

**VALIDASI DAN OPTIMASI PENAMBATAN SENYAWA KO-KRISTAL  
PADA 4H3X.PDB MENGGUNAKAN *SOFTWARE* PLANTS VERSI 1.2**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)

Program Studi Farmasi



Oleh:

Vincentius Danang Budi Prasetya

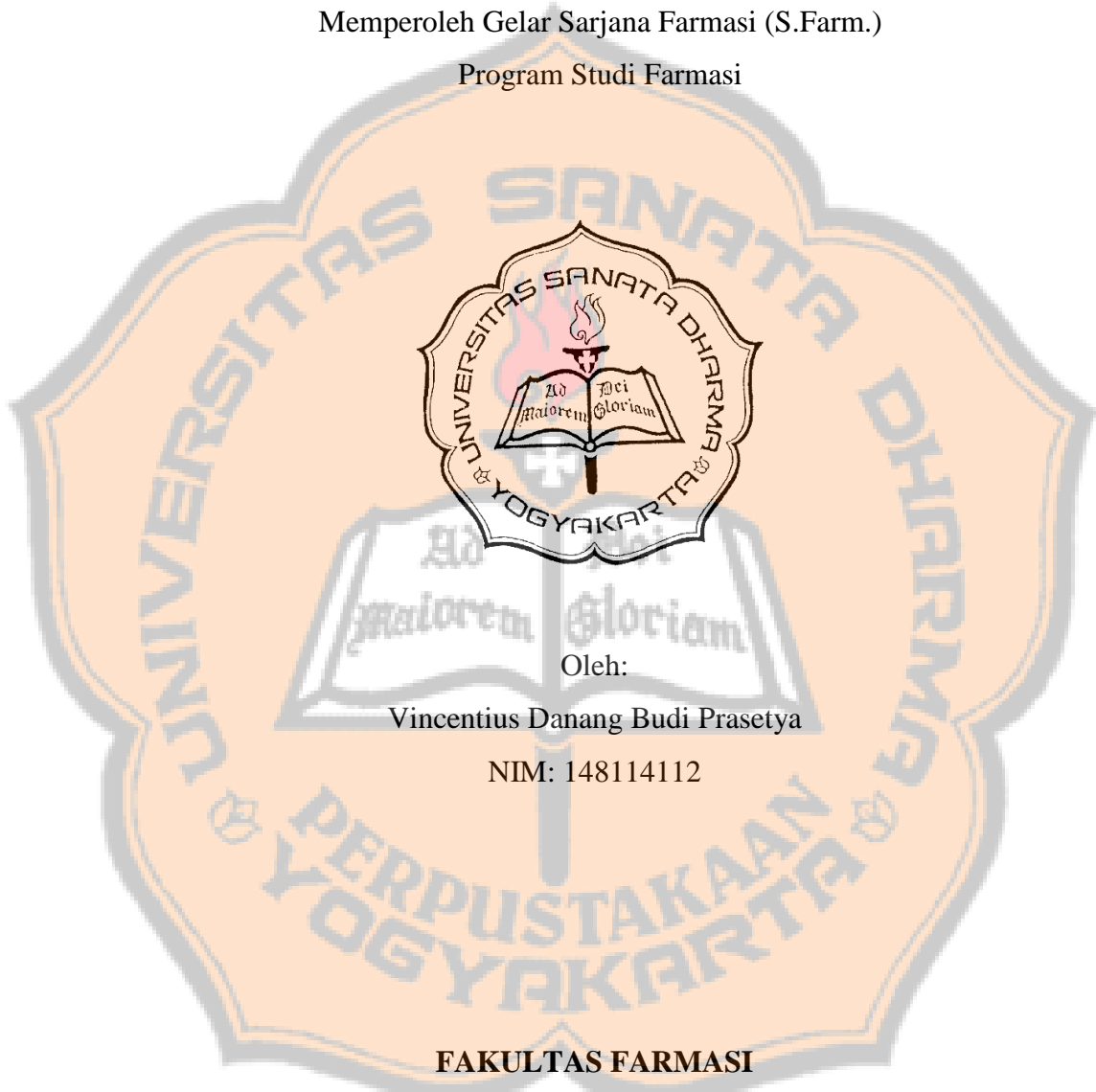
NIM: 148114112

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SANATA DHARMA  
YOGYAKARTA  
2018**

**VALIDASI DAN OPTIMASI PENAMBATAN SENYAWA KO-KRISTAL  
PADA 4H3X.PDB MENGGUNAKAN *SOFTWARE* PLANTS VERSI 1.2**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat  
Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.)  
Program Studi Farmasi



Oleh:

Vincentius Danang Budi Prasetya

NIM: 148114112

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SANATA DHARMA  
YOGYAKARTA**

**2018**

PERSETUJUAN PEMBIMBING

VALIDASI DAN OPTIMASI PENAMBATAN SENYAWA KO-KRISTAL  
PADA 4H3X.PDB MENGGUNAKAN *SOFTWARE PLANTS* VERSI 1.2

Skripsi yang diajukan oleh:

Vincentius Danang Budi Prasetya

NIM: 148114112

telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Enade Perdana Istyastono, Ph.D., Apt.

tanggal ..... 6 Juni 2018 .....

**PENGESAHAN SKRIPSI BERJUDUL**

**VALIDASI DAN OPTIMASI PENAMBATAN SENYAWA KO-KRISTAL  
PADA 4H3X.PDB MENGGUNAKAN *SOFTWARE* PLANTS VERSI 1.2**

Oleh:

Vincentius Danang Budi Prasetya

NIM : 148114112

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi

Fakultas Farmasi

Universitas Sanata Dharma

Pada tanggal: 9 Juli 2018

Mengetahui,

Fakultas Farmasi

Universitas Sanata Dharma

Dekan

Aris Widayati, M.Si., Ph.D., Apt.

