

**ANALISIS DINAMIKA MOLEKULER KOMPLEKS
SCAVENGER AOC (*Aspirin-Ovalbumin-Caffeine*) PADA
VARIASI pH ASAM**

SKRIPSI

oleh

SYAHPUTRA WIBOWO

135090101111008



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN

ALAM

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2017



HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

**ANALISIS DINAMIKA MOLEKULER KOMPLEKS
SCAVENGER AOC (Aspirin-Ovalbumin-Caffeine) PADA
VARIASI pH ASAM**

Syahputra Wibowo
1350901011111008

Telah dipertahankan di depan Majelis Pengujian
pada tanggal 23 Januari 2017
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam Bidang Biologi

Menyetujui
Pembimbing

Dr. Dra. Sri Widyarti., M.Si
NIP. 196705251991032001

Mengetahui
Ketua Program Studi S-1 Biologi
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Rodiyati Azrianingsih, S.Si., M.Sc., PhD.
NIP. 197001281994122001

HALAMAN PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Syahputra Wibowo

NIM : 135090101111008

Jurusan : Biologi

Penulis Skripsi berjudul : Analisis Dinamika Molekuler Kompleks
*Scavenger AOC (Aspirin- Ovalbumin-
Caffeine)* Pada Variasi pH Asam

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Skripsi ini adalah benar-benar karya saya sendiri dan bukan hasil plagiat dari karya orang lain. Karya-karya yang tercantum dalam Daftar Pustaka Skripsi ini semata-mata digunakan sebagai acuan / referensi.
2. Apabila kemudian hari diketahui bahwa isi Skripsi saya merupakan hasil plagiat, maka saya bersedia menanggung akibat hukum dari keadaan tersebut.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, 27 Januari 2017

Yang menyatakan

Syahputra Wibowo
135090101111008

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skrripsi ini tidak dipublikasikan namun terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada penulis. Daftar Pustaka diperkenankan untuk dicatat, tetapi pengutipannya hanya dilakukan seizin penulis dan harus disertai kebiasaan ilmiah untuk menyebutkannya.



Analisis Dinamika Molekuler Kompleks *Scavenger* AOC (*Aspirin-Ovalbumin- Caffeine*) Pada Variasi pH Asam

Syahputra Wibowo, Sri Widayati

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,

Universitas Brawijaya

2017

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kestabilan kompleks protein *scavenger* AOC (*Aspirin-Ovalbumin-Caffeine*) dipengaruhi oleh pH. *Datamining* dilakukan untuk mendapatkan 1OVA (ovalbumin) dan *caffeine* (ID 2519) serta *aspirin* (ID 2244). Preparasi data menggunakan PyRx dan Discovery Studio 2016 Client. *Docking* menggunakan PatchDock, sedangkan *refinement* menggunakan FireDock. Analisis interaksi reseptor-ligan menggunakan LigPlus dan Discovery Studio 2016 Client. Simulasi dinamika molekuler menggunakan YASARA dengan waktu *running* 4000 ps. Hasil analisis nilai energi potensial dari kompleks AOC menunjukkan kestabilan pada pH 1,5, 2 dan 2,5 sedangkan pH 1 mengalami fluktuasi pada 2125 ps. Nilai energi ikat ligan menunjukkan motif yang sama dengan perbedaan pada pH 1. Korelasi antara energi potensial dan energi ikat ligan dengan motif sama menunjukkan terdapatnya perubahan konformasi protein ketika ligan berada pada situs penambatan di reseptor protein. RMSD serta RMSF residu yang terukur menunjukkan terjadinya perenggangan ikatan ligan dan residu reseptor dari 0 ps hingga 4000 ps, akan tetapi tidak terdapat pelepasan ligan selama simulasi pada tahap inisiasi awal hingga akhir. Hasil dari visualisasi *movie* menunjukkan kondisi kestabilan pada kompleks AOC di pH 2 yaitu tidak terdapatnya perubahan konformasi protein secara signifikan dan ligan masih terikat pada reseptor. Hasil dari analisa keseluruhan menunjukkan bahwa kompleks AOC lebih stabil pada pH 2 dibandingkan dengan variasi pH lainnya.

Kata kunci: AOC, dinamika molekuler, *docking*, ovalbumin, YASARA

Molecular Dynamics Analysis of Scavenger Complex AOC (Aspirin- Ovalbumin-Caffeine) At Acidic pH Variations

Syahputra Wibowo, Sri Widyarti

Biology Department, Mathematics and Natural Sciences Faculty,
Brawijaya University

2017

ABSTRACT

This research aim to determine the stability of scavenger complex protein AOC (Aspirin-Ovalbumin-Caffeine) is affected by pH. Datamining performed to obtain IOVA (ovalbumin), caffeine (ID 2519) and aspirin (ID 2244). PyRx and Discovery Studio 2016 Client used for data preparation. PatchDock used for docking, whereas FireDock for refinement. LigPlus and Discovery Studio 2016 Client used for analysis of receptor-ligand interactions. YASARA used for molecular dynamics simulations with running time of 4000 ps. The result of potential energy analysis of AOC complex showed stability at pH 1.5, 2 and 2.5 whereas pH 1 fluctuated at 2125 ps. Ligand binding energy value showed same motif with difference at pH 1. Correlation between potential energy and ligand binding energy with the same motif indicate the presence of protein conformational changes when the ligand is at binding sites of protein receptor. RMSD and RMSF residues indicating the occurrence of stretch bonding ligand and receptor residues from 0 ps to 4000 ps, but there is no release of the ligand during simulation at the initiation stage from beginning to end. The results of movie visualization showed the stability conditions of AOC complex at pH 2, which means the absence of change of protein conformational structure as significantly and ligand still bound to the receptor. Results of overall analysis showed that AOC complex was more stable at pH 2 compared with other pH variations.

Key words : AOC, docking, molecular dynamics, ovalbumin,
YASARA



KATA PENGANTAR

Dengan menyebut nama Allah SWT, penulis memanjatkan puji syukur atas segala nikmat yang telah dianugerahkan kepada penulis, baik kesempatan maupun kesehatan, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan baik. Salam dan salawat selalu tercurah kepada junjungan kita nabi Muhammad SAW, keluarga serta para sahabatnya. Skripsi yang berjudul “Analisa Dinamika Molekuler Kompleks AOC (*Aspirin-Ovalbumin-Caffeine*) Pada Variasi pH Asam” yang merupakan syarat untuk memperoleh gelar sarjana strata satu (S-1) pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

Penulis mengucapkan rasa terimakasih yang sebesar-besarnya atas semua dukungan baik secara langsung maupun tidak langsung selama penyusunan proposal ini hingga selesai. Secara khusus penulis sampaikan terimakasih kepada :

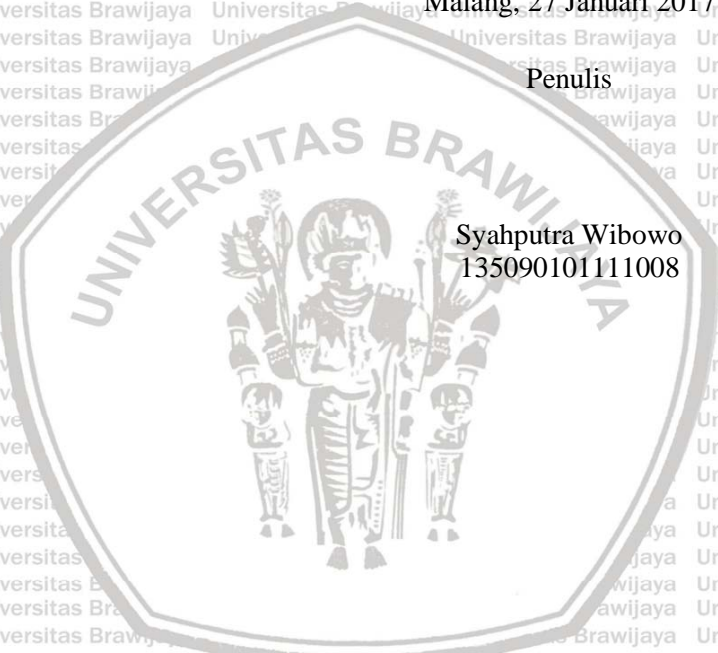
1. Ibu Dr. Dra. Sri Widyarti., M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan dorongan dalam penyusunan skripsi ini.
2. Bapak Prof. Sutiman Bambang S., SU., D.Sc dan Bapak Widodo, S.Si., M.Si., Ph.D.Med.Sc selaku dosen penguji yang telah memberi saran-saran yang berguna bagi penulis.
3. Bapak Achmad Rifani S.Pt dan Ibu Renny Veronika Marbun S.Sos selaku orang tua penulis, yang telah membesarkan serta mendidik dengan sepenuh hati dan memberikan dukungan secara langsung ataupun tidak langsung dengan doa kepada penulis.
4. Adik-adik tercinta Adi Septianto Nugroho, Yeni Rahma Oktaviani dan Veni Puspitasari Oktavianti yang selalu memberikan semangat dan doa kepada penulis .
5. Rekan-rekan seperjuangan Biologi UB angkatan 2013 yang menjadi teman terbaik selama menjadi perkuliahan di kampus.
6. Sahabat-sahabat penulis Desy Purwaning Tyas dan Bintang Muslim Pratama yang setia menemani dalam tawa dan duka selama perjalanan kehidupan kampus.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini belum sempurna, baik dari segi materi maupun penyajiannya. Untuk itu saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan dalam penyempurnaan proposal ini. Terakhir penulis berharap, semoga skripsi ini dapat memberikan serta menambah wawasan bagi pembaca dan khususnya bagi penulis.

Malang, 27 Januari 2017

Penulis

Syahputra Wibowo
135090101111008



DAFTAR ISI

ABSTRAK	v
ABSTRACT	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Ovalbumin, Aspirin, dan Kafein.....	3
2.2 <i>Docking</i>	8
2.3 <i>Dynamic Simulation</i>	9
BAB III METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat.....	10
3.2 <i>Datamining</i> Bahan <i>Docking</i>	10
3.3 <i>Molecular Docking</i>	10
3.4 <i>Dynamic Simulation</i>	10
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Analisis Hasil <i>Docking</i> Kompleks AOC.....	12
4.2 Analisis Simulasi Dinamika Molekuler.....	
4.2.1 Analisis Energi Potensial Kompleks AOC dan <i>Ligand Binding Energy</i>	21
4.2.2 Analisis RMSD Kompleks AOC dan RMSD Residu <i>Ligan</i>	23
4.2.3 Analisis RMSF Residu dan Hasil Visualisasi <i>Movie</i>	25
	ix

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

30

5.2 Saran

30

DAFTAR PUSTAKA

31

LAMPIRAN

31

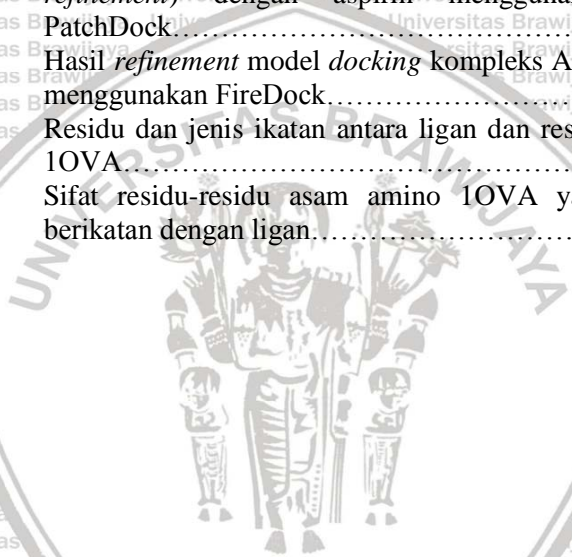


DAFTAR TABEL

Nomor

Halaman

1	Tiga model dengan <i>scoring</i> tertinggi dari seratus model hasil <i>docking</i> 1OVA dan kafein menggunakan PatchDock.....	12
2	Hasil <i>refinement</i> model <i>docking</i> 1OVA+kafein menggunakan FireDock.....	13
3	Tiga model dengan <i>scoring</i> tertinggi dari seratus model hasil <i>docking</i> (1OVA+kafein <i>refinement</i>) dengan aspirin menggunakan PatchDock.....	14
4	Hasil <i>refinement</i> model <i>docking</i> kompleks AOC menggunakan FireDock.....	14
5	Residu dan jenis ikatan antara ligan dan residu 1OVA.....	18
6	Sifat residu-residu asam amino 1OVA yang berikatan dengan ligan.....	19



DAFTAR GAMBAR

Nomor		Halaman
1	Struktur 3 Dimensi Ovalbumin (IOVA) Tanpa Ligan dan Air Menggunakan Discovery Studio 2016 Client.....	4
2	Kafein (2519) Menggunakan PyRx (A) Struktur 3D (B) Struktur 2D.....	5
3	Aspirin (2244) Menggunakan PyRx (A) Struktur 3D (B) Struktur 2D.....	6
4	Flowchart Dinamika Molekuler.....	9
5	Visualisasi struktur 3D kompleks AOC (A) YASARA (B) Discovery Studio 2016 Client.....	15
6	Visualisasi Interaksi reseptor-ligan (A) Interaksi ligan kafein dengan residu ovalbumin (B) Interaksi ligan aspirin dengan residu ovalbumin..	16
7	Visualisasi Interaksi reseptor-ligan menggunakan Discovery Studio 2016 Client.....	17
8	Energi potensial kompleks AOC.....	22
9	Energi ikatan protein-ligan kompleks AOC.....	23
10	RMSD kompleks AOC pada beberapa variasi pH.....	24
11	RMSD residu reseptor pada beberaoa variasi pH.....	25
12	RMSF residu reseptor pada beberapa variasi pH..	25
13	Visualisasi <i>movie</i> kompleks AOC pH 1 pada (A) 0 ps (B) 4000 ps.....	27
14	Visualisasi <i>movie</i> kompleks AOC pH 1,5 pada (A) 0 ps (B) 4000 ps.....	27
15	Visualisasi <i>movie</i> kompleks AOC pH 2 pada (A) 0 ps (B) 4000 ps.....	28
16	Visualisasi <i>movie</i> kompleks AOC pH 2,5 pada (A) 0 ps (B) 4000 ps.....	29

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor		Halaman
1	Macro <i>md_analyze</i>	35
2	Macro <i>md_analyzebindenergy</i>	40
3	Macro <i>md_run</i>	43
4	Macro <i>md_play</i>	48
5	Data energi potensial kompleks AOC pada variasi pH asam.....	52
6	Data RMSD kompleks AOC pada variasi pH asamnya.....	55
7	Data energi ikat ligan.....	58
8	Data RMSD <i>backbone</i> residu reseptor.....	60
9	Data RMSF residu reseptor.....	61



