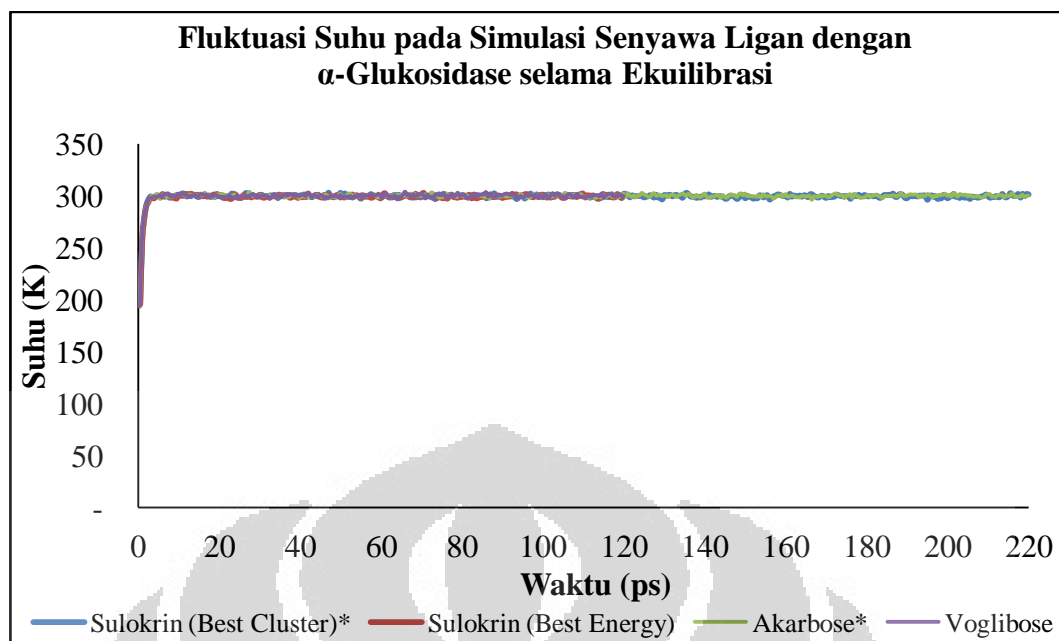
Tahapan kedua adalah pembuatan topologi dan koordinat ligan, makromolekul, kompleks ligan-makromolekul dalam suasana vakum dan dalam pelarut air. Tahapan ini dilakukan agar simulasi berlangsung pada posisi yang tetap dan tidak ada perubahan struktur dari atom-atom *backbone* residu maupun ligan. Pada tahap ini juga dilakukan penambahan *counter-ions* (Ion Na^+) untuk membuat sistem menjadi netral dan seluruh sistem dilarutkan pada model air TIP3P dalam kotak oktahedron untuk mengefisienkan waktu simulasi dan jarak kotak minimal 12 Å yang merupakan jarak standar yang digunakan pada program ini (**Lampiran 14**).

Tahapan ketiga adalah minimisasi energi. Tahapan ini dilakukan untuk merelaksasi sistem dan dilakukan dalam dua tahapan: tahap pertama merupakan

minimisasi terhadap molekul air saja, dan tahap kedua merupakan minimisasi terhadap seluruh sistem yaitu ligan dan molekul air (**Lampiran 15**).

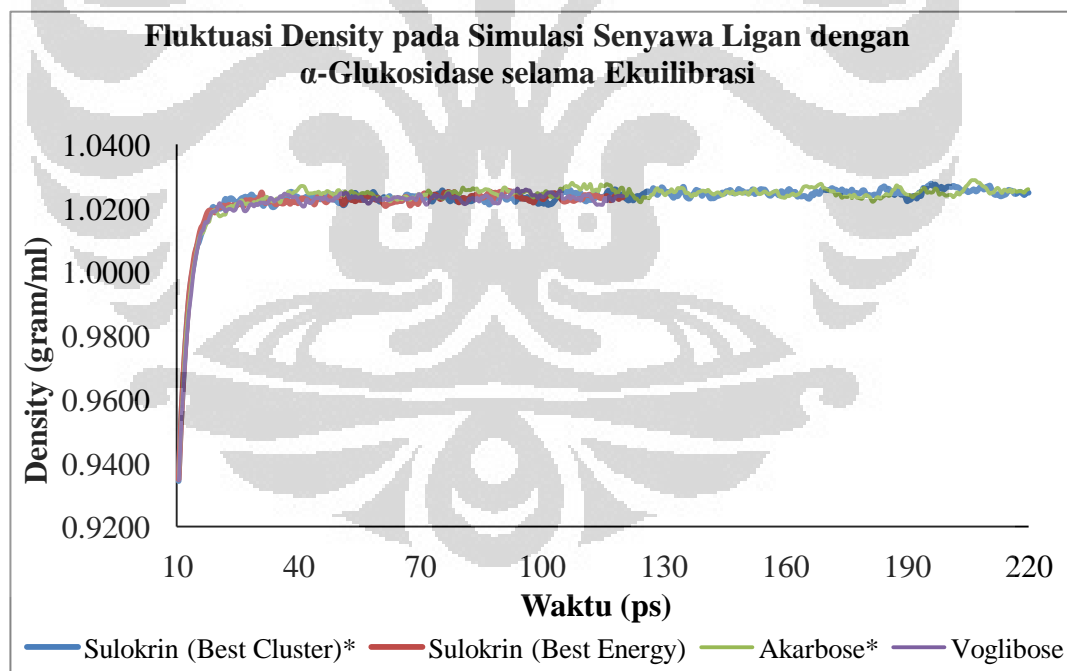
Tahapan keempat adalah proses ekuilibrasi yang dilakukan untuk menstabilkan sistem sehingga keadaannya konstan sebelum dilakukan produksi. Tahap ekuilibrasi dilakukan dalam 3 tahapan. Pada tahapan pertama, dilakukan ekuilibrasi untuk membuat volume yang konstan dan menaikkan suhu dari 0 K menjadi 300 K. Ekuilibrasi tahapan kedua dan ketiga dilakukan untuk membuat seluruh sistem berada pada suhu dan tekanan yang konstan (**Lampiran 16**).

Sebelum produksi dimulai, harus dilakukan pengecekan pada empat parameter yakni suhu, berat jenis, energi potensial dan RMSD (*Root Mean Square Deviation*) untuk mengetahui apakah sistem sudah siap untuk dilakukan produksi dinamika molekuler atau belum. Parameter suhu, berat jenis, energi potensial, dan RMSD pada hasil ekuilibrasi ketiga kompleks sulokrin dengan konformasi energi terbaik dan voglibose terhadap α -glukosidase telah menunjukkan angka yang konstan yakni lebih kurang 300 K untuk suhu pada 4-120 ps, 1,02 gram/ml untuk berat jenis pada 18-120 ps, -186,000 kkal/mol untuk energi potensial pada 20-120 ps, sedangkan nilai RMSD menunjukkan angka konstan lebih kurang 0,2-0,4 Å untuk sulokrin dengan konformasi energi terbaik pada 0-100 ps dan 1,2-1,4 Å untuk voglibose pada 60-100 ps. Sedangkan kompleks sulokrin dengan konformasi klaster terbaik dan akarbose terhadap α -glukosidase, parameter suhu, berat jenis, energi potensial, dan RMSD menunjukkan angka konstan pada hasil ekuilibrasi keempat yakni lebih kurang 300 K untuk suhu pada 4-120 ps, 1,02 gram/ml untuk berat jenis pada 18-120 ps, -186,000 kkal/mol untuk energi potensial pada 20-120 ps, dan 0,8-1,0 Å untuk RMSD pada 40-100 ps (**Gambar 4.10, Gambar 4.11, Gambar 4.12, Gambar 4.13**).



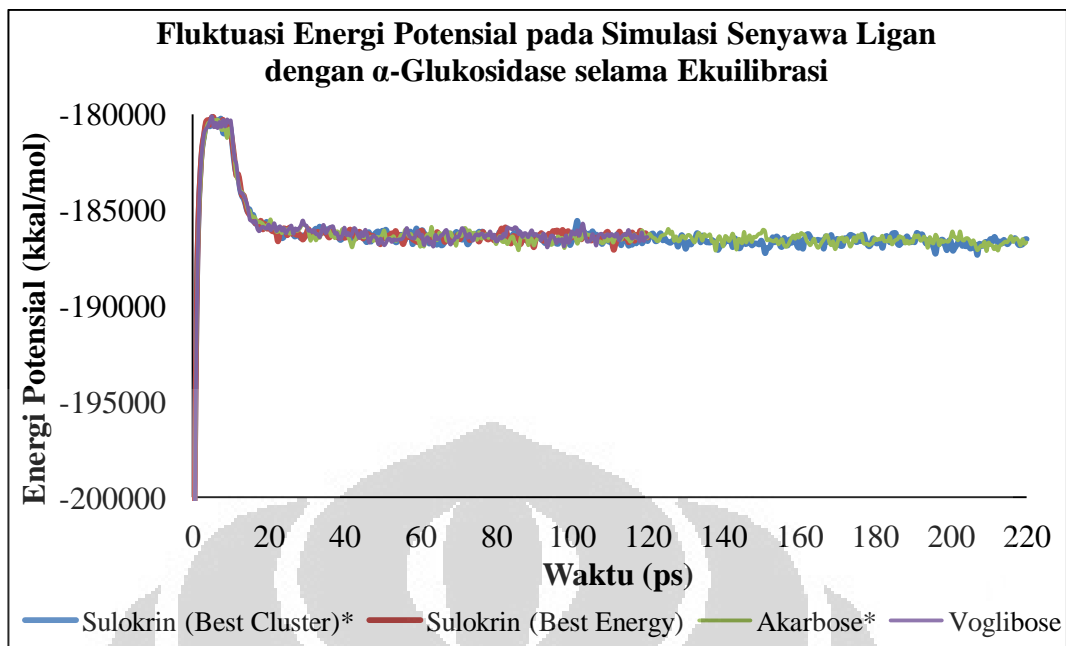
Ket: *) Hasil Ekuilibrasi 4

Gambar 4.10. Fluktuasi suhu pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase selama ekuilibrasi



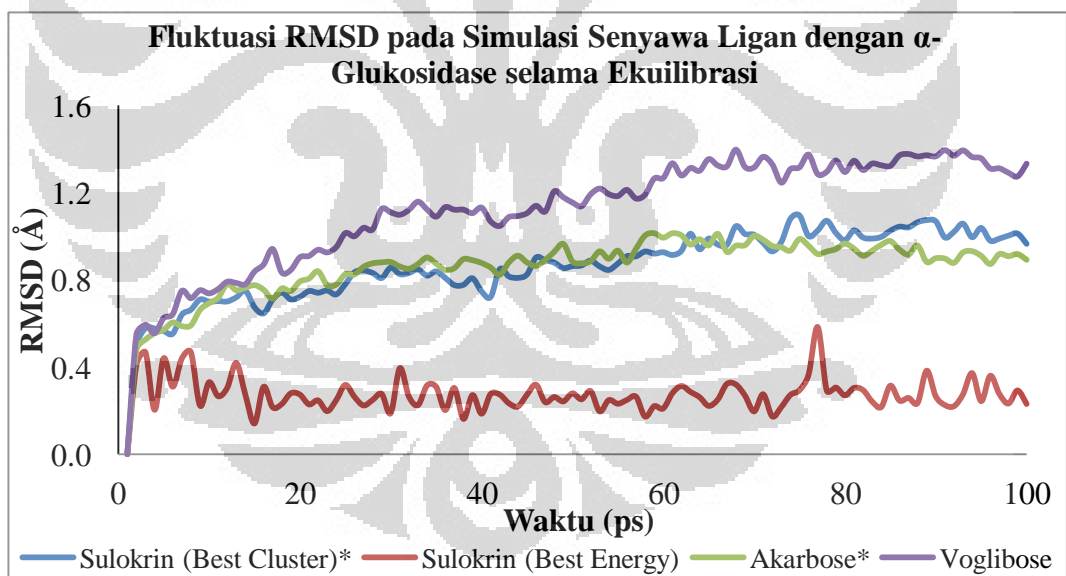
Ket: *) Hasil Ekuilibrasi 4

Gambar 4.11. Fluktuasi berat jenis pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase selama ekuilibrasi



Ket: *) Hasil Ekuilibrasi 4

Gambar 4.12. Fluktuasi energi potensial pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase selama ekuilibrasi



Ket: *) Hasil Ekuilibrasi 4

Gambar 4.13. Fluktuasi RMSD pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase selama ekuilibrasi

Tahapan selanjutnya yakni memasuki proses produksi. Proses produksi menggunakan algoritma *weak-coupling* dapat dilakukan setelah keempat parameter suhu, energi potensial, RMSD, dan RMSF terpenuhi, ditunjukkan dengan nilai yang konstan. Pada penelitian ini simulasi dilakukan selama 2ns,

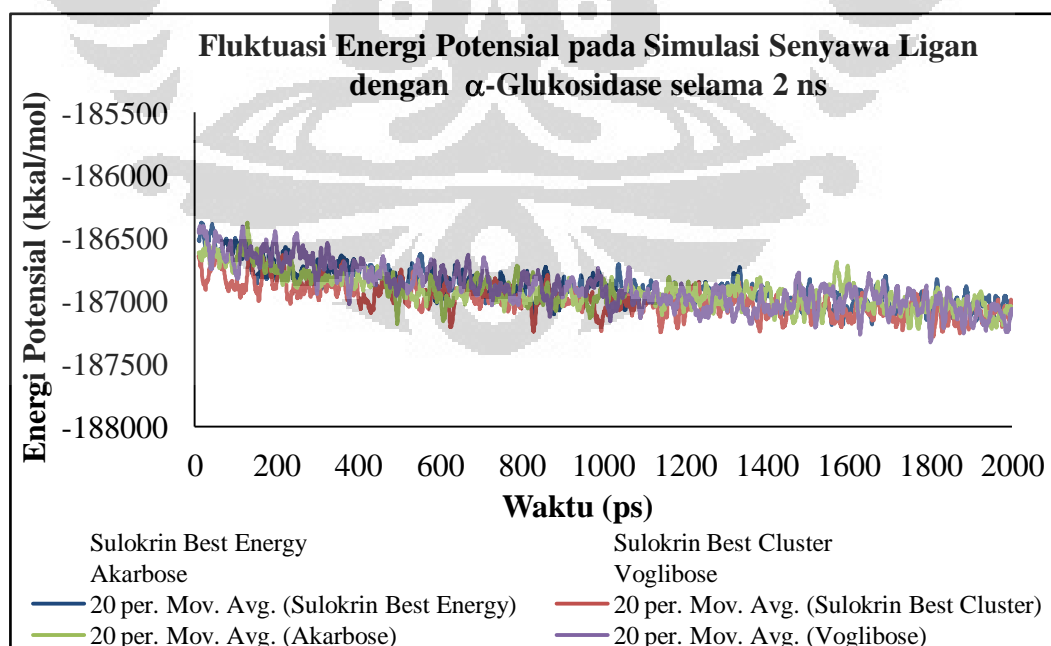
Universitas Indonesia

angka ini merupakan waktu standar minimal hasil dari suatu simulasi dapat dipublikasi. Untuk mencapai waktu 2 ns, produksi dilakukan selama 10 kali dari satu kali produksi yang menghasilkan simulasi selama 200 ps. Hal ini dilakukan untuk menghindari terjadinya gangguan teknis pada saat dilakukan simulasi. Simulasi dinamika molekuler menerapkan prosedur SHAKE dan *Particle Mesh Ewald* (PME) dengan *cut off* 12 untuk membatasi interaksi elektrostatik diluar rentang 12 Å. Selama proses pengambilan sampel, koordinat disimpan setiap 0,5 ps untuk perhitungan energi bebas pengikatan dan analisis dekomposisi.

4.6. Analisis Hasil Simulasi Dinamika Molekuler

4.6.1. Energi potensial

Penurunan energi potensial menunjukkan terjadinya relaksasi sistem pada awal simulasi yang disebabkan terjadinya penyesuaian diri dari kompleks ligan – α -glukosidase dengan lingkungannya yang berupa air TIP3P. penurunan energi potensial pada simulasi terjadi pada awal simulasi yakni pada 0-1 ns. Fluktuasi energi potensial pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase menunjukkan angka konstan mulai dari 1 ns hingga akhir simulasi dengan nilai kisaran lebih kurang -186.200 hingga -187.700 kkal/mol, sistem telah berusaha mencapai kestabilan internal (**Gambar 4.14**).



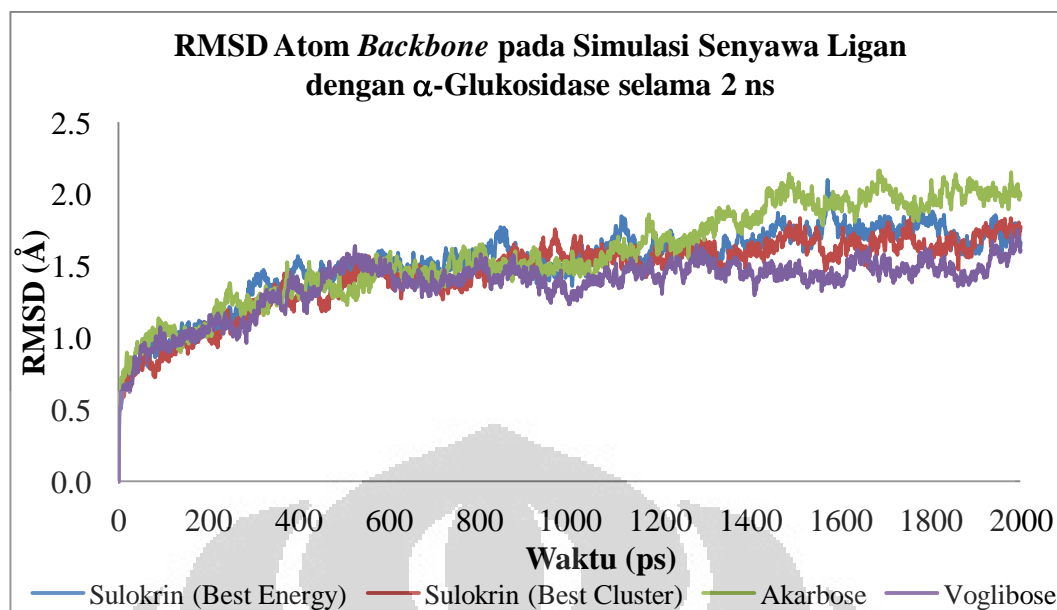
Gambar 4.14. Fluktuasi energi potensial pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase dalam produksi selama 2 ns

4.6.2. RMSD (*Root Mean Square Deviation*)

RMSD (*Root Mean Square Deviation*) atau akar kuadrat rata-rata deviasi merupakan suatu ukuran yang sering digunakan dalam geometri 3D molekul untuk membandingkan perubahan atau pergeseran konformasi molekul. Untuk memastikan stabilitas dinamika dan rasionalitas pengambilan sampel dari empat kompleks, nilai RMSD atom *backbone* protein dihitung mulai dari awal simulasi dan diplot dengan waktu seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 4.15**.

Secara keseluruhan, terlihat bahwa waktu yang dibutuhkan agar keempat kompleks dalam konformasi stabil relatif sama. Selama simulasi senyawa sulokrin baik pada konformasi energi maupun cluster terbaik dan senyawa kontrol akarbose maupun voglibose mengalami peningkatan RMSD atom *backbone* pada 0,5 ns di awal simulasi. Selanjutnya ketiga kompleks yakni sulokrin dengan konformasi energi maupun klaster terbaik dan voglibose cenderung stabil hingga simulasi berakhir. Sedangkan pada akarbose, terjadi fluktuasi RMSD atom *backbone* pada 1,4 ns dan stabil kembali hingga akhir simulasi (**Gambar 4.15**). Simulasi perlu dijalankan dalam waktu lebih lama untuk mengamati lebih lanjut fluktuasi yang terjadi pada keempat kompleks terutama akarbose, serta mendapatkan nilai RMSD yang lebih stabil dan analisa dapat dilakukan lebih baik dan lebih mendalam.

Peningkatan nilai RMSD menunjukkan bahwa struktur enzim mulai terbuka dan ligan mulai mencari sisi ikatan atau koordinat yang sesuai pada protein tersebut. Sedangkan, nilai RMSD yang mulai stabil menandakan bahwa konformasi maksimal protein setelah terikat dengan ligan mulai tercapai sehingga protein mampu mempertahankan posisinya. Selain itu, adanya interaksi antar residu pada enzim membuat protein cenderung mempertahankan strukturnya.