Panitia Penguji:

Tanda tangan

1. Enade Perdana Istyastono, Ph.D., Apt.

2. Maywan Hariono, Ph.D., Apt.

3. Florentinus Dika Octa Riswanto, M.Sc.

**HALAMAN PERSEMBAHAN**

**BERUSAHA DAN PERCAYA, KITA CUKUP MELAKUKAN DAN  
TUHAN YANG AKAN MENYELESAIKAN**

Skripsi ini dipersembahkan untuk Tuhan Yesus Kristus, Kakung, Ibu, Bapak, Ega, dan  
Teman-teman.




## PERNYATAAN KEASLIAN KARYA

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang saya tulis ini tidak memuat karya atau bagian karya orang lain, kecuali yang telah disebutkan dalam kutipan dan daftar pustaka, sebagaimana layaknya karya ilmiah.

Apabila di kemudian hari ditemukan indikasi plagiarisme dalam naskah ini, maka saya bersedia menanggung segala sanksi sesuai peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Yogyakarta, 6 Juni 2018

Penulis



Vincentius Danang Budi Prasetya



**LEMBAR PERNYATAAN PERSETUJUAN  
PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya mahasiswa Universitas Sanata Dharma:

Nama : Vincentius Danang Budi Prasetya

Nomor Mahasiswa : 148114112

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma karya ilmiah saya yang berjudul “**Validasi dan Optimasi Penambatan Ulang Ko-Kristal Pada 4H3X.pdb Menggunakan Software PLANTS Versi 1.2**” beserta perangkat yang diperlukan (bila ada). Dengan demikian saya memberikan kepada Perpustakaan Universitas Sanata Dharma hak untuk menyimpan, mengalihkan dalam bentuk lain, mengelolanya dalam bentuk pangkalan data, mendistribusikan secara terbatas, dan mempublikasikannya di internet atau media lain untuk kepentingan akademis tanpa perlu meminta ijin saya atau memberi *royalty* kepada saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya.

Dibuat di Yogyakarta

Pada tanggal 6 Juni 2018

Yang menyatakan,



Vincentius Danang Budi Prasetya

## PRAKATA

Puji dan syukur penulis haturkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena atas berkat dan rahmat kasih-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Validasi dan Optimasi Penambatan Ulang Ko-Kristal Pada 4H3X.pdb Menggunakan *Software* PLANTS Versi 1.2” dengan baik dan lancar. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) Program Studi Farmasi. Skripsi ini merupakan bagian dari penelitian Dr. Sri Hartati Yuliani, Apt. yang berjudul “Pengembangan Sediaan Penyembuh Luka Bagi Penderita Diabetes dengan Bahan Aktif Ekstrak Tempe”. Melalui skripsi ini, penulis berharap agar skripsi ini dapat berguna bagi para pembaca, menjadi sumber pengetahuan tentang penambatan ulang ko-kristal pada 4H3X.pdb dan menjadi inspirasi untuk melakukan penelitian yang lebih berkembang nantinya.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari banyak bantuan, dukungan, semangat, dan saran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Aris Widayati, M.Si., Ph.D., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma
2. Ibu Dr. Sri Hartati Yuliani, Apt. selaku Kaprodi Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma
3. Bapak Enade Perdana Istyastono, Ph.D., Apt. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan ilmu, dukungan, dan saran dalam penelitian ini.
4. Bapak Maywan Hariono, Ph.D., Apt. selaku dosen penguji yang telah bersedia memberikan saran bagi penelitian ini.
5. Bapak Florentinus Dika Octa Riswanto, M.Sc. selaku dosen penguji yang telah bersedia memberikan saran bagi penelitian ini.
6. Keluarga penulis yang telah memberikan doa, semangat dan dukungan.
7. Rekan kerja penelitian, Gabriella Yuliani, Novia Ariella, Albertus Bayu, Ines Habsari, dan Amalia Perwitasari yang menjadi *partner* seperjuangan.
8. Teman-teman kelas FSM C 2014 dan angkatan 2014 yang selalu menyemangati.



9. Teman-teman Burjo PH dan Ginola yang selalu menghibur dan memberi semangat.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan penulis satu per satu yang ikut berkontribusi dalam penyusunan skripsi.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan di dalam skripsi ini. Oleh karena itu dengan terbuka dan senang hati penulis menerima kritik dan saran yang membangun dari para pembaca. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat dan selamat membaca.

Yogyakarta, 6 Juni 2018

Penulis,



Vincentius Danang Budi Prasetya



**DAFTAR ISI**

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PERSETUJUAN PEMBIMBING .....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	iv
PERNYATAAN KEASLIAN KARYA .....	v
LEMBAR PERNYATAAN PUBLIKASI.....	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xii
ABSTRAK.....	xiii
<i>ABSTRACT</i> .....	xiv
PENDAHULUAN .....	1
METODE PENELITIAN.....	2
HASIL DAN PEMBAHASAN.....	3
KESIMPULAN.....	7
DAFTAR PUSTAKA .....	8
LAMPIRAN.....	10
BIOGRAFI PENULIS .....	16

**DAFTAR TABEL**

Tabel I. Jumlah pose pada 10 penambatan .....5  
Tabel II. Jumlah pose pada 100 penambatan .....5



**DAFTAR GAMBAR**

Gambar 1. *Pie Chart* Jumlah Pose 1000 Penambatan .....6  
Gambar 2. Pose ligan dengan residu pada kantung ikatan MMP-9 .....6



**DAFTAR LAMPIRAN**

Lampiran 1. *Script* yang digunakan preparasi ligan 4H3X.....10

Lampiran 2. Konfigurasi *default* program PLANTS 1.2 .....11

Lampiran 3. Konfigurasi program PLANTS 1.2 untuk pengacakan ligan .....12

Lampiran 4. Konfigurasi program PLANTS 1.2 dengan *constraint*.....13

Lampiran 5. *Script* yang digunakan untuk penambatan ulang ligan CC27.....14

Lampiran 6. *Script* yang digunakan mengambil 1000 pose dan hasil RMSD ..... 15



## VALIDASI DAN OPTIMASI PENAMBATAN SENYAWA KO-KRISTAL PADA 4H3X.PDB MENGGUNAKAN *SOFTWARE* PLANTS VERSI 1.2

Vincentius Danang Budi Prasetya

Fakultas Farmasi, Universitas Sanata Dharma, Kampus III Paingan,

Maguwoharjo, Depok, Sleman, Yogyakarta, 55282, Indonesia.