DAFTAR LAMBANG DAN SINGKATAN

Simbol/singkatan

AOC

ROS

IOVA

Cys

Arg

Lys

Asp

Glu

Gln

Asn

His

Ser

Thr

Met

Trp

Ala

Ile

Leu

Phe

Val

Pro

Gly

α

β

ps

Å

RMSD

RMSF

Kkal/mol

kJ/mol

nm

Keterangan

(Aspirin, Ovalbumin, Caffeine)

Reactive Oxydant species

Ovalbumin

Cysteine

Arginine

Lysine

Aspartic acid

Glutamic acid

Glutamine

Asparagine

Histidine

Serine

Threonine

Methionine

Tryptophan

Alanine

Isoleucine

Leucine

Phenylalanine

Valine

Proline

Glycine

Alpha

Beta

Picosecond

ångström

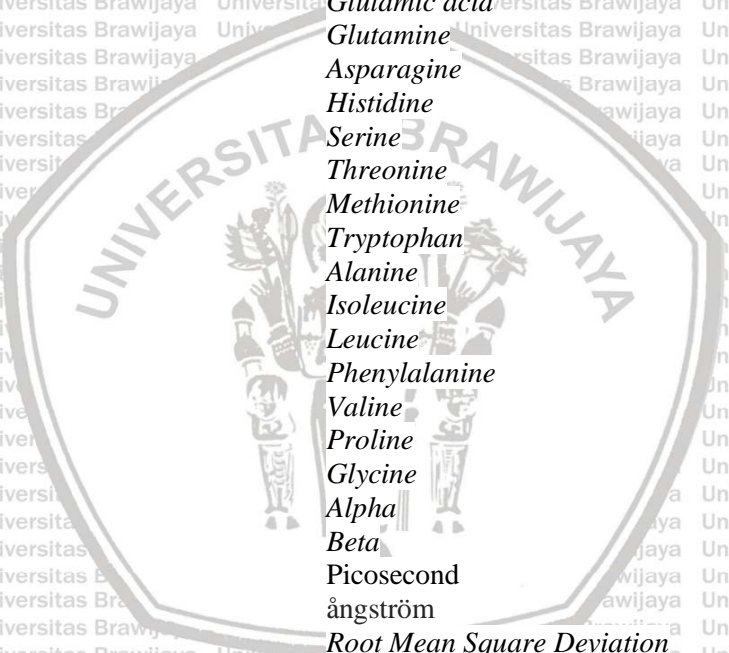
Root Mean Square Deviation

Root Mean Square Fluctuation

kiloKalori per mol

kiloJoule per mol

nanometer



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pembentukan beberapa radikal bebas seperti superoksida, hidrogen peroksida, radikal hidroksil maupun radikal peroksil terjadi beriringan dengan berjalannya metabolisme. Kelompok atom atau atom memiliki elektron tidak berpasangan disebut radikal bebas. Radikal bebas merupakan molekul yang bersifat sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan asam nukleat, protein, lipid serta molekul lain terjadi perubahan struktur molekul-molekul yang dapat menyebabkan kerusakan jaringan (Murray dkk., 2006).

Radikal bebas dapat diatasi dengan senyawa-senyawa antioksidan yang mampu membersihkan ROS dengan menekan pembentukannya dan melawan efeknya. Antioksidan dapat diperoleh baik secara endogen maupun eksogen (Murray dkk., 2009). Kemampuan antioksidan dalam melakukan inhibisi produksi radikal bebas dinamakan *scavenging activity* (Wang & Hongjun, 2000). Antioksidan endogen belum sepenuhnya mampu mencegah kerusakan sel. Sehingga tubuh masih memerlukan antioksidan dari luar.

Antioksidan eksogen dapat diperoleh dari buah, sayuran maupun senyawa tertentu sebagai *scavenger*. Pengobatan atau terapi masa kini sudah mencapai tahap penggunaan *scavenger* sebagai metode penyembuhan suatu penyakit. Rumah Sehat yang bertempat di Jalan Surakarta 5 Kota Malang, merupakan salah satu tempat terapi yang menggunakan metode ini. Rumah Sehat menggunakan Kopi 1 mengandung kopi dan aspirin. Penambahan ovalbumin dari telur pada Kopi 1 membentuk kompleks protein *scavenger* AOC. Konsumsi Kopi 1 menunjukkan hasil yaitu meningkatkan trombosit, penurunan suhu tubuh saat diberikan pada pasien yang mengalami inflamasi, serta peningkatan kualitas hidup (Saraswati & Jayanti, 2014).

Pemanfaatan kompleks *scavenger* AOC di Rumah Sehat dikonsumsi secara *oral*. *Absorption pathway* dari ovalbumin, aspirin dan kafein telah diketahui dari penelitian sebelumnya, dimana ovalbumin diserap ke dalam darah perifer dan getah bening dari lumen gastrointestinal (Yokooji dkk., 2014). Sedangkan aspirin diserap cepat dari lambung dan usus oleh difusi pasif, walaupun

sebelumnya diubah menjadi salisilat di perut, mukosa usus, darah dan hati (UNIL,2016) dan kafein yang 84% dicerna pada tahap awalnya dimetilasi dengan CYPIA menjadi paraxanthine dan diserap oleh lambung dan usus halus (Chen dkk., 2011). Penyerapan kompleks AOC pakan melalui lambung terlebih dahulu, sehingga diperlukan analisis secara *in-silico* agar dapat memahami interaksi serta kestabilan kompleks AOC di dalam lambung. Kestabilan kompleks AOC dapat dianalisis menggunakan simulasi dinamika molekuler. Telah diketahui bahwa ovalbumin lebih stabil pada pH 6.5 dibandingkan dengan pH 8.5 (Seideman dkk., 1962). Pada pH asam (pH sekitar 2) ovalbumin tetap pada konformasi globular awal, akan tetapi fleksibilitas ikatan pada ovalbumin semakin meningkat serta akan lebih mudah untuk didenaturasi (Koseki dkk., 1988). Salah satu residu phosphoserine yang berada pada permukaan ovalbumin yaitu SerP-68 akan terekspos pada pH rendah (Castellano dkk., 1996). Sehingga analisis kestabilan dinamika molekuler kompleks AOC penting dilakukan dikarenakan belum terdapat data yang memadai mengenai kestabilan AOC pada beberapa variasi pH asam di lambung. Penelitian ini diharapkan mampu menjelaskan kestabilan kompleks *scavenger* AOC pada variasi pH asam.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah kestabilan kompleks protein *scavenger* AOC (*Aspirin, Ovalbumin, Caffeine*) dipengaruhi oleh pH?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah mengetahui kestabilan kompleks protein *scavenger* AOC (*Aspirin, Ovalbumin, Caffeine*) dipengaruhi oleh pH.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan data mengenai kestabilan Kopi 1 dalam lambung dengan suasana pH asam. Selain itu diharapkan dengan penelitian ini dapat mempunyai kontribusi terhadap bidang ilmu pengetahuan.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ovalbumin, Aspirin dan Kafein

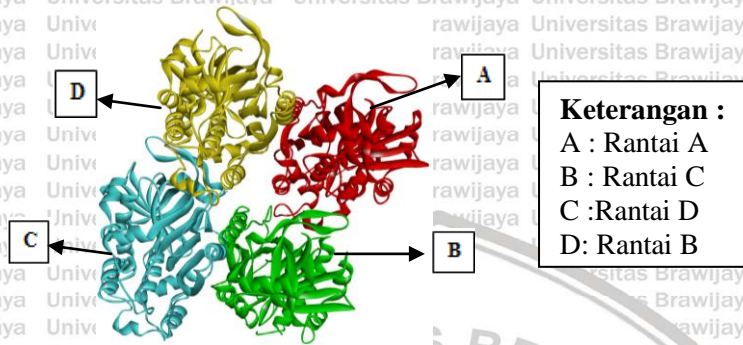
Ovalbumin merupakan protein dengan kuantitas terbanyak di dalam telur ayam dan juga merupakan salah satu protein pertama yang diisolasi dalam bentuk murni. Ovalbumin mudah didapatkan, sehingga penggunaannya luas dalam mempelajari struktur dan sifat protein, selain itu digunakan pula dalam analisis alergi. Penelitian dengan melibatkan ovalbumin mengalami peningkatan setelah penemuan yang tidak terduga bahwa protein ini termasuk dalam super-famili serpin. Serpin merupakan famili protein yang mempunyai lebih dari 300 homolog protein dengan berbagai macam fungsi baik di hewan, insekta, virus dan hewan (Huntington & Stein, 2001).

Aktivitas fungsional dari serpin sebagai protease inhibitor didasarkan atas kemampuan mereka yang unik dalam perubahan konformasi yang dramatis pada saat terjadi interaksi dengan protease. Serpin asli memiliki loop peptida yang mempunyai fleksibilitas tinggi. Kemampuan serpin untuk mengalami perubahan konformasi memungkinkan untuk regulasi yang ketat dalam aktivitas serpin dalam menyediakan informasi yang jelas pada kompleks protease-serpin (Huntington & Stein, 2001).

Mekanisme kontrol yang kompleks terlihat di inhibitor serpin menjelaskan keberhasilan evolusi dari keluarga ini sebagai protease inhibitor dominan dalam organisme tingkat tinggi. Sedangkan serpin non-inhibitor, termasuk angiotensinogen dan ovalbumin, tidak menunjukkan bukti untuk perubahan konformasi besar seperti golongan serpin inhibitori yang diikuti dengan situs restriksi di pusat-pusat reaktif dan tampaknya golongan serpin ini telah kehilangan kemampuan mobilitas ekstrim dari serpin inhibitor (Huntington & Stein, 2001).

Gambar 1 merupakan ovalbumin yaitu glikoprotein dengan massa molekul sebesar 45.000. Sekuen asam amino dari ovalbumin ayam terdiri dari 386 asam amino. Sekuen ini meliputi enam sistein dengan ikatan disulfida tunggal yang berada diantara Cys74 dan Cys121. Ovalbumin tidak memiliki sekuen N-terminal, meskipun ovalbumin merupakan protein sekretori. Sebaliknya, urutan hidrofobik antara residu 21 dan 47 dapat bertindak sebagai sinyal internal yang

terlibat dalam lokasi transmembran. Terdapat dua polimerisme di ovalbumin yaitu substitusi Glu menjadi Gln pada residu 290 dan substitusi Asn menjadi Asp pada residu 312 (Huntington & Stein, 2001).



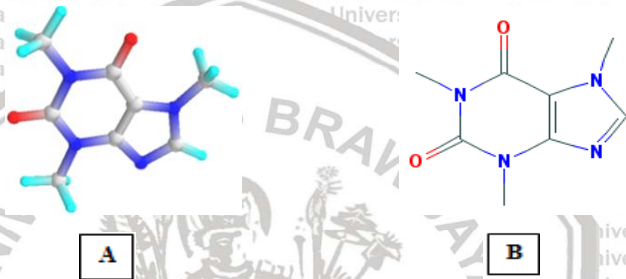
Gambar 1. Struktur 3 Dimensi Ovalbumin (IOVA) Tanpa Ligan dan Air Menggunakan *Discovery Studio 2016 Client*

Ovalbumin dapat dikonjugasikan dengan berbagai senyawa salah satu contohnya adalah asam palmitat. Ova-palm dapat berfungsi sebagai inhibitor dari kondisi toleransi oral. Toleransi oral adalah sebuah fenomena dimana ketika terdapat sebuah antigen yang diberikan secara oral, terjadi reduksi respon imun oleh individu tersebut. Konjugasi Ova-Palm terbukti meningkatkan kemampuan respon antibodi dibandingkan dengan Ova. Kompleks ovalbumin dengan asam palmitat sangat efisien dalam meningkatkan imunitas humoral dan selular (Oliveira dkk., 2002).

Hal ini memberikan gambaran bahwa penggunaan kompleks protein ovalbumin dengan ligan lebih baik dibandingkan dengan senyawa tunggal saja. Dalam penggunaan Kopi 1 secara oral, ovalbumin akan di-*couple* dengan beberapa senyawa yaitu kafein dan aspirin. Kafein pada Gambar 2 merupakan senyawa alkaloid xantina berbentuk kristal dan berasa pahit yang bekerja sebagai obat perangsang psikoaktif dan diuretik ringan. Manfaat kafein bila dikonsumsi dalam dosis yang telah ditentukan dapat memberikan efek yang positif. Konsumsi kafein sebanyak 100 mg tiap hari dapat menyebabkan individu merasa adiktif pada kafein (Fitri, 2008). Penelitian membuktikan bahwa kafein memiliki efek sebagai

stimulasi otot jantung, dan sel syaraf pusat, serta mampu meningkatkan diuresis (Farmakologi UI, 2002).

Selain itu kafein dapat meningkatkan efektifitas dari parasetamol dan aspirin yang termasuk dalam obat analgesik (Saraswati & Jayanti, 2014). Kafein merupakan salah satu jenis alkaloid yang terdapat dalam jumlah besar di dalam daun teh, biji coklat serta biji kopi. Kafein mempunyai efek farmakologis yang dapat bermanfaat secara klinis, beberapa contohnya adalah relaksasi otot polos, stimulasi pada otot jantung serta susunan syaraf pusat (Coffeefaq, 2001).



Gambar 2. Kafein (2519) Menggunakan *PyRx* (A) Struktur 3D (B) Struktur 2D

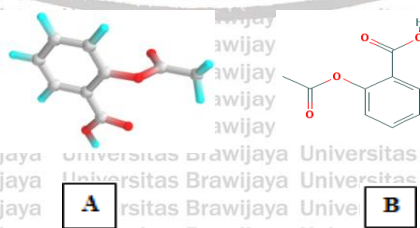
Berdasarkan efek farmakologis tersebut, kafein ditambahkan dalam jumlah tertentu ke minuman. Efek *over dosis* dalam mengkonsumsi kafein mampu menyebabkan gelisah, gugup, tremor, hipertensi, insomnia, kejang serta mual. Kafein sebagai stimulant dengan tingkat sedang atau yang disebut dengan *mild stimulant* diduga sebagai penyebab kecanduan. Akan tetapi kafein hanya dapat menimbulkan kecanduan jika dikonsumsi dengan jumlah yang banyak serta rutin. Kecanduan kafein sangat berbeda dengan kecanduan obat psikotropika, hal ini dikarenakan gejalanya akan hilang dalam waktu beberapa hari setelah konsumsi (Farmakologi UI, 2002). Kopi mengandung beberapa antioksidan yaitu polifenol, flavinoid, asam klorogenat, tokoferol serta kumarin yang dapat menangkal radikal bebas (Saraswati & Jayanti, 2014).

Senyawa di dalam kopi seperti CA (*caffeic acid*) dan CGA (chlorogenic acid 5-caffeoylquinic acid) mempunyai peran penting dalam aktifitas antioksidan yang berkaitan dengan konsumsi kopi.