Gambar 4.15. Fluktuasi RMSD pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase dalam produksi selama 2 ns

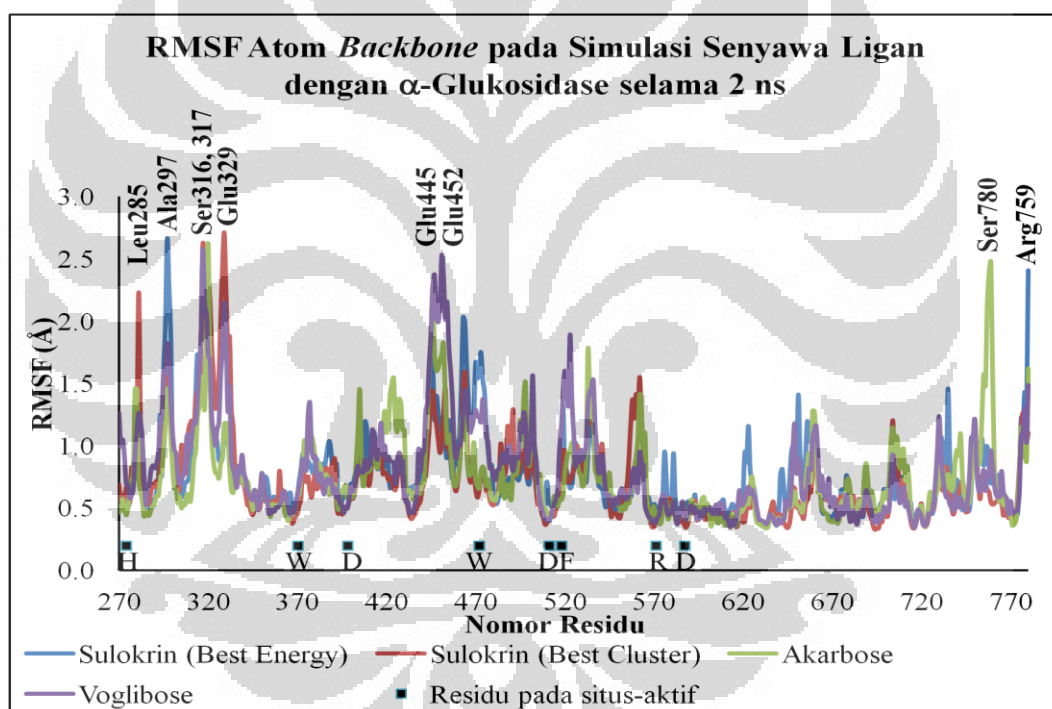
Nilai RMSD berada pada kisaran lebih kurang 1,5-2 Å. RMSD tertinggi dicapai oleh akarbose yakni sebesar ± 2 Å dan nilai terendah dicapai oleh voglibose yakni sebesar $\pm 1,5$ Å, sedangkan untuk senyawa sulokrin baik pada konformasi *best energy* maupun *best cluster* memiliki kecenderungan sama dengan nilai RMSD pada posisi median dibandingkan dengan kedua kontrol positif (akarbose dan voglibose) yakni sebesar $\pm 1,6$ Å (**Gambar 4.15**). Terlihat bahwa, sistem kompleks voglibose secara berturut-turut cenderung lebih stabil dibandingkan dengan sulokrin dan akarbose. Perbedaan ini dapat disebabkan oleh bentuk struktur ligan, akarbose memiliki struktur lebih besar dengan torsi yang lebih banyak dibandingkan dengan sulokrin maupun voglibose sehingga usaha untuk mencapai kestabilan konformasi lebih besar.

4.6.3. RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*)

RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*) atau akar kuadrat rata-rata fluktuasi adalah dalah ukuran dari deviasi antara posisi partikel dan beberapa posisi referensi. Berbeda dengan RMSD, RMSF dihitung terhadap masing-masing residu penyusun protein yakni melihat sejauh mana fluktuasi pergerakan masing-masing residu selama simulasi berlangsung. Nilai RMSF menggambarkan pergeseran konformasi setiap residu asam amino yang memberikan fleksibilitas protein.

RMSF ditentukan dari waktu saat energi potensial memiliki fluktuasi minimal yakni dimulai dari 1 ns hingga akhir simulasi.

Residu asam amino yang memiliki fleksibilitas tinggi dan tidak stabil adalah Leu285, Ala297, Ser316, Ser317, Glu329, Glu445, Glu452, Ser780, dan Arg759, residu tersebut paling banyak mengalami perubahan posisi saat simulasi dinamika berlangsung (**Gambar 4.16**). Namun, residu-residu tersebut bukan merupakan residu yang berperan penting pada situs pengikatan. Pada **Gambar 4.16** menunjukkan bahwa residu asam amino yang penting pada situs-aktif pengikatan yakni His274, Trp370, Asp398, Trp472, Phe518, Asp511, Arg571, dan Asp587 tidak memberikan fleksibilitas tinggi dan dapat dikatakan merupakan residu yang stabil.



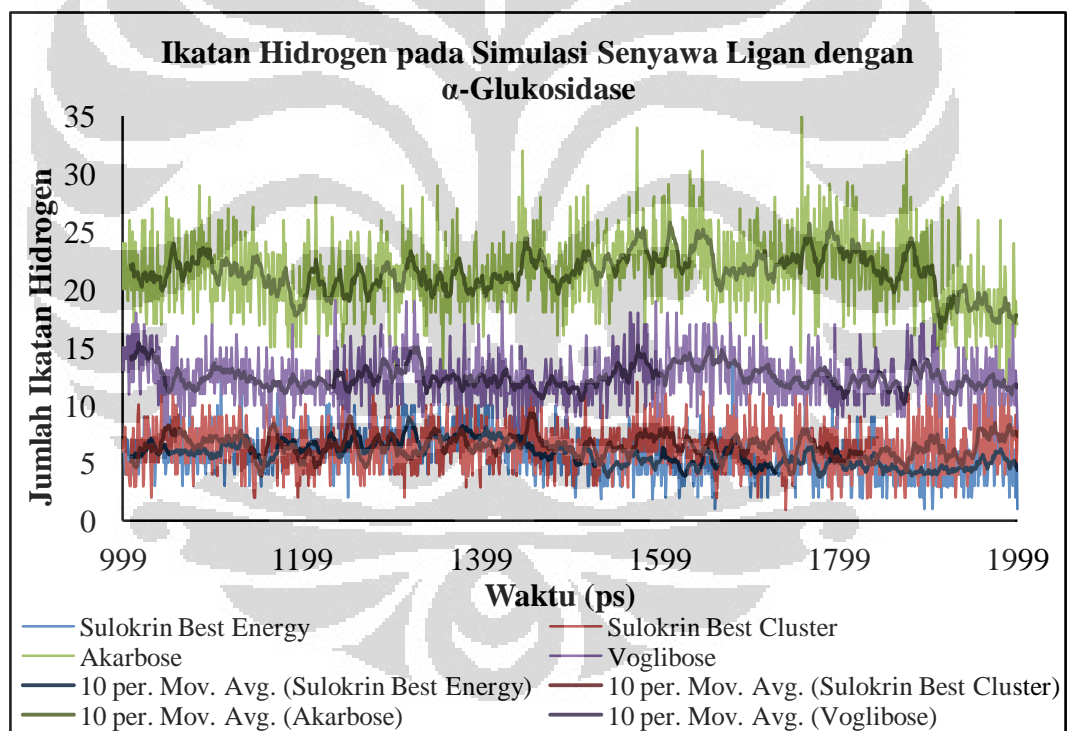
Gambar 4.16. Fluktuasi RMSF pada simulasi senyawa ligan dengan α -glukosidase dalam produksi selama 2 ns

4.6.4. Kondisi ikatan hidrogen

Analisis kondisi ikatan hidrogen dilakukan setelah tercapai kestabilan pada proses simulasi yang ditandai dengan stabilnya nilai energi potensial dan RMSD yakni setelah simulasi berjalan selama 1 ns. Ikatan hidrogen terjadi ketika sebuah molekul memiliki atom N, O, atau F yang mempunyai pasangan elektron bebas,

kemudian hidrogen dari molekul lain akan berinteraksi dengan pasangan elektron bebas ini membentuk suatu ikatan hidrogen dengan besar ikatan bervariasi.

Hasil simulasi menunjukkan bahwa rata-rata jumlah ikatan hidrogen yang terjadi antara α -glukosidase dengan akarbose sebanyak 22 ikatan lebih besar dibandingkan dengan voglibose dan sulokrin yakni 13 dan 7 (**Gambar 4.17**, **Lampiran 20**). Perbedaan jumlah ikatan ini dapat disebabkan oleh perbedaan struktur ligan. Akarbose dan voglibose memiliki atom N yang mempunyai pasangan elektron bebas, sedangkan jumlah atom O yang memiliki pasangan elektron terbanyak dimiliki oleh ligan akarbose, kemudian voglibose dan terakhir sulokrin. Atau dengan kata lain, akarbose memiliki jumlah donor dan akseptor lebih banyak yakni sebesar 14 dan 19, dibandingkan dengan voglibose yakni 8 dan 8, serta sulokrin dengan jumlah 3 dan 8.



Gambar 4.17. Fluktuasi Jumlah Ikatan Hidrogen pada Simulasi Senyawa Ligan dengan α -Glukosidase dalam Produksi selama 2 ns

Secara keseluruhan, residu yang terlibat dalam interaksi ligan dan protein baik dari hasil penambatan molekuler maupun simulasi dinamika molekuler menunjukkan keberadaan yang relatif sama. Keseluruhan ligan telah menempati sisi pengikatan pada situs aktif sesuai dengan yang dilaporkan oleh Saqib &

Siddiqi (2008). Analisis interaksi secara lebih lanjut dapat dilihat dari hasil dari okupansi ikatan hidrogen selama simulasi dinamika molekuler (**Tabel 4.9**). Ikatan hidrogen dapat dikatakan stabil jika memiliki *occupancy* diatas 50% (Desheng, et al., 2011). Selama simulasi, sulokrin baik pada konformasi energi maupun klaster terbaik memberikan ikatan hidrogen yang stabil dengan residu asam amino Asp587, dan His645 pada konformasi energi terbaik. Akarbose menunjukkan ikatan hidrogen yang stabil pada residu asam amino Asp 587, Asp398, Asp511, His 274, dan Phe518. Sedangkan voglibose memberikan ikatan hidrogen yang stabil dengan residu asam amino Asp398 dan Asp 511.

Perhitungan kondisi ikatan hidrogen dari hasil simulasi dinamika molekuler dilakukan dengan parameter jarak *cut off* < 3,5 Å dan sudut ikatan > 120°. Dari parameter tersebut, diharapkan dapat diperoleh gambaran kualitas dari ikatan hidrogen yang terjadi. Kualitas ikatan dilihat berdasarkan klasifikasi yang telah dilaporkan oleh Desiraju & Steiner (1999), yakni ikatan hidrogen sangat kuat, kuat, atau lemah. **Tabel 4.9** menunjukkan bahwa kualitas ikatan hidrogen yang terdapat pada masing-masing ligan bervariasi yakni dengan sifat ikatan kuat dan lemah, serta jenis ikatan yang terjadi, tunggal, *bifurcated* maupun *trifurcated*. Sifat ikatan dipilih berdasarkan jarak donor-akseptor (HB dan DA *distance*) dan sudut hidrogen dengan akseptor (HB *angle*).

Hasil simulasi dinamika molekul sulokrin konformasi *best energy* dengan α -glukosidase menunjukkan terbentuknya ikatan hidrogen kuat yang stabil antara sulokrin dengan residu protein yakni Sul781 (donor) dengan atom OD1 residu Asp587 (akseptor). Sedangkan ikatan hidrogen lemah yang stabil terbentuk dari residu His645 (donor) yang bertindak sebagai donor dengan akseptor atom C11 dari Sul781, dan Sul781 (donor) dengan atom CG residu Asp587 (**Tabel 4.9**).

Hasil simulasi dinamika molekul sulokrin konformasi *best cluster* dengan α -glukosidase menunjukkan terbentuknya ikatan hidrogen kuat yang stabil antara sulokrin dengan residu protein yakni Sul781 (donor) dengan atom OD1 dan O residu Asp587 (akseptor). Sedangkan ikatan hidrogen lemah yang stabil terbentuk dari Sul781 yang bertindak sebagai donor dengan akseptor atom CG dan OD2 residu Asp587 (**Tabel 4.9**).

Hasil simulasi dinamika molekul akarbose dengan α -glukosidase menunjukkan terbentuknya ikatan hidrogen kuat yang stabil antara sulokrin dengan residu protein yakni Acr781 (donor) dengan atom OD2 dan OD1 residu Asp587, atom OD2 dan OD1 residu Asp398, atom OD2 residu Asp511, dan atom O residu Phe518 (akseptor). Sedangkan ikatan hidrogen lemah yang stabil terbentuk dari residu His645 yang bertindak sebagai donor dengan akseptor atom O5 dari Acr781 (akseptor), dan donor Acr781 dengan akseptor atom CG residu Asp587 dan atom OD2 residu Asp511 (**Tabel 4.9**)

Hasil simulasi dinamika molekul voglibose dengan α -glukosidase menunjukkan terbentuknya ikatan hidrogen kuat yang stabil antara sulokrin dengan residu protein yakni Vog781 (donor) dengan atom OD2 dan OD1 Asp398 dan atom OD2 residu Asp511 (akseptor). Sedangkan ikatan hidrogen lemah yang stabil terbentuk dari residu Sul781 yang bertindak sebagai donor dengan akseptor atom CG residu Asp398 (**Tabel 4.9**)

Tabel 4.9. *Occupancy* ikatan hidrogen kompleks ligan- α -Glukosidase (> 50%)

| Senyawa | Donor | Akseptor | HB distance | DA distance | HB angle | Occupancy (%) |
|---------------------------------|-----------|----------|-------------|-------------|----------|---------------|
| Sulokrin <i>Best Energy</i> | His645 | Sul781 | 2,3792 ± | 3,2619 ± | 148,0357 | 72,40 |
| | (NH2-HH2) | (C11) | 0,17 | 0,13 | ± 13,03 | |
| | Sul781 | Asp587 | 1,7329 ± | 2,6744 ± | 164,1931 | 99,50 |
| | (O1-H6) | (OD1) | 0,16 | 0,14 | ± 9,40 | |
| | Sul781 | Asp587 | 1,7329 ± | 2,6744 ± | 164,1931 | 69,80 |
| | (O1-H6) | (CG) | 0,17 | 0,15 | ± 9,41 | |
| Sulokrin <i>Best Cluster</i> | Sul781 | Asp587 | 2,5153 ± | 2,6744 ± | 148,0887 | 80,70 |
| | (O1-H6) | (CG) | 0,08 | 0,16 | ± 6,95 | |
| | Sul781 | Asp587 | 1,6283 ± | 2,5818 ± | 166,9182 | 100,00 |
| | (O1-H6) | (OD2) | 0,09 | 0,09 | ± 7,00 | |
| | Sul781 | Asp587 | 1,7673 ± | 2,6868 ± | 159,8305 | 58,30 |
| | (O6-H12) | (O) | 0,17 | 0,13 | ± 12,51 | |
| Akarbose | Sul781 | Asp587 | 2,4968 ± | 3,2535 ± | 125,8819 | 67,10 |
| | (C1-H) | (OD2) | 0,12 | 0,10 | ± 4,17 | |
| | His274 | Acr781 | 2,0191 ± | 2,9589 ± | 156,1762 | 99,90 |
| | (NH2-HH2) | (O5) | 0,15 | 0,14 | ± 10,98 | |
| | Acr781 | Asp587 | 2,4074 ± | 3,2469 ± | 145,1684 | 94,60 |
| | (O1-H1) | (CG) | 0,12 | 0,11 | ± 8,82 | |
| Akarbose | Acr781 | Asp587 | 2,0482 ± | 2,8700 ± | 145,0224 | 66,30 |
| | (O1-H1) | (OD2) | 0,36 | 0,26 | ± 16,79 | |
| | Acr781 | Asp587 | 1,7345 ± | 2,6595 ± | 160,2568 | 91,70 |

| | | | | | | |
|-----------|-----------|--------|----------|----------|----------|--------|
| | (O-H) | (OD1) | 0,18 | 0,14 | ± 10,92 | |
| | Acr781 | Asp398 | 1,6699 ± | 2,6193 ± | 165,6601 | 100,00 |
| | (O17-H13) | (OD2) | 0,10 | 0,10 | ± 7,45 | |
| | Acr781 | Asp398 | 1,9012 ± | 2,7821 ± | 154,6309 | 80,20 |
| | (O1-H1) | (OD1) | 0,32 | 0,23 | ± 16,85 | |
| | Acr781 | Asp511 | 2,3555 ± | 3,3739 ± | 156,1813 | 52,10 |
| | (C2-H16) | (OD2) | 0,08 | 0,08 | ± 9,64 | |
| | Acr781 | Asp511 | 1,8141 ± | 2,7240 ± | 157,1367 | 98,80 |
| | (O4-H4) | (OD2) | 0,20 | 0,16 | ± 11,66 | |
| | Acr781 | Phe518 | 1,8242 ± | 2,7453 ± | 159,3727 | 96,70 |
| | (O16-H12) | (O) | 0,17 | 0,14 | ± 10,86 | |
| Voglibose | Vog781 | Asp398 | 1,7168 ± | 2,6579 ± | 163,6814 | 100,00 |
| | (O1-H8) | (OD2) | 0,13 | 0,12 | ± 8,87 | |
| | Vog781 | Asp398 | 2,4678 ± | 3,3373± | 149,9313 | 67,20 |
| | (O-H3) | (CG) | 0,11 | 0,11 | ± 9,45 | |
| | Vog781 | Asp398 | 1,6697 ± | 2,6195 ± | 166,3458 | 99,90 |
| | (O-H3) | (OD1) | 0,13 | 0,11 | ± 8,26 | |
| | Vog781 | Asp511 | 1,8005 ± | 2,7503 ± | 166,0445 | 100,00 |
| | (OG-H12) | (OD2) | 0,15 | 0,14 | ± 7,49 | |
| | Vog781 | Asp398 | 2,4158 ± | 3,3171 ± | 154,9256 | 90,20 |
| | (O1-H8) | (CG) | 0,12 | 0,10 | ± 7,95 | |
| | Vog781 | Asp398 | 2,5227 ± | 3,2379± | 130,6320 | 78,00 |
| | (O1-H8) | (OD1) | 0,20 | 0,17 | ± 6,60 | |
| | Vog781 | Asp511 | 1,8887 ± | 2,8736 ± | 163,8259 | 100,00 |
| | (N-H9) | (OD2) | 0,12 | 0,11 | ± 8,10 | |
| | Vog781 | Asp511 | 1,6995 ± | 2,6512 ± | 166,4750 | 100,00 |
| | (O4-H14) | (OD2) | 0,11 | 0,11 | ± 7,22 | |

Keterlibatan residu asam amino yang sama menunjukkan sejauh mana kecenderungan pengikatan senyawa ligan terhadap makromolekul protein. Hasil *occupancy* ikatan hidrogen menunjukkan bahwa sulokrin memiliki kecenderungan sisi pengikatan yang sama dengan akarbose, keduanya memberikan nilai ikatan hidrogen kuat dan stabil pada residu asam amino Asp587.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5. 1. Kesimpulan

1. Hasil penambatan molekul sulokrin terhadap α -glukosidase yang dilakukan pada dua bentuk konformasi yakni berdasarkan energi terbaik dan klaster terbaik menunjukkan nilai ΔG yakni -6,90 dan -6,44 kkal/mol, serta K_i = 8,74 dan 19,13 μ M. Sedangkan kontrol inhibitor α -glukosidase yakni akarbose, miglitol, voglibose, dan salasinol menunjukkan nilai ΔG = -7,80; -7,60; -6,56 dan -4,25 kkal/mol, dan K_i = 2,12; 2,77; 15,75 dan 482,55 μ M. Hasil tersebut menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan sulokrin terhadap α -glukosidase cukup potensial untuk dapat dijadikan senyawa inhibitor α -glukosidase.
2. Simulasi dinamika molekuler menunjukkan bahwa interaksi sulokrin terhadap α -glukosidase memiliki kecenderungan yang sama dengan akarbose sebagai kontrol. Interaksi sulokrin dengan α -glukosidase menunjukkan adanya interaksi kuat dan stabil pada residu Asp587. Inhibitor α -glukosidase lain yakni akarbose yang menunjukkan interaksi dengan residu Asp587, Asp398, Asp511, dan Phe 518, sedangkan voglibose menunjukkan interaksi dengan residu Asp398 dan Asp511.

5. 2. Saran

1. Waktu simulasi dinamika perlu diperpanjang untuk mendapatkan data yang lebih lengkap sehingga analisis dapat dilakukan lebih mendalam.
2. Untuk pengembangan lebih lanjut, dapat dilakukan simulasi pada analog sulokrin untuk memungkinkan diperolehnya senyawa baru yang lebih poten sebagai inhibitor α -glukosidase.