Telp. (0274) 883037, Fax. (0274) 886529

### ABSTRAK

*Diabetes Foot Ulcer* (DFU) merupakan komplikasi penyakit diabetes melitus (DM) dengan tingkat kesembuhan rendah dan dapat menyebabkan amputasi anggota tubuh bagian bawah. Luka kronik seperti DFU ini sering ditandai tingginya level dari *matrix metalloproteinase 9* (MMP-9) dan penurunan dari *tissue inhibitor of metalloproteinase* (TIMP). Enzim MMP-9 mendorong migrasi sejumlah sel epitel dan terbukti mengganggu penutupan luka. Oleh karena itu, intervensi terhadap MMP-9 menjadi sasaran dalam penemuan obat untuk penyembuhan luka pada DFU karena terbukti berperan dalam fase-fase penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pose CC27 dalam kantung ikatan MMP-9 dan RMSD yang dihasilkan setelah dilakukan penambatan ulang. Dilakukan validasi dan optimasi terhadap protokol simulasi penambatan ulang ko-kristal ligan CC27 pada MMP-9 dengan merubah parameter kecepatan dan *constraint*. Analisis hasil dilakukan dengan visualisasi dan pengukuran RMSD menggunakan PyMOL. Hasil penambatan ulang dengan *constraint* pada GLU227, LEU188, dan ALA189 menghasilkan RMSD kurang dari atau sama dengan 2,0 Å dengan konfigurasi Hasil RMSD diuji statistik menggunakan *one sample t-test* sisi kanan dengan selang kepercayaan 95% dan didapat hasil *p-value* = 1. Sehingga dapat disimpulkan bahwa protokol penambatan ulang ko-kristal CC27 pada 4H3X.pdb sudah valid.

**Kata kunci:** Validasi, Optimasi, Diabetes melitus, DFU, MMP-9, 4H3X.pdb

## ABSTRACT

Diabetes Foot Ulcer (DFU) is a diabetes mellitus (DM) complication with a lower healing rate and able to cause lower limb amputation. Chronic injuries such as DFU often be found in elevated levels of the matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) and decreased of the tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP). The MMP-9 enzyme promotes migration of epithelial cells and interferes wound healing process. Therefore, MMP-9 was targeted in drug discovery for wound healing in DFU because of its role in wound healing process. This study aims to find out the CC27 poses in the MMP-9 binding pocket and RMSD value produced after redocking. Validation and optimization of protocol simulation of co-crystall CC27 in MMP-9 were done by changing speed and constraint parameters. The docking result was analysed by visualizing and calculating RMSD using PyMOL. The docking results with constraint on GLU227, LEU188, and ALA189 demonstrate RMSD value is not greater than 2,0 Å with a percentage of 95,3%. The RMSD results were tested statistically using one sample t-test on the right side with 95% confidence interval and the obtained result was p-value = 1. Therefore, it can be concluded that docking protocol of co-crystal CC27 on 4H3X.pdb was valid.

**Keywords:** Validation, Optimization, Diabetes mellitus, DFU, MMP-9, 4H3X.pdb

## PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan penyakit kronik dan kompleks yang memerlukan penanganan medis rutin dan banyak strategi multifaktorial (America Diabetes Association, 2016). Penderita DM dewasa diperkirakan telah mencapai 422 juta orang di seluruh dunia pada tahun 2014 (World Health Organization, 2014). Kematian yang disebabkan oleh DM di Indonesia sudah mencapai 6% dari seluruh kematian pada tahun 2012 (World Health Organization, 2014). Salah satu faktor risiko DM yang sering terjadi adalah *Diabetic foot ulcer* (DFU). Penyakit DFU merupakan luka yang kronis atau ulkus yang terjadi pada kaki dan sangat berdampak pada kualitas hidup penderita DM (Brownrigg *et al.*, 2012). Prevalensi DFU di Indonesia mencapai 7,3 - 24% dari keseluruhan penderita diabetes (Yusuf *et al.* 2016).

Pasien yang memiliki luka kronik seperti DFU ditemukan berupa tingginya *matrix metalloproteinase* 9 (MMP-9) yaitu sebesar 1,5 Arb.Units pada hari pertama penyembuhan (Reiss *et al.*, 2011, Hariono, 2018). Enzim MMP-9 termasuk di dalam kelompok *matrix metalloproteinases* (MMP) yang dapat mendegradasi semua komponen matriks ekstraseluler yang terbentuk pada saat penyembuhan luka (Lobmann *et al.*, 2002, Ayuk *et al.*, 2016). Enzim MMP-9 dapat menghambat penempelan jaringan epitelium baru dengan memediasi degradasi dari membran dasar sehingga mengurangi zona migrasi dari epitelium baru yang akan mengganggu proses penyembuhan luka pada DFU (Reiss *et al.*, 2011). Oleh karena itu, dengan penghambatan aktivitas MMP-9 yang berlebih ini diharapkan dapat mempercepat penyembuhan luka.