Metabolisme kafein dan kolonik berhubungan dalam peningkatan aktifitas antioksidan dimana terlihat dalam asam m-coumaric dan asam dihydrofurelic yang merupakan bagian dari metabolisme kolonik. Pada konsentrasi fisiologis yang relevan dapat menunda oksidasi LDL (lipoprotein densitas rendah) oleh tembaga lebih dari 13 jam (Gomez-Ruiz dkk., 2007).

Penelitian juga membuktikan bahwa senyawa pada kopi seperti N-methylpyridinium dapat menurunkan kerusakan DNA pada sel Caco-2 yang telah diinduksi dengan menadione. Senyawa seperti 5-CQA (*caffeoylquinic acid*), ($\geq 3 \mu\text{M}$), catechol ($30 \mu\text{M}$) dan trigonelline ($\geq 30 \mu\text{M}$) yang merupakan senyawa di dalam kopi dapat menurunkan tingkat ROS (Bakuradze dkk., 2010).

Senyawa selanjutnya yang ditambahkan dalam konsumsi Kopi 1 secara oral selain ovalbumin dan kafein adalah aspirin. Aspirin pada Gambar 3 merupakan obat yang dapat menurunkan insiden serangan transien, iskemik, trombosis arteri koronaria dengan infark miokard, angina tak stabil, serta trombosis *bypass* arteri koronaria. Selain memberikan efek dalam terapi, aspirin mempunyai efek samping antara lain gangguan lambung serta hepatotoksitas, duodenum, ruam, toksisitas ginjal serta asma. Aspirin secara efektif dapat dimanfaatkan sebagai obat antiinflamasi, dan juga dapat digunakan sebagai obat analgesic yang lebih efektif. Ketika aspirin diabsorpsi dan dihidrolisis dengan cepat yang memerlukan waktu paruh selama 15 menit menjadi salisilat dan asam asetat oleh esterase di dalam darah serta jaringan. Ikatan dapat terjadi antara asam salisilat dengan albumin, akan tetapi metabolisme serta ikatan salisilat dapat menjadi jenuh yang menyebabkan fraksi yang tidak terikat meningkat bersamaan dengan meningkatnya konsentrasi total asam salisilat (Furst & Ulrich, 2012).



Gambar 3. Aspirin (2244) Menggunakan PyRx (A) Struktur 3D (B) Struktur 2D

Widyarti dkk (2015) melaporkan bahwa terdapat interaksi antara ovalbumin dan beberapa senyawa. Hasil absorbansi menggunakan spektrofotometer UV menunjukkan bahwa interaksi antara ovalbumin dengan aspirin dapat merubah panjang gelombang maksimal dan absorbansi, dimana semakin tinggi konsentrasi aspirin maka semakin tinggi nilai absorbansi interaksi dengan ovalbumin. Interaksi antara ovalbumin dengan vitamin C juga diukur dan menghasilkan perubahan panjang gelombang maksimal semakin tinggi serta perubahan nilai absorbansinya. Sedangkan interaksi antara ovalbumin dengan aspirin didapatkan hasil absorbansi dan panjang gelombang maksimal bergerak menurun. Senyawa aspirin dan vitamin C bersifat lebih fungsional apabila di-*couple* dengan ovalbumin, sedangkan kafein kurang fungsional jika berikatan dengan ovalbumin. Hal ini membuktikan bahwa ovalbumin dapat bersifat sebagai *adjuvant* dalam interaksinya dengan beberapa senyawa.

Jayanti dkk (2015) menyatakan bahwa ovalbumin mampu membentuk kompleks *scavenger* dengan aspirin serta kafein dengan energi rendah, penelitian tersebut memanfaatkan proses *docking* menggunakan PyRx. Letak kedua ligan tidak berada pada residu yang sama dimana hal ini menyatakan bahwa kedua ligan tersebut dapat berfungsi dan melekat pada situs ikatan makromolekul ovalbumin. Hasil *docking* kompleks AOC (aspirin, ovalbumin dan kafein) pada penelitian ini akan disimulasikan kestabilan kompleks pada suhu tubuh manusia sehat yaitu 37°C atau 310K (Elert, 2000), dengan kondisi fisiologis pH dari 1 hingga 2,5, dimana merupakan pH lambung manusia yang sehat pada umumnya (Evans dkk., 1988). Berdasarkan penelitian sebelumnya didapatkan hasil bahwa terdapat perubahan struktur sekunder pada ovalbumin murni tanpa ligan ketika diinduksikan berbagai variasi pH, dimana ketika pH diturunkan dari 5,5 ke 3,6 tidak menyebabkan perubahan struktur yang signifikan akan tetapi pada pH dibawah 2 didapatkan hasil semakin banyaknya struktur β -*sheet* sehingga struktur ovalbumin tidak lagi stabil (Kang dkk., 2014). Selanjutnya terdapat penelitian terhadap ovalbumin yang telah dicampur dengan *gum arabic* juga telah diteliti kestabilannya pada berbagai kondisi pH, dan didapatkan hasil yaitu GA:OVA pada pH 3,8 dan 4 bersifat lebih stabil dibandingkan dengan pH 7 (Niu dkk., 2014).

2.2 Docking

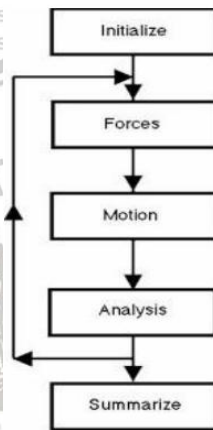
Molecular docking berfungsi dalam mempelajari *Ligan* maupun interaksi reseptor dengan cara melakukan identifikasi pada situs aktif yang cocok dengan protein, selain itu mendapatkan geometri yang terbaik dari kompleks reseptor dan *Ligan*, kemudian dapat menghitung energi interaksi untuk ligan, sehingga hasil analisis dapat membantu dalam merancang ligan yang lebih efektif. Program *docking* dinyatakan berhasil tergantung dengan dua komponen yaitu fungsi *scoring* dan pencarian algoritma (Mukesh & Rakesh, 2011). *Scoring* berfungsi untuk memperkirakan afinitas ikatan antara ligan dengan makromolekul. Penggunaan algoritma mempunyai fungsi dalam menentukan konformasi dari reseptor yang memiliki interaksi dengan *Ligan* (Serina, 2013).

Salah satu program untuk melakukan *docking* adalah menggunakan PatchDock. PatchDock merupakan *web based program* yang menggunakan algoritma berdasarkan struktur geometri. Program ini bertujuan untuk mencari daerah untuk *docking* yang berdasarkan bentuk komplementer molekul. Terdapat empat opsi yang harus diisi jika melakukan *request docking* yaitu *clustering RMSD* dimana merupakan angka yang spesifik dari jarak RMSD. RMSD yang disarankan untuk melakukan *docking* protein-protein sebesar 4 Å sedangkan untuk *docking* protein-*Ligan* sebesar 1,5 Å. Opsi kedua yaitu *complex type* dimana mempunyai beberapa parameter yang berbeda dan harus dispesifikkan. Terdapat beberapa parameter yaitu tipe kompleks enzim-inhibitor, tipe kompleks antibodi-antigen, dan tipe *docking* protein-*small Ligan*. Selanjutnya yaitu terdapat opsi *receptor binding site* dimana diisi jika sudah memiliki data *potential binding site* pada reseptor yang akan dilakukan *docking* pada PatchDock. Opsi terakhir yaitu *Ligan binding site* dimana diisi jika mempunyai data residu yang berpotensi sebagai tempat *Ligan binding* (Schneidman-Duhovny dkk., 2005).

Proses *docking* selanjutnya dapat dilakukan proses *refinement*, dimana hasil *docking* dari server PatchDock dapat langsung diproses dengan FireDock. Hasil *docking* yang diproses di FireDock akan diperbaiki menggunakan *restricted interface*, *side-chain rearrangement* dan juga optimisasi *rigid-body*. Hasil yang diperoleh dari proses *refinement* berupa struktur yang telah diperbaiki dan memiliki akurasi yang tinggi (Andrusier dkk., 2007).

2.3 Dynamic Simulation

Simulasi dinamika molekuler merupakan metode dalam menyelidiki struktur cair, padat dan gas menggunakan teknik mekanika klasik dan persamaan hukum newton. Tujuan utama dari simulasi dinamika molekuler yaitu menjadi jembatan antara teori dan hasil eksperimen, menghasilkan trayektori molekul dengan jangka waktu terhingga serta memungkinkan peneliti untuk melakukan simulasi yang tidak dapat dilakukan secara *wet lab*.



(Astuti & Mutiara, 2014)

Gambar 4. Flowchart dinamika molekuler

Prinsip dinamika molekuler seperti Gambar 4 yaitu pergerakan molekul dikomputasi dengan metode integrasi serta besar gaya antar molekul dihitung secara eksplisit. Proses utama dari simulasi dinamika molekuler yaitu menghitung besar gaya yang bekerja kemudian mengkomputasi pergerakan atom dan menampilkan analisis statistik dalam setiap konfigurasi atom (Astuti & Mutiara, 2014).

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2016 – Desember 2016 di Laboratorium Bioinformatika, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

3.2 *Datamining* Bahan *Docking*

Data mengenai struktur protein *Ovalbumin* didapatkan dari situs PDB (<http://www.rcsb.org/pdb>) dengan PDB ID yaitu 1OVA kemudian disimpan dalam format (.pdb). Data mengenai senyawa ligan bahan *docking* (Kafein dan *aspirin*) didapatkan dari database PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>) dengan ID 2519 untuk kafein dan ID 2244 untuk *aspirin*.

3.3 *Molecular Docking*

Data makromolekul (1OVA) dihilangkan ligan dan molekul airnya dengan aplikasi Discovery Studio 2016 Client, kemudian hasilnya disimpan sebagai file dalam format (.pdb). Proses *docking* menggunakan *web server* PatchDock dengan mengupload ligan dan protein dan RMSD yang dipilih 1.5 Å untuk *docking* senyawa dan protein. Hasil *docking* kemudian *refinement* menggunakan fasilitas FireDock yang langsung terhubung dengan PatchDock. Hasil *docking* dan *refinement* yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil dengan peringkat pertama dengan *score* tertinggi.

3.4 *Dynamic Simulation*

Simulasi dinamika molekuler memerlukan aplikasi bernama YASARA. Dalam simulasi dinamika molekuler ini file hasil *docking* kompleks AOC diinput ke dalam program dengan cara Options -> Macro & Movie -> Set Target. Kemudian dilakukan input *macro* untuk melakukan simulasi dinamika molekuler yang sebelumnya telah dipreparasi terlebih dahulu baik suhu yang dipakai 310K dan pH yang disesuaikan dengan penelitian yaitu pH 1, 1.5, 2, dan 2.5, selanjutnya pada *macro* md_run (Lampiran 3) juga diatur lama waktu *running* yaitu 4000 ps.

Waktu 4 ns (4000 ps) dianggap sebagai waktu yang cukup untuk melakukan simulasi molekul dalam kondisi fisiologis dan dapat dianalisis secara terperinci (NagaSundaram & Doss, 2011). Analisis RMSD *backbone* protein dan energi potensial didapatkan dengan menjalankan *macro md_analyze* seperti pada Lampiran 1, sedangkan analisis *binding energy* menggunakan *macro md_analyzebindenergy* (Lampiran 2). Sedangkan untuk menjalankan kembali hasil *running* menggunakan *macro md_play* seperti pada Lampiran 4 dan direkam dengan menggunakan aplikasi IceCream Screen Recorder dengan hasil output berupa *file* dengan ekstensi (.wmy).



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Analisis Hasil *Docking* Kompleks AOC

Docking kompleks AOC pada PatchDock diawali dengan penambatan ovalbumin dengan kafein. Parameter yang dimasukkan pada PatchDock meliputi file PDB 1OVA sebagai reseptor, dimana ovalbumin yang digunakan sudah dihilangkan air maupun ligan yang menempel menggunakan Discovery Studio 2016 Client, sedangkan kafein dengan format (.pdbqt) yang sebelumnya dikonversi dari format (.sdf) menggunakan fitur OpenBabel pada aplikasi PyRx. RMSD yang digunakan dalam *docking* menggunakan PatchDock khusus untuk *protein-small molecule* adalah 1,5 Å (Schneidman-Duhovny dkk., 2005).

Hasil yang didapatkan berupa file PDB berjumlah hingga 100 file yang telah dikompresi dalam format (.zip). *Score* tertinggi dimiliki oleh model pertama dengan jumlah 3470 yang didapatkan dari perhitungan algoritma PatchDock dengan menghitung semua interaksi atom ligan dengan protein. Sedangkan *Area* merupakan daerah antarmuka kompleks protein-ligan, dan ACE (*Atomic Contact Energy*) merupakan energi yang digunakan dalam membentuk kompleks dimana semakin rendah energi maka semakin mudah penambatan ligan (Duhovny dkk., 2002). Energi kontak atom dari hasil *docking* menunjukkan bahwa model ketiga dengan energi -211,17 Kcal/mol merupakan energi terendah akan tetapi dari hasil *scoring* keseluruhan mempunyai selisih 48 poin dengan model pertama (Tabel 1).

Tabel 1: Tiga model dengan *scoring* tertinggi dari seratus model hasil *docking* 1OVA dan kafein menggunakan PatchDock

No	Score	Area	ACE (Kcal/Mol)
1	3470	366,20	-129,91
2	3438	366,10	-133,97
3	3432	411,20	-211,17

Tabel 1 merupakan tiga model dengan *scoring* tertinggi dari seratus model hasil *docking* 1OVA dengan kafein, kemudian sepuluh besar terbaik dari seratus hasil *docking* dilakukan *refinement* menggunakan FireDock yang merupakan *web server based program*.

Proses *refinement* FireDock mempunyai dua tahapan yaitu pengaturan ulang antarmuka rantai samping dan penyesuaian orientasi dari molekul. Metode *refinement* mampu memastikan bahwa residu yang dapat berikatan dengan ligan tidak mengalami perubahan signifikan ketika terjadi penambatan ligan pada protein tersebut. FireDock mempunyai aturan tersendiri dalam proses *refinement* dimana menghentikan pergerakan rantai samping dan memperhalus jari-jari atom, yang akan meningkatkan sensitivitas dari algoritma yang digunakan oleh FireDock, sehingga hasil menjadi semakin akurat (Andrusier dkk., 2007).