DAFTAR ACUAN

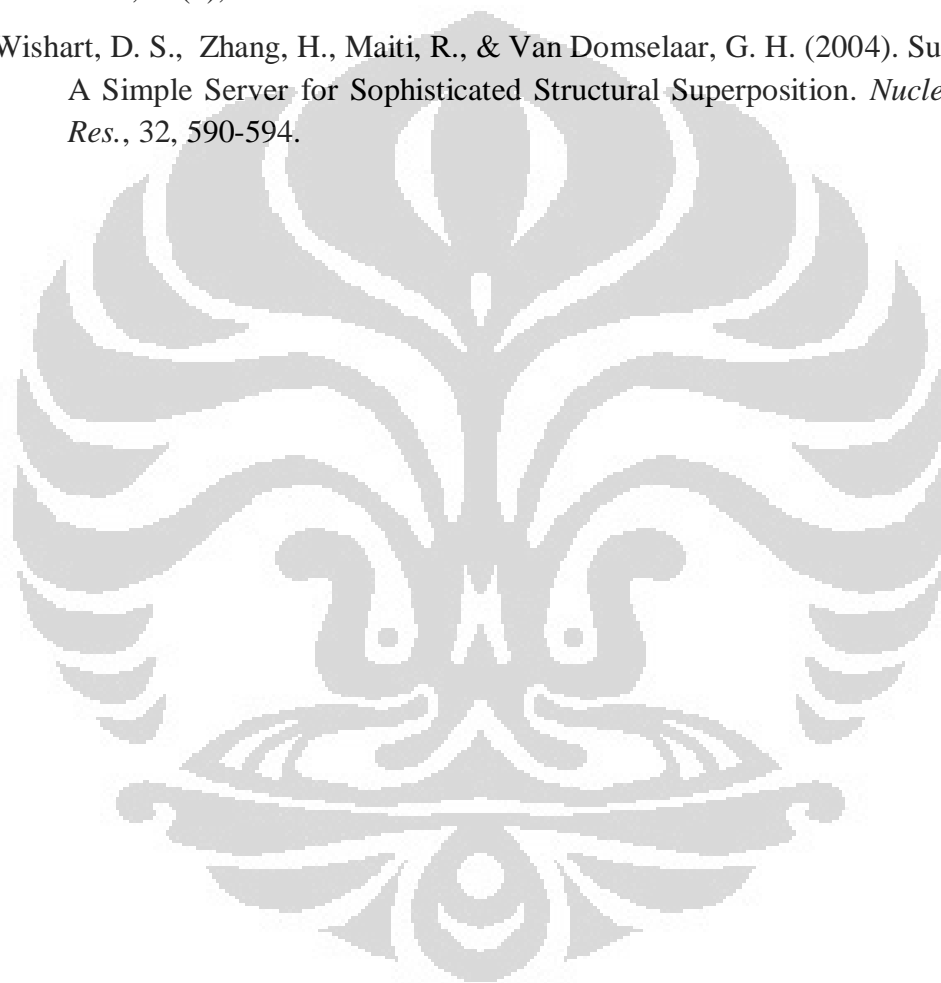
- Allen, M. P. (2003). Introduction to Molecular Dynamics Simulation. *NIC Series*, 23, 1-28.
- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schaffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W., et al. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: A New Generation of Protein Database Search Programs. *Nucleic Acids Res.*, 25(17), 3389-3402.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan. (2008). *Laporan Nasional: Riset Kesehatan Dasar (RisKesDas) 2007*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Bayat, A. (2002). Bioinformatics: Science, Medicine, and The Future. *Brit. Med. J.*, 324, 1018-1022.
- Bösenberg, L.H. (2008). The Mechanism of Action of Oral Antidiabetic Drugs: A Review of Recent Literature. *JEMDSA*, 13(3), 80-88.
- Bruice, P. (2003). *Organic Chemistry*. 4th Ed. New Jersey: Prentice Hall. hal. 959-994
- Case, D. A., Darden, T., Wu, X., Brozell, S. R., Cheatham III, T. E., Steinbrecher, T., et al. (2010). *Amber 11 User's Manual*. San Fransisco: University of California. hal. 9-60.
- ChemAxon. (2008). *MarvinSketch: Advanced Chemical Drawing Software*. Diakses 28 Februari 2008, dari <http://www.chemaxon.com/products/marvin/marvinsketch/>
- Chen, X., Zheng, Y., & Shen, Y. (2006). Voglibose (Basen[®], AO-128), One of the Most Important α -Glucosidase Inhibitors. *Curr. Med. Chem.*, 13, 109-116.
- Collaborative Computational Project, Number 4. The CCP4 Suite: Program for Protein Crystallography. (1994). *Acta. Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.*, 50(5), 760-763.
- Corwin, J.E. (2009). *Buku Saku Patofisiologi*. Edisi 3. Alih bahasa oleh Nike Budhi Subekti; Editor Edisi Bahasa Indonesia, Egi Komara Yudha. Jakarta: EGC. hal. 624-642
- Couch R. D., & Gaucher G. M. (2004). Rational Elimination of *Aspergillus terreus* Sulochrin Production. *J. Biotechnol.*, 108(2), 171-178.
- Delano, W. L., and Bromberg, S. (2004). *PyMol User's Guide*. Diunduh 28 Januari 2012, dari <http://pymol.sourceforge.net/newman/yserman.pdf>
- Desiraju, G.R., & Steiner, T. (1999). *The Weak Hydrogen Bond in Structural Chemistry and Biology*. Oxford: Oxford University Press. hal 1-12.
- Desheng, L., Jian, G., Yuanhua, C., Wei, C., Huai, Z., & Mingjuan, J. (2011). Molecular Dynamics Simulations and MM/GBSA Methods to Investigate

- Binding Mechanism of Aminomethylpyrimidine Inhibitor with DPP-IV. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 21, 6630-6635.
- Dewi, R. T., Anita, Y., Istyastono, E. P., Darmawan, A., & Hanafi, M. (2009). The Applicability of The Crystal Structure of *Termotoga maritime* 4- α -Glucanotransferase as The Template for Sulochrin as α -Glucosidase Inhibitors. *Indo. J. Chem.*, 9(3), 487-490.
- Dewi, R. T., Artanti, N., Mulyani, H., Lotulung, P. D. N., & Minarti. (2011). Production of lovastatin and Sulochrin by *Aspergillus terreus* using solid state fermentation. *Teknologi Makara*, 15(1), 1-4.
- Ernst, H.A., Lo Leggio, L., Willemoes, M., Leonard, G., Blum, P., & Larsen, S. (2006). Structure of the *Sulfolobus solfataricus* alpha-glucosidase: implications for domain conservation and substrate recognition in GH31. *J. Mol. Biol.*, 358, 1106-1124.
- Fiser, A., & Sali, A. (2001). *Comparative Protein Structure Modelling with Modeller: A Practical Approach*. Diunduh 29 Januari 2012, dari <http://salilab.org/modeller/methenz/andras.andras.html>
- Henrissat, B. (1991). A Classification of Glycosyl Hydrolases based on Amino Acid Sequence Similarities. *Biochem. J.*, 280, 309-316.
- Henrissat, B., & Davies, G. (1995). Structures and Mechanism of Glycosyl Hydrolases. *Structure*, 3(9), 853-859.
- Hirschhorn, R., Huie, M. L., & Kasper, J. S. (2002). Computer Assisted Cloning of Human Neutral α -Glucosidase C (GANC): A New Paralog in The Glycosyl Hydrolase Gene Family 31. *PNAS*, 99(21), 13642-13646.
- Hooft, R. W. W., Sander, C., & Vriend, G. (1997). Objectively Judging The Quality of a Protein Structure from a Ramachandran Plot. *Comput. Appl. Biosci.*, 13(4), 425-430.
- Holtje, H.D., Sippl, W., Rognan, D., & Folkers, G. (2008). *Moleccular Modelling, Basic Principle and Application*. Weinhem: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. hal. 31-52.
- Humprey, W., Dalke, A., & Schuelten, K. (1996). VMD: Visual Molecular Dynamics. *J. Mol. Graph*, 14, 33-38.
- Joyce, J., Baker, C., & Swain, H. (2008). *Prinsip-prinsip Sains untuk Keperawatan*. Diterjemahkan oleh Indah Retno Wardani; Editor Edisi Bahasa Indonesia, Amalia Safitri, Rina Astikawati. Jakarta: Erlangga. hal. 66-70.
- Krentz, A. J., & Bailey, C. J. (2005). Review Article: Oral Antidiabetic Agents, Current Role in Type 2 Diabetes Mellitus. *Drugs*, 65(3), 385-411.

- Kuchel, P., & Ralston G.B. (2006). *Schaum's Easy Outlines: Biokimia*. Alih bahasa oleh Eva Laelasari; Editor Edisi Bahasa Indonesia, Amalia Safitri. Jakarta: Erlangga. hal. 17-25.
- Laube, H. (2002). Acarbose. *Clin. Drug Invest.*, 22(3), 141-156.
- Laskowski, R.A., Mac Arthur, M.W., Moss, D.S, & Thornton, J.M. (1993). PROCHECK: A Program to Check The Stereochemical Quality of Protein Structures. *J. Appl. Crystallogr.*, 26, 283-291.
- Leach, A., Shoicet, B., & Peishoff, C. (2006). Docking and Scoring. *J. Med. Chem.*, 49(20), 5851-5855.
- Lodish, Berk, Zipursky, Matsudaira, Baltimore, & Darnell. (2000). *NCBI bookshelf: Molecular Cell Biology*. Diakses 11 Juni 2012, dari NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf>.
- Marks, D.B., Marks, A.D., & Smith, C.M. (2000). *Biokimia Kedokteran Dasar: Sebuah Pendekatan Klinis*. Alih Bahasa oleh Brahm U. Pendit; Editor Edisi Bahasa Indonesia, Joko Suyono, Vivi Sadikin, Lidya I. Mandera. Jakarta: EGC. hal. 76-86.
- Morris, G. M., Goodsell, D. S., Huey, R., Lindstrom, W., Hart, W. E., Kurowski, S., et al. (2009). Autodock 4 and AutoDock Tools 4: Automated Docking with Selective Receptor Flexibility. *J. Comp. Chem.*, 1-7.
- Muraoka, O., Ying, S., Yoshikai, K., Matura, Y., Yamada, E., Minematsu, T., Tanabe, G., Matsuda, H., & Yoshikawa, M. (2001). Synthesis of A Nitrogen Analogue of Salacinol and Its α -Glucosidase Inhibitory Activity. *Chem. Pharm. Bull.*, 49(11), 1503-1505.
- Nakamura, S., Takahira, K., Tanabe, G., Morikawa, T., Sakano, M., Ninomiya, K., Yoshikawa, M., Muraoka, O., & Nakanishi, I. (2010). Docking and SAR Studies of Salacinol Derivatives as α -Glucosidase Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 20, 4420-4423.
- Nelson, D., & Cox, M. (2001). *Lehninger Principles of Biochemistry*. Ed.4. Wisconsin: W.H. Freeman Company. hal: 50-212.
- Ohashi, H., Ishikawa, M., Ito, J., Ueno, A., Gleich, G. J., Kita, H., Kawai, H., & Fukamachi, H. (1997). Sulochrin Inhibits Eosinophil Degranulation. *J. Antibiot.*, Nov: 50(11), 972-4.
- Ohashi, H., Motegi, Y., Kita, H., Gleich, G. J., Miura, T., Ishikawa, M., Kawai, H., & Fukamachi, H. (1998). *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 9(14), 1945-1948.
- Ohashi H., Ueno A., Nakao T., Ito J., Kimura K., Ishikawa M., Kawai H., Iijima H., & Osawa T. (1999). Effects of Ortho-substituent Groups of Sulochrin on Inhibitory Activity to Eosinophil Degranulation. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 9(14), 1945-1948.

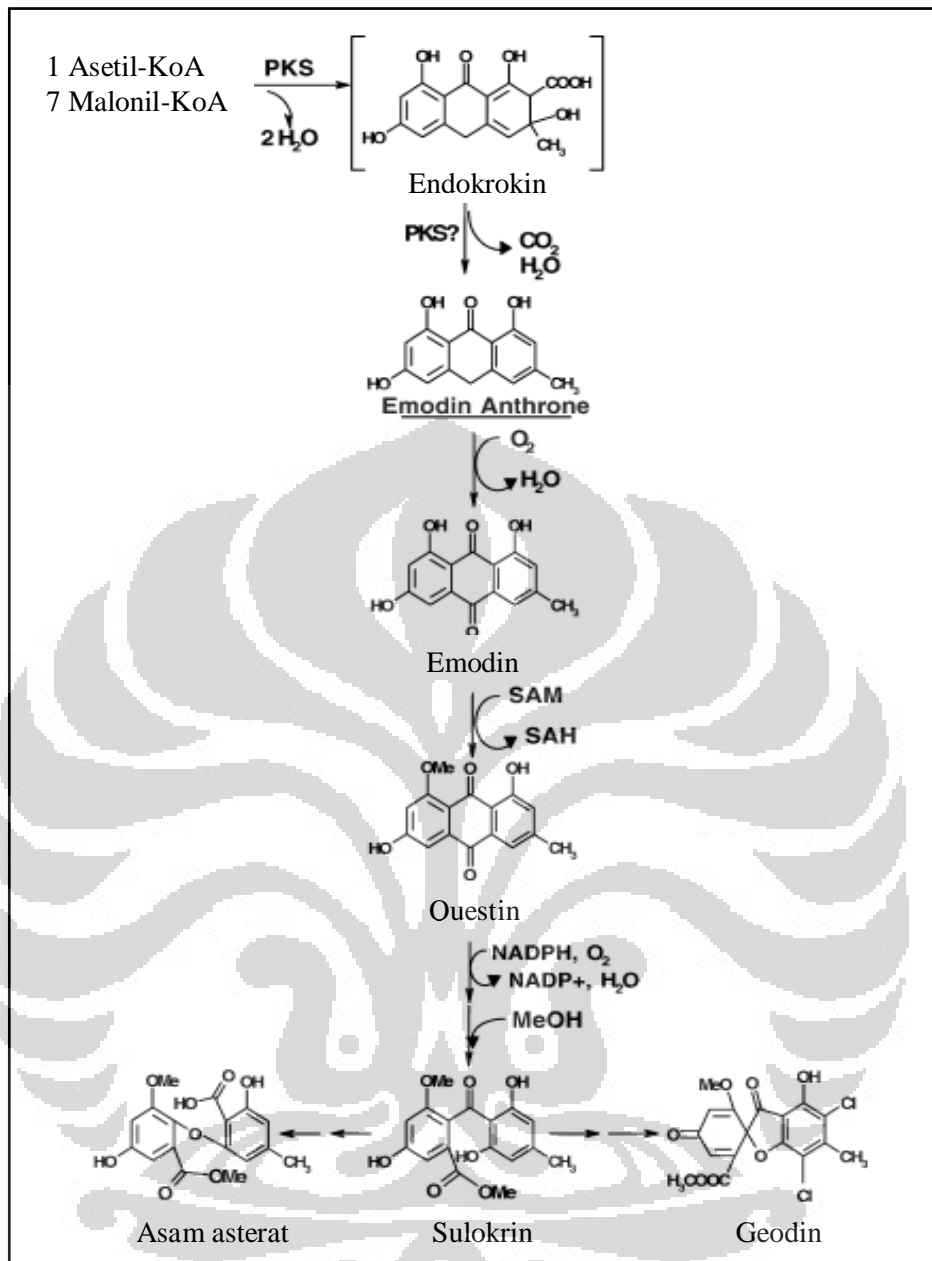
- Olson, A.J., & Trott, O. (2010). AutoDock Vina: Improving the Speed and Accuracy of Docking with a New Scoring Function, Efficient Optimization, and Multithreading. *J. Comput. Chem.*, 31, 455-461.
- O'Boyle, N. M., Banck, M., James, C. A., Morley, C., Vandermeersch, T., & Hutchison, G. R. (2011). Open Babel: An Open Chemical Toolbox. *J. Cheminf.*, 3(33), 1-14.
- Park, H., Hwang, K. Y., Oh, K. H., Kim, Y. H., Lee, J. Y., & Kim, K. (2008). Discovery of Novel α -Glucosidase Inhibitors based on The Virtual Screening with The Homology-modeled Protein Structure. *Bioorg. Med. Chem.*, 16, 284-292.
- Pedretti, A., Mazzolari, A., & Vistoli, G. (2004). VegaZZ: A Versatile Toolkit for Drug Design and Protein Modelling. *J. Comput. Aid. Mol. Des.*, 18, 167-173.
- Sanchez, R., & Sali, A. (1997). Advances in Comparative Protein-structure Modelling. *Curr. Opin. Struc. Biol.*, 7, 206-214.
- Saqib, U., & Siddiqi, M. I. (2008). Probing Ligand Binding Interactions of Human Alpha Glucosidase by Homology Modeling and Molecular Docking. *IJIB*, 2 (2), 116-121.
- Schaffer, A. A., Aravind, L., Madden, T. L., Shavirin, S., Spouge, J. L., Wolf, Y. I., Koonin, E. V., & Altschul, S. F. (2001) Improving The Accuracy of PSI-BLAST Protein Database Searches With Composition-based Statistics and Other Refinement. *Nucleic Acids Res.*, 29(14), 2994-3005.
- Sikora, J., Urinonovska, J., Majer, F., Poupetova, H., Hlavata, J., Kostrouchova, M., Ledvinova, J., & Hrebicek, M. (2010). Bioinformatic and Biochemical Studies Point to AAGR-1 as The Ortholog of Human Acid α -Glucosidase in *Caenorhabditis elegans*. *Mol. Cell. Biochem*, 341, 51-63.
- Sim, L., Calvillo, R. Q., Sterchi, E. E., Nichols, B. L., & Rose, D. R. (2008). Human Intestinal Maltase-Glucoamylase: Crystal Structure of The N-Terminal Catalytic Subunit and Basis of Inhibition and Substrate Specificity. *J. Mol. Biol*, 375, 782-792.
- Sim, L., Willemsma, C., Mohan, S., Naim, H. Y., Pinto, B. M. & Rose, D. R. (2010). Structural Basis for Substrate Selectivity in Human Maltase-Glucoamylase and Sucrase-Isomaltase. *J. Biol. Chem.*, 285(23), 17763-17770.
- Tatham, S., Dunn, O., Harris, Nm., & Nevins, J. (2010). *PuTTY: A Free Telnet/SSH Client*. Diakses 12 April 2012, dari <http://www.chiark.greenend.org.uk/~sgtatham/putty/>.

- Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2007). *Obat-Obat Penting: Khasiat Penggunaan dan Efek Samping*, Edisi VI. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hal 738-760.
- Van de Laar FA, Lucassen PLBJ, Akkermans RP, Van de Lisdonk EH, Rutten GEHM, and Van Weel C. (2005). Alpha-glucosidase Inhibitors for Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 28(1), 154-163.
- Wild, S., Roglic, G., King, H., Green, A., & Sicree, R. (2004). Global Prevalence of Diabetes: Estimates for The Year 2000 and Projection for 2030. *Diabetes Care*, 27(5), 1047-1053.
- Wishart, D. S., Zhang, H., Maiti, R., & Van Domselaar, G. H. (2004). SuperPose: A Simple Server for Sophisticated Structural Superposition. *Nucleic Acids Res.*, 32, 590-594.