Enzim MMP-9 berhasil dikristalkan menjadi ko-kristal 4H3X dengan *N-2-(biphenyl-4-ylsulfonyl)-N-2-(isopropoxy)-acetohydroxamic acid* (CC27) sebagai ligan dengan nilai resolusi 1,76 Å (Antoni *et al.*, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Prameswari (2017) yaitu tentang evaluasi penambatan ulang ligan CC27 pada kristal struktur 4H3X sebagai target virtual enzim MMP-9 pada penapisan virtual berbasis struktur (PVBS) menunjukkan hasil pada 1000 penambatan ulang nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD) yang melebihi 2 Å yaitu 77,8% sehingga hasil penambatan ulang tersebut belum valid. Simulasi penambatan ulang dikatakan valid jika nilai  $RMSD \leq 2\text{Å}$  (Marcou dan Rognan,



2007) mencapai 95% (Attia, 2005). Penelitian ini merupakan pengembangan dari penelitian Prameswati (2017) yaitu dengan melakukan validasi dan optimasi terhadap konfigurasi simulasi penambatan ulang menggunakan *software* PLANTS versi 1.2 untuk mengetahui pose ligan CC27 pada kantung ikatan MMP-9 dengan mengubah parameter *constraint* dan kecepatan. Penelitian ini menggunakan *software* PLANTS 1.2 karena adanya fitur *constraint*, menyesuaikan dengan penelitian sebelumnya yang menggunakan *software* PLANTS 1.2 dan *software* ini memiliki *free license*. Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan validasi dan optimasi terhadap simulasi penambatan ulang enzim MMP-9 menggunakan *software* PLANTS 1.2 untuk mengetahui pose ligan CC27 pada kantung ikatan MMP-9.

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah struktur kristal MMP-9 didapatkan dari Protein Data Bank (PDB) dengan kode 4H3X (<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=4h3x>), *software* penunjang yaitu SPORES (Brink and Exner, 2009) sebagai alat preparasi senyawa yang akan ditambahkan ke PLANTS 1.2 (Korb *et al.*, 2006), *Docking Software* PLANTS versi 1.2 (Korb *et al.* 2006) sebagai alat simulasi penambatan molekuler sehingga didapatkan skor ChemPLP, PyMol 1.8 (<https://www.pymol.org/>) untuk menghasilkan gambar molekuler dan menghitung RMSD, dan R 3.3.0 (R Core Team, 2013) untuk analisis statistik. Alat yang digunakan adalah server Laboratorium Virtual Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma dengan alamat IP 103.247.10.66 ([pharcomp.web.id](http://pharcomp.web.id)), Lenovo Z360 dengan spesifikasi: CPU intel i3-M380 @2,53 GHz, RAM 2,00 GB menggunakan sistem operasi Ubuntu 16.04 LTS versi kernel 4.4.

### **Prosedur**

#### **Preparasi ligan dan protein**

Dilakukan inspeksi visual pada ko-kristal ligan CC27 pada kantung ikatan MMP-9 dengan menggunakan PyMOL 1.8, lalu dari dua *chain* yang ada

diambil chain A dengan perintah “select chain A” dan didapatkan file chainA.pdb. Kemudian dilakukan preparasi sebagai berikut menggunakan SPORES 1.3 (Brink and Exner, 2009) yaitu protein dan ligan dipisahkan, kemudian dilakukan protonasi dan disimpan luaran berupa protein.mol2 dan ligan.mol2.

### **Penambatan molekul**

Langkah selanjutnya dilakukan pengacakan koordinat dengan mengubah script *default*, lalu ko-kristal ditambatkan dengan kristal 4H3X sehingga didapat luaran ligan dengan koordinat yang sudah teracak yang selanjutnya akan digunakan sebagai input dalam penambatan pada protein MMP-9 ko-kristal 4H3X menggunakan PLANTS 1.2.

### **Validasi dan optimasi penambatan ulang molekul**

Dilakukan validasi dan optimasi dengan mengatur konfigurasi simulasi penambatan ulang menggunakan *software* PLANTS 1.2 sesuai *default*. Validasi selanjutnya adalah dengan melakukan *biased docking* yaitu pembatasan ruang pada *docking* yang dilakukan dan optimasi yang dilakukan dengan mengubah parameter *speed* dan *constraint*. Lalu dilakukan 1000 penambatan ulang yang dilihat validasi dengan menghitung nilai  $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$  menggunakan PyMOL 1.8.

### **Analisis statistik**

Data 1000 nilai RMSD yang telah didapatkan, diuji secara statistik dengan menggunakan *one sample t-test* sisi kanan dengan tingkat kepercayaan 95% (Attia, 2005).

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Tujuan penelitian ini adalah untuk melakukan validasi dan optimasi terhadap simulasi penambatan ulang enzim MMP-9 yaitu ko-kristal CC27 terhadap 4H3X.pdb menggunakan *software* PLANTS 1.2. Langkah awal validasi yang dilakukan dalam penelitian ini adalah menggunakan *default* (Lampiran 2) dari *software* PLANTS 1.2 dan langkah selanjutnya dengan penggunaan *constraint* (Lampiran 4) dan merubah parameter *speed*. Simulasi penambatan ulang dikatakan valid jika pada 1000 kali run diperoleh 95% pose dengan nilai RMSD kurang dari atau sama dengan  $2\text{\AA}$  (Marcou dan Rognan, 2007). Validasi

simulasi penambatan ulang ini perlu dilakukan karena salah satu syarat suatu ligan dan protein dapat diterima sebagai protokol penapisan virtual berbasis struktur adalah menghasilkan ikatan yang reproduisibel (Verdonk *et al.*, 2004).

Preparasi sampel menggunakan *software* SPORES menghasilkan luaran *ligand.mol2*, *protein.mol2*, *water.mol2*. *Ligand.mol2* dan *protein.mol2* ditambatkan dengan *software* PLANTS 1.2 untuk mencari koordinat pusat dan radius *binding site*. Sebelum dilakukan penambatan, *ligand.mol2* diacak menggunakan PLANTS 1.2 dengan *script default* yang sudah dimodifikasi (Lampiran 3) dan didapatkan luaran *ligand\_r.mol2* sebagai ligan *input*.