Tabel 2 merupakan hasil dari proses *refinement* kompleks IOVA dan kafein. Tiga peringkat teratas didasarkan atas global energi secara keseluruhan dimana semakin rendah energi yang digunakan maka semakin mudah terbentuknya sebuah kompleks makromolekul dengan ligan. Hasil *refinement* menunjukkan bahwa model ketiga menduduki peringkat pertama dengan energi keseluruhan sebesar -29,98 Kcal/mol. Analisis ikatan Van Der Waals pada hasil *refinement* menggunakan FireDock dimana terbagi menjadi dua yaitu ikatan atraktif dan repulsif. Ikatan Van Der Waals terbentuk jika dua molekul bermuatan dipol berdekatan, dimana terjadi ikatan atraktif apabila jarak antar dua molekul cukup dekat akan tetapi masih ada *gap* diantaranya, sedangkan ikatan repulsif adalah ikatan sementara yang terjadi jika terdapat dua molekul dengan jarak yang sangat dekat tanpa adanya *gap* (Karp, 2009). Model ketiga mempunyai ikatan atraktif Van Der Waals sebesar -11,87 dan repulsif sebesar 1,38 yang menunjukkan resultan ke arah ikatan *attractive*, sehingga di antara molekul IOVA dan kafein mengalami pengikatan.

Tabel 2. Hasil *refinement* model *docking* IOVA+kafein menggunakan FireDock

No	Global Energi	Attractive Van Der Waals	Repulsive Van Der Waals	R(A+R)	ACE
3	-29,98	-11,87	1,38	-10,49	-8,61
8	-29,08	-10,43	0,62	-9,81	-8,87
5	-27,51	-9,61	1,57	-8,04	-9,14

Model *docking* IOVA dan kafein nomor tiga hasil *refinement* kemudian diinput ke PatchDock untuk proses *docking* menggunakan aspirin dalam rangka membentuk kompleks AOC ditunjukkan Tabel 3. Metode yang digunakan sama seperti sebelumnya baik input nilai RMSD maupun parameter jenis ikatan *protein-small molecules*. Hasil yang didapatkan yaitu model pertama mempunyai nilai *score* tertinggi yaitu 3416 dan energi kontak atom (ACE) sebesar -113,66 Kcal/mol (Tabel 3).

Tabel 3. Tiga model dengan *scoring* tertinggi dari seratus model hasil *docking* (IOVA+kafein refinement) dengan aspirin menggunakan PatchDock

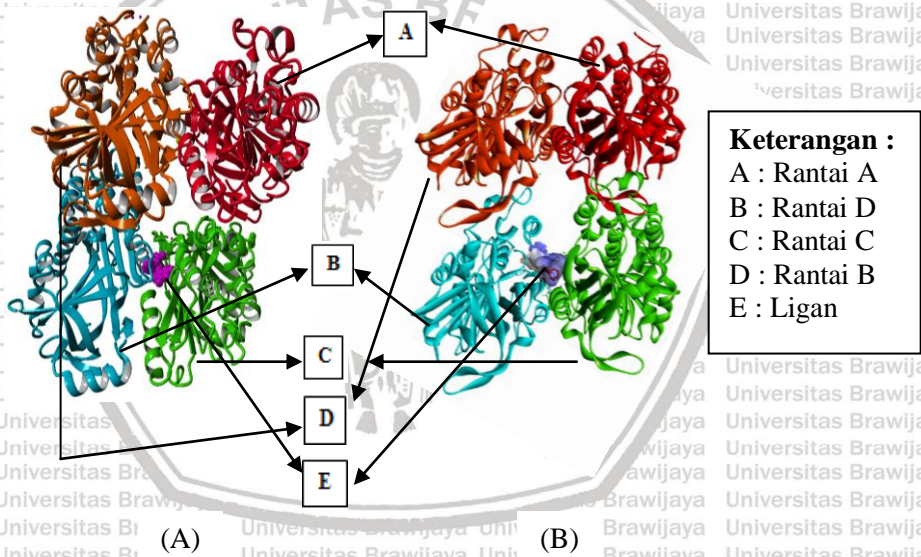
No	Score	Area	ACE (Kcal/Mol)
1	3416	371,40	-113,66
2	3408	368,00	-126,60
3	3352	377,20	-141,26

Hasil *docking* tersebut kemudian dilakukan proses *refinement* dengan FireDock sama seperti sebelumnya, dimana sepuluh model terbaik pada PatchDock akan diproses *refinement*. Tabel 4 menunjukkan hasil yaitu model ketiga dari sepuluh model dengan *scoring* tertinggi hasil PatchDock sebelumnya merupakan peringkat pertama dari hasil *refinement* pada FireDock. Model ketiga memiliki energi keseluruhan sebesar -31,28 Kcal/mol dengan ikatan Van Der Waals atraktif sebesar -12,75 dan repulsif sebesar 1,92.

Tabel 4. Hasil *refinement* model *docking* kompleks AOC menggunakan FireDock

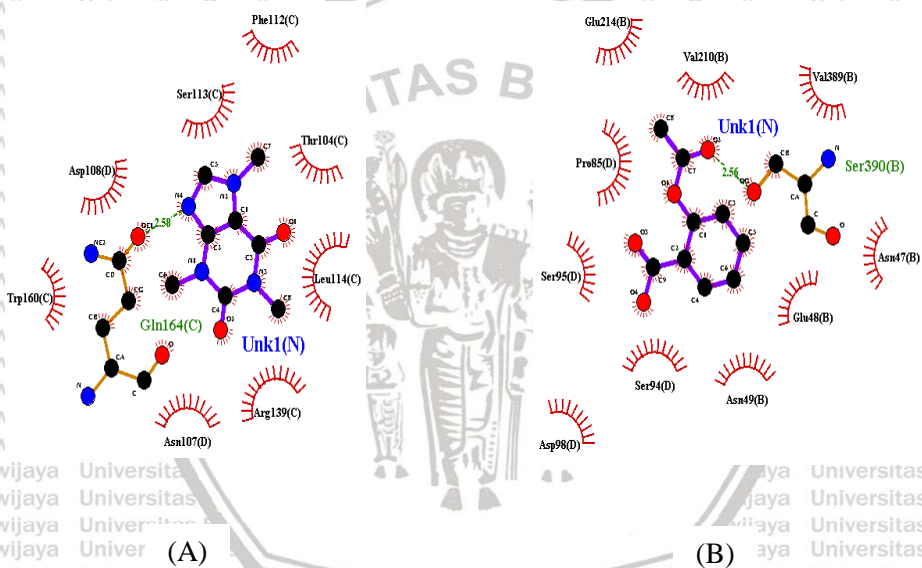
No	Global Energi	Attractive Van Der Waals	Repulsive Van Der Waals	R(A+R)	ACE
3	-31,28	-12,75	1,92	-10,83	-8,61
5	-29,07	-10,56	0,77	-9,79	-8,67
6	-26,62	-10,10	0,88	-9,22	-7,63

Hasil *refinement docking* kompleks AOC kemudian divisualisasikan menggunakan Discovery Studio 2016 Client dan YASARA. Gambar 5A menunjukkan visualisasi kompleks AOC menggunakan program YASARA, ligan ditunjukkan dengan warna ungu. Gambar 5B merupakan struktur kompleks AOC yang divisualisasikan dengan aplikasi Discovery Studio 2016 Client, ligan berada di dalam *hydrophobic cave* yang merupakan salah satu fungsi di dalam aplikasi DS 2016 Client. Ovalbumin diwarnai berdasarkan rantai sisinya, warna merah merupakan rantai sisi A, warna oranye adalah rantai sisi B. Warna hijau merupakan rantai sisi C, sedangkan warna *cyan* merupakan rantai sisi D. Pewarnaan disamakan pada visualisasi struktur 3D kompleks AOC baik pada YASARA maupun Discovery Studio 2016 Client.



Gambar 5. Visualisasi struktur 3D kompleks AOC (A) YASARA (B) Discovery Studio 2016 Client

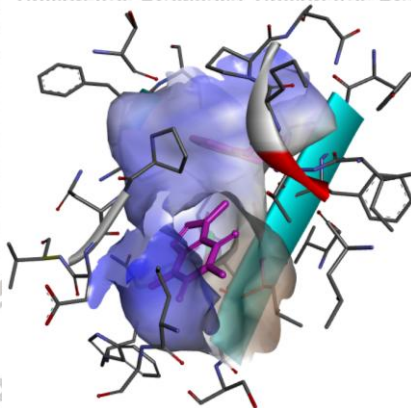
Analisis interaksi antara protein dan ligan dilakukan menggunakan aplikasi LigPlus (Gambar 6). Hasil visualisasi tidak menunjukkan adanya tumpukan dari aspirin dan kafein dikarenakan posisi kedua ligan tersebut sebenarnya berada pada posisi yang berbeda. Residu yang berikatan dengan ligan kafein yaitu Thr 104 (C), Phe 112 (C), Ser 113 (C), Leu 114 (C), Arg 139 (C), Trp 160 (C), Gln 164 (C), Asn 107 (D), dan Asp 108 (D). Sedangkan untuk residu yang berikatan dengan ligan aspirin yaitu Asn 47 (B), Glu 48 (B), Asn 49 (B), Val 210 (B), Glu 214 (B), Val 389 (B), Ser 390 (B), Pro 85 (D), Ser 94 (D), Ser 95 (D), dan Asp 98 (D).



Gambar 6. Visualisasi Interaksi reseptor-ligan (A) Interaksi ligan kafein dengan residu ovalbumin (B) Interaksi ligan aspirin dengan residu ovalbumin

Gambar 7 menunjukkan kondisi ligan yang diwarnai ungu berada di dalam *hydrophobic cave*. Kondisi *hydrophobic cave* juga telah diteliti sebelumnya pada residu dari ligan *immunophilin*, yang mempunyai fungsi dalam regulasi imun dan *folding* protein. Contoh ligan tersebut yaitu FKBP dengan residu Tyr 26, Phe 36, Asp 37,

Arg 42, Phe 46, Glu 54, Val 55, Ile 56, Trp 59, Tyr 82, His 87, Ile 91 dan Phe 99, dimana residu-residu ini membentuk gua hidrofobik sebagai tempat penambatan FKBP (Huang, 2007).



Gambar 7. Visualisasi Interaksi reseptor-ligan menggunakan Discovery Studio 2016 Client

Jenis ikatan dari interaksi ligan kafein dengan residu tersebut dianalisis menggunakan program LigPlus dan didapatkan hasil residu Thr 104 (C), Phe 112 (C), Ser 113 (C), Leu 114 (C), Arg 139 (C), Trp 160 (C), Asn 107 (D), dan Asp 108 (D) mempunyai gaya Van Der Waal dimana gaya ini menyusun kontak hidrofobik. Residu Gln 164 (C) mempunyai ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen dari residu Gln 164 (C) mempunyai jarak 2,58 Å. Sedangkan interaksi ligan aspirin dengan residu ovalbumin yaitu didapatkan hasil residu Asn 47 (B), Glu 48 (B), Asn 49 (B), Val 210 (B), Glu 214 (B), Val 389 (B), Pro 85 (D), Ser 94 (D), Ser 95 (D), dan Asp 98 (D) mempunyai gaya Van Der Waal dimana gaya ini menyusun kontak hidrofobik. Residu Ser 390 (B) mempunyai ikatan hidrogen. Ikatan hidrogen dari residu Ser 390 (B) mempunyai jarak 2,56 Å.

Kontak hidrofobik terjadi jika terjadi asosiasi dari molekul-molekul non-polar. Kontak hidrofobik (Tabel 5) tidak disebut sebagai kontak dan bukan sebagai ikatan dikarenakan hidrofobik tidak disebabkan oleh ketertarikan antar molekul hidrofobik, melainkan kelompok hidrofobik mampu membentuk ikatan yang lemah didasarkan pada elektrostatis. Kondisi ini menyebabkan atom berbagi elektron dengan atom lainnya, akan tetapi terdapatnya distribusi asimetris pada pembagian elektron menyebabkan dipol. Molekul dengan dipol sementara akan membentuk ikatan lemah yang disebut sebagai gaya Van Der Waals. Pada residu Gln 164 (C) dan Ser 390 (B) terdapat ikatan hidrogen yang merupakan ikatan yang terjadi diantara molekul dengan tingkat polaritas yang tinggi (Karp, 2009).

Tabel 5. Residu dan jenis ikatan antara aspirin dan kafein dengan residu Ovalbumin

No	Ligan	Residu	Jenis Ikatan
1	Kafein	Thr 104 (C)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
2	Univ	Phe 112 (C)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
3	Univ	Ser 113 (C)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
4	Univ	Leu 114 (C)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
5	Univ	Arg 139 (C)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
6	Univ	Trp 160 (C)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
7	Univ	Gln 164 (C)	Ikatan Hidrogen
8	Univ	Asn 107 (D)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
9	Univ	Asp 108 (D)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
10	Univ	Aspirin Asn 47 (B)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
11	Univ	Glu 48 (B)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
12	Univ	Asn 49 (B)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
18	Univ		

13	Val 210 (B)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
14	Glu 214 (B)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
15	Val 389 (B)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
16	Ser 390 (B)	Ikatan Hidrogen
17	Pro 85 (D)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
18	Ser 94 (D)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
19	Ser 95 (D)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)
20	Asp 98 (D)	Ikatan Van Der Waal (Kontak Hidrofobik)

Sifat dari residu asam amino yang berikatan dengan ligan dapat dibagi berdasarkan muatan, kepolaran dan sifat hidrofobik maupun hidrofilik. Tabel menunjukkan sifat dari residu-residu asam amino IOVA yang berikatan dengan aspirin dan kafein (Tabel 6).

Residu *threonine* (Thr) dan *serine* (Ser) banyak terdapat dalam pusat fungsional protein, dengan sifat yang cukup reaktif dan mampu membentuk ikatan hidrogen dengan berbagai substrat yang bersifat polar. Residu *phenylalanine* (Phe) dan *tryptophan* (Trp) mempunyai rantai sisi yang kurang reaktif dan tidak langsung terlibat dalam fungsi protein, akan tetapi dapat berfungsi sebagai pengenalan substrat. Residu aromatik *phenylalanine* dan *tryptophan* dapat terlibat dalam interaksi dengan ligan non-protein (Betts & Russell, 2003).