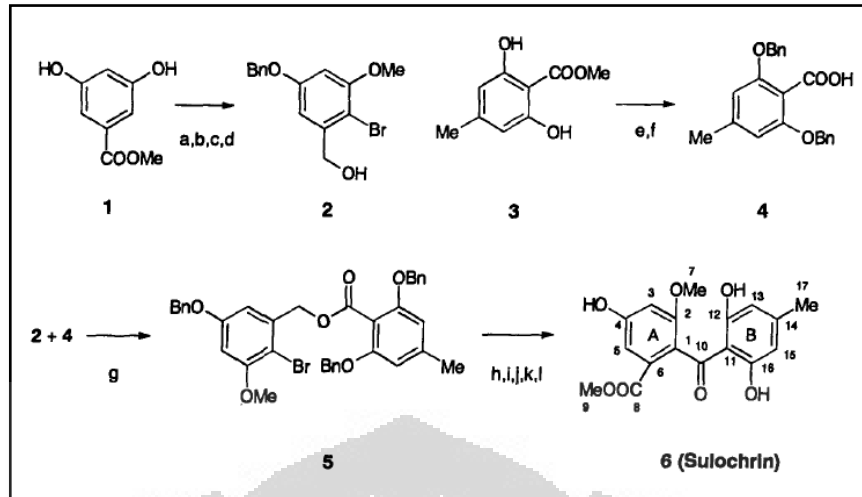


GAMBAR



[Sumber: Couch & Gaucher, 2004]

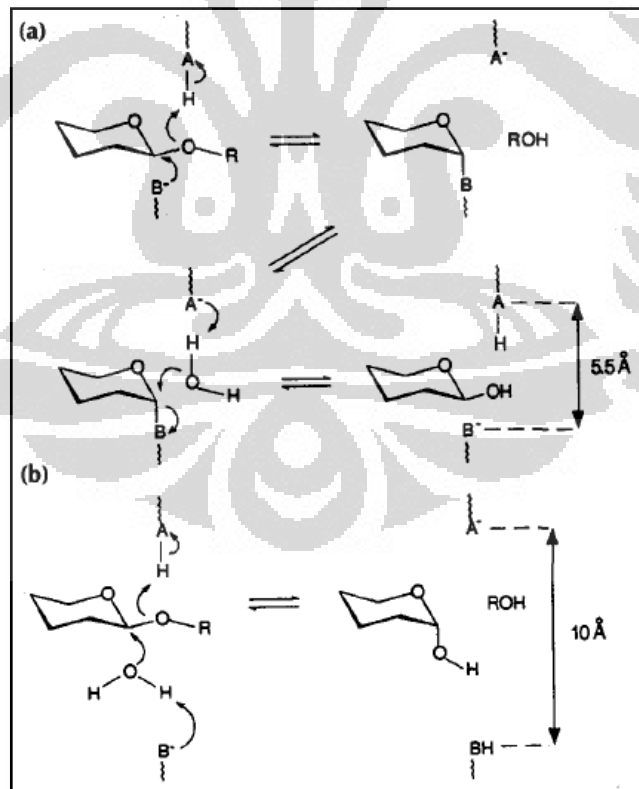
Gambar 2.2. Jalur Biosintesis Sulokrin



[Sumber: Ohashi, et al., 1999]

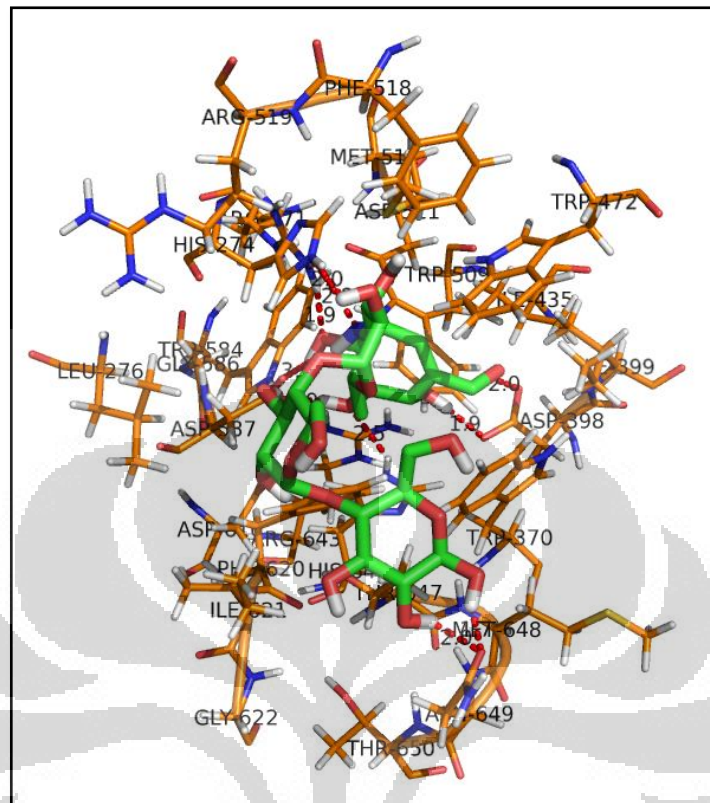
Keterangan : (a) BnBr, K_2CO_3 / CH_3CN / refluks, 33%; (b) Me_2SO_4 , K_2CO_3 / CH_3CN / refluks, 96%; (c) $LiAlH_4$ / THF, 96%; (d) NBS/ CCl_4 , 43%; (e) BnBr, K_2CO_3 / DMF/ refluks, 74%; (f) $t-BuOK$ / iPr_2O / refluks, 93%; (g) DEAD/ PPh_3 / THF, 82%; (h) $n-BuLi$ / THF, $-78^\circ C$, 45%; (i) PDC/ DMF, 54%; (j) $Bu_4(NH_4)KMnO_4$ / Piridin, 81%; (k) MeI, K_2CO_3 / DMF; (l) $Pd(OH)_2$ -Carbon/ EtOH/ Sikloheksan/ refluks, 81%

Gambar 2.3. Skema sintesis sulokrin

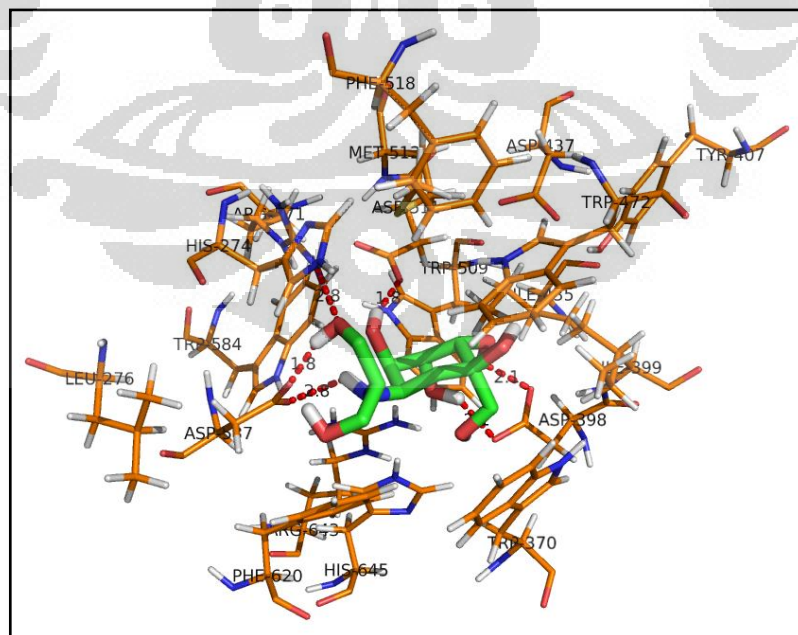


[Sumber: Henrissat & Davies, 1995]

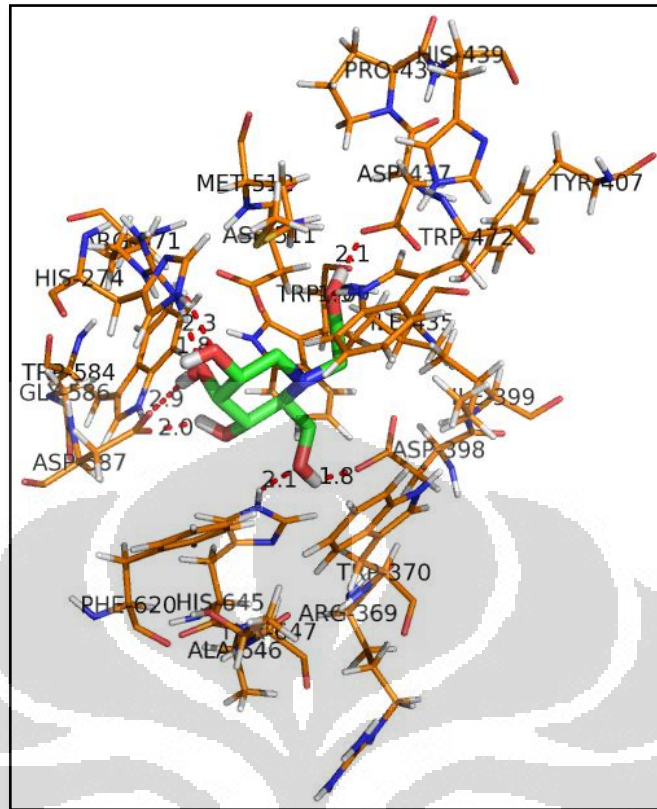
Gambar 2.8. Dua mekanisme utama hidrolisis ikatan glikosidik secara enzimatis yakni (a) mekanisme penahanan, dan (b) inversi.



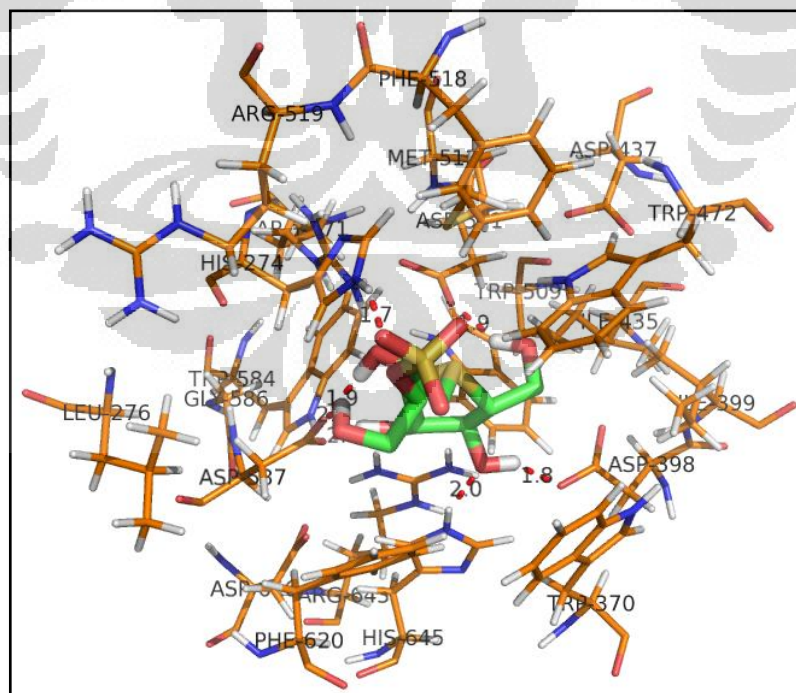
Gambar 4.6. Konformasi ikatan hidrogen pada hasil penambatan akarbose dengan α -glukosidase manusia



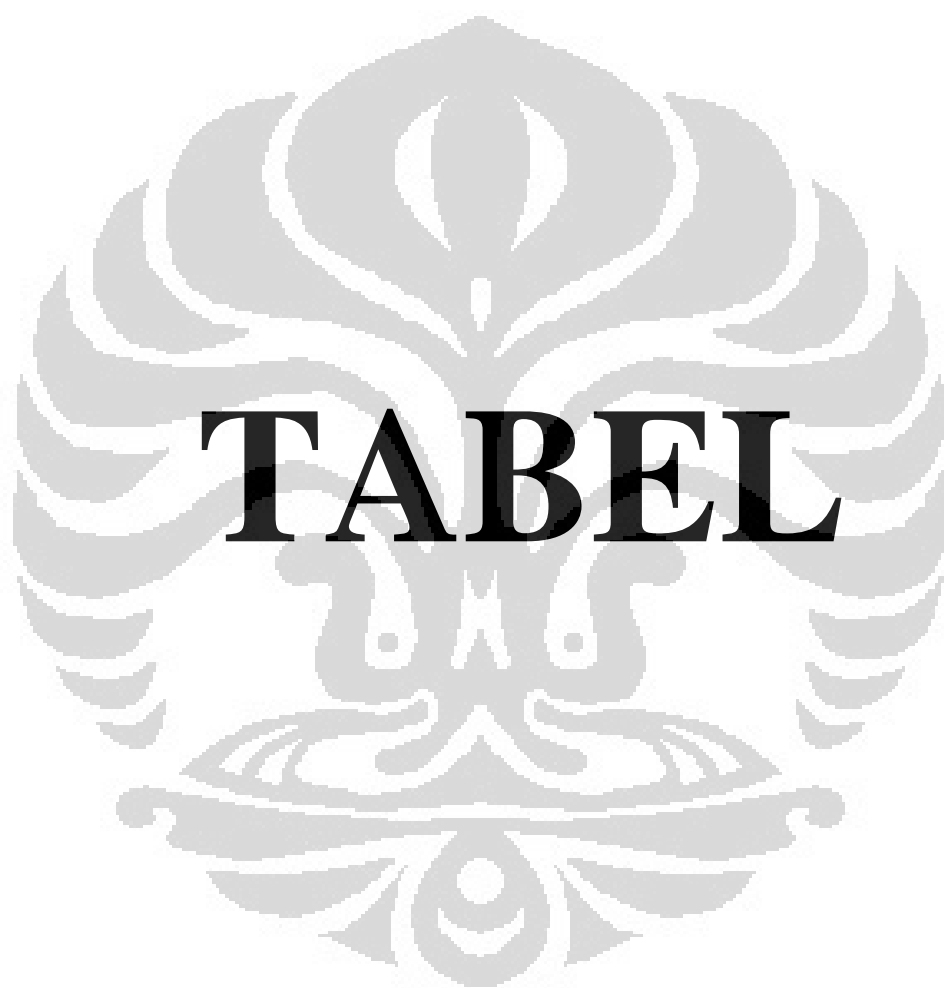
Gambar 4.7. Konformasi ikatan hidrogen pada hasil penambatan voglibose dengan α -glukosidase manusia



Gambar 4.8. Konformasi ikatan hidrogen pada hasil penambatan miglitol dengan α -glukosidase manusia



Gambar 4.9. Konformasi ikatan hidrogen pada hasil penambatan salalinol dengan α -glukosidase manusia



Tabel 4.1. Evaluasi stereokimia pada model hasil homologi yang minimisasi

| Minimisasi | Model | Langkah | | Amber | | | | Vega ZZ | | | | | |
|------------|-------|-------------------------|--------------------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------|------------------------|--------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------|------------------------|
| | | <i>Steepest descent</i> | <i>Conjugate gradien</i> | <i>Most Favour</i> | <i>Additional Allowed</i> | <i>Generously Allowed</i> | <i>Dissallowed</i> | RMSD terhadap 2QMJ (Å) | <i>Most Favour</i> | <i>Additional Allowed</i> | <i>Generously Allowed</i> | <i>Dissallowed</i> | RMSD terhadap 2QMJ (Å) |
| 1 | 1 | 250 | 750 | 81,2 | 17,2 | 0,9 | 0,7 | 1,049 | 79,0 | 19,9 | 0,7 | 0,5 | 1,130 |
| | 4 | | | 81,7 | 16,3 | 1,6 | 0,5 | 1,154 | 79,9 | 18,1 | 1,4 | 0,7 | 1,206 |
| | 5 | | | 83,3 | 14,7 | 0,5 | 1,6 | 1,154 | 81,0 | 17,2 | 0,7 | 1,1 | 1,418 |
| | 9 | | | 81,2 | 16,7 | 1,6 | 0,5 | 1,154 | 82,8 | 15,6 | 1,1 | 0,5 | 1,218 |
| 2 | 1 | 500 | 1000 | 83,3 | 15,2 | 0,9 | 0,7 | 1,026 | 76,5 | 20,4 | 2,3 | 0,9 | 1,344 |
| | 4 | | | 79,9 | 18,1 | 1,4 | 0,7 | 1,206 | 73,8 | 22,6 | 2,7 | 0,9 | 1,472 |
| | 5 | | | 84,4 | 13,3 | 0,9 | 1,4 | 1,370 | 74,4 | 21,5 | 2,9 | 1,1 | 1,527 |
| | 9 | | | 82,8 | 15,6 | 1,1 | 0,5 | 1,218 | 71,3 | 25,3 | 1,6 | 1,1 | 1,440 |
| 3 | 1 | 500 | 1500 | 78,5 | 20,1 | 0,9 | 0,5 | 1,281 | 74,7 | 22,6 | 1,4 | 1,4 | 1,482 |
| | 4 | | | 79,9 | 18,1 | 1,4 | 0,7 | 1,370 | 73,1 | 22,9 | 2,9 | 1,1 | 1,618 |
| | 5 | | | 84,4 | 13,3 | 0,9 | 0,7 | 1,206 | 73,1 | 22,2 | 3,2 | 1,6 | 1,722 |
| | 9 | | | 80,5 | 18,1 | 0,9 | 0,5 | 1,182 | 71,5 | 24,2 | 3,2 | 1,1 | 1,605 |
| 4 | 1 | 500 | 2500 | 83,3 | 15,2 | 0,9 | 0,7 | 1,026 | 75,6 | 21,3 | 1,8 | 1,4 | 1,520 |
| | 4 | | | 79,9 | 18,1 | 1,4 | 0,7 | 1,206 | 69,9 | 26,2 | 2,9 | 0,9 | 1,724 |
| | 5 | | | 84,4 | 13,3 | 0,9 | 1,4 | 1,370 | 73,1 | 22,2 | 3,2 | 1,6 | 1,722 |
| | 9 | | | 79,4 | 19,5 | 0,5 | 0,7 | 1,283 | 71,5 | 24,2 | 3,2 | 1,1 | 1,612 |

Tabel 4.7. Interaksi ligan dengan residu protein α -Glukosidase pada hasil penambatan molekuler

| Residu Protein | Nama Senyawa | | | | | | | | | | | |
|----------------|--------------------|--------|-------|-----|-----|-----|---------------------|--------|-------|-----|-----|-----|
| | <i>Best energy</i> | | | | | | <i>Best Cluster</i> | | | | | |
| | Sul | Acr 22 | Acr 9 | Mig | Vog | Sal | Sul | Acr 22 | Acr 9 | Mig | Vog | Sal |
| Phe 518 | v | v | v | - | v | v | v | v | v | - | v | v |
| His 274 | v | v | v | v | v | v | v | v | - | - | v | - |
| Arg 571 | v | v | v | v | v | - | - | v | v | v | v | - |
| Asp 587 | v | v | v | v | v | v | v | v | v | v | v | v |
| Asp 511 | - | v | v | v | v | v | - | v | v | - | v | v |
| Asp 398 | v | v | v | v | v | v | - | v | v | v | v | v |
| His 645 | v | v | v | v | v | - | - | v | v | v | v | v |
| Trp 370 | v | v | v | - | v | - | v | v | v | v | v | v |
| Trp 472 | v | v | v | v | v | v | v | v | v | - | v | v |
| Phe 620 | v | v | v | v | v | v | - | v | v | v | v | v |
| Ile 399 | v | v | v | v | v | v | - | v | - | - | v | v |
| Trp 509 | v | v | v | v | v | - | - | v | - | v | v | v |
| Asn 649 | - | v | v | - | - | - | - | v | v | - | - | - |
| Ile 621 | - | v | v | - | - | - | v | v | v | - | - | - |
| Thr 647 | - | v | v | - | - | - | v | v | v | - | - | - |
| Leu 276 | - | - | - | - | - | - | v | - | - | - | - | - |
| Arg 519 | - | - | - | - | - | v | - | - | - | - | - | - |
| Ile 435 | - | - | v | - | v | - | - | - | - | - | v | - |
| Met 648 | - | - | v | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Gly 622 | - | - | - | - | - | - | - | - | v | - | - | - |
| Asn 623 | - | - | - | - | - | - | - | - | v | - | - | - |
| Thr 650 | - | - | - | - | - | - | - | - | v | - | - | - |
| Met 512 | v | - | - | v | - | - | - | - | - | v | - | - |
| Trp 584 | v | - | - | - | v | - | - | - | - | - | - | - |
| Asp 516 | - | - | - | - | v | - | - | - | - | - | - | - |
| Lys 275 | - | - | - | - | - | - | v | - | - | - | - | - |

Tabel 4.8. Ikatan hidrogen yang terjadi pada penambatan ligan dengan α -glukosidase

| Ligan | (Gugus) Residu | Gugus Ligan (Nomor) | Jarak (Å) |
|---------------------|-----------------------|----------------------------|------------------|
| Sulokrin | | | |
| <i>Best Energy</i> | (NH) Arg571 | O (2) | 2,58 |
| | (NH) Arg571 | O (2) | 2,41 |
| | (O) Asp398 | OH (12) | 1,75 |
| | (NH) His645 | OH (12) | 2,01 |
| | (O) Asp587 | OH (6) | 2,19 |
| <i>Best Cluster</i> | (O) Asp587 | OH (6) | 1,9 |
| | (NH) Arg571 | OH (6) | 2,7 |
| | (O) Asn588 | OH (12) | 2,8 |
| Akarbose | | | |
| | (O) Asp587 | OH (1) | 1,92 |
| | (O) Asp587 | OH (1) | 2,98 |
| | (NH) His645 | OH (16) | 2,51 |
| | (O) Asp398 | OH (13) | 1,90 |
| | (O) Asp398 | OH (1) | 1,96 |
| | (NH) Arg571 | OH (2) | 2,78 |
| | (NH) Arg571 | OH | 1,83 |
| Miglitol | | | |
| | (O) Asp587 | OH (8) | 2,0 |
| | (O) Asp587 | OH (9) | 2,9 |
| | (NH) His645 | OH (16) | 2,1 |
| | (O) Asp398 | OH (16) | 1,8 |
| | (NH) Trp472 | OH (15) | 1,9 |
| | (NH) Arg571 | OH (4) | 2,3 |
| | (NH) Arg571 | OH (9) | 1,8 |
| | (O) Asp437 | OH (15) | 2,1 |
| Voglibose | | | |
| | (O) Asp587 | OH (11) | 1,76 |
| | (O) Asp587 | OH (9) | 2,83 |
| | (O) Asp511 | OH (14) | 1,76 |
| | (O) Asp398 | OH (8) | 2,06 |
| | (O) Asp398 | OH (3) | 2,15 |
| | (NH) Arg571 | OH (11) | 2,84 |
| Salasinol | | | |
| | (O) Asp587 | OH (3) | 2,1 |
| | (O) Asp587 | OH (7) | 1,9 |
| | (O) Asp587 | OH (15) | 2,1 |
| | (NH) His645 | OH (16) | 2,0 |
| | (O) Asp398 | OH (16) | 1,8 |
| | (O) Asp511 | OH (17) | 1,9 |