Langkah awal validasi yang dilakukan adalah dengan menggunakan *default* yang dilakukan sebanyak 10 kali penambatan dan menunjukkan hasil yang tidak memenuhi syarat. Selanjutnya dilakukan replikasi 3 kali diikuti dengan 5 kali replikasi yang masing-masing dilakukan penambatan sebanyak 10 kali. Hasil 10 kali penambatan dari tiap-tiap langkah diperoleh hasil RMSD yang tidak memenuhi syarat. Hasil jumlah pose dapat dilihat di Tabel I.

Langkah kedua adalah menambahkan *constraint* sesuai ikatan-ikatan penting menurut Prameswari (2017) dan Antoni *et al.* (2013). *Constraint* merupakan langkah pembatasan dalam docking. Penelitian ini *constraint* dilakukan dengan memberikan *reward* ketika terjadi ikatan antara protein dengan ligan yang telah ditentukan. *Constraint* pertama dilakukan pada atom nomor 1851 (berikatan hidrogen dengan GLU227). Pertama, dilakukan 10 kali penambatan dan didapat hasil yang tidak memenuhi syarat. Kedua, dilakukan replikasi 3 kali diikuti 5 kali replikasi yang masing-masing dilakukan 10 kali penambatan. Hasil 10 kali penambatan dari tiap-tiap langkah menunjukkan hasil RMSD yang tidak memenuhi syarat. *Constraint* kedua pada atom 1301 (berikatan hidrogen dengan LEU188). Pertama, dilakukan 10 kali penambatan dan didapatkan hasil yang tidak memenuhi syarat. Kedua, dilakukan replikasi 3 kali diikuti 5 kali replikasi yang masing-masing dilakukan 10 kali penambatan menunjukkan hasil yang memenuhi syarat, tetapi pada 100 kali penambatan menunjukkan hasil RMSD yang tidak memenuhi syarat.

*Constraint* ketiga ditambahkan pada atom nomor 1305 (berikatan hidrogen dengan ALA189). Hasil yang diperoleh pada 10 kali penambatan

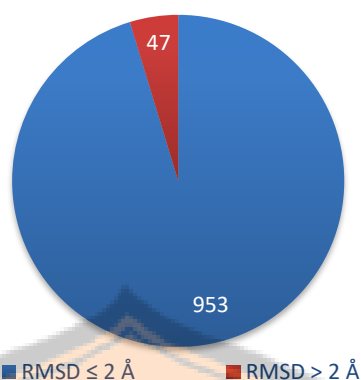
menunjukkan hasil yang memenuhi syarat, tetapi pada 100 kali penambatan hasil yang didapat tidak memenuhi syarat. Langkah selanjutnya dilakukan replikasi 3 kali dan didapatkan hasil pada 10 kali dan 100 kali penambatan yang memenuhi syarat sehingga dilanjutkan hingga 1000 kali penambatan. Hasil dari 1000 penambatan diperoleh hasil yang memenuhi syarat dengan nilai RMSD yang kurang dari atau sama dengan 2Å sebanyak 953(95,3%) dan lebih dari 2Å sebanyak 47(4,7%). Hasil jumlah pose dapat dilihat di Tabel I dan Tabel II.

**Tabel I.** Jumlah pose pada 10 penambatan

Nama	Jumlah pose	
	$\leq 2\text{\AA}$	$> 2\text{\AA}$
<i>default</i>	0	10
<i>default_r3</i>	0	10
<i>default_r5</i>	3	7
<i>constraint</i> GLU	1	9
<i>constraint</i> GLU_r3	2	8
<i>constraint</i> GLU_r5	3	7
<i>constraint</i> GLULEU	9	1
<i>constraint</i> GLULEU_r3	10	0
<i>constraint</i> GLULEU_r5	10	0
<i>constraint</i> GLULEUALA	10	0
<i>constraint</i> GLULEUALA_r3	10	0

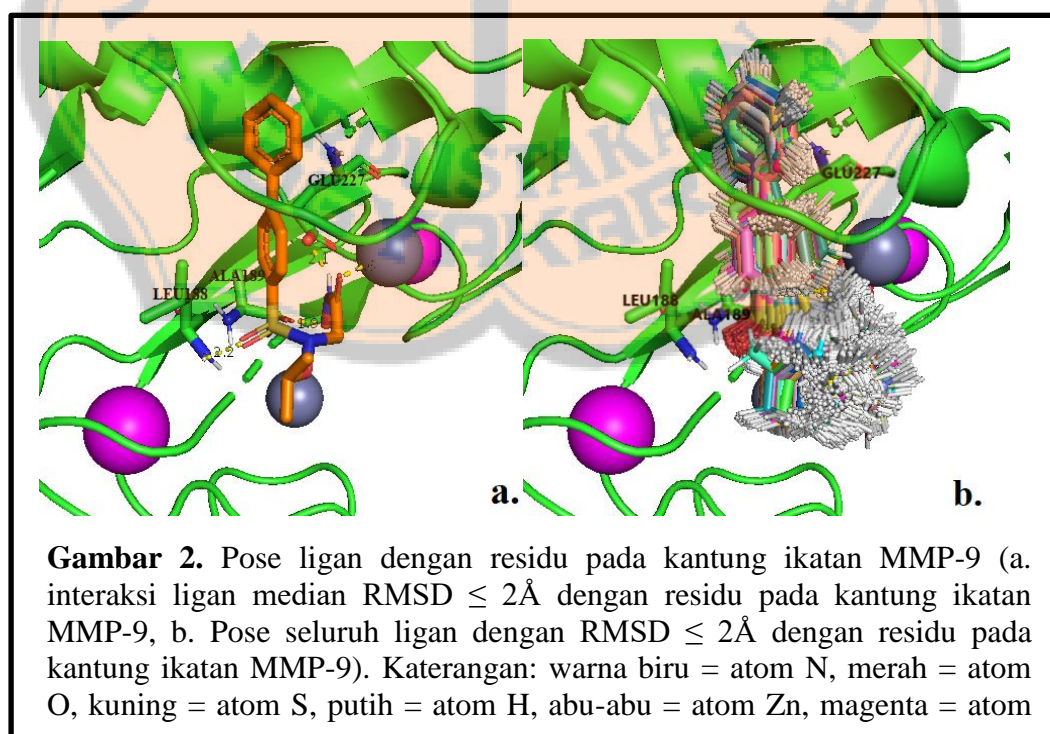
**Tabel II.** Jumlah pose pada 100 penambatan