Tabel 6. Sifat residu-residu asam amino Ovalbumin yang berikatan dengan aspirin dan kafein

No	Ligan	Residu	Muatan	Polaritas	Hidrofobik / Hidrofilik
1	Kafein	Thr 104 (C)	Netral	Non polar	Hidrofilik
2		Phe 112 (C)	Netral	Non polar	Hidrofobik
3		Ser 113 (C)	Netral	Polar	Hidrofilik

4	Leu 114 (C)	Netral	Non polar	Hidrofobik
5	Arg 139 (C)	Positif	Polar	Hidrofilik
6	Trp 160 (C)	Netral	Non polar	Hidrofobik
7	Gln 164 (C)	Netral	Polar	Hidrofilik
8	Asn 107 (D)	Netral	Polar	Hidrofilik
9	Asp 108 (D)	Negatif	Polar	Hidrofilik
10	Aspirin Asn 47 (B)	Netral	Polar	Hidrofilik
11	Glu 48 (B)	Negatif	Polar	Hidrofilik
12	Asn 49 (B)	Netral	Polar	Hidrofilik
13	Val 210 (B)	Netral	Non polar	Hidrofobik
14	Glu 214 (B)	Negatif	Polar	Hidrofilik
15	Val 389 (B)	Netral	Non polar	Hidrofobik
16	Ser 390 (B)	Netral	Polar	Hidrofilik
17	Pro 85 (D)	Netral	Non polar	Hidrofobik
18	Ser 94 (D)	Netral	Polar	Hidrofilik
19	Ser 95 (D)	Netral	Polar	Hidrofilik
20	Asp 98 (D)	Negatif	Polar	Hidrofilik

Residu *leucine* (Leu) dan *valine* (Val) mempunyai rantai sisi yang sangat tidak reaktif dan jarang terlibat dalam fungsi protein seperti katalisis, akan tetapi dapat berfungsi sebagai pengenalan substrat. Asam amino hidrofobik secara khusus terlibat dalam *binding* terhadap ligan. Residu *aspartate* (Asp) serta *glutamate* (Glu) mempunyai muatan negatif dan bersifat polar dimana lebih banyak berada pada lingkungan air dan kedua residu ini terdapat di *salt-bridge* (Betts & Russell, 2003).

Residu *asparagine* (Asn) dan *glutamine* (Gln) yang bersifat polar biasanya terdapat pada permukaan protein. *Asparagine* sering terlibat dalam situs *binding* dan rantai sisi polar dari residu ini bagus untuk interaksi dengan atom yang bermuatan maupun yang bersifat polar. Residu *arginine* (Arg) mempunyai muatan positif yang bersifat polar dimana mempunyai fungsi pada situs pelekatan, pada umumnya Arg berada pada permukaan protein (Betts & Russell, 2003).

Proline (Pro) merupakan residu protein yang rantai sampingnya berikatan dengan *backbone* protein sebanyak dua kali, dimana struktur khusus ini yang menyebabkan Pro sering terdapat di *turn* pada struktur protein dan *proline* juga sering terdapat di permukaan protein dengan fungsi pada situs pengikatan ligan (Betts & Russell, 2003).

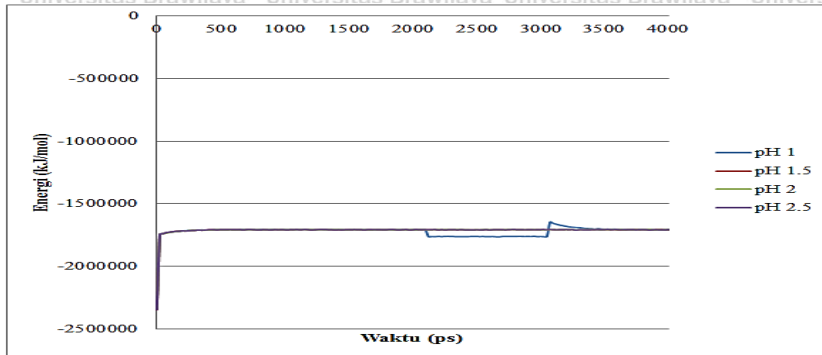
4.2 Analisis Simulasi Dinamika Molekuler

4.2.1 Analisis energi potensial kompleks AOC dan *ligand binding energy*

Simulasi dinamika molekul menggunakan aplikasi YASARA dengan beberapa parameter seperti pH yang disesuaikan dengan kondisi pH lambung manusia yang berkisar antara 1-2,5 dan dibuat interval 0,5 dalam setiap perlakuan sehingga didapatkan empat variasi pH yaitu 1, 1,5, 2, dan 2,5. Kang dkk., (2014) menyatakan bahwa keadaan ovalbumin pada pH 2 tidak mengalami banyak perubahan dan bersifat stabil. Sehingga kontrol pH dari simulasi dinamika molekul terhadap kompleks AOC yang berdasarkan variasi pH ini adalah pH 2. Parameter lainnya seperti konsentrasi ion dalam simulasi dinamika molekul menggunakan 0,9% NaCl yang merupakan kondisi fisiologis, sedangkan suhu yang digunakan merupakan suhu tubuh sebesar 310K. Durasi simulasi yaitu 4000 pikodetik dengan *forcefield* yaitu AMBER03 dan penyimpanan *snapshot* setiap 25 pikodetik. Analisis energi potensial kompleks AOC didapatkan setelah menjalankan *macro md_analyze*.

Gambar 8 merupakan grafik yang menunjukkan energi potensial kompleks AOC secara keseluruhan pada beberapa variasi pH. Energi potensial kompleks AOC pada semua pH mengalami kenaikan pada 0 ps yang berarti terjadi proses inisiasi energi untuk mencapai kestabilan energi, akan tetapi terdapat fluktuasi penurunan pada pH 1 di 2125 ps. Setiajid (2012) menyatakan bahwa fluktuasi penurunan berarti terjadinya relaksasi pada ikatan molekul.

Fluktuasi kompleks AOC di pH 1 pada waktu 2125 ps menandakan terjadinya perubahan konformasi ikatan protein dan kemudian mengalami kestabilan sementara hingga 3025 ps, selanjutnya terdapat peningkatan energi potensial di 3075 ps hingga akhirnya mencapai titik kestabilan energi seperti kompleks AOC pada pH 1,5, 2 dan 2,5.



Gambar 8. Energi potensial kompleks AOC

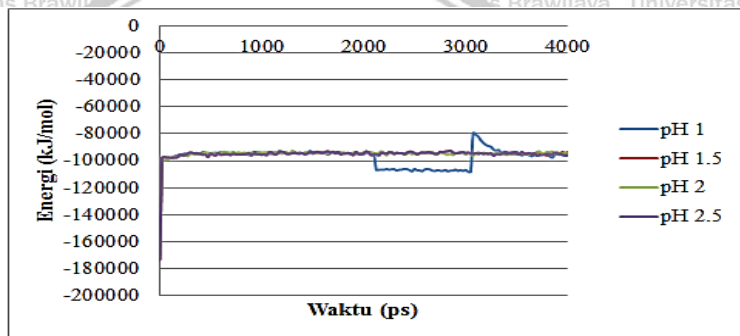
Grafik energi ikat ligan didapatkan dengan analisis menggunakan *macro md_analyzebindenergy* menggunakan YASARA. Gambar 9 merupakan grafik *Ligand binding energy* pada reseptor ovalbumin. Terdapat kesamaan antara grafik energi potensial kompleks AOC yang ditunjukkan oleh Gambar 7 dengan grafik ikatan ligan yaitu pada fluktuasi pH 1. Motif fluktuasi energi ikat ligan pada pH 1 tidak jauh berbeda dengan fluktuasi pada energi potensial kompleks AOC.

Perbedaannya terdapat pada waktu terjadinya fluktuasi dimana pada energi ikatan ligan pada pH 1 terjadi penurunan energi pada 2125 ps dan mencapai kestabilan sementara hingga 2950 ps, serta mengalami peningkatan energi pada 3075 ps hingga akhirnya mencapai tahapan *equilibrium* seperti energi ikatan ligan pada pH lainnya. Energi ikat ligan pada pH lain relatif sama akan tetapi kondisi energi ikat ligan pada pH 1 dapat memberikan informasi mengenai adanya hubungan antara keberadaan ligan yang mempengaruhi protein.

Kondisi fluktuasi yang terjadi pada kompleks AOC dapat disimpulkan bahwa keberadaan ligan aspirin dan kafein dapat mempengaruhi perubahan konformasi struktur protein AOC, dimana dapat dilihat bahwa perubahan energi ikatan terjadi bersamaan

dengan perubahan energi potensial protein akan tetapi terjadi perbedaan waktu tahap kestabilan sementara pada energi ikat ligan hingga 2950 ps sedangkan *equilibrium* sementara setelah fluktuasi pada energi potensial di 3025 ps, kemudian diikuti fluktuasi energi ikat ligan maupun energi potensial pada waktu yang sama yaitu 3075 ps.

Ikatan ligan dapat menyebabkan perubahan konformasi pada struktur protein, yaitu hanya 30%-40% dari situs penambatan ligan yang telah terbukti tidak ikut mengalami perubahan rotamer rantai samping. Kinase merupakan salah satu contoh dari perubahan konformasi struktur yang sangat fleksibel terhadap *docking* ligan (Mobley & Dill, 2010).

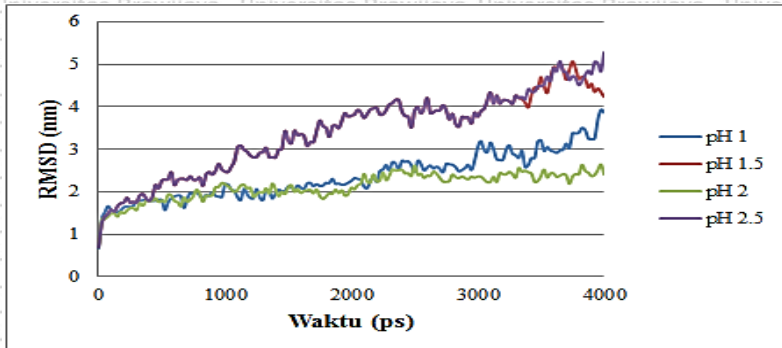


Gambar 9. Energi ikatan protein-ligan kompleks AOC

4.2.2 Analisis RMSD kompleks AOC dan RMSD residu ligan

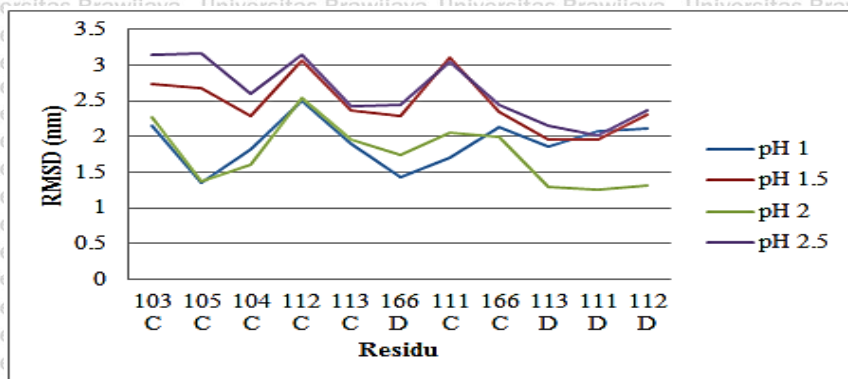
RMSD (*Root Mean Square Deviation*) dapat memberikan informasi terjadinya perubahan konformasi kompleks protein yang telah *didocking* dengan ligan tertentu. Analisis RMSD kompleks AOC (Gambar 10) didapatkan dengan *macro md_analyze* pada YASARA. Kondisi kontrol yaitu pH 2 menunjukkan kestabilan RMSD dari waktu awal tahap inisiasi hingga mencapai tahap *equilibrium* di akhir simulasi. Kestabilan memiliki arti bahwa tidak terjadi perubahan signifikan pada konformasi struktur protein. $\text{RMSD} \geq 3$ nm merupakan tanda bahwa terjadi perubahan struktur dibandingkan dengan kondisi *native*. RMSD yang mendekati motif grafik kontrol yaitu pH 1, akan tetapi menjelang akhir simulasi pada 3000 ps hingga 4000 ps terjadi fluktuasi meningkat, sehingga dapat

disimpulkan bahwa terjadi *unfolding* (Setajid, 2012) pada kompleks AOC di pH 1. Kondisi yang sama terjadi pada kompleks AOC pada pH 1,5 dan 2,5 yaitu pada waktu 1100 ps sudah melebihi 3 nm, dan pada waktu selanjutnya tidak mencapai titik *equilibrium*. Kompleks AOC pada pH 1,5 dan 2,5 juga mengalami proses *unfolding*.



Gambar 10. RMSD kompleks AOC pada beberapa variasi pH

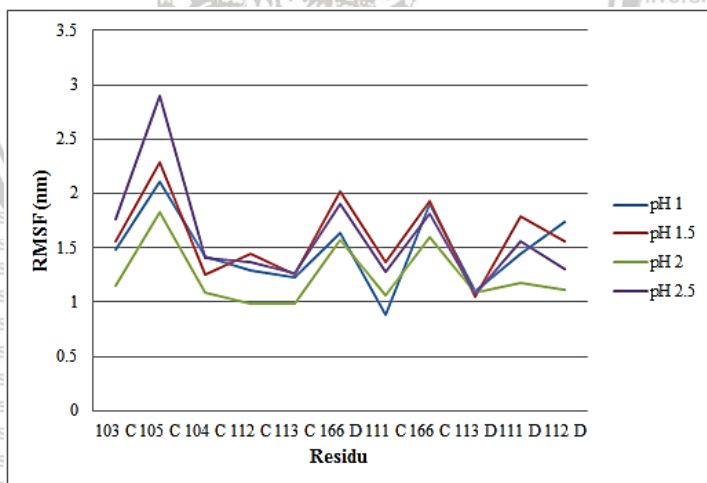
Residu reseptor yang berikatan dengan ligan aspirin dan kafein dapat dianalisis RMSD (Gambar 11) dengan menggunakan fasilitas *macro md_analyzeres* pada YASARA. Residu Ile 103 (C) dengan RMSD sebesar 3,138 nm pada pH 2,5 melebihi 3 nm begitupula dengan residu Phe 112 (C) pH 1,5 sebesar 3,067 dan pada pH 2,5 sebesar 3,152 nm. Residu Ser 111 (C) mempunyai RMSD di atas 3 nm baik pada pH 1,5 dan 2,5, yang menandakan bahwa terjadi perbedaan kondisi residu pada tahap *native* dengan tahap akhir simulasi. Pada residu Lys 105 (C), Thr 104 (C), Ser 113 (C), Asn 166 (C), Ser 113 (D), Ser 111 (D), Phe 112 (D), dan Asn 166 (D) tidak memiliki nilai RMSD ≥ 3 nm sehingga masih berikatan dengan ligan hingga akhir simulasi dinamika molekular.



Gambar 11. RMSD residu reseptor pada beberapa variasi pH

4.2.3 Analisis RMSF residu dan hasil visualisasi movie

RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*) dapat diperoleh dengan menjalankan *macro md_analyzeres* pada YASARA. Analisis ini bertujuan untuk melihat fluktuasi yang terjadi di daerah residu reseptor yang berikatan dengan ligan.