LAMPIRAN

Lampiran 1. Berkas .pir Hasil Penyejajaran Sekuens oleh *software* interaksi ClustalW2

```

>P1; 2QMJ_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE
SAECPVWNELERINCPDQPPTKATCDQRGCCWNPQGAVSVPWCYYSKNH
SYHVEGNLVNTNAGFTARLKNLPSSPVFGSNVDNVLLTAEYQTSNRFHFK
LTDQTNNRFEVPEHVQSFSGNAAASLTQVEISRQPF SIKVTRRSNNRV
LFDSSIGPLL FADQFLQLSTRLPSTNVYGLGEHVHQQRHDMNWKTPIF
NRDTPPNGNGTNLYGAQTFFLCLE DASGLSFGVFLMNSNAMEVVLQPAPA
ITYRTIGGILDFYVFLGNTPEQVVQEYLELIGRPALPSYWALGFHLSRYE
YGTLDNMREVVERNRAAQLPYDVQHADIDYMDERRDF TYDSVDFKGFPEF
VNELHNNQKLVIIIVDPAISNNSSSSKPYGYPYDRGSDMKIWNSSDGVTP
LIGEVWPGQTVFPDYTNPNCAVWWT--KEFELFHNQVEFDGIWIDMNEVS
NFVDGVSVSGCSTNNLNPPFTPRILDGYLFCKTLCMDAVQHW---GKQY-
DIHNLGYGSMATAEAAKTVFPNK-RSFILTRSTFAGSGKFAAHLGDN
TATWDDLRSWIPGVLEFNLF GIPMVGPDICGFAL-----DTPEELCRRW
MQLGAFYPPSRNHNGQGYKQDQDPASFGADSLLLNSSRHYLNIRYTLPLPYL
YTLFFRAHSRGTVARPLLHEFYEDNSTWDVHQQLWGPGLLITPVLDEG
AEKVMAYVP--DAWYDYETGSQVRWRKQKVEMLPGDKIGLHLRGGYIF
PTQQPNTTTLASRKNPLGLIIALDENKEAKGELFWDDGETKDTVANKVYL
LCEFSVTQNRLEVNISQSTYKDPNNLAFNEIKILGTEEPSNVTVKHNGVP
SOTSPVTYDSNLKVAIITDIDLLLGEAYTVEWAH
*
>P1; 2G3M_A|PDBID|CHAIN|SEQUENCE
-----
MRILKIYENKGVYKVV
IGEPFPPIEFPLEQKISSNKSLSSELGLTIVQQGNKVIVEKSLDLKEHIIG
LGEKAFELDRKRKRYVMYVNDAGAYK-----
-----KYQDPLYVSIPLFISVKDGVATGYFFNSASKVIFDVGLEEDYDK
VIVTIPEDSVEFYVIEGPRIEDVLEKYTELTKGPFPPMWAFFGYMISRYS
YYPQDKVVELVDIMQKEGFRVAGVFLDIHYMDSYKLFTHWHPYRFPPEPKL
IDELHKNRVKLIITIVDHGIRVDQN---YSPFLSG--MGKFCEIESGEL-
FVGKMWPGTTVYPDFDFREDTREWAGLISEWLSQG---VDGIWLDMNEPT
DFSR-----AIEIRDVLSSLPVQFRDRLVTTFFPDNVVHYLRGKRVKHE
KVRNAYPLYEAMATFKGFR--TSHRNEIFILSRAGYAGIQRYAFIWTGDN
TPSWDDLKQLQLVGLSISGVPFVGCIDIGGFQGRNFAEIDNSMDLLVKY
YALALFFPFYRSHKATDGDTEPVFLPDYYKEKVK--EIVELRYKFLPYI
YSLALEASEKGHPVIRPLFYEFQDDDDMYRIEDEYMGKYLLYAPIVSKE
ESRLVTLPR---GKWYNYWNGEITNGK---SVVKSTHELPIYLREGSII
PLEGDELIVYGETSFKR-----
-----YDNAEITSSSNEIKFSREIYVSKLTITSEKPVSKIIVDD-----
---SKEIQVEKTMQNTYVAKINQKIRGKINLE---
*
>P1; sp|Q8TET4|GANC_HUMAN
-----
-----YLLAHKLGRT-----
-----IGIFWLNASETLVEINTEPAVEYTLTQMGPVAAKQKVRSRTH
VHMSESGIIDVFLLTGTPSDVFKQYSHLTGTQAMPPLFSLGYHQCRWN
YEDEQDVKAVDAGFDEHDIPYDAMWLDIEHTEGKRYFTWCKNRFNPKRM
QELLRSKRRKLVVISDPHIKIDP----DYSVYVAKADQGGFFVKNQEGED-
FEGVCWPGLLSSYLDFTNPKVREWYSSLFAFPVYQGSTDILFLWDMNEPS
VFRG-----PEQTMQKNAIHHG---NWEHR
ELHNIYGFYHQMATAEGLIKRSKGKERPFVLRTRFFAGSQQYGAVWTGDN
TAEWSNLKISIPMLLTL SITGISFCGADIGGF IG-----NPETELLVRW
YQAGAYQPPFRGHATMNTKRREPWLFGEETHRLIR--EAIRERYGLLPYW
YSLFYHAHVASQPMRPLWVEFPDELKTFDMEDEYMLGSALLVHPVTEPK
ATTVDVFLPGSNEVWYDYKTFAHWEGG-CTVKIPVALDTIPVFQRGGSVI
P-----
-----
*

```

Lampiran 2. Keterangan Sekuens Residu Cetakan yang Hilang (Data PDB)**Makromolekul 2QMJ, Rantai A**

REMARK 465 MISSING RESIDUES
REMARK 465 THE FOLLOWING RESIDUES WERE NOT LOCATED IN THE
REMARK 465 EXPERIMENT. (M=MODEL NUMBER; RES=RESIDUE NAME; C=CHAIN
REMARK 465 IDENTIFIER; SSSEQ=SEQUENCE NUMBER; I=INSERTION CODE.)
REMARK 465
REMARK 465 M RES C SSSEQI
REMARK 465 SER A 1
REMARK 465 ALA A 2
REMARK 465 GLU A 3
REMARK 465 CYS A 4
REMARK 465 PRO A 5
REMARK 465 VAL A 6
REMARK 465 GLN A 837

Makromolekul 2G3M, Rantai A

REMARK 465 MISSING RESIDUES
REMARK 465 THE FOLLOWING RESIDUES WERE NOT LOCATED IN THE
REMARK 465 EXPERIMENT. (M=MODEL NUMBER; RES=RESIDUE NAME; C=CHAIN
REMARK 465 IDENTIFIER; SSSEQ=SEQUENCE NUMBER; I=INSERTION CODE.)
REMARK 465
REMARK 465 M RES C SSSEQI
REMARK 465 MET A 1
REMARK 465 ARG A 2
REMARK 465 MET B 1
REMARK 465 ARG B 2
REMARK 465 MET C 1
REMARK 465 ARG C 2
REMARK 465 MET D 1
REMARK 465 ARG D 2
REMARK 465 MET E 1
REMARK 465 ARG E 2
REMARK 465 MET F 1

Lampiran 3. Tampilan pengaturan align-multiple.ali

```

C; A multiple alignment in the PIR format; used in tutorial
>P1;2qmj
structureX:2qmj:7      :A :870 :A:mgam:Homo sapiens: 1.90:
-----VNELERINCIIPDQPPTKATCDQRGCCWNPQGA VSPWCYYSKNH
SYHVEGNLVNTNAGFTARLKNLPSSPVFGSNVDNVLTA EYQTSNRFHFK
LTDQTNRRFEVPHEHVQSFSGNAAASLTYQVEISRQPF SIKVTRR.SNNRV
LFDSSIGPLLFADQFLQLSTRLPSTNVYGLGEHVHQYRH DMNWKTWP IF
NRDFTPNGNGTNLYGAQTFFLCLEDASGLSFGVFLMNSNAMEVVLQPAPA
ITYRTIGGILDFFVFLGNTPEQVVQEYLELIGR PALPSYWALGFHLSRYE
YGTLDNMREVVERNRAAQLPYDVQHADIDYMDERRDFTYDSVDFKGFPEF
VNELHNNQGQLVI IVDPAISNNSSSKPYGPDYDRGSDMKIWNSSDGVTP
LIGEVWPGQTVFPDYTNPNCAVWWTKEF--ELFHNQVEFDGIWIDMNEVS
NFVDGSVSGCSTNNLNNPPFTPRILDGYLFC KTLCMDAVQHGWKQYDIHN
LYGSMATAEAAKTVFPNKRSFILTRSTFAGSGKFAAHLGDN TATWD
DLRWSIPGVLEFNLFGI PMVGPDICGFAL-----DTPEELCRRWMLGA
FYPFSRNHNGQGYKDQDPASFGADSLLLNSSRHYLNIRY TLLPYLYTLFF
RAHSRGDTVARPLLHEFYEDNSTWDVHQQFLWGPGLLITPVLDEGAEKVM
A--YVPDAVWYDYETGSQVRWRKQKQVEMELPGDKIGLHLRGGYIFP----
-TQQPNTTTLASRKNPLGLIIALDENKEAKGELFWDDGETKDTVANKVYL
LCEFSVTQNRLEVNISQSTYKDPNNLAFNEIKILGTEEPSNVTVKHNGVP
S-----TSPVTVYDSNLKVAIITDIDLLGEAYTVEWAH
*
>P1;2g3m
structureN:2g3m: 3 :A: 693 :A:mal:Sulfolobus solfataricus: 2.55:
-----
-----LKIYENKGVYKVV
IGEPFPPIEFPLEQKISSNKSLSLGLTIVQQGNKVI VEKSLDLKEHIIG
LGEKAFELDRKRKRYVM-----YN
VDAGAYKKYQDPLYVSIPLFISVKDGVATGYFFNSASKVIFDVGLEEYDK
VIVTIPEDSVEFYVIEGPRIEDVLEKYTELTKGPFLPMMWAFGYMISRYS
YYPQDKVVELVDIMQKEGFRVAGVFLDIHYMDSYKLF' TWHYPYRPEPKKL
IDELHKRNKVLITIVDHGI-----RVDQNYSPFLSGMGKFCEIESGEL
FVGNMWPGTTYYPDFREDTREWAGLI---SEWLSQGV DGIWLDMNEPT
DF---SRAIEIRDVLSSLPVQFRDDRLVTTFPDNV VHYLRGKRVKHEKVR
NAYPLYEAMATFKGFRTSHRNEIFILSRAGYAGIQRYAFIWTGDNTPSWD
DLKLQQLVLGLSISGVPFVGCIDGGFQGRNFAEIDNSMDLLVKYALAL
FFPFYRSHKATDGDIDTEP--VFLPDYYKEKVK EIVELRYKFLPYIYSLAL
EASEKGHPVIRPLFYEFQDDDDMYRIEDEY MVGKYLLYAPIVSKEESRLV
T---LPRGKYNY----WNGEIIINGKS VVKSTHELPIYLREGSII P---
-LEGDELIVYGETSFKR-----
-----YDNAEITSSNEIKFSREIYVSKLTIITSEKPVSKIIVDD---
---SKEIQVEKTMQNTYVAKINQKIRGKINLE---
*
>P1;q8tet4
sequence:q8tet4:      : :      : :ganc:Homo sapiens: :
-----
-----
-----YL
LAHKLGRITIGIFWLNASETLVEINTEPAVEYTLTQMGPVAAKQKVRSRTH
VHWMSESGI IDVFLLTGPTPSDVFKQYSHLTGTQAMPPLFSLGYHQCRWN
YEDEQDVKAVDAGFDEHDIPYDAMWLDIEHTEGKRYFTWDKNRFPNPKRM
QELLRSKRRKLVVISDPHI-----KIDPDYSVYV KAKDQGFVKNQEGED
FEGVCWPGLSSYLDFTNPKVREWYSSLFAFPVYQGSTDILFLWDMNEPS
VF-----RGPEQTMQKNAIHHGNWEHRELHNI
YGFYHQMATAEGLIKRSKGKERPFVLT RSFFAGSQYGA VWTGDNTAEWS
NLKISIPMLLTLSITGISFCGADIGGFIG-----NPETELLVRWYQAGA
YQPFRRGHATMNTKRREP--WLFGEHTRLIREAIRERYGLLPYWYSLFY
HAHVASQPVMRPLWVEFPDELKTFDMEDEYMLGSALLVHPVTEPKATTVD
VFLPGSNEVWYDY-KTFAHWEGGCTVKIPVALDTIPVFQRGGSVIP----
-----
-----
-----
*

```

Ket: **O** = penyesuaian dengan sekuens residu yang hilang pada berkas pdb (Lampiran 1, Lampiran 2), warna **merah** = penyesuaian sekuens residu dengan jurnal oleh Saqib & Siddiqi (2008)

Tampilan pengaturan align-multiple.ali dalam bentuk .clustal

CLUSTAL W ALN saved from UCSF Chimera/MultAlignViewer

```

2qmj/7-869          VNELERINCPDQPPTKATCDQRGCCWNPQGA VSVPCYYSKNHSYHVEG 50
2g3m/3-693          -----
q8tet4/270-780      -----
2qmj/7-869          NLVNTNAGFTARLKNLPSSPVFGSNVDNVL LTAEQTSNRFHFKLTDQTN 100
2g3m/3-693          -----ILKIYENKGVYKVVIGEPFP 20
q8tet4/270-780      -----
2qmj/7-869          NRFEVPEHVQSFSGNAAASLTYQVEISRQPF SIKVTRRSNNRVLFDSI 150
2g3m/3-693          PIEFPLEQKISSNKSLSELGLTI VQQGNK VIVEKSLDLKEHIIGLGEKAF 70
q8tet4/270-780      -----
2qmj/7-869          GPLLFADQFLQLSTRLPSTNVYGLGEHVHQ QYRHD MNWKTWPIFN RD TTP 200
2g3m/3-693          ELDRKRKRKYVM-----Y NVDAGAY 89
q8tet4/270-780      -----YLLAHKLG 8
2qmj/7-869          NGNGTNLYGAQTFFLCLEDASGLSFGVFLM NSNAMEVVLQ PAPAITYRTI 250
2g3m/3-693          KKYQDPLVYSIPLFISVKDGVATGYFFNS ASKVI FVDVGL E EYDKVIVTIP 139
q8tet4/270-780      RTIGIFWLNASETLVEINTEPAVEYTLTQ MGPVAAKQKVR SRTHVHMWSE 58
                .   .   .   .   .   .   .   .   .   .   .   .   .   .   .   .
2qmj/7-869          GGILDFYVFLGNTPEQVVQEYLELIGR PALPSYWALGFHLSRYEYGTLDN 300
2g3m/3-693          EDSVEFYVIEGPRIEDVLEKYTEL TKGKPLPPMWA FGYMISRYSYYPQDK 189
q8tet4/270-780      SGIIDVFLLTGPTPSDVFVKQYSHLTGTQ AMPPLFSLG YHQCRWNYEDEQD 108
                . : : : : * . : : : * * * : * : : : * : * : : *
2qmj/7-869          MREVVERNRAAQLPYDVQHADIDYMDERRD FTYDSVDFKGFPEFV NELHN 350
2g3m/3-693          VVELVDIMQKEGFRVAGVFLDIHYMDSYK LFTWHPYRFPPEPKKLIDELHK 239
q8tet4/270-780      VKAVDAGFDEHDI PYDAMWLDIEHTEGKR YFTWDK NFRFPNPKRMQELLRS 158
                : : : : : * * : : : * * : : : * * : : : * :
2qmj/7-869          NGQKLVII VDP AISN SSSSKPYGPD RGS DMKI WVNSSDGV TPLIGEVW 400
2g3m/3-693          RNVKLITIVDHGI-----RVDQNYSP FL SGMGKFCELES GELFV GKMM 282
q8tet4/270-780      KKRKL VVISD PHI-----KIDPDYSVYV KAKDQGFVKNQEGEDFE GVCW 203
                . * * : * * * . . . . . : * *
2qmj/7-869          PGQTVFPDYTNPCAVWWTKEF--ELFHNQVE F DGIWIDMNEVSNFVDGS 448
2g3m/3-693          PGTTVYPDFREDTREWAGLI---SEWLSQGV DGIWLDMNEPTDF---S 326
q8tet4/270-780      PGLSSYLDFTNPKVREWYSSLFAFPVYQGS TDILFLWNDMNEPSVF--- 249
                ** : : * : . . * : : : . . . : * * * * : *
2qmj/7-869          VSGCSTNNLNNPFTPRI LDGYLFCCKTLCMD AVQHWGKQYDIHNLYGYSM 498
2g3m/3-693          RAIEIRDVLSLSPVQFRDRLV TTFPDNVVHYL RGRVVKHEKVRNAYPLY 376
q8tet4/270-780      -----RGPEQTMQKNAIHHGNWEHRELH NIYGFYHQ 280
                :
2qmj/7-869          AVATAEAAKTVFPNKRSFILTRSTFAGSGKFAA HWLGDNTATWDDL RWSI 548
2g3m/3-693          EAMATFKGFRTSHRNEIFILSRAGYAGIQR YAFIWTGDNTPSWDDLK LQL 426
q8tet4/270-780      MATAEGLIKRSKGERPFVLT RSTFFAGSOKY GAVWTDGNTAEWSNLKISI 330
                . : . . * : * : * : * : * : * : * : * : * : * :
2qmj/7-869          PGVLEFNLF GIPMVGPDI CGFAL-----DTPEELCRRWMLGAFY PFSR 592
2g3m/3-693          QLVLGLSISGVPPVGC DIGGFQGRNFAEID NSMDLLVKYALALFFP FYR 476
q8tet4/270-780      PMLLTLSTIGISFCGADIGGFI G-----NPETELLVRWYQAGAYQ PFFR 374
                : * : : * : . . * * * * : : * : : . . * * *
2qmj/7-869          NHNGQGYKDQDPASFGADSL LNSRHYLNIRY TLLPYLYTLFFRAHSRG 642
2g3m/3-693          SHKATDGDTEP--VFLPDYYKEKVK EIVELRYKFLPYIYSLALEASEKG 524
q8tet4/270-780      GHATMNTKRREP--WLFGEHTRLIREAIRERY GLLPYWYSLFYHAHVAS 422
                . * . . : * . . . . . * * : * * * * : * . *
2qmj/7-869          DTVARPLLHEFYEDNSTWDVHQQFLWGPGL LITPVLDEGAEKVMA--YVP 690
2g3m/3-693          HPVIRPLFYEFQDDDDMYRIEDEY MVGKYL LYAPIVSKEESRLVT---LP 571
q8tet4/270-780      QPVMRPLWVEFPDELKTFDMEDEYMLGS ALLVHPVTEPKATTVDVFLPGS 472
                . * * * * * * : : . : : : : * * * : . . . .
2qmj/7-869          DAVWYDYETGSQVRWRKQK VEMELPGDKIGLHLRGGYIFPTQQPN TTTLA 740
2g3m/3-693          RGKWYNY---WNGEII NGKSVVKSTHELPI YLREGSII PLEGDELIVYG 617
q8tet4/270-780      NEVWYDY-KTFAHWEGGCTVKIPVALD TI PVFQRGGSVIP----- 511
                * * : * . . . : . . : * * : *
2qmj/7-869          SRKNPLGLIIALDENKEAKGELFWDDGETK DTVANKVYLLCEFSVTQ NRL 790
2g3m/3-693          ETSFKR-----YDNA 627
q8tet4/270-780      -----
2qmj/7-869          EVNISQSTYKDPNNLAFNEIKILGTEEPS NVTVKHNGVPSTSPVTYDSN 840
2g3m/3-693          EITSSSNEIKFSREIYVSKLTI TSEKPVSKIIVDD-----SKEIQVEKT 671
q8tet4/270-780      -----
2qmj/7-869          LKVAIITDIDLLLGEAYTVEWAH 863
2g3m/3-693          MQNTYVAKINQKIRGKINLE--- 691
q8tet4/270-780      -----