Nama	Jumlah pose	
	$\leq 2\text{\AA}$	$> 2\text{\AA}$
<i>constraint</i> GLULEU	79	21
<i>constraint</i> GLULEU_r3	94	6
<i>constraint</i> GLULEU_r5	89	11
<i>constraint</i> GLULEUALA	86	14
<i>constraint</i> GLULEUALA_r3	97	3



**Gambar 1.** Pie Chart Jumlah Pose 1000 Penambatan

Visualisasi dilakukan untuk menggambarkan interaksi ligan CC27 terhadap residu asam amino penting pada kantung ikatan MMP-9 (Prameswari, 2017, Antoni *et al.*, 2013). Gambar 2.a. menunjukkan hasil visualisasi median data pose dengan RMSD kurang dari atau sama dengan 2,0 Å yaitu pose ke 501 yang digambarkan dengan warna *orange*. Gambar 2.b. menunjukkan hasil visualisasi pose ligan referensi dan semua ligan dengan nilai RMSD kurang dari atau sama dengan 2,0 Å. Hasil visualisasi gambar 2.a. dan 2.b. menunjukkan adanya ikatan-ikatan penting pada residu kantung ikatan MMP-9 dan hasil pose yang reproduisibel.



Jarak interaksi ligan median data pose dengan RMSD kurang dari atau sama dengan 2,0 Å dengan residu asam amino penting seperti Glu227 yaitu 2,1 Å; Leu188 yaitu 2,2 Å; Ala189 yaitu 1,9 Å; Zn<sup>2+</sup> yaitu 2,6 Å. Jarak interaksi ligan referensi dengan residu asam amino penting seperti Glu227 yaitu 2,5 Å; Leu188 yaitu 2,7 Å; Ala189 yaitu 3,0 Å; Zn<sup>2+</sup> yaitu 2,0 Å. Marcou dan Rognan (2007) menyatakan bahwa jarak maksimal terjadinya ikatan hidrogen adalah 3,5 Å dan ikatan *metal* adalah 2,8 Å sehingga bisa dikatakan bahwa ikatan-ikatan yang terbentuk masih memenuhi syarat.

Uji statistik *one sample t-test* dilakukan pada seribu data RMSD dari hasil penambatan untuk mengetahui nilai RMSD yang dihasilkan seharusnya tidak lebih besar dari 2,0 Å menggunakan R *statistical software* 3.3.0. Nilai *p-value* yang dihasilkan sebesar 1 sehingga dapat disimpulkan bahwa RMSD dari 1000 pose hasil penambatan ulang kurang dari atau sama dengan secara statistik dari 2,0 Å dalam taraf kepercayaan 95%.

## KESIMPULAN

Hasil dari penelitian ini menunjukkan bahwa hasil RMSD pada penambatan ulang menggunakan *software* PLANTS 1.2 dengan konfigurasi *default* dengan penambahan *constraint* (GLU227, LEU188 dan ALA189) oleh ligan CC27 kurang dari atau sama dengan 2,0 Å sehingga dapat disimpulkan simulasi penambatan ulang ini sudah valid dan struktur kristal 4H3X sudah sesuai sebagai target virtual enzim MMP-9.

## DAFTAR PUSTAKA

- America Diabetes Association, 2016. Standards of Medical Care in Diabetes - 2016. *Australian family physician.*, 35 (6), 386–390.
- Antoni, C., Vera, L., Devel, L., Catalani, M.P., Czarny, B., Cassar-Lajeunesse, E., Nuti, E., Rossello, A., Dive, V., and Stura, E.A., 2013. Crystallization of bi-functional ligand protein complexes. *Journal of Structural Biology*, 182 (3), 246–254.
- Aumiller, W.D. and Dollahite, H.A., 2015. Pathogenesis and management of diabetic foot ulcers. *Journal of the American Academy of Physician Assistants*, 28 (5), 28–34.
- Attia, A., 2005, Why should researchers report to confidence interval in modern research? *Middle East Fertility Society Journal*, 10(1), 78–81.
- Ayuk, S.M., Abrahamse, H., and Houreld, N.N., 2016. The Role of Matrix Metalloproteinases in Diabetic Wound Healing in relation to Photobiomodulation. *Journal of Diabetes Research*, 2016,1-9.
- Brink, T. Ten and Exner, T.E., 2009. Influence of protonation, tautomeric, and stereoisomeric states on protein-ligand docking results. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49 (6), 1535–1546.
- Brownrigg, J.R.W., Davey, J., Holt, P.J., Davis, W.A., Thompson, M.M., Ray, K.K., and Hinchliffe, R.J., 2012. The association of ulceration of the foot with cardiovascular and all-Cause mortality in patients with diabetes: A meta-analysis. *Diabetologia*, 55 (11), 2906–2912.
- Hariono, M., Yuliani, S., Istyastono, E.P., Riswanto, S.D.O, Adhipandito, C.F., 2018. Matrix Metalloproteinase 9 (MMP9) in Wound Healing of Diabetic Foot Ulcer: Molecular Target and Structure-based Drug Design. *Biochemical Pharmacology*, 9, 1-47.
- Korb, O., Stütze, T., and Exner, T.E., 2006. PLANTS: Application of Ant Colony Optimization to Structure-Based Drug Design. *Lecture notes in computer science vol. 4150: Ant colony optimization and swarm intelligence - ANTS2006 proceedings*, 4150, 247–258.
- Lobmann, R., Ambrosch, A., Schultz, G., Waldmann, K., Schiweck, S., and Lehnert, H., 2002. Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients. *Diabetologia*, 45 (7), 1011–1016.
- Marcou, G. and Rognan, D., 2007. Optimizing fragment and scaffold docking by use of molecular interaction fingerprints. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 47 (1), 195–207.
- Prameswari, Y.T., 2017. Evaluasi Struktur Kristal 4H3X.pdb Sebagai Target Virtual Enzim Matrix Metalloproteinase 9 pada Penapisan Virtual Berbasis Struktur. *Skripsi*. Universitas Sanata Dharma.
- R Core Team, 2013. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Reiss, M., Han, Y., Garcia, E., Goldberg, M., Hong, Y., and Garner, W., 2011. Matrix Metalloproteinase-9 Delays Wound Healing in a Murine Wound Model, 147 (2), 1–13.
- Verdonk, M.L., Berdini, V., Hartshorn, M.J., Mooij, W.T.M., Murray, C.W., Taylor, R.D., Watson, P., 2004. Virtual Screening Using Protein-Ligand Docking: Avoiding Artificial Enrichment. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 44 (3), 793-806
- World Health Organization, 2014. Noncommunicable Diseases (NCD) Country Profiles: Indonesia, 2014.