Gambar 12. RMSF residu reseptor pada beberapa variasi pH

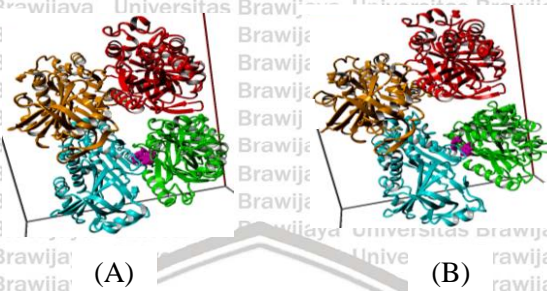
Residu Lys 105 (C) mempunyai RMSF (Gambar 12) paling tinggi, akan tetapi tidak mencapai ≥ 3 nm yang berarti terjadi perenggangan ikatan Van Der Waals residu protein ovalbumin dengan ligan kafein dan aspirin. Menurut Rizzo (2013) perubahan dari 1 hingga 3 nm dapat terima, khususnya untuk protein globular, dimana perubahan struktur lebih dari 3 nm menandakan adanya pelepasan pada ikatan selama simulasi. Kondisi residu Lys 105 (C) tidak menyebabkan lepasnya ligan dari *docking* terhadap ovalbumin tersebut, ikatan Van Der Waals pada residu tersebut mengalami proses *repulsive*. Residu Thr 104 (C), Phe 112 (C), Ser 113 (C), Ser 111 (C), Ser 113 (D), Ser 111 (D), dan Phe 112 (D) pada semua pH tidak mengalami perenggangan ikatan Van Der Waals yang berarti mempunyai ikatan *attractive*.

Perenggangan ikatan residu reseptor pada ligan juga terjadi pada residu Asn 166 (C) dengan RMSF tertinggi di pH 1,5 yaitu 2,014 nm, kemudian residu Asn 166 (D) dengan RMSF juga di pH 1,5 yaitu 1,929 nm, selanjutnya adalah residu Ser 111 (D) dengan RMSF tertinggi di pH 1,5 yaitu 1,789 nm.

Analisis visualisasi *movie* dilakukan dengan menjalankan *macro md_play* pada program YASARA. Hasil akan berupa *rewind* dari simulasi yang telah dijalankan dari 0 ps hingga 4000 ps. Air dan ikatan hydrogen harus dihilangkan agar dapat dilihat secara jelas kondisi kompleks AOC pada simulasi yang telah selesai dijalankan.

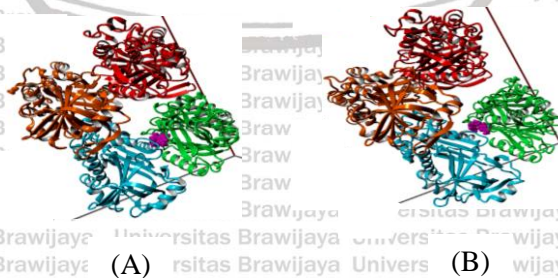
Pemilihan warna sesuai dengan rantai sisi protein mempermudah untuk menganalisa kondisi protein sesungguhnya. Pewarnaan ligan juga dilakukan agar mengetahui kondisi ligan dalam simulasi. Rantai sisi A diwarnai dengan merah, sisi B diwarnai dengan warna jingga, rantai sisi C diwarnai dengan hijau, dan rantai sisi D berwarna *cyan*. Ligand diwarnai dengan ungu. Gambar 13 A menunjukkan kondisi kompleks AOC pH 1 pada tahapan awal simulasi, sedangkan Gambar 13 B merupakan kondisi pada 4000 ps. Perubahan konformasi protein terlihat pada letak rantai sisi A dan konformasi β sheet di rantai sisi tersebut. Perubahan konformasi α helix pada rantai sisi B, C, dan D. Perubahan konformasi secara 3D ini baik protein maupun ligan sesuai dengan hasil RMSD kompleks protein AOC dan ligan.

Perubahan kondisi protein pada rantai sisi A pada akhir simulasi 4000 ps membuktikan data pada grafik RMSD yang mengalami fluktuasi meningkat kompleks protein AOC di kondisi pH 1.



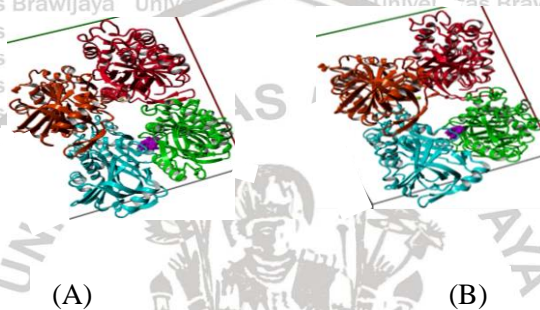
Gambar 13. Visualisasi *movie* kompleks AOC pH 1 pada (A) 0 ps (B) 4000 ps

Kompleks AOC pH 1,5 pada tahapan awal simulasi ditunjukkan oleh gambar 14 A, sedangkan Gambar 14 B merupakan kondisi pada 4000 ps. Perubahan konformasi protein terlihat pada letak rantai sisi A dan B dan konformasi α helix dan β sheet di rantai sisi tersebut. Perubahan konformasi α helix yang terlihat sangat jelas terdapat di rantai sisi D. Perubahan konformasi secara 3D ini baik protein maupun ligan sesuai dengan hasil RMSD kompleks protein AOC dan ligan. Perubahan kondisi protein pada rantai sisi A pada akhir simulasi 4000 ps membuktikan data pada grafik RMSD yang mengalami fluktuasi meningkat kompleks protein AOC di kondisi pH 1,5.



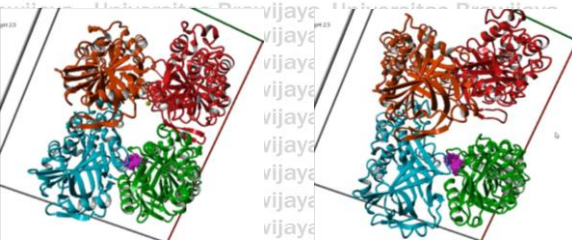
Gambar 14. Visualisasi *movie* kompleks AOC pH 1,5 pada (A) 0 ps (B) 4000 ps

Gambar 15 A menunjukkan kondisi kompleks AOC pH 2 pada tahapan awal simulasi, sedangkan Gambar 15 B merupakan kondisi pada 4000 ps. Perubahan konformasi protein terlihat pada letak rantai sisi D, dengan perubahan konformasi β sheet di rantai sisi tersebut. Perubahan konformasi α helix pada rantai sisi B, C, dan D. Kompleks AOC pada pH 2 tidak terlalu mengalami perubahan konformasi yang signifikan, kondisi ini sesuai dengan hasil RMSD maupun energi potensial serta energi ikat ligan yang menunjukkan motif kestabilan kompleks ligan-protein. Terdapat beberapa kondisi unfolding pada akhir simulasi, akan tetapi tidak berubah jauh dari kondisi inisiasi awal.



Gambar 15. Visualisasi *movie* kompleks AOC pH 2 pada (A) 0 ps (B) 4000 ps

Analisis kondisi kompleks AOC pH 2,5 pada tahapan awal simulasi ditunjukkan pada gambar 16 A, sedangkan Gambar 16 B merupakan kondisi pada 4000 ps. Perubahan konformasi protein terlihat pada letak rantai sisi A saat mencapai 4000 ps, dengan perubahan konformasi β sheet serta α helix di rantai sisi tersebut. Perubahan konformasi β sheet juga terjadi pada rantai sisi B, C, dan D. Kompleks AOC pada pH 2,5 mengalami perubahan konformasi struktur protein yang signifikan, kondisi ini sesuai dengan hasil RMSD maupun energi potensial serta energi ikat ligan yang menunjukkan motif fluktuasi meningkat pada kompleks protein. Terdapat beberapa kondisi unfolding pada akhir simulasi pada semua rantai sisi protein dan berbeda dari saat inisiasi awal.



(A)

(B)

Gambar 16. Visualisasi *movie* kompleks AOC pH 2,5 pada (A) 0 ps (B) 4000 ps



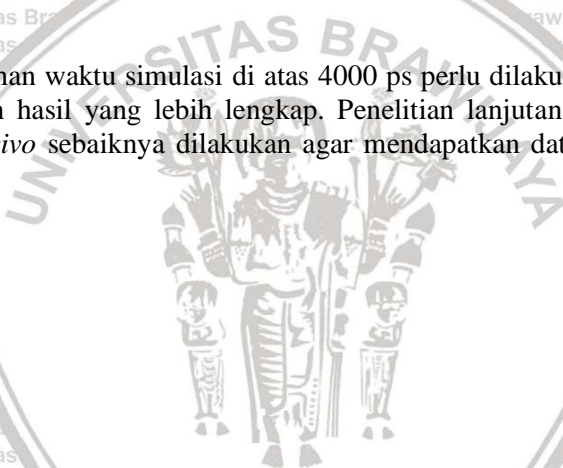
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Simulasi dinamika molekuler dilakukan untuk mengetahui kestabilan kompleks AOC (*aspirin*, *ovalbumin*, *caffeine*) dalam kondisi fisiologis lambung dengan beberapa variasi pH yaitu 1, 1,5, 2, dan 2,5. Hasil keseluruhan dari semua analisis menunjukkan kondisi kestabilan pada kompleks AOC di pH 2, yaitu tidak terdapatnya perubahan struktur konformasi protein secara signifikan dan ligan masih terikat pada reseptor. Setelah dilakukan analisis secara keseluruhan didapatkan kesimpulan bahwa kompleks AOC pada pH 2 lebih stabil dibandingkan dengan variasi pH lainnya.

5.2 Saran

Penambahan waktu simulasi di atas 4000 ps perlu dilakukan agar mendapatkan hasil yang lebih lengkap. Penelitian lanjutan *in vitro* maupun *in vivo* sebaiknya dilakukan agar mendapatkan data secara keseluruhan.



DAFTAR PUSTAKA

- Andrusier, N., Nussinov, R., & Wolfson, H. J. 2007. FireDock : Fest interaction refinement in molecular docking. *Proteins* 69 : 139-159
- Astuti, A. D. & Mutiara, A. B. 2014. *Simulasi dinamika molekuler protein dengan aplikasi gromacs*. Teknologi Industri Universitas Gunadarma.
- Bakuradze, T., Lang, R., Hofmann, T., Stiebitz, H., Bytof, G., Lantz, L., Baum, M., Eisenbrand, G., & Janzowski, C. 2010. Antioxidant effectiveness of coffee extracts and selected constituents in cell-free systems and human colon cell lines. *Mol. Nutr. Food Res* 54: 1734–1743.
- Betts, J.M & Russel, R. B. 2003. **Bioinformatics for geneticist**. John Wiley & Sons. Chicaster.
- Castellano, A. C., Barteri, M., Bianconi, A., Bruni, F., Longa, S. D., & Paolinelli, C. 1996. Conformational-changes involved the switch from ovalbumin to s-ovalbumin. *Naturforsch* 51 c : 379-385.
- Chen, Y., Xiao, C. Q., He, Y. J., Chen, B. L., Wang, G., Zhou, G., Zhang, W., Tan, Z. R., Cao, S., Wang, L. P., & Zhou, H. H. 2011. Genistein alters kafein exposure in healthy female volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 67 : 347–353.
- Coffeefaq. 2001. *Frequently Asked Questions about Kafein*. <http://coffeefaq.com/site/kafein-faq>. Diakses tanggal 10 September 2016.
- Duhovny, D., Nossinov, R., & Wolfson, H. J. 2002. Efficient unbound docking of rigid molecules. *Proceedings of the 2nd Workshop on Algoritihm Bioinformatics* 2452 : 185-200.
- Elert, G. 2000. *Temperature of Healthy Human (Body Temperature)*. www.hypertextbook.com/facts/lenawong.shtml. Diakses tanggal 5 Desember 2016.
- Evans, D. F., Pye, G., Bramley, R., Clark, A. G., Dyson, T. J., & Hardcastle, J. D. 1988. Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambullant human subjects. *Gut* 29 : 1035-1041.
- Farmakologi UI. 2002. **Farmakologi dan terapi**. Edisi ke-4. Gaya Baru. Jakarta.

Fitri, N.S. 2008. *Pengaruh Berat dan Waktu Penyeduhan terhadap Kadar Kafein dari Bubuk Teh*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara. Medan. Skripsi.

Furst, D. E., & Ulrich, R. W. 2012. **Farmakologi dasar dan klinik**. Edisi ke-10. EGC. Jakarta.

Gomez-Ruiz, J. A., Leake, D. S., & Ames, J. M. 2007. In vitro antioxidant activity of coffee compounds and their metabolites. *J. Agric. Food Chem* 55 : 6962–6969

Huntington, J.A., & Stein, P.E. 2001. Structure and properties of ovalbumin. *J. Chromatography B.Biomed Sci Appl* 756 : 98

Huang, Z. 2007. **Drug discovery research: New frontiers in the post-genomic era**. John Wiley & Sons. California.

Jayanti, G.E., Sumitro, S.B., Sabarudin, A., Widyarti, S. 2015. In silico studies of Aspirin-Ovalbumin-Caffeine complex. *Program Book of 6th International Conference on Global Resource Conservation*. Abstract BM-O-11 : 12

Kang, D., Ryu, S. R., Park, Y., Czamik-Matusewicz, B., & Jung, Y. M. 2014. pH induced structural changes of ovalbumin studied by 2D correlation IR spectroscopy. *Journal of Molecular Structure* 1069 : 299-304.

Karp, G. 2009. **Cell and molecular biology : Concepts and experiments**. Edisi ke-6. Wiley. USA.

Koseki, T., Kitabatake, N., & Doi, E. 1988. Conformational changes in ovalbumin at acid pH. *J.Biochem* 103: 425-430.

Mobley, D. L. & Dill, K. A. 2010. Binding of small-molecule ligands to proteins : “What you see” is not always “what you get”. *Structure* 4 : 489-498.

Mukesh, B. & Rakesh, K. 2011. Molecular docking: A review. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy* 6 : 1746-1751.

Murray, R. K., Granner, D. K., & Rodwell, V. W. 2006. **Harper’s illustrated biochemistry**. Edisi ke-27. Mc Graw Hills Company. Asia.

NagaSudaram, N. & Doss, C.G.P. 2011. Exploration of structural stability in deleterious nsSNPs of the XPA gene : A molecular dynamics approach. *Journal of Carcinogenesis* 10 : 26.