```


Lampiran 4. Pengaturan model-multiple.py

```
# Homology modeling with multiple cetakans
from modeller import *          # Load standard Modeller classes
from modeller.automodel import * # Load the automodel class

log.verbose() # request verbose output
env = environ() # create a new MODELLER environment to build this model
in

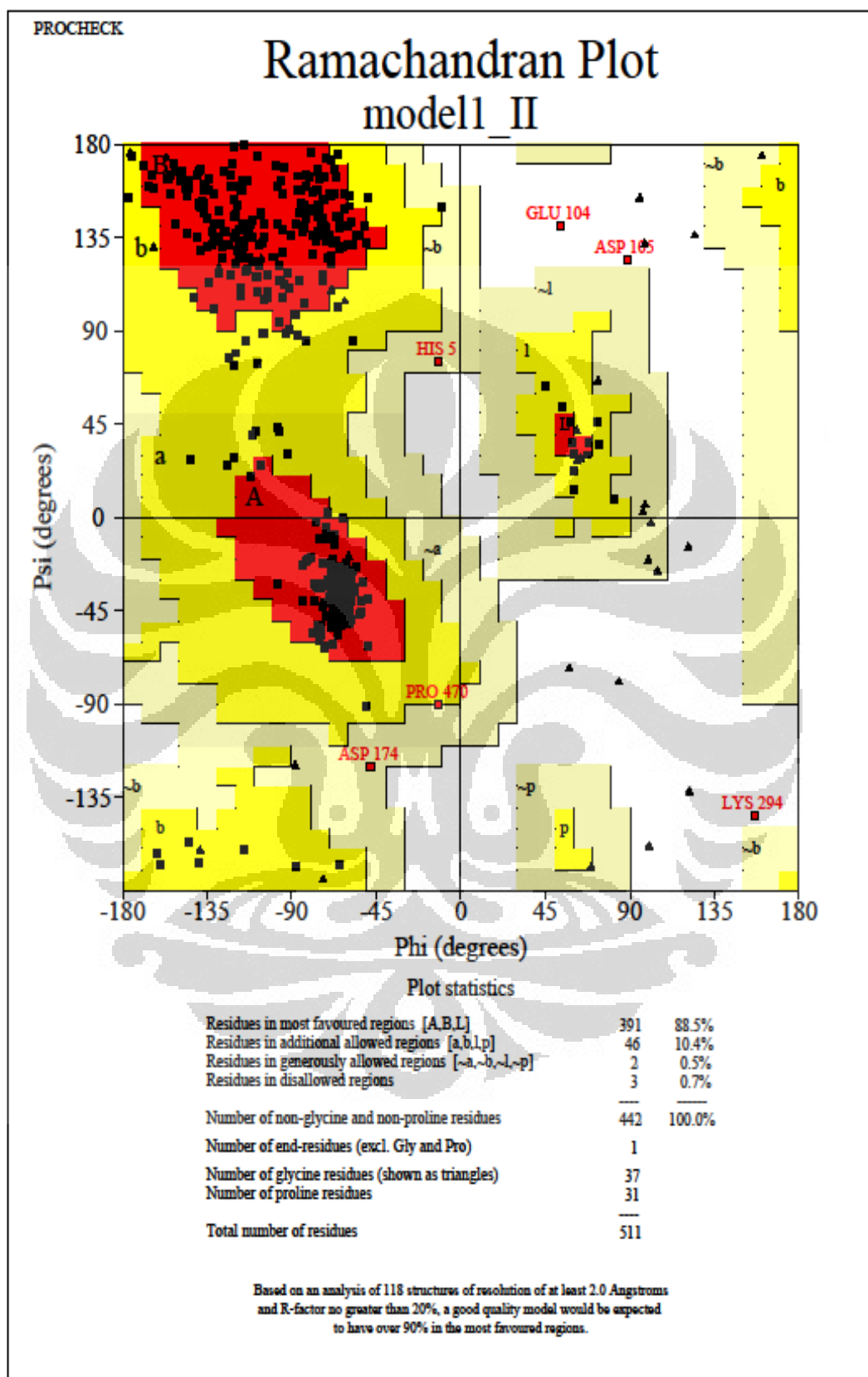
# directories for input atom files
env.io.atom_files_directory = ['.', '..\pdb']

a = automodel(env,
               alnfile = 'align-multiple.ali', # alignment filename
               knowns   = ('2qmj', '2g3m'),    # codes of the cetakans
               sequence = 'q8tet4')          # code of the target
a.starting_model= 1 # index of the first model
a.ending_model  = 10 # index of the last model
                 # determines how many models to calculate)
a.make()          # do the actual homology modeling
```

Lampiran 5. Perintah Modeller 9.10

1. Berkas masukan model-multiple.py dan align-multiple.ali disimpan dalam direktori yang sama.
2. Direktori diubah ketempat berkas masukan model-multiple.py dan align-multiple.ali berada.
3. Perintah dijalankan: mod9.10 model-multiple.py

Lampiran 6. Plot Ramachandran dari model 1 hasil pemodelan homologi



Lampiran 7. Berkas minimisasi ligan (min.in) pada optimasi ligan

```
Initial minimisation of akarbose
&cntrl
  imin=1, maxcyc=500, ncyc=250,
  cut=12, ntb=0, igb=0,
&end
```

Lampiran 8. Perintah Amber pada Optimasi Ligan

Keseluruhan proses komputasi Amber dijalankan melalui PuTTY.

1. Pembuatan parameter dan koordinat berkas ligan

- a. Berkas .pdb dari ligan (misal: akarbose.pdb sebagai nama berkas masukan) ditambahkan dengan atom hidrogen dan dibuat berkas .pdb baru (misal: akarbose_h.pdb sebagai nama berkas keluaran). Proses komputasi dijalankan dengan perintah: `reduce akarbose.pdb > akarbose_h.pdb`
- b. Berkas .pdb diubah menjadi .mol2 yang merupakan unit dalam Leap, dengan perintah: `antechamber -i nama_berkas.pdb -fi .pdb -o nama_berkas.mol2 -fo mol2 -c bcc -s 2`
- c. Parameter yang dibutuhkan diperiksa keberadaannya dengan fungsi `parmck`, dengan perintah: `parmchk -i akarbose.mol2 -f mol2 -o akarbose.frcmod` dan diperoleh keluaran .frcmod yang berfungsi untuk memperbaiki parameter yang hilang.
- d. Berkas .mol2 dan .frcmod dimasukkan kedalam program tLeap, dengan perintah: `tLeap -s -f leaprc.ff99SB`
 - 1) `source leaprc.gaff`
 - 2) `ACR = loadmol2 akarbose.mol2`
 - 3) `check ACR`
 - 4) `loadamberparams akarbose.frcmod`
 - 5) `saveoff ACR acr.lib`
 - 6) `saveamberparm ACR akarbose.prmtop akarbose.inpcrd`

2. Minimisasi ligan

- a. Berkas masukkan `min.in` disiapkan terlebih dahulu.
- b. Proses komputasi minimisasi dijalankan dengan perintah: `sander -O -i min.in -o akarbonate_min.out -p akarbonate.prmtop -c akarbonate.inpcrd -r akarbonate_min.crd &`, dan diperoleh keluaran `.crd`.
- c. Koordinat struktur ligan terminimisasi `.crd` diubah kedalam bentuk `.pdb` dengan perintah: `ambpdb -p akarbonate.prmtop <akarbonate_min.crd> akarbonate_min.pdb`

Lampiran 9. Berkas minimisasi makromolekul (`init_min.in`)

```
ganc-human: initial minimisation prior to MD
&cntrl
  imin   = 1,
  maxcyc = 1000,
  ncyc   = 250,
  ntb    = 0,
  igb    = 0,
  cut    = 12
/
```

Lampiran 10. Perintah Amber pada Optimasi Makromolekul

Keseluruhan proses komputasi Amber dijalankan melalui PuTTY.

1. Pembuatan parameter dan koordinat berkas makromolekul
 - a. Berkas `.pdb` dari makromolekul (misal: `model2.pdb`) ditambahkan dengan atom hidrogen dan dibuat berkas `.pdb` baru (misal: `model2_h.pdb`). Proses komputasi dijalankan dengan perintah: `reduce model2.pdb > model2_h.pdb`
 - b. Proses komputasi pembuatan parameter topologi dan koordinat dijalankan dalam program `tLeap`, untuk masuk kedalam `tLeap` dijalankan dengan perintah: `tLeap -s -f leaprc.ff99SB`
 - c. Berkas `.pdb` dimasukkan kedalam program `tLeap` dengan perintah: `mol = loadpdb model2_n.pdb`
 - d. Muatan sistem diperiksa dengan perintah: `charge mol`, diketahui bahwa muatan sistem adalah `-10.000.000`.

- e. Sistem dinetralisasi dengan penambahan ion Na dengan perintah: `addions mol Na+ O`
- f. Proses komputasi pembuatan parameter dan koordinat makromolekul dijalankan dengan perintah: `saveamberparm mol model2.prmtop model2.inpcrd`
- g. Setelah selesai, untuk keluar dari program tLeap dijalankan dengan perintah: `quit`

2. Minimisasi makromolekul

- a. Berkas `init_min.in` disiapkan terlebih dahulu.
- b. Proses komputasi minimisasi dijalankan dengan perintah: `sander -O -i init_min.in -o model2_init_min.out -p model2.prmtop -c model2.inpcrd -r model2_min.rst -o model2_min.out -ref model2.inpcrd &`, dan diperoleh keluaran `.crd`.
- c. Koordinat struktur ligan terminimisasi `.crd` diubah kedalam bentuk `.pdb` dengan perintah: `ambpdb -p model2.prmtop <model2_min.crd> model2_min.pdb`

Lampiran 11. Berkas Parameter *Grid* (`.gpf`)

```
npts 50 50 50 # num.grid points in xyz
gridfld model1_IIrenum.maps.fld # grid_data_file
spacing 0.375 # spacing(A)
receptor_types A C N NA OA SA # receptor atom types
ligand_types C HD OA N # ligand atom types
receptor model1_IIrenum.pdbqt # macromolecule
gridcenter -21.727 -6.323 -5.281 # xyz-coordinates or auto
smooth 0.5 # store minimum energy w/in
rad(A)
map model1_IIrenum.C.map # atom-specific affinity map
map model1_IIrenum.HD.map # atom-specific affinity map
map model1_IIrenum.OA.map # atom-specific affinity map
map model1_IIrenum.N.map # atom-specific affinity map
elecmap model1_IIrenum.e.map # electrostatic potential map
dsolvmap model1_IIrenum.d.map # desolvation potential map
dielectric -0.1465 # <0, AD4 distance-
dep.diel;>0, constant
```

Lampiran 12. Berkas Parameter Penambatan (. dpf)

```

autodock_parameter_version 4.2 # used by autodock to validate
parameter set
outlev 1 # diagnostic output level
intelec # calculate internal electrostatics
seed pid time # seeds for random generator
ligand_types C HD OA N # atoms types in ligand
fld modell_IIrenum.maps.fld # grid_data_file
map modell_IIrenum.C.map # atom-specific affinity map
map modell_IIrenum.HD.map # atom-specific affinity map
map modell_IIrenum.OA.map # atom-specific affinity map
map modell_IIrenum.N.map # atom-specific affinity map
elecmap modell_IIrenum.e.map # electrostatics map
desolvmap modell_IIrenum.d.map # desolvation map
move acrgmbaru.pdbqt # small molecule
about 7.3299 0.2297 -0.3775 # small molecule center
tran0 random # initial coordinates/A or random
axisangle0 random # initial orientation
dihe0 random # initial dihedrals (relative) or
random
tstep 2.0 # translation step/A
qstep 50.0 # quaternion step/deg
dstep 50.0 # torsion step/deg
torsdof 22 # torsional degrees of freedom
rmstol 2.0 # cluster_tolerance/A
extrng 1000.0 # external grid energy
e0max 0.0 10000 # max initial energy; max number of
retries
ga_pop_size 150 # number of individuals in
population
ga_num_evals 25000000 # maximum number of energy
evaluations
ga_num_generations 27000 # maximum number of generations
ga_elitism 1 # number of top individuals to
survive to next generation
ga_mutation_rate 0.02 # rate of gene mutation
ga_crossover_rate 0.8 # rate of crossover
ga_window_size 10 #
ga_cauchy_alpha 0.0 # Alpha parameter of Cauchy
distribution
ga_cauchy_beta 1.0 # Beta parameter Cauchy distribution
set_ga # set the above parameters for GA or
LGA
sw_max_its 300 # iterations of Solis & Wets local
search
sw_max_succ 4 # consecutive successes before
changing rho
sw_max_fail 4 # consecutive failures before
changing rho
sw_rho 1.0 # size of local search space to
sample
sw_lb_rho 0.01 # lower bound on rho
ls_search_freq 0.06 # probability of performing local
search on individual
set_pswl # set the above pseudo-Solis & Wets
parameters
unbound_model bound # state of unbound ligand
ga_run 256 # do this many hybrid GA-LS runs
analysis # perform a ranked cluster analysis

```

Lampiran 13. Perintah Autodock4.2

1. Berkas .gpf, .dpf, .pdbqt ligan, dan .pdbqt makromolekul disimpan dalam satu direktori.
2. Direktori diubah ketempat berkas masukan .gpf dan .dpf, serta berkas .pdbqt dari makromolekul dan ligan berada.
3. Proses komputasi berkas .gpf dijalankan melalui PuTTY dengan perintah:
autogrid4 -p nama_berkas.gpf -l nama_berkas.glg &
4. Penambatan molekuler/ proses komputasi berkas .dpf dijalankan melalui PuTTY dengan perintah: Autodock4 -p nama_berkas.gpf -l nama_berkas.glg &
5. Pengubahan berkas .pdbqt menjadi .pdb melalui PuTTY, dijalankan dengan perintah: cut -6-99 nama_berkas.pdbqt > nama_berkas.pdb

Lampiran 14. Berkas masukan pembuatan parameter topologi dan koordinat

```
(mmpbsa_leap.in)
source leaprc.ff99SB
source leaprc.gaff
loadamberparams acrhd.frcmod
acrhd = loadmol2 acrhd_ob_bcc.mol2
ganc = loadpdb ganc_e.pdb
ganc_acr = combine {ganc acrhd}
saveamberparm acrhd acrhd.prmtop acrhd.inpcrd
charge ganc
charge ganc_acr
addIons2 ganc Na+ 0
addIons2 ganc_acr Na+ 10
charge ganc
charge ganc_acr
saveamberparm ganc ganc.prmtop ganc.inpcrd
saveamberparm ganc_acr ganc_acr.prmtop ganc_acr.inpcrd
solvateOct ganc_acr TIP3PBOX 12.0
saveamberparm ganc_acr ganc_acr_solv.prmtop
ganc_acr_solv.inpcrd
charge ganc
charge ganc_acr
quit
```

Lampiran 15.Berkas masukan minimisasi makromolekul-ligan**Minimisasi 1** (min.in)

```
ganc_acr: initial minimisation solvent + ions
&cntrl
  imin   = 1,
  maxcyc = 1000,
  ncyc   = 500,
  ntb    = 1,
  ntr    = 1,
  cut    = 12
/
Hold the Protein and Ligand fixed
500.0
RES 270 780
END
END
```

Minimisasi 2 (min_all.in)

```
ganc_sul_all: minimization of the entire molecular
system
&cntrl
  imin   = 1,
  maxcyc = 1000,
  ncyc   = 500,
  ntb    = 1,
  cut    = 12
/
&END
```


Lampiran 16. Berkas masukan ekulibrasi makromolekul-ligan

Ekulibrasi 1

```

Heating up the system equilibration stage 1, eq1_acr
&cntrl
  nstlim=5000, dt=0.002, ntx=1, irest=0, ntp=250, ntwr=5000, ntwx=500,

  tempi =0, temp0=300.0, ntt=3, gamma_ln=2.0, cut=12, tautp=2.0, ig=-1,

  ntb=1, ntp=0,

  ntc=2, ntf=2,

  nrespa=2,
&end

```

Ekulibrasi 2

```

Constant pressure constant temperature equilibration stage 2, eq2_acr
&cntrl
  nstlim=5000, dt=0.002, ntx=5, irest=1, ntp=250, ntwr=5000, ntwx=500,

  temp0=300.0, ntt=3, gamma_ln=2.0, cut=12, tautp=2.0, ig=-1,

  ntb=2, ntp=1,

  ntc=2, ntf=2,

  nrespa=1,
&end

```

Ekulibrasi 3

```

Constant pressure constant temperature equilibration stage 3, eq3_acr
&cntrl
  nstlim=50000, dt=0.002, ntx=5, irest=1, ntp=250, ntwr=5000, ntwx=500,

  temp0=300.0, ntt=3, gamma_ln=2.0, cut=12, tautp=2.0, ig=-1,

  ntb=2, ntp=1,

  ntc=2, ntf=2,

  nrespa=1,
&end

```

Ekulibrasi 4

```

Constant pressure constant temperature equilibration stage 4, eq4_acr
&cntrl
  nstlim=50000, dt=0.002, ntx=5, irest=1, ntp=250, ntwr=5000, ntwx=500,

  temp0=300.0, ntt=3, gamma_ln=2.0, cut=12, tautp=2.0, ig=-1,

  ntb=2, ntp=1,

  ntc=2, ntf=2,

  nrespa=1,
&end

```

Lampiran 17. Berkas masukan produksi dinamika molekuler

Parameter produksi (prod_acr.in)

```
ganc-acr-HD in water and ion : 200ps of MD
&cntrl
  imin = 0,  irest = 1,  ntx = 5,
  ntb = 2,  pres0 = 1.0,  ntp = 1,
  taup = 2.0,  ig=-1,
  ntr = 0,
  ntc = 2,  ntf = 2,
  tempi = 300.0,  temp0 = 300.0,
  ntt = 3,  gamma_ln=2.0,  cut=12,
  nstlim = 100000,  dt = 0.002,
  ntrpr = 250,  ntwx = 500,  ntwr = 5000
/
```

Pengaturan penjalanan otomatis proses simulasi (run_md.x)

```
#!/bin/csh
set AMBERHOME="/home/arryy/amber11"
set MDSTARTJOB=2
set MDENDJOB=11
set MDCURRENTJOB=$MDSTARTJOB
set MDINPUT=0

echo -n "Starting Script at: "
date
echo ""

while ( $MDCURRENTJOB <= $MDENDJOB )
  echo -n "Job $MDCURRENTJOB started at: "
  date
  @ MDINPUT = $MDCURRENTJOB - 1
  sander -O -i prod_acr.in \
    -o ganc_acr_solv_md$MDCURRENTJOB.out \
    -p ganc_acr_solv.prmtop \
    -c ganc_acr_solv_md$MDINPUT.rst \
    -r ganc_acr_solv_md$MDCURRENTJOB.rst \
    -x ganc_acr_solv_md$MDCURRENTJOB.mdcrd

  gzip -9 -v ganc_acr_solv_md$MDCURRENTJOB.mdcrd
  echo -n "Job $MDCURRENTJOB finished at: "
  date
  @ MDCURRENTJOB = $MDCURRENTJOB + 1
end
echo "ALL DONE"
```

Lampiran 18.Berkas masukan analisa Ptraj

Analisa RMSD (ptraj_rmsd.in)

```
trajin ganc_acr_solv_md2.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md3.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md4.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md5.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md6.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md7.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md8.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md9.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md10.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md11.mdcrd

center :270-780
image center familiar
rms first out ganc_acr_solv_md2-11_rms.out :272-778@CA
trajout ganc_acr_solv_md2-11_nice.crd nobox
```

Analisa RMSF (ptraj_rmsf.in)

```
trajin ganc_acr_solv_md2.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md3.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md4.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md5.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md6.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md7.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md8.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md9.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md10.mdcrd
trajin ganc_acr_solv_md11.mdcrd

rms first out ganc_acr_solv_md2-11_byres_rmsf.out :270-
780@CA
atomicfluct out ganc_acr_solv_md2-11_byres_rsmf_nice.apf
@CA byres
go
```

Lampiran 19. Perintah Amber pada simulasi dinamika molekuler

Keseluruhan proses komputasi Amber dijalankan melalui PuTTY.

1. Persiapan berkas masukan

- a. Berkas `.pdb` makromolekul dan `.mol2` ligan disimpan dalam satu folder yang sama.
- b. Struktur ligan diberi penambahan muatan AM1-BCC menggunakan Antechamber yang diakses melalui PuTTY dengan perintah:


```
antechamber -i file.mol2 -fi file.mol2 -o file.mol2 -fo mol2 -c bcc -s 2 &
```
- c. Berkas keluaran `.mol2` hasil dari antechamber harus dibuat berkas `.frcmod` dengan perintah:


```
parmchk -i file.mol2 -f mol2 -o file.frcmod
```
- d. Berkas `mmpbsa_leap.in` yang digunakan untuk pembuatan topologi dan koordinat disiapkan terlebih dahulu. Didalamnya termasuk perintah penambahan counter-ions (Ion Na⁺) untuk membuat sistem menjadi netral dan seluruh sistem dilarutkan pada air TIP3P dengan kotak octahedron dengan jarak kotak minimal 12 Å (**Lampiran 14**).
- e. Proses komputasi pembuatan topologi dan koordinat menggunakan tLeap dijalankan melalui PuTTY dengan perintah:


```
tLeap -f leap.in
```

2. Minimisasi energi

- a. Minimisasi Pertama
 - 1) Berkas masukkan `min.in` disiapkan terlebih dahulu (**Lampiran 15**).
 - 2) Berkas `.prmtop` dan `.inpcrd` dengan pelarut air disimpan dalam folder yang sama.
 - 3) Proses minimisasi dilakukan dengan Sander yang diakses dengan PuTTY dengan perintah:


```
sander -O -i min.in -p nama_berkas.prmtop -c nama_berkas.inpcrd -r file.rst -o file.out -ref file.inpcrd &
```

 dan diperoleh keluaran `.crd`.
- b. Minimasi Kedua
 - 1) Berkas masukkan `min_all.in` disiapkan terlebih dahulu (**Lampiran 15**).

- 2) Proses minimisasi dilakukan dengan Sander yang diakses dengan PuTTY dengan perintah: `sander -O -i min.in -p file.prmtop -c file.inpcrd -r file.rst -o file.out &`, dan diperoleh keluaran `.crd`.

Perintah `-p` ditujukan untuk berkas masukan topologi kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air, `-c` ditujukan untuk berkas masukan koordinat kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air, `-r` ditujukan untuk *output restart file* hasil minimisasi, `-o` ditujukan untuk berkas keluaran yang berisi hasil perhitungan minimisasi, `-ref` ditujukan untuk untuk berkas masukan koordinat kompleks ligan-makromolekul dalam pelarut air (Lee, Deng, Briggs, & Duan, 2008).