Yusuf, S., Okuwa, M., Irwan, M., Rassa, S., Laitung, B., Thalib, A., Kasim, S., Sanada, H., Nakatani, T., and Sugama, J., 2016. Prevalence and Risk Factor of Diabetic Foot Ulcers in a Regional Hospital , Eastern Indonesia. *Open Journal of Nursing*, 6 (January), 1–10.





## LAMPIRAN

**Lampiran 1.** *Script* yang digunakan preparasi ligan 4H3X

```
wget https://files.rcsb.org/download/4H3X.pdb.gz  
gunzip 4H3X.pdb.gz  
4H3X.pdb grep chain A  
./SPORES.bin --mode splitpdb chainA.pdb  
./PLANTS.bin --mode bind ligand_10B306_0.mol2 5 protein.mol2
```



**Lampiran 2.** Konfigurasi *default* program PLANTS 1.2

```
# scoring function and search settings
scoring_function chemplp
search_speed speed1

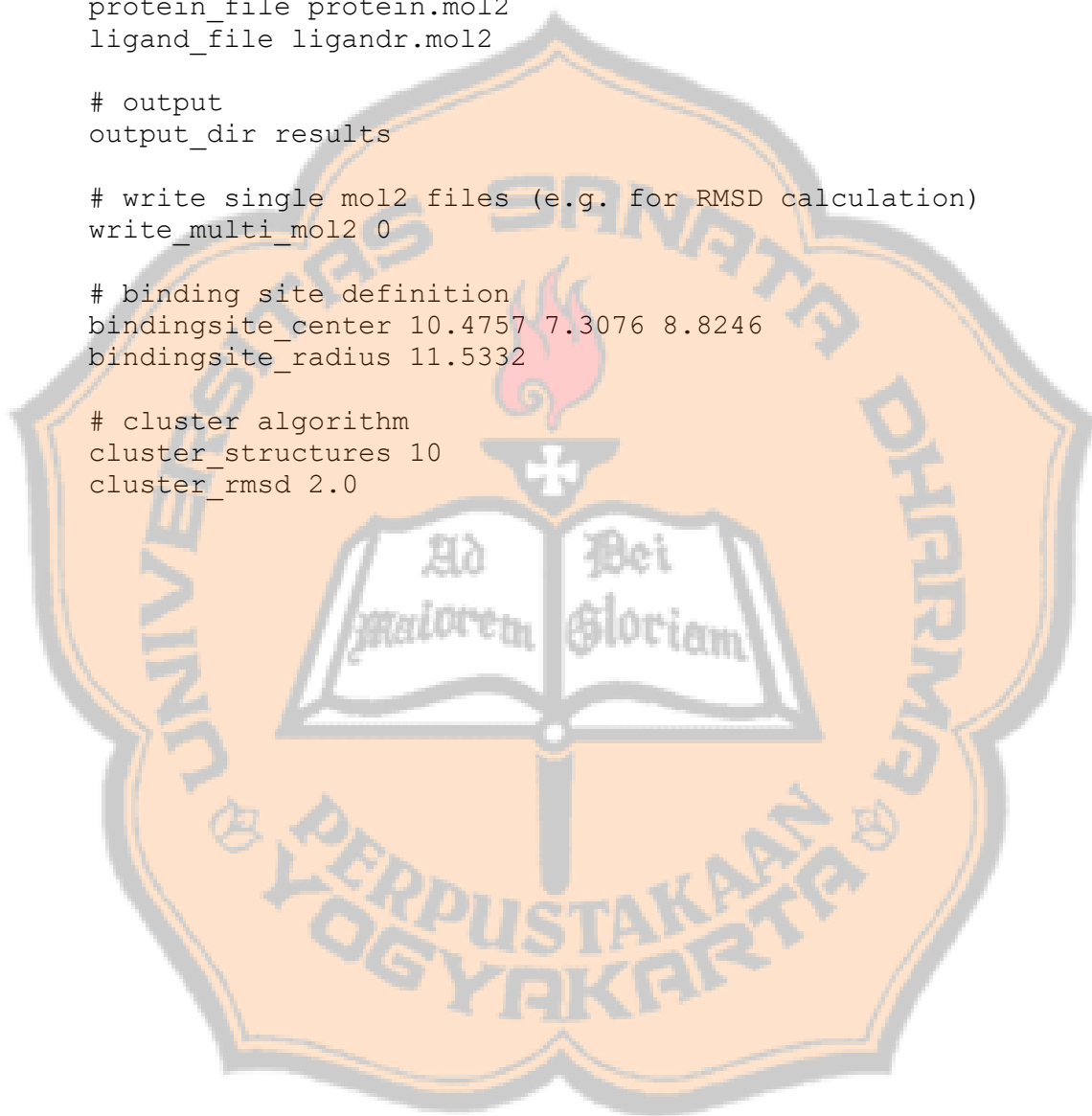
# input
protein_file protein.mol2
ligand_file ligandr.mol2

# output
output_dir results

# write single mol2 files (e.g. for RMSD calculation)
write_multi_mol2 0

# binding site definition
bindingsite_center 10.4757 7.3076 8.8246
bindingsite_radius 11.5332

# cluster algorithm
cluster_structures 10
cluster_rmsd 2.0
```