- Niu, F., Su, Y., Liu, Y., Wang, G., Zhang, Y., & Yang, Y. 2014. Ovalbumin-gum arabic interactions : Effect of pH, temperature, salt, biopolymers ratio and total concentration. *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces* 113 : 477-482.
- Oliveira, F.M., Santos, E. M., Mota-Santos, T. A., Ruiz-De-Souza, V., & Gontijo, C. M. 2002. Covalent coupling of palmitate to ovalbumin inhibits and blocks the induction of oral tolerance. *Scand. J. Immunol* 55 : 570- 576.
- Rizzo. 2013. *MD Simulation : Protein in water Pt. 2*. [http://ringo.ams.sunysb.edu/index.php/MD_Simulation:_Protein_in_Water_\(Pt._2\)#RMSD](http://ringo.ams.sunysb.edu/index.php/MD_Simulation:_Protein_in_Water_(Pt._2)#RMSD). Diakses tanggal 10 Desember 2016.
- Saraswati & Jayanti, G.E. 2014. Daya antibakteri dan uji toksisitas kopi balur. *Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas*. Volume ke-3 : 285-289.
- Schneidman-Duhovny, D., Inbar, Y., Nussinov, R., & Wolfson, H. J. 2005. PatchDock and symmDock : Servers for rigid and symmetric docking. *Nucleic Acid Research* 33 : 363-367.
- Seideman, W. E., Cotterill, O. J., & Funk, E. M. 1962. Factors affecting heat coagulation of egg white. *Poultry Science* 42 : 406-417.
- Serina, J.J.C. 2013. **Enzymatic inhibitory activity of hydroxycinnamates (hcs) in silico studies**. Universidade de Madeiral Portugal. Dissertation.
- Setiajidi, M. A. 2012. **Analisis dinamika molekuler hasil penambatan molekul kompleks siklooksigenase-2 dengan beberapa senyawa 3-Fenil-2-Stiril-4(3H)-Kuinaolinon tersubstitusi sulfonamida atau sulfaasetamida**. Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Skripsi.
- UNIL. 2016. Aspirin pharmacokinetics. <http://sepia.unil.ch/pharmacology/index.php?id=83>. Diakses tanggal 10 September 2016.
- Wang, S. Y. & Jiao, H. 2000. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. *J. Agric. Food Chem* 48 : 5677-5684.
- Widyarti, S., Sumitro, S.B., & Permana, S. 2015. Studi interaksi Ovalbumin-Ligan dan Albumin-Ligan menggunakan spektrum UV. Laporan Penelitian DPP/SPP 2015. FMIPA Universitas Brawijaya. Malang.

Yokooji, T., Nouma, H., & Matsuo, H. 2014. Characterization of ovalbumin absorption pathways in the rat intestine, including the effects of aspirin. *Biol. Pharm. Bull* 8 : 1359–1365.



LAMPIRAN

Lampiran 1. *Macro md_analyze*

```

# YASARA MACRO
# TOPI: 3. Molecular Dynamics
# TITLE: Analyzing a molecular dynamics trajectory
# REQUIRES: Dynamics
# AUTHOR: Elmar Krieger
# LICENSE: GPL
# DESCRIPTION: This macro analyzes a simulation and creates a table with energies and RMSDs from the starting structure, as well as the minimum energy structure and the time average structure with B-factors calculated from the root mean square fluctuations. If you want to do your own custom analysis, search for 'Example:'.

# The structure to analyze must be present with a .sce extension.
# You can either set the target structure by clicking on Options > Macro > Set target,
# or by uncommenting the line below and specifying it directly.
#MacroTarget = 'c:\MyProject\1.crn'

# Forcefield to use (these are all YASARA commands, so no 'd' used)
# Use YASARA2 in YASARA Structure to include a quality Z-score
ForceField AMBER03,SetPara=Yes

# Number of the main object whose RMSDs from the starting conformation will be calculated
# If the protein is an oligomer, check the documentation of the 'Supl' command at 'analyzing a simulation' to avoid pitfalls.
curobj=1

# The B-factors calculated from the root-mean-square fluctuations can be too large to fit them
# into the PDB file's B-factor column. Replace e.g. 1.0 with 0.1 to scale them down to 10%
bfactorscale=1.0

# Flag to save a PDB file of the solute snapshots for further analysis
pdbsaved=0

# Selection of atoms to include for 'Calpha' RMSD calculation (includes C1* of nucleic acids to consider DNA/RNA)
casel='CA Protein or C1* NucAcid'

# Selection of atoms for which the dynamic cross-correlation matrix (DCCM) should be visualized.
# Here are some typical examples:
# dccmsel="" - Don't calculate the DCCM, the default
# dccmsel='Atom CA Protein' - Calculate the DCCM for protein Calpha atoms
# dccmsel='Res Protein' - Calculate the DCCM for protein residue centers
dccmsel=""

# Selection of atoms for which the radial distribution function (RDF) should be visualized
# Here are some examples:
# rdfsels="" - Don't calculate the DCCM, the default
# rdfsels='O Res HOH,O Res HOH,Bins=40,BinWidth=0.25'
# - Calculate the RDF of water in 40 bins, each 0.25 A wide (thus up to 10 A).
# rdfsels='CG Res Asp 120,ND1 Res His 200,Bins=20,BinWidth=0.5'
# - Calculate the RDF between two specific atoms in 20 bins, each 0.25 A wide
# (thus again up to 10 A). Note that you may have to save more snapshots than
# usually in md_run.mcr to avoid problems with sparse data and noisy RDF results.
rdfsels=""

# First snapshot to be analyzed, increase number to ignore an equilibration period.
# (By default, md_run.mcr saves snapshots every 25ps, choosing 40 thus starts the analysis after 1 nanosecond)
firstsnapshot=0

# All snapshots will be superposed on this reference snapshot to calculate RMSDs etc.

```



```
# The starting structure is snapshot 0. Having run the macro once, you can also change
# refsnapshott=X to refsnapshott='average' to superpose on the time average structure.
refsnapshott='0'

# No change required below this point
# =====

# Do we have a target?
if MacroTarget=""
  RaiseError "This macro requires a target. Either edit the macro file or click Options > Macro > Set target to choose a target structure"

Clear
Console Off
SurfPar Molecular=Numeric

# Load scene with water or other solvent
waterscene = FileSize (MacroTarget)_water.sce
solventscene = FileSize (MacroTarget)_solvent.sce
if waterscene
  LoadSce (MacroTarget)_water
elseif solventscene
  LoadSce (MacroTarget)_solvent
else
  RaiseError 'Could not find initial scene file (MacroTarget)_water.sce. You must run a simulation with the macro md_run_first'

calphas = CountAtom (case1)
if calphas>0 and calphas<3
  # We cannot superpose 1 or 2 Calpha atoms
  case1='None'

ShowMessage "Preparing analysis, please wait..."
Wait 1

# See if structure validation checks should be done (require YASARA2 force field)
checked=0
fof = ForceField
if fof=="YASARA2"
  checked=1

# Backwards compatibility: Starting with YASARA version 12.8.1, XTC trajectories no longer contain a number in the filename
old = FileSize (MacroTarget)00000.xtc
if old
  RenameFile (MacroTarget)00000.xtc,(MacroTarget).xtc
# Determine trajectory format
xtc = FileSize (MacroTarget).xtc
if xtc
  format='xtc'
else
  format='sim'

if refsnapshott=="average"
  # We superpose on the time average structure
  filename=(MacroTarget)_average.pdb'
exists = FileSize (filename)
if !exists
```



```

RaiseError "No time-average structure has been calculated yet, cannot superpose onto it. Run the macro once with refsnapshot=0 (or any other number), then run again with refsnapshot=average"
startobj = LoadPDB (filename)
SupObj (startobj),(currobj)
else
if refsnapshot
# We superpose on a certain snapshot
if format='sim'
LoadSim (MacroTarget),(00000+refsnapshot)
else
LoadXTC (MacroTarget),(refsnapshot+1)
# Duplicate the initial object for RMSD calculation
startobj = DuplicateObj (currobj)
RemoveObj (startobj)

i=00000+firstsnapshot
emin=1e99
last=0
while !last
# Load next snapshot from SIM or XTC trajectory
if format='sim'
sim = FileSize (MacroTarget{i}).sim
if not sim
break
LoadSim (MacroTarget){i})
else
# Set last (end of file) to 1 if last snapshot loaded
last = LoadXTC (MacroTarget).xtc,{i+1)
Sim Pause
# Add time in picoseconds to table
simtime = Time
ShowMessage "Analyzing snapshot (0+i) at (0+(simtime/1000)) ps"
Wait 1
Tabulate (simtime/1000)
# Get energy components, tabulate some and individual components 1-6 (excluding packing energies)
elist() = EnergyAll All
Tabulate (sum elist)
for j=1 to 6
Tabulate (elist{j})
# Prepare to save the minimum energy structure (ignoring solvent-solvent interactions)
e = EnergyObj (currobj)
#
# The following examples provide a few hints for other things to analyze while
# the simulation is active (i.e. considering periodic boundaries).
# Just remove the comment '#' before 'Tabulate'. Each value you tabulate becomes
# a new column in the result table, between energies and RMSDs.
#
# Example: Measure the distance between the carboxyl group of Glu 123 (Cdelta)
# and the guanidinium group of Arg 345 (Czeta).
# Tabulate Distance CD Res Glu 123, CZ Res Arg 345
#
# Example: Calculate the molecule surface area of the solute object 'currobj'
# Tabulate SurfObj (currobj),Molecular
#
# Example: Check if the carboxyl group of Glu 123 and the guanidinium group of Arg
# 345 are currently hydrogen-bonded (1) or not (0). The last row in the

```



```

if rdfsel!="
# Additionally calculate and show the radial distribution function (RDF).
MakeTab RDF, Dimensions=1
Tabulate RDF
SaveTab RDF, {MacroTarget}_rdf, Format=Text, Columns=1, NumFormat=6.3f,
  'Radial distribution function with parameters {rdfsel}'
obj = ShowTab RDF, Width=1.0, Range=10, MinCol=Blue, MaxCol=Yellow
PosObj {obj}, X=0, Y=-12, Z=31
RotateObj {obj}, X=90
SaveSce {MacroTarget}_rdf
DelObj {obj}

if dccmsel!="
# Additionally calculate and show the dynamic cross-correlation matrix (DCCM).
# This matrix correlates the displacements from the time average structure,
# see the documentation of the 'DCCM' command for details.
# First get the number of selected units, i.e. the rows/columns in the matrix
units = Count{dccmsel}
if !units
  RaiseError 'The DCCM selection {dccmsel} did not match any atoms'
# Take the time average structure as the start object to superpose onto
DelObj {startobj}
startobj = DuplicateObj {currobj}
RemoveObj {startobj}
# Loop over the snapshots a second time to calculate the displacements from the time average
i=00000+firstsnapshot
while 1
# See if next snapshot is present
sim = FileSize {MacroTarget}{i}.sim
if not sim
  break
# Yes, load it
LoadSim {MacroTarget}{i}
Sim Pause
ShowMessage 'Calculating dynamic cross-correlation matrix, analyzing snapshot {0*}...'
Wait 1
Sim Off
# Superpose snapshot on the time average structure
AddObj {startobj}
SupAtom {case} and Obj {currobj}, {case} and Obj {startobj}
# Add the current displacements to an internal table to obtain the DCCM
AddDisp{dccmsel} Obj {currobj}, {dccmsel} Obj {startobj}
RemoveObj {startobj}
# Next snapshot
i=i+1
# Store the DCCM in a table
MakeTab DCCM, Dimensions=2, Columns={units}
Tabulate DCCM
# Visualize the DCCM
pointwidth=1.
height=5.
dccmobj1 = ShowTab DCCM, Width={pointwidth}, Range={height}, Min=-1, Max=1.0
# By default, ShowTab shows the minimum at Z=0, move so that correlation 0 is at Z=0
MoveObj {dccmobj1}, Z={height*0.5}

```

```

# Visualize the zero level with a flat DCCM wireframe
dccmobj2 = ShowTab DCCM, Width={pointwidth}, Range=0, Min=-1, Max=1.0
dccmobj3 = ShowWireObj {dccmobj2}, Static, Mesh=Solid
DelObj {dccmobj2}
PointPar Radius=0.5, Plastic=No
NameObj {dccmobj3}, ZeroLevel
RotateObj {dccmobj1} {dccmobj3}, X=180
# Create a text object with the residue names and the table header
textwidth=pointwidth*units^2
textobj1 = MakeTextObj Units, Width={textwidth}, Height={textwidth}
Font Arial, Height={pointwidth*0.6}, Color=yellow, Depth=0.5, DepthCol=Red
idlist() = List{dccmsel} Obj {currobj}, Format=MOLNAME RESName RESNUM'
for i=1 to units
  PosText X={textwidth*0.5+pointwidth*0.5*units+i},
    Y={textwidth*0.5+pointwidth*(0.5*units-i)}, justify=left
  Print {idlist(i)}
# Duplicate the labels at the bottom
textobj2 = DuplicateObj {textobj1}
RotateObj {textobj2}, Z=90
DelObj not {dccmobj1} {dccmobj3} {join textobj}
RenumObj all
# Save the matrix
SaveTab DCCM, {MacroTarget}_dccm, Format=Text, Columns={units}, NumFormat=6.3f,
  'Dynamic Cross-Correlation Matrix for {units} selected units'
# Save the visualized matrix
SaveSce {MacroTarget}_dccm
HideMessage

# Exit YASARA if this macro was provided as command line argument in console mode
if runWithMacro and ConsoleMode
  Exit

```


Lampiran 2. Macro *md_analyzebindenergy*

```

# YASARA MACRO
# TOPIC: 3. Molecular Dynamics
# TITLE: Analyzing the ligand binding energy during a molecular dynamics simulation
# REQUIRES: Dynamics
# AUTHOR: Elmar Krieger
# LICENSE: GPL
# DESCRIPTION: This macro calculates the binding energy of a ligand during a molecular dynamics simulation, including the time average. By default, the receptor must be object 1, the ligand must be object 2
(or change the settings). More positive energies indicate better binding, negative energies DO NOT indicate no binding, see the 'BindEnergy' command in the user manual for details, also for words of caution, a
much more sophisticated and reliable approach is in preparation.

# The structure to analyze must be present with a .sce extension.
# You can either set the target structure by clicking on Options > Macro > Set target,
# by providing it as command line argument (see docs at Essentials > The command line),
# or by uncommenting the line below and specifying it directly.
# MacroTarget = !/home/myprojects/1h8a/1h8a

# Forcefield to use (these are all YASARA commands, so no 'd' used)
# Use YASARA2 in YASARA Structure to include a quality Z-score
ForceField AMBER03,SetPara=yes

# Set the object numbers of receptor and ligand for binding energy calculation.
# All other objects (water etc.) will be ignored. If the ligand is not in a separate
# object, set ligobj also to 1 and specify the ligand residue with 'ligres' below:
recobj=1
ligobj=1
# If the ligand is part of the receptor object, specify its residue ID, e.g. ligres=ATP 301'
ligres=""

# First snapshot to be analyzed, increase number to ignore an equilibration period.
# (By default, md_run.mcr saves snapshots every 25ps, choosing 40 thus starts the analysis after 1 nanosecond)
firstsnapshot=0

# Choose method, either boundary elements ('BoundaryFast') or Poisson-Boltzmann ('PBS').
# In the latter case you get almost 'MM/PBSA', just without the entropy term from normal mode analysis.
# When comparing with other MM/PBSA calculations, make sure to use the same 'surfcost' below.
method=BoundaryFast

# This is a guesstimate of the entropic cost of exposing one A^2 to the solvent in kJ/mol
# (The water molecules in the first solvateshell have to reorganize and lose
# conformational freedom, which decreases their entropy and thus costs energy.
# The value below does not include VdW interaction energies and is thus larger
# than e.g. the 0.03 kJ/(mol*A^2) sometimes mentioned in textbooks).
# We divide by 6.02214199e20 to obtain J and multiply with JtoUnit
# to get the currently selected energy unit
surfcost=(0.65e0/6.02214199e20)*JtoUnit

# No change required below this point
# =====

# Do we have a target?
if MacroTarget=""
  RaiseError "This macro requires a target. Either edit the macro file or click Options > Macro > Set target to choose a target structure"

Clear
Console Off