3. Ekuilibراسي

- a. Berkas masukan `eq1.in` untuk ekuilibراسي pertama disiapkan terlebih dahulu (**Lampiran 16**).
- b. Proses ekuilibراسي dilakukan dengan piranti lunak sander yang dapat diakses dengan PuTTY dengan perintah: `sander -O -i eq1.in -p file.prmtop -c file.inpcrd -r file.rst -x file.mdcrd -o file.out &`. Ekuilibراسي berikutnya dilakukan setelah ekuilibراسي sebelumnya selesai.
- c. Proses ekuilibراسي berikutnya dilakukan dengan mengulang proses a (dengan penyesuaian pada `eq2.in` maupun `eq3.in`) dan proses b (**Lampiran 16**).
- d. Analisis hasil ekuilibراسي sebelum memasuki proses produksi.

1) Suhu

- a) Data energi potensial pada berkas `.out` hasil produksi diekstrak dan diubah kedalam format `.dat` melalui PuTTY dengan menjalankan perintah: `grep TEMP nama_berkas.out | awk '{print $6,$9}' > nama_berkas.dat`
- b) Berkas `.dat` hasil ekstrak dibuka dengan program *Excel* dan dibuat kurva hubungan antara suhu terhadap waktu

2) Berat jenis

- a) Data energi potensial pada berkas `.out` hasil produksi diekstrak dan diubah kedalam format `.dat` melalui PuTTY dengan menjalankan

perintah: `grep Density nama berkas.out | awk '{print $3}' > nama berkas.dat`

- b) Berkas `.dat` hasil ekstrak dibuka dengan program *Excel* dan dibuat kurva hubungan antara berat jenis terhadap waktu

3) Energi potensial

- c) Data energi potensial pada berkas `.out` hasil produksi diekstrak dan diubah kedalam format `.dat` melalui PuTTY dengan menjalankan perintah: `grep EPtot nama berkas.out | awk '{print $9}' > nama berkas.dat`
- d) Berkas `.dat` hasil ekstrak dibuka dengan program *Excel* dan dibuat kurva hubungan antara energi potensial terhadap waktu.

4) RMSD

- a) Berkas `.mdcrd` pada ekulibrasi terakhir disiapkan sebagai berkas masukan.
- b) Berkas `ptraj_rmsd.in` dan berkas `.prmtop` disiapkan.
- c) Pengecekan parameter RMSD dijalankan menggunakan program `ptraj` melalui akses PuTTY dengan perintah: `ptraj berkas.prmtop ptraj_rmsd.in`

4. Produksi

- a. Berkas masukan `prod.in` berupa pengaturan parameter produksi disiapkan terlebih dahulu (**Lampiran 17**).
- b. Berkas `.rst` hasil ekulibrasi terakhir dijadikan sebagai *restart* file pertama untuk memulai produksi.
- c. Berkas `run_md.x` yang berfungsi menjalankan produksi secara otomatis selama 10 kali disiapkan.
- d. Berkas `do.run` untuk menjalankan berkas `run_md.x` dan membuat log file produksi disiapkan (**Lampiran 17**).
- e. Berkas `run_md.x` maupun `do.run` dijadikan berkas yang dapat dieksekusi, perubahan dilakukan melalui akses PuTTY dengan perintah: `chmod 755 nama berkas`
- f. Proses penjalanan produksi dilakukan dengan Sander diakses melalui PuTTY dengan perintah: `. do.run`

5. Analisis

a. Energi Potensial

- 1) Data energi potensial pada berkas `.out` hasil produksi diekstrak dan diubah kedalam format `.dat` melalui PuTTY dengan menjalankan perintah: `grep EPtrot nama berkas.out | awk '{print $9}' > nama berkas.dat`
- 2) Berkas `.dat` hasil ekstrak dibuka dengan program *Excel* dan dibuat kurva hubungan antara energi potensial terhadap waktu.

b. RMSD

- 1) Berkas `.prmtop` dan seluruh berkas `.mdcrd` hasil produksi disimpan dalam satu direktori.
- 2) Berkas `ptraj_rmsd.in` disiapkan terlebih dahulu (**Lampiran 18**).
- 3) Pengecekan parameter RMSD dijalankan menggunakan program `ptraj` melalui akses PuTTY dengan perintah: `ptraj berkas.prmtop ptraj_rmsd.in`
- 4) Berkas `.out` hasil ekstrak dibuka dengan program *Excel* dan dibuat kurva hubungan antara RMSD terhadap waktu.

c. RMSF

- 1) Berkas `.prmtop` dan seluruh berkas `.mdcrd` hasil produksi disimpan dalam satu direktori.
- 2) Berkas `ptraj_rmsf.in` disiapkan terlebih dahulu (**Lampiran 18**).
- 3) Pengecekan parameter RMSD dijalankan menggunakan program `ptraj` melalui akses PuTTY dengan perintah: `ptraj berkas.prmtop ptraj_rmsf.in`
- 4) Berkas `.apf` hasil ekstrak dibuka dengan program *Excel* dan dibuat kurva hubungan antara RMSF terhadap residu.

d. Kondisi Ikatan Hidrogen

- 1) Berkas `.prmtop` dan berkas `.crd` hasil analisis RMSD disimpan dalam satu direktori.
- 2) Analisa kondisi ikatan hidrogen melalui VMD.
 - a) Berkas dimasukkan kedalam program. Klik `file > new molecule > berkas .prmtop dimasukkan > tipe berkas: AMBER7 Parm > load`

- > berkas .crd dimasukkan> tipe berkas: AMBER Coordinates > load. Ditunggu hingga seluruh frame selesai ditampilkan.
- b) Klik *graphic. Selected atom* = resname ACR (ACR= nama ligan).
Draw style > CPK.
- c) Klik *Extensions > Analysis > Hydrogen bonds. Selection 2* = resname ACR, *distance* = 3.5, *angle cut off* = 60. Parameter lain yang dipilih adalah *selections every frame, both, calculate detailed* = unique bond. Pilihan output = *Plot the data with MultiPlot, Write output to files .dat*. Klik *Find hydrogen bonds!*
- d) Pemilihan ikatan hidrogen dengan *occupancy* diatas 50% dari berkas .dat hasil analisis hidrogen. Kemudian dilakukan penghitungan *distance* donor dan akseptor terhadap ikatan hidrogen ligan-residu terpilih dengan *TkConsole*.
- e) Berkas dibuka dengan cara yang sama seperti tahap a) dan b).
- f) Klik *Extensions > TkConsole*. Donor dan akseptor didefinisikan melalui skrip.

Lampiran 20. *Occupancy* ikatan hidrogen antara senyawa ligan dengan α -glukosidase dalam produksi selama 2 ns

Sulochrin (Best Energy)

Found 93 hbonds.

| donor | acceptor | occupancy | donor | acceptor | occupancy |
|-----------------|-----------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------|
| HIE376-Side-NE2 | SUL512-Side-C11 | 72.33% | HIE5-Side-CB | SUL512-Main-O | 3.90% |
| HIE376-Side-NE2 | SUL512-Side-O6 | 43.46% | SUL512-Side-C1 | ASP318-Side-CG | 0.30% |
| HIE376-Side-NE2 | SUL512-Side-C10 | 41.16% | SUL512-Side-C15 | ASP242-Side-CG | 0.50% |
| TRP101-Side-CD1 | SUL512-Side-O6 | 26.97% | SUL512-Side-C15 | TRP240-Side-CZ2 | 1.00% |
| SUL512-Side-O1 | ASP318-Side-OD1 | 99.40% | ARG302-Side-NE | SUL512-Side-C15 | 0.70% |
| SUL512-Side-O1 | ASP318-Side-CG | 69.73% | ARG374-Side-NH2 | SUL512-Side-O1 | 0.20% |
| SUL512-Side-C1 | PHE351-Side-CD2 | 6.09% | SUL512-Side-C6 | LEU7-Side-CB | 0.20% |
| PHE351-Side-CE2 | SUL512-Side-O1 | 0.20% | ARG302-Side-NE | SUL512-Side-O5 | 0.10% |
| PHE351-Side-CZ | SUL512-Side-O4 | 26.47% | SUL512-Side-C15 | ARG302-Side-NH2 | 0.10% |
| ASP318-Side-CB | SUL512-Side-C1 | 2.00% | ARG302-Side-CG | SUL512-Side-C15 | 0.10% |
| LEU7-Side-CG | SUL512-Side-C5 | 5.59% | ARG9-Side-NH2 | SUL512-Side-C6 | 0.20% |
| SUL512-Side-C1 | ASP318-Side-CB | 3.80% | SUL512-Side-C6 | ARG9-Side-NH2 | 0.10% |
| SUL512-Side-O6 | ASP129-Side-OD2 | 1.40% | SUL512-Side-O1 | PHE351-Side-CD1 | 0.20% |
| PHE351-Side-CE2 | SUL512-Side-C1 | 1.10% | ARG302-Side-NH2 | SUL512-Side-O5 | 0.10% |
| HIE376-Side-CE1 | SUL512-Side-O6 | 15.18% | SUL512-Side-O1 | PHE351-Side-CZ | 0.10% |
| TRP101-Side-CB | SUL512-Side-O6 | 13.19% | SUL512-Side-O1 | PHE351-Side-CE1 | 0.20% |
| PHE351-Side-CE2 | SUL512-Side-O4 | 1.30% | SUL512-Side-C15 | ASP318-Side-OD1 | 5.39% |
| LEU7-Side-CB | SUL512-Side-C5 | 1.20% | HIE5-Main-CA | SUL512-Main-O | 1.80% |
| HIE376-Side-CD2 | SUL512-Side-O1 | 3.00% | SUL512-Side-C5 | HIE5-Main-O | 5.19% |
| SUL512-Side-C1 | PHE351-Side-CE2 | 13.29% | PHE351-Side-CE1 | SUL512-Side-O4 | 5.29% |
| SUL512-Side-C15 | ASP242-Side-OD1 | 27.47% | SUL512-Side-C1 | PHE351-Side-CZ | 4.10% |
| TRP101-Side-CD1 | SUL512-Side-C10 | 2.60% | TRP101-Side-CD1 | SUL512-Side-C11 | 0.10% |
| LEU7-Side-CD2 | SUL512-Side-C5 | 9.99% | LEU7-Side-CG | SUL512-Side-C1 | 1.30% |
| SUL512-Side-O1 | ASP318-Side-OD2 | 2.50% | THR378-Side-OG1 | SUL512-Side-O4 | 0.20% |
| LEU7-Side-CD2 | SUL512-Main-O | 9.09% | LEU7-Side-CB | SUL512-Main-C | 2.10% |
| SUL512-Side-C1 | ASP318-Side-OD1 | 2.90% | LEU7-Side-CB | SUL512-Side-C1 | 0.20% |
| SUL512-Side-C10 | TRP101-Side-CD1 | 6.19% | LEU7-Side-CD2 | SUL512-Main-C | 0.20% |
| SUL512-Side-C15 | ARG302-Side-NE | 3.70% | SUL512-Side-O1 | ASP318-Side-CB | 0.70% |
| SUL512-Side-C15 | ASP242-Side-OD2 | 1.30% | SUL512-Side-C10 | TRP101-Side-CG | 0.60% |
| HIE376-Side-NE2 | SUL512-Side-C12 | 6.19% | SUL512-Side-C10 | TRP101-Side-CD2 | 0.10% |
| LEU7-Side-CG | SUL512-Side-C4 | 1.90% | TRP315-Side-CZ2 | SUL512-Side-C15 | 0.40% |
| SUL512-Side-C6 | ARG9-Side-NH1 | 1.00% | ASP318-Side-CB | SUL512-Side-O1 | 0.50% |
| LEU7-Side-CG | SUL512-Main-C | 0.60% | ARG302-Side-NH2 | SUL512-Side-O2 | 0.40% |
| SUL512-Main-O | ARG302-Side-NH2 | 1.00% | ARG302-Side-NE | SUL512-Side-O2 | 0.10% |
| TRP101-Main-CA | SUL512-Side-O6 | 2.30% | SUL512-Main-O | ARG302-Side-CZ | 0.10% |
| SUL512-Side-C15 | ILE166-Side-CD1 | 1.20% | TRP315-Side-CH2 | SUL512-Side-C15 | 0.10% |
| SUL512-Main-O | ARG302-Side-NH1 | 0.30% | PHE351-Side-CZ | SUL512-Side-C10 | 0.10% |
| TRP240-Side-CZ2 | SUL512-Side-O5 | 0.50% | PHE351-Side-CZ | SUL512-Side-C1 | 0.10% |
| LEU7-Side-CD2 | SUL512-Side-C4 | 3.90% | TRP240-Side-CH2 | SUL512-Side-O6 | 0.10% |
| ILE166-Side-CD1 | SUL512-Side-C15 | 0.50% | LEU7-Side-CG | SUL512-Side-C3 | 0.20% |
| TRP240-Side-CZ2 | SUL512-Side-C15 | 0.40% | LEU7-Side-CG | SUL512-Side-C2 | 0.10% |
| ARG302-Side-CD | SUL512-Side-O2 | 1.20% | SUL512-Side-C12 | TRP240-Side-CH2 | 0.10% |
| HIE376-Side-NE2 | SUL512-Side-O1 | 1.70% | LEU7-Side-CB | SUL512-Side-C6 | 0.20% |
| PHE351-Side-CE2 | SUL512-Side-C14 | 0.10% | HIE376-Side-NE2 | SUL512-Side-O4 | 0.10% |
| ARG302-Side-CD | SUL512-Side-C15 | 0.10% | SUL512-Side-C10 | HIE376-Side-CE1 | 0.10% |
| SUL512-Side-C15 | ARG302-Side-CD | 0.30% | SUL512-Side-C6 | HIE5-Main-O | 0.10% |
| ARG9-Side-NH1 | SUL512-Side-C6 | 0.60% | | | |

Sulochrin (Best Cluser)

Found 92 hbonds.

| donor | acceptor | occupancy | donor | acceptor | occupancy |
|-----------------|-----------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------|
| ASP318-Side-CB | SUL512-Side-O1 | 43.06% | ARG302-Side-NH2 | SUL512-Side-C4 | 4.60% |
| GLY317-Main-CA | SUL512-Side-O3 | 6.39% | SUL512-Side-O6 | ASP318-Main-C | 0.90% |
| ARG302-Side-NH2 | SUL512-Main-O | 7.15% | HIE5-Side-CB | SUL512-Side-C9 | 0.80% |
| SUL512-Side-O1 | ASP318-Side-CB | 13.89% | SUL512-Side-C15 | PHE351-Side-CZ | 0.80% |
| SUL512-Side-O1 | ASP318-Side-CG | 80.62% | ASP318-Side-CB | SUL512-Side-C10 | 0.30% |
| SUL512-Side-O1 | ASP318-Side-OD2 | 100.00% | PHE351-Side-CE2 | SUL512-Side-C15 | 0.90% |
| SUL512-Side-O6 | ASP318-Main-O | 58.24% | PHE351-Side-CZ | SUL512-Side-C15 | 0.70% |
| SUL512-Side-C1 | ASP318-Side-OD2 | 67.03% | SUL512-Side-C16 | ASP318-Main-N | 0.10% |
| SUL512-Side-C5 | ASP242-Side-OD2 | 26.87% | SUL512-Side-C15 | TRP101-Side-CH2 | 0.30% |
| ASP318-Main-N | SUL512-Side-C10 | 12.49% | PHE351-Side-CE2 | SUL512-Side-C13 | 0.40% |
| ASP318-Main-N | SUL512-Side-O3 | 22.78% | SUL512-Side-C16 | TRP315-Side-CH2 | 4.40% |
| SUL512-Side-C10 | ASP318-Main-N | 7.29% | ARG302-Side-CG | SUL512-Side-C16 | 0.70% |
| SUL512-Side-C16 | TRP315-Side-CZ2 | 5.59% | PHE351-Side-CZ | SUL512-Side-C13 | 1.10% |
| TRP101-Side-NE1 | SUL512-Side-C6 | 13.59% | PHE351-Side-CZ | SUL512-Side-C12 | 0.20% |
| ILE166-Side-CD1 | SUL512-Side-C6 | 2.70% | SUL512-Side-C16 | GLY317-Main-CA | 2.20% |
| ARG302-Side-NH2 | SUL512-Side-C5 | 2.79% | SUL512-Side-O6 | HIE5-Main-O | 0.60% |
| GLY317-Main-CA | SUL512-Side-C16 | 2.60% | HIE5-Main-CA | SUL512-Side-O3 | 0.30% |
| SUL512-Side-C6 | TRP240-Side-CZ2 | 15.98% | HIE5-Main-CA | SUL512-Side-C16 | 0.10% |
| TRP101-Side-CZ2 | SUL512-Side-C1 | 1.70% | SUL512-Side-C16 | GLU245-Side-OE1 | 0.10% |
| HIE5-Side-CB | SUL512-Side-O3 | 0.70% | TRP101-Side-CZ2 | SUL512-Side-C2 | 1.80% |
| ARG302-Side-CD | SUL512-Side-C16 | 0.20% | PHE351-Side-CE2 | SUL512-Side-O5 | 0.40% |
| SUL512-Side-C16 | ARG302-Side-CD | 0.50% | SUL512-Side-C6 | ILE166-Side-CD1 | 0.70% |
| SUL512-Side-C16 | ARG302-Side-NE | 0.80% | SUL512-Side-C10 | HIE5-Main-O | 1.20% |
| SUL512-Side-C6 | ASP242-Side-CG | 2.10% | SUL512-Side-C15 | PHE351-Side-CE2 | 0.30% |
| PHE351-Side-CE2 | SUL512-Side-C12 | 3.40% | TRP101-Side-NE1 | SUL512-Side-C5 | 0.60% |
| TRP101-Side-CZ2 | SUL512-Side-C5 | 3.80% | SUL512-Side-C10 | GLY317-Main-C | 0.20% |
| SUL512-Side-C6 | ASP242-Side-OD1 | 9.39% | ARG250-Side-CG | SUL512-Main-O | 0.10% |
| PHE351-Side-CE2 | SUL512-Side-C11 | 0.60% | ARG250-Side-NE | SUL512-Main-O | 0.70% |
| TRP101-Side-CZ2 | SUL512-Side-C4 | 3.40% | SUL512-Side-C16 | ARG302-Side-CZ | 0.10% |
| PHE351-Side-CE2 | SUL512-Side-O6 | 0.10% | ARG302-Side-NH2 | SUL512-Main-C | 0.10% |
| ASP318-Main-N | SUL512-Side-C16 | 0.60% | HIE5-Side-CB | SUL512-Side-C16 | 0.10% |
| TRP101-Side-CZ2 | SUL512-Main-C | 2.40% | SUL512-Side-C16 | HIE5-Side-CB | 0.10% |
| SUL512-Side-C16 | ARG302-Side-CG | 0.20% | ARG302-Side-NH2 | SUL512-Side-O4 | 0.30% |
| SUL512-Side-C6 | ASP242-Side-OD2 | 3.70% | SUL512-Side-C6 | TRP240-Side-CE2 | 0.10% |
| SUL512-Side-C6 | TRP240-Side-CH2 | 2.90% | TRP101-Side-CH2 | SUL512-Side-O5 | 0.20% |
| HIE5-Side-CB | SUL512-Side-O4 | 8.29% | ILE352-Side-CG2 | SUL512-Side-O6 | 0.10% |
| TRP101-Side-NE1 | SUL512-Side-C1 | 2.90% | SUL512-Side-C16 | HIE5-Main-O | 0.20% |
| TRP101-Side-NE1 | SUL512-Main-C | 12.19% | ILE352-Side-CD1 | SUL512-Side-C15 | 0.30% |
| SUL512-Side-C15 | ILE352-Side-CD1 | 0.40% | TRP101-Side-CH2 | SUL512-Side-O2 | 0.10% |
| PHE351-Side-CZ | SUL512-Side-O5 | 4.10% | SUL512-Side-C16 | LEU16-Side-CD2 | 0.50% |
| HIE376-Side-NE2 | SUL512-Side-C1 | 0.30% | SUL512-Side-C5 | ASP242-Side-OD1 | 0.10% |
| TRP101-Side-CZ2 | SUL512-Side-C3 | 2.10% | ASP318-Main-N | SUL512-Side-O1 | 0.10% |
| SUL512-Side-C1 | HIE376-Side-NE2 | 0.20% | TRP101-Side-CH2 | SUL512-Side-C15 | 0.10% |
| SUL512-Side-C10 | ASP318-Main-O | 0.90% | SUL512-Side-C16 | LEU16-Side-CD1 | 0.70% |
| HIE5-Side-CB | SUL512-Side-C14 | 6.39% | LEU16-Side-CD1 | SUL512-Side-C16 | 0.90% |
| SUL512-Side-C6 | TRP101-Side-NE1 | 2.20% | LEU16-Side-CD1 | SUL512-Side-O3 | 0.10% |

Akarbose

Found 185 hbonds.