**Lampiran 3. Konfigurasi program PLANTS 1.2 untuk pengacakan ligan**

```
# scoring function and search settings
scoring_function chemplp
search_speed speed1

# input
protein_file protein.mol2
ligand_file ligand.mol2

# output
output_dir randomresults

# write single mol2 files (e.g. for RMSD calculation)
write_multi_mol2 0

# binding site definition
bindingsite_center 0000 0000 0000
bindingsite_radius 11.5332

# cluster algorithm
cluster_structures 1
cluster_rmsd 2.0
```



**Lampiran 4.** Konfigurasi program PLANTS 1.2 dengan *constraint*

```
# scoring function and search settings
scoring_function chemplp
search_speed speed1

# input
protein_file protein.mol2
ligand_file ligandr.mol2

# output
output_dir results

# write single mol2 files (e.g. for RMSD calculation)
write_multi_mol2 0

# binding site definition
bindingsite_center 10.4757 7.3076 8.8246
bindingsite_radius 11.5332

# cluster algorithm
cluster_structures 10
cluster_rmsd 2.0

#constraint
chemplp_protein_hb_constraint 1851 100
chemplp_protein_hb_constraint 1301 100
chemplp_protein_hb_constraint 1305 10
```

**Lampiran 5. Script yang digunakan untuk penambatan ulang ligan CC27**

```

for i in $(seq 1 1000)
do mkdir dock_${i}
cd dock_${i}
for j in $(seq 1 3)
do mkdir replikasi_${j}
cd replikasi_${j}
cp /home/danang/bahan/protein.mol2 .
cp /home/danang/bahan/ligand.mol2 .
cp /home/danang/bahan/randomconfig .
cp /home/danang/bahan/consconfig .
/home/enade/program/PLANTS/PLANTS1.2 --mode screen
randomconfig
cp
/home/danang/docking/consGLULEUALA_r3/dock_${i}/replikasi_${j}/r
andomresults/chain_ligand_0_entry_00001_conf_01.mol2
./ligand_r.mol2
/home/enade/program/PLANTS/SPORES1.3 --mode complete
ligand_r.mol2 ligandr.mol2
/home/enade/program/PLANTS/PLANTS1.2 --mode screen
consconfig
rm ./protein.mol2
rm ./ligand.mol2
rm ./randomconfig
rm ./consconfig
cd ../
echo "${i} `cat
/home/danang/docking/consGLULEUALA_r3/dock_${i}/replikasi_${j}/r
esults/bestranking.csv`,${j}"; done |grep -Ev TOTAL_SCORE |
sort -t, -k2n | head -1 | awk -F, '{print $12}' > best.lst
best=$(cat best.lst )
n=${#best[@]}
cp
/home/danang/docking/consGLULEUALA_r3/dock_${i}/replikasi_${be
st}/results/chain_ligand_0_entry_00001_conf_01_entry_00001_c
onf_01.mol2
/home/danang/docking/consGLULEUALA_r3/dock_${i}/dock.mol2
cp /home/danang/bahan/rmsd.pml .
cp /home/danang/bahan/ligand.mol2 .
pymol -c rmsd.pml | grep RMS > out.rms
cd ../
done

```

**Lampiran 6.** *Script* yang digunakan mengambil 1000 pose dan hasil RMSD

```
for i in $(seq 1 1000)
do cat
/home/danang/docking/consGLULEUALA_r3/dock_$(i)/out.rms|grep
RMS; done > outall.rms
mkdir ligandhasil
for i in $(seq 1 1000)
do mv
/home/danang/docking/consGLULEUALA_r3/dock_$(i)/dock.mol2
/home/danang/docking/consGLULEUALA_r3/ligandhasil/dock$(i).mol
2; done
rar a ligandhasil.rar ligandhasil
```



### BIOGRAFI PENULIS



Penulis skripsi yang berjudul “Validasi dan Optimasi Penambatan Ulang Ko-Kristal Pada 4H3X.pdb Menggunakan *Software* PLANTS Versi 1.2” memiliki nama lengkap Vincentius Danang Budi Prasetya. Dilahirkan di Kulon Progo pada tanggal 06 Desember 1996 dari pasangan Bapak Hilarius Sunaryo dan Ibu Theresia Widiastuti. Penulis merupakan anak pertama dari 2 bersaudara. Penulis telah menyelesaikan pendidikan di TK Sang Timur Kenteng pada tahun 2000 hingga 2002, lalu melanjutkan pendidikan di SD Kanisius Kenteng pada tahun 2002 hingga 2008. Penulis menempuh sekolah menengah pertama di SMP Pangudi Luhur Moyudan pada tahun 2008 hingga 2011, kemudian melanjutkan ke tingkat menengah atas di SMA Negeri 2 Yogyakarta pada tahun 2011 hingga 2014. Penulis melanjutkan pendidikan tinggi di Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma pada tahun 2014 hingga 2018. Selama menjadi mahasiswa di Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma, penulis cukup aktif dalam kegiatan kemahasiswaan, organisasi kemahasiswaan, dan kepanitiaan.