| donor | acceptor | occupancy | donor | acceptor | occupancy |
|-----------------|-----------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------|
| THR378-Side-OG1 | ACR512-Side-O14 | 93.01% | ARG374-Side-NH2 | ACR512-Side-C1 | 27.97% |
| ARG374-Side-NH1 | ACR512-Main-O | 85.51% | HIE5-Side-NE2 | ACR512-Side-C7 | 5.79% |
| HIE376-Side-CB | ACR512-Side-O2 | 26.57% | ACR512-Side-O16 | ARG250-Main-C | 0.70% |
| ARG374-Side-NH2 | ACR512-Side-O2 | 72.33% | PHE249-Side-CZ | ACR512-Side-C22 | 0.30% |
| TRP203-Side-CZ2 | ACR512-Side-O3 | 5.49% | MET243-Side-CE | ACR512-Side-O4 | 9.79% |
| ARG250-Side-CB | ACR512-Side-O16 | 22.18% | ACR512-Side-C5 | PHE351-Side-CE1 | 0.30% |
| PHE249-Side-CD1 | ACR512-Side-O5 | 17.38% | ACR512-Side-O16 | ARG250-Side-CB | 0.40% |
| HIE5-Side-NE2 | ACR512-Side-O5 | 99.80% | ACR512-Main-C | PHE351-Side-CE1 | 2.00% |
| TRP203-Side-NE1 | ACR512-Side-O4 | 29.07% | PHE249-Main-CA | ACR512-Side-O5 | 1.00% |
| ACR512-Side-O2 | HIE376-Main-O | 37.26% | ACR512-Side-C21 | THR378-Side-OG1 | 0.90% |
| ACR512-Side-O1 | ASP318-Side-CG | 94.51% | ACR512-Side-C19 | TRP101-Side-CZ3 | 16.18% |
| ACR512-Main-O | ASP318-Side-OD1 | 91.61% | ACR512-Side-O8 | HIE5-Side-CD2 | 0.20% |
| ACR512-Side-O17 | ASP129-Side-OD2 | 100.00% | ACR512-Side-O4 | ASP242-Side-CG | 1.20% |
| ACR512-Side-O1 | ASP318-Side-OD1 | 80.12% | THR378-Side-OG1 | ACR512-Side-C21 | 0.50% |
| ACR512-Side-C2 | ASP242-Side-OD2 | 52.05% | ACR512-Side-C24 | HIE376-Side-ND1 | 0.80% |
| ACR512-Side-C3 | ILE166-Side-CD1 | 2.30% | ACR512-Side-C19 | TRP101-Side-CH2 | 11.99% |
| ACR512-Side-C7 | HIE5-Side-NE2 | 14.49% | ARG374-Side-NH2 | ACR512-Side-C5 | 0.30% |
| ACR512-Side-O4 | ASP242-Side-OD2 | 98.70% | HIE376-Side-CD2 | ACR512-Side-O2 | 0.10% |
| ACR512-Side-C23 | PHE249-Side-CZ | 5.09% | ACR512-Side-O5 | MET243-Side-CE | 9.29% |
| ACR512-Side-C23 | PHE249-Side-CE2 | 22.08% | ACR512-Side-C24 | HIE376-Side-CE1 | 1.40% |
| ACR512-Side-O16 | PHE249-Main-O | 96.60% | ILE352-Side-CD1 | ACR512-Side-O9 | 0.30% |
| ACR512-Side-C23 | PHE249-Side-CG | 0.80% | ACR512-Side-C5 | HIE376-Main-O | 0.20% |
| ACR512-Side-O16 | PHE249-Main-C | 40.06% | ACR512-Side-O2 | HIE376-Side-CD2 | 4.00% |
| ACR512-Side-O5 | MET243-Side-SD | 85.11% | TRP101-Side-CD1 | ACR512-Side-C24 | 1.10% |
| ARG374-Side-NH2 | ACR512-Main-O | 86.91% | ILE166-Side-CD1 | ACR512-Side-O17 | 5.29% |
| HIE5-Side-NE2 | ACR512-Side-O6 | 24.68% | ACR512-Side-C8 | TRP203-Side-CZ2 | 4.10% |
| ACR512-Side-O2 | HIE376-Side-CG | 42.76% | TRP203-Side-NE1 | ACR512-Side-O17 | 13.79% |
| ACR512-Side-O1 | ASP318-Side-OD2 | 66.23% | ACR512-Main-O | ASP318-Side-OD2 | 20.58% |
| ACR512-Side-C9 | PHE249-Side-CE1 | 19.98% | TRP315-Side-CZ2 | ACR512-Side-O1 | 0.30% |
| ACR512-Side-C8 | PHE249-Side-CE1 | 0.80% | ACR512-Side-O17 | ASP129-Side-CG | 14.49% |
| THR378-Side-OG1 | ACR512-Side-C20 | 12.79% | ACR512-Side-C19 | TRP101-Side-CZ2 | 0.30% |
| TRP101-Side-CD1 | ACR512-Side-O17 | 44.76% | TRP101-Side-CH2 | ACR512-Side-O13 | 0.90% |
| ACR512-Main-O | ASP318-Side-CG | 22.58% | ASN380-Side-ND2 | ACR512-Side-O14 | 2.90% |
| THR378-Side-CG2 | ACR512-Side-O14 | 26.27% | ACR512-Side-O17 | ASP129-Side-OD1 | 0.20% |
| TRP240-Side-CH2 | ACR512-Side-C4 | 2.90% | ACR512-Side-O16 | ARG250-Main-O | 0.30% |
| TRP240-Side-CH2 | ACR512-Side-O2 | 45.15% | ILE166-Side-CD1 | ACR512-Side-C3 | 0.30% |
| HIE5-Side-CD2 | ACR512-Side-O8 | 17.38% | HIE5-Side-CD2 | ACR512-Side-C12 | 0.10% |
| ACR512-Side-O2 | HIE376-Side-ND1 | 46.05% | TRP101-Side-CZ3 | ACR512-Side-O13 | 1.80% |
| ACR512-Side-O16 | ARG250-Main-CA | 0.20% | PHE351-Side-CE1 | ACR512-Main-C | 0.10% |
| ACR512-Side-O13 | TRP101-Side-CZ3 | 4.80% | ACR512-Side-C23 | PHE249-Main-O | 0.40% |
| ACR512-Side-O13 | TRP101-Side-CH2 | 5.49% | ACR512-Side-C8 | TRP203-Side-NE1 | 1.30% |
| ACR512-Side-C19 | THR378-Side-OG1 | 3.28% | ARG374-Side-NH2 | ACR512-Side-O1 | 9.79% |
| HIE5-Side-NE2 | ACR512-Side-C8 | 9.29% | ACR512-Side-C7 | ARG302-Side-NH2 | 0.30% |
| TRP240-Side-CH2 | ACR512-Side-C3 | 3.20% | PHE351-Side-CZ | ACR512-Side-C11 | 1.10% |
| ASN380-Side-CB | ACR512-Side-O14 | 0.59% | ACR512-Side-O13 | THR378-Side-OG1 | 0.20% |
| TRP203-Side-CZ2 | ACR512-Side-O17 | 9.59% | ACR512-Main-C | ASP318-Side-OD2 | 1.50% |
| HIE5-Side-CD2 | ACR512-Side-O6 | 4.69% | HIE376-Side-CB | ACR512-Main-O | 1.50% |
| ACR512-Side-O2 | HIE376-Side-CB | 8.29% | ACR512-Side-C12 | HIE5-Side-CD2 | 0.10% |
| ACR512-Side-C1 | ARG374-Side-NH2 | 7.87% | ACR512-Side-O1 | ARG374-Side-NH2 | 0.10% |
| ACR512-Side-C23 | PHE249-Side-CD2 | 5.59% | ACR512-Main-O | PHE351-Side-CD1 | 0.60% |
| ARG374-Side-NH1 | ACR512-Side-O2 | 6.99% | ACR512-Side-O2 | HIE376-Side-CE1 | 8.99% |
| THR378-Side-OG1 | ACR512-Side-C19 | 14.09% | TRP203-Side-CH2 | ACR512-Side-C22 | 0.20% |
| ARG374-Side-NH2 | ACR512-Main-C | 22.58% | ACR512-Side-C22 | TRP203-Side-CH2 | 0.10% |

| | | | | | |
|-----------------|-----------------|-------|-----------------|-----------------|-------|
| TRP203-Side-CZ2 | ACR512-Side-C6 | 0.30% | ACR512-Side-C24 | TRP240-Side-CH2 | 0.20% |
| ACR512-Side-C24 | ILE166-Side-CD1 | 1.40% | TRP203-Side-CZ2 | ACR512-Side-O4 | 0.10% |
| ACR512-Side-C6 | TRP203-Side-CZ2 | 1.20% | ARG302-Side-NH2 | ACR512-Side-O4 | 0.40% |
| ACR512-Side-C11 | TRP203-Side-CZ2 | 0.10% | ACR512-Side-O13 | TRP101-Side-CZ2 | 0.30% |
| TRP240-Side-CH2 | ACR512-Side-C1 | 0.10% | ACR512-Side-O12 | TRP101-Side-NE1 | 0.20% |
| ACR512-Side-C1 | TRP240-Side-CH2 | 0.10% | ACR512-Side-O12 | TRP101-Side-CE2 | 0.20% |
| ILE130-Side-CD1 | ACR512-Side-O17 | 0.10% | ACR512-Main-O | PHE351-Side-CE1 | 0.30% |
| ACR512-Side-C8 | TRP203-Side-CE2 | 0.20% | ACR512-Side-O2 | HIE376-Side-NE2 | 0.40% |
| PHE249-Side-CE1 | ACR512-Side-C8 | 0.20% | ACR512-Main-N | ASP318-Side-OD2 | 0.50% |
| ILE352-Side-CD1 | ACR512-Side-O15 | 3.70% | ARG302-Side-NH2 | ACR512-Side-C7 | 0.10% |
| MET243-Side-CG | ACR512-Side-O4 | 3.00% | TRP101-Side-CH2 | ACR512-Side-O12 | 0.10% |
| TRP101-Side-NE1 | ACR512-Side-O17 | 0.30% | ACR512-Side-O13 | TRP101-Side-CE3 | 0.50% |
| ACR512-Side-C2 | ASP242-Side-OD1 | 0.30% | PHE351-Side-CE2 | ACR512-Side-O14 | 0.10% |
| ILE352-Side-CD1 | ACR512-Side-O14 | 1.50% | ACR512-Side-O13 | TRP101-Side-CD2 | 0.10% |
| ACR512-Side-O14 | ILE352-Side-CD1 | 3.50% | ILE352-Side-CG1 | ACR512-Side-O14 | 0.10% |
| THR378-Side-OG1 | ACR512-Side-O13 | 5.09% | THR378-Side-CB | ACR512-Side-O14 | 0.10% |
| ACR512-Side-O4 | ARG302-Side-NH2 | 1.90% | ACR512-Main-O | ARG374-Side-NH1 | 0.30% |
| ACR512-Side-C23 | PHE249-Side-CE1 | 2.20% | ACR512-Main-O | ARG374-Side-NH2 | 0.10% |
| ACR512-Side-C23 | PHE249-Side-CD1 | 1.50% | ACR512-Side-C3 | ASP242-Side-OD2 | 0.20% |
| ACR512-Main-N | ASP242-Side-OD2 | 0.10% | ACR512-Side-O15 | ILE352-Side-CD1 | 0.10% |
| PHE249-Side-CD1 | ACR512-Side-C8 | 0.10% | TRP240-Side-CZ2 | ACR512-Side-O2 | 0.60% |
| ACR512-Side-C24 | TRP101-Side-CD1 | 0.40% | TRP101-Side-CB | ACR512-Side-O2 | 0.10% |
| ACR512-Side-O16 | ARG250-Main-N | 0.40% | PHE351-Side-CE1 | ACR512-Side-O2 | 0.10% |
| ACR512-Main-C | PHE351-Side-CZ | 0.90% | | | |
| MET243-Side-CE | ACR512-Side-O5 | 0.50% | | | |
| ACR512-Side-C9 | PHE249-Side-CD1 | 0.90% | | | |
| ILE166-Side-CD1 | ACR512-Side-C24 | 0.30% | | | |
| ASN380-Side-CB | ACR512-Side-O13 | 1.40% | | | |
| ACR512-Side-C11 | TRP101-Side-NE1 | 0.90% | | | |
| TRP101-Side-CH2 | ACR512-Side-O11 | 0.20% | | | |
| PHE249-Side-CZ | ACR512-Side-O12 | 0.30% | | | |
| PHE351-Side-CE2 | ACR512-Side-O9 | 0.10% | | | |
| ACR512-Side-C18 | TRP101-Side-CZ2 | 0.10% | | | |
| PHE249-Side-CE2 | ACR512-Side-O12 | 0.10% | | | |
| ACR512-Side-O5 | MET243-Side-CG | 0.50% | | | |
| ACR512-Side-C11 | PHE351-Side-CZ | 1.10% | | | |
| ASN380-Main-N | ACR512-Side-O14 | 0.30% | | | |
| ACR512-Side-O14 | THR378-Side-CG2 | 0.10% | | | |
| ACR512-Side-O14 | THR378-Side-OG1 | 0.20% | | | |
| ASN380-Side-ND2 | ACR512-Side-O13 | 0.30% | | | |
| PHE351-Side-CE1 | ACR512-Main-O | 0.90% | | | |
| ACR512-Side-C22 | TRP101-Side-CZ2 | 0.10% | | | |
| ACR512-Side-C18 | TRP101-Side-CH2 | 0.10% | | | |
| TRP203-Side-CH2 | ACR512-Side-O3 | 0.40% | | | |
| ACR512-Side-C22 | TRP101-Side-CH2 | 0.10% | | | |
| ACR512-Side-C8 | TRP203-Side-CH2 | 0.20% | | | |
| ACR512-Side-C6 | TRP203-Side-CH2 | 0.20% | | | |
| TRP203-Side-CZ3 | ACR512-Side-O12 | 0.70% | | | |
| TRP101-Side-CZ2 | ACR512-Side-O12 | 4.40% | | | |
| ACR512-Side-C9 | PHE249-Side-CZ | 0.20% | | | |
| ACR512-Side-O12 | TRP101-Side-CZ2 | 3.70% | | | |
| ARG302-Side-NH2 | ACR512-Side-O1 | 0.10% | | | |
| ACR512-Side-O12 | TRP101-Side-CH2 | 1.30% | | | |
| TRP203-Side-CH2 | ACR512-Side-O12 | 3.10% | | | |
| ACR512-Side-C11 | TRP101-Side-CD1 | 0.50% | | | |
| TRP240-Side-CH2 | ACR512-Side-C24 | 0.30% | | | |

Voglibose

Found 86 hbonds.

| donor | acceptor | occupancy | donor | acceptor | occupancy |
|-----------------|-----------------|-----------|-----------------|-----------------|-----------|
| ARG374-Side-NH2 | VOG512-Side-OG | 83.62% | VOG512-Side-O1 | HIE376-Side-NE2 | 0.10% |
| ARG250-Side-NH2 | VOG512-Side-O2 | 17.08% | TRP101-Side-NE1 | VOG512-Main-O | 9.79% |
| ARG250-Side-NH1 | VOG512-Side-O2 | 0.70% | TRP240-Side-CH2 | VOG512-Side-O1 | 2.20% |
| ARG302-Side-NH2 | VOG512-Side-O2 | 47.35% | VOG512-Side-O2 | MET243-Side-CE | 3.60% |
| ASP242-Side-CB | VOG512-Side-O4 | 0.60% | THR378-Side-CB | VOG512-Side-O5 | 0.20% |
| VOG512-Side-O1 | ASP129-Side-OD2 | 100.00% | MET243-Side-CE | VOG512-Side-O4 | 1.80% |
| VOG512-Main-O | ASP129-Side-CG | 67.13% | ILE130-Side-CD1 | VOG512-Main-O | 5.19% |
| VOG512-Main-O | ASP129-Side-OD1 | 99.80% | THR378-Side-CG2 | VOG512-Side-O1 | 5.39% |
| VOG512-Side-OG | ASP242-Side-OD2 | 100.00% | VOG512-Side-C7 | THR378-Side-CG2 | 0.40% |
| VOG512-Side-O1 | ASP129-Side-CG | 90.11% | VOG512-Side-C6 | ASP242-Side-OD2 | 0.40% |
| VOG512-Side-O1 | ASP129-Side-OD1 | 77.92% | TRP315-Side-CZ2 | VOG512-Side-OG | 0.80% |
| VOG512-Main-N | ASP242-Side-OD2 | 100.00% | HIE5-Side-CE1 | VOG512-Side-O2 | 1.70% |
| VOG512-Side-O4 | ASP242-Side-OD2 | 99.90% | ARG250-Side-NH2 | VOG512-Side-O5 | 1.20% |
| VOG512-Side-O4 | ASP242-Side-CB | 5.69% | VOG512-Side-CB | PHE351-Side-CE1 | 0.40% |
| VOG512-Side-O4 | ASP242-Side-CG | 32.17% | ARG374-Side-NH2 | VOG512-Side-C6 | 0.30% |
| HIE376-Side-NE2 | VOG512-Side-O1 | 10.39% | ARG250-Side-NH2 | VOG512-Side-C6 | 1.60% |
| VOG512-Side-C3 | ASP129-Side-OD1 | 11.09% | VOG512-Side-C7 | TRP101-Side-NE1 | 0.50% |
| VOG512-Side-C6 | ARG302-Side-NH2 | 24.38% | VOG512-Side-C2 | MET243-Side-SD | 0.10% |
| VOG512-Side-OG | ASP242-Side-CG | 51.25% | VOG512-Side-C3 | ASP129-Side-OD2 | 0.10% |
| TRP101-Side-CD1 | VOG512-Main-O | 12.39% | VOG512-Side-C3 | ASP129-Side-CG | 0.30% |
| TRP240-Side-CZ2 | VOG512-Side-OG | 6.99% | ARG250-Side-NE | VOG512-Side-O2 | 0.10% |
| ILE130-Side-CG1 | VOG512-Main-O | 16.88% | TRP240-Side-CZ2 | VOG512-Side-O4 | 0.30% |
| VOG512-Side-CB | ARG374-Side-NH2 | 23.38% | VOG512-Side-C2 | ASP242-Side-OD2 | 0.10% |
| VOG512-Main-O | ASP129-Side-OD2 | 27.37% | ARG374-Side-NE | VOG512-Side-OG | 0.30% |
| VOG512-Side-C6 | ASP318-Side-OD1 | 11.69% | VOG512-Side-O2 | ARG302-Side-NH2 | 0.10% |
| VOG512-Side-OG | ASP242-Side-OD1 | 11.99% | VOG512-Main-N | ASP242-Side-CG | 0.20% |
| VOG512-Side-C2 | MET243-Side-CE | 3.40% | VOG512-Side-CB | PHE351-Side-CE2 | 0.20% |
| ARG302-Side-NH2 | VOG512-Side-C6 | 7.19% | VOG512-Main-N | MET243-Side-SD | 0.10% |
| VOG512-Main-CA | PHE351-Side-CZ | 7.79% | ARG250-Side-NE | VOG512-Side-O5 | 0.20% |
| THR378-Side-CG2 | VOG512-Side-O5 | 0.70% | ARG250-Side-NH2 | VOG512-Main-CA | 0.10% |
| VOG512-Main-CA | PHE351-Side-CE2 | 2.80% | VOG512-Main-CA | ARG250-Side-NH2 | 0.20% |
| VOG512-Side-C6 | ARG374-Side-NH2 | 2.30% | VOG512-Side-O2 | ARG250-Side-NH2 | 0.10% |
| THR378-Side-CG2 | VOG512-Side-C7 | 0.30% | ARG250-Side-NH2 | VOG512-Side-C2 | 0.10% |
| ARG374-Side-NH2 | VOG512-Side-CB | 15.98% | VOG512-Side-C2 | ARG250-Side-NH2 | 0.10% |
| MET243-Side-CE | VOG512-Main-N | 8.19% | TRP101-Side-CD1 | VOG512-Side-O1 | 0.20% |
| VOG512-Side-CB | PHE351-Side-CZ | 7.49% | TRP101-Side-NE1 | VOG512-Side-C7 | 0.20% |
| MET243-Side-CE | VOG512-Side-O2 | 3.70% | VOG512-Side-C6 | PHE351-Side-CZ | 0.60% |
| VOG512-Side-C6 | ASP318-Side-OD2 | 5.59% | MET243-Side-CE | VOG512-Side-C2 | 0.40% |
| ILE130-Side-CG2 | VOG512-Main-O | 1.70% | VOG512-Side-CB | ARG374-Side-CZ | 0.10% |
| VOG512-Side-C6 | PHE351-Side-CE2 | 3.60% | VOG512-Side-C5 | TRP240-Side-CZ2 | 0.10% |
| ARG302-Side-NH2 | VOG512-Side-OG | 0.20% | VOG512-Side-C5 | TRP240-Side-CH2 | 0.50% |
| ILE166-Side-CD1 | VOG512-Side-O4 | 0.30% | TRP240-Side-CH2 | VOG512-Side-C3 | 0.10% |
| PHE351-Side-CE2 | VOG512-Side-O2 | 1.00% | VOG512-Side-C3 | TRP240-Side-CH2 | 0.10% |