```



```

while !last
# Load next snapshot from SIM, XTC or MDCRD trajectory
if format=='sim'
  sim = FileSize (MacroTarget){i}.sim
  if not sim
    break
  LoadSim (MacroTarget){i}
else
  # Set last (end of file) to 1 if last snapshot loaded
  last = Load(format) (MacroTarget),(i+1)
Sim Pause
# Add time in picoseconds to table
simtime = Time
ShowMessage 'Analyzing snapshot (0+i) at (0+(simtime/1000)) ps'
Wait 1
Tabulate (simtime/1000)
for type in 'cmp','rec','lig'
# Keep only the relevant objects
if type=='cmp'
  RemoveObj not (recobj) (ligobj)
else
  RemoveObj not ((type)obj)
# Energies are calculated with net-charge 0 to avoid overestimation of net-charge
# effects when comparing binding energies of molecules with different charges.
ChargeObj all,0
# Start a simulation so that receptor and ligand are transferred into the coordinate
# system of the simulation cell and the surface area is not simply the sum of both.
Sim on
epot(type) = Energy
esolcoulomb,esolvdw = SolvEnergy (method)
molsurf = Surf molecular
esol(type)=esolcoulomb+esolvdw+molsurf*surfcost
print 'epot(type)={epot(type)}, (esolcoulomb),(esolvdw),surfcost={molsurf*surfcost}, esol(type)={esol(type)}, total={epot(type)+esol(type)}'
AddObj all
# Calculate result: energy of separated compounds- energy of complex
Tabulate (epotrec+esolrec+epotlig+esollig-epotcmp-esolcmp)
# Next snapshot
i=i+1

if i==firstsnapshot
  RaiseError "This macro is meant to analyze a molecular dynamics trajectory created with md_run, but none was found in this directory"

# Tabulate average binding energy
Tabulate 'Average'
vallist() = Tab Final,Column=2
Tabulate (mean vallist)
# Create a table header
header='___Time[ps] Energy[(EnergyUnit)]'
SaveTab Final,(MacroTarget)_bindenergy,Format=Text,Columns=2,NumFormat=12.3f,(header)

HideMessage

# Exit YASARA if this macro was provided as command line argument in console mode
if runWithMacro and ConsoleMode
  Exit

```

Lampiran 3. Macro md_run

```

# YASARA MACRO
# TOPIC: 3. Molecular Dynamics
# TITLE: Running an accurate molecular dynamics simulation in water
# REQUIRES: Dynamics
# AUTHOR: Elmar Krieger
# LICENSE: GPL
# DESCRIPTION: This macro sets up and runs a simulation. It can also continue a simulation that got interrupted.

# Parameter section - adjust as needed, but NOTE that some changes only take
# effect if you start an entirely new simulation, not if you continue an existing one.
# =====

# The structure to simulate must be present with a .pdb or .sce extension.
# If a .sce (=YASARA scene) file is present, the cell must have been added.
# You can either set the target structure by clicking on Options> Macro > Set target,
# or by uncommenting the line below and specifying it directly.
#MacroTarget='c:\MyProject\1crn'

# pH at which the simulation should be run, by default physiological pH
ph=1

# The ion concentration as a mass fraction, here we use 0.9% NaCl (physiological solution)
ions='Na,Cl,0.9'

# Simulation temperature
# If you run at a temperature that differs from 298K, you also need
# to adapt the pressure control below, look in the PressureCtrl documentation.
temperature='310K'

# Pressure control mode
# Default: Rescale the cell such that residues named HOH reach a density of 0.997 g/l.
# For solvents other than water, you have to create your own solvent box
# as described in the FillCellObj documentation and save it as .._solvent.sce.
density=0.997
pressurectrl='SolventProbe,Name=HOH,Density=(density)'

# Alternative: Uncomment below to calculate the pressure from the virial and
# rescale the cell to reach a pressure of 1 bar. Use this method if you do not
# know the correct density.
#pressurectrl='Manometer,Pressure=1'

```

```
# Alternative: Do not control pressure
#pressurectrl='Off'

# Constrain bond lengths to hydrogens and water bond angles to allow a larger timestep
# If set to 'yes', the MD will run faster, but will be a bit less accurate
constrain='no'

# The format used to save the trajectories: 'sim' or 'xtc'. If you choose the latter, a single
# *.sim restart file will be saved too, since XTC does not contain velocities, only positions
format='sim'

# Duration of the simulation, alternatively use e.g. duration=5000 to simulate for 5000 picoseconds
duration='forever'

# Extension of the cell on each side of the protein
# '10' means that the cell will be 20 Å larger than the protein.
# Cell settings only apply if you do not provide your own cell in a *.sfc file.
extension=10

# Flag to use a cubic simulation cell. This makes sure that also elongated
# molecules can rotate freely during very long simulations. If only a short
# simulation is planned, it can be speeded up by setting the flag to 0,
# creating a rectangular cell that fits the solute more tightly.
cubic=1

# Forcefield to use (these are all YASARA commands, so no '=' used)
ForceField AMBER03

# Cutoff
Cutoff 7.86

# Cell boundary
Boundary periodic

# Use longrange coulomb forces (particle-mesh Ewald)
Longrange Coulomb

# Number of simulation steps per screen update/text status output
SimSteps 1

# Normally no change required below this point
# =====

RequireVersion 9.9.25

# Keep the solute from diffusing around and crossing periodic boundaries
CorrectDrift On

# Treat all simulation warnings as errors that stop the macro
WarnIsError On

# Do we have a target?
if MacroTarget=="
```




```

awijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
awijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
awijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya Universitas Brawijaya
awijaya U)
awijaya U) RaiseError "This macro requires a target. Either edit the macro file or click Options > Macro > Set target to choose a target structure"
awijaya U)
awijaya U) Clear
awijaya U) # Do we already have a scene with water or other solvent?
awijaya U) waterscene = FileSize (MacroTarget)_water.sce
awijaya U) solventsce = FileSize (MacroTarget)_solvent.sce
awijaya U) if waterscene
awijaya U) LoadSce (MacroTarget)_water
awijaya U) elif solventsce
awijaya U) LoadSce (MacroTarget)_solvent
awijaya U) else
awijaya U) # No scene with solvent present yet
awijaya U) # Do we have a scene at all?
awijaya U) scene = FileSize (MacroTarget).sce
awijaya U) if scene
awijaya U) LoadSce (MacroTarget)
awijaya U) # Verify that the cell is present
awijaya U) simcell = CountObj SimCell
awijaya U) if !simcell
awijaya U) RaiseError 'If you provide a scene, it must contain a simulation cell, but none was found in (MacroTarget).sce'
awijaya U) else
awijaya U) # No scene present, assume it's a PDB or YOB file
awijaya U) for type in 'pdb','yob','Error'
awijaya U) size = FileSize (MacroTarget).(type)
awijaya U) if size
awijaya U) obj = Load(type) (MacroTarget)
awijaya U) # Align object with major axes to minimize cell size
awijaya U) NiceOriObj (obj)
awijaya U) break
awijaya U) if type=='Error'
awijaya U) RaiseError "Initial structure not found. Make sure to create a project directory and place the structure there"
awijaya U) # Prepare the structure for simulation
awijaya U) CleanAll
awijaya U) if Structure
awijaya U) # Optimize the hydrogen-bonding network (more stable trajectories)
awijaya U) OptHydAll
awijaya U) # Create the simulation cell
awijaya U) Boundary periodic
awijaya U) Cell Auto,Extension=(extension)
awijaya U) if cubic
awijaya U) # And make it cubic, taking the length of the X-axis, which is always the longest
awijaya U) l = Cell
awijaya U) Cell (l),(l),(l)
awijaya U) SaveSce (MacroTarget)
awijaya U) bnd = Boundary
awijaya U) if bnd=='Wall'
awijaya U) # The user supplied a cell with wall boundaries, we cannot use Experiment Neutralization
awijaya U) ShowMessage "The simulation cell you created has wall boundaries, which reduces the simulation accuracy due to boundary effects..."
awijaya U) Wait ContinueButton
awijaya U) ShowMessage "You can click 'Simulation > Cell boundaries > Periodic' now to correct the problem, or 'Continue' immediately..."
awijaya U) Wait ContinueButton
awijaya U) bnd = Boundary
awijaya U) if bnd=='Wall'
awijaya U) # User really wants wall boundaries
awijaya U) FillCellWater

```



```
else
  Experiment Neutralization
  WaterDensity (density)
  pH (ph)
  Ions (ions)
  pKaFile (MacroTarget).pka
  Speed Fast
  Experiment On
  Wait ExpEnd
# Save scene with water
SaveSce (MacroTarget)_water

# Choose timestep and activate constraints
if constrain='yes'
  # Constrain bond lengths to hydrogens
  FixBond all,Element H
  # Constrain bond angles in water
  FixAngle Water,Water,Water
  # Multiple timestep: 1.3333 femtoseconds for intramolecular and 3*1.3333 = 4 fs for intermolecular forces
  TimeStep 3,1.3333
  ts=4
  # Save simulation snapshots every 6250 simulation steps
  # (with a timestep of 4 femtoseconds, that's 6250*4 fs = 25 picoseconds).
  savesteps=6250
else
  # Remove any constraints
  FreeBond all,all
  FreeAngle all,all,all
  # Smaller timestep, since we don't use constraints: 2*1.25 = 2.5 fs
  TimeStep 2,1.25
  ts=2.5
  # Save simulation snapshots every 10000 simulation steps
  # (with a timestep of 2.5 femtoseconds, that's 10000*2.5 fs = 25 picoseconds).
  savesteps=10000
  # Temperature
  Temp (temperature)
  # Make sure all atoms are free to move
  FreeAll

# Uncomment to completely fix some atoms
# FixAtom Backbone Obj 1

# Alread a snapshot/trajectory present?
i=00000
if format='sim'
  trajectfilename=(MacroTarget){i}.sim'
else
  trajectfilename=(MacroTarget).xtc'
  restartfilename=(MacroTarget).sim'
# Backwards compatibility: Starting with YASARA version 12.8.1, XTC trajectories no longer contain a number in the filename
old = FileSize (MacroTarget){i}.xtc
if old
  RenameFile (MacroTarget){i}.xtc,(trajectfilename)
running = FileSize (trajectfilename)
```



```

if not running
# Perform energy minimization
Experiment Minimization
Experiment On
Wait ExpEnd
# And now start the real simulation
Sim On
else
# Simulation has been running before
ShowMessage "Simulation has been running before, loading last snapshot..."
# Switch console off to load the snapshots quickly
Console Off
if format=='sim'
# Find and load the last SIM snapshot
do
  i=i+1
  found = FileSize (MacroTarget{i}).sim
  while found
  i=i-1
  LoadSim (MacroTarget{i})
# Adjust savesteps to save snapshots in the same interval as previously
if >0
  t = Time
  savesteps=0+t/(ts*)
else
# Do we have a restart file with atom velocities?
found = FileSize (restartfilename)
if found
# Yes, load it to enable a smooth restart
LoadSim (restartfilename)
else
# No restart file found, load the last snapshot in the XTC trajectory
do
  i = i+1
  last,time = LoadXTC (trajectfilename),i)
  ShowMessage "Searching XTC trajectory for last snapshot, showing snapshot {i} at {0+time} fs"
  Sim Pause
  Wait 1
  while !last
  Sim Continue
HideMessage

# Set temperature and pressure control
TempCtrl Rescale
PressureCtrl (pressurectrl)

# Uncomment to add distance constraints
# AddSpring O Res Lys 80,H Res Glu 84,Len=1.9

# And finally, make sure that future snapshots are saved
Save(format) (trajectfilename),(savesteps)
if format=='xtc'
# We save an XTC trajectory plus a single SIM restart file
SaveSim (restartfilename),(savesteps),Number=no
  
```

```

if duration=='forever'
Console On
Wait forever
else
Console Off
# Wait for given number of picoseconds
do
  Wait 10
  t = Time
  while t<duration*1000+1
Sim Off
# Exit YASARA if this macro was provided as command line argument in console mode
if runWithMacro and ConsoleMode
Exit
***
  
```


Lampiran 4. Macro md_play

```
# YASARA MACRO
# TOPIC: 3. Molecular Dynamics
# TITLE: Playback a molecular dynamics trajectory
# REQUIRES: Dynamics
# AUTHOR: Elmar Krieger
# LICENSE: GPL
# DESCRIPTION: This macro provides an interactive molecular dynamics trajectory player

# You can either set the target structure by clicking on Options>Macro>Set target,
# or by uncommenting the line below and specifying it directly.
#MacroTarget='c:\MyProject\1cm'

# Set playback waittime (1 is maximum playback speed)
waittime=12

# Forcefield to use (these is a YASARA commands, so no '=' used)
# Note that the force field has no influence on the trajectory playback.
ForceField AMBER03

# In case the simulation was run without 'CorrectDrift on' and the solute diffused
# through a periodic boundary, you can keep it centered here by specifying the number
# of an atom close to the core of the solute, which will be kept at the cell center.
central=0

# No changes required below this point!

# Speed up playback using short dummy cutoff and no longrange forces
Cutoff 2.62
Longrange None
# Do we have a target?
if MacroTarget=""
  RaiseError "This macro requires a target. Either edit the macro file or click Options>Macro>Set target to choose a target structure"
# Do we have a scene with water?
scene = FileSize (MacroTarget)_water.sce
if not scene
  RaiseError "Could not find initial scene file (MacroTarget)_water.sce. You must run a simulation with the macro md_run first"
# Load the scene
Clear
LoadSce (MacroTarget)_water
# Pick a nice style
```



```

Style Backbone=Ribbon,Sidechain=Stick
Console off
# Create the MD trajectory player user interface
# Print headline to the HUD
PrintHUD
Font Arial,Height=20,Color=White,Spacing=1.5
PosText X=160,Y=8,Justify=Center
Print 'MD Trajectory Player'
FillRect X=25,Y=30,Width=270,Height=1,Color=White
Font Height=15,Spacing=1.5
PosText X=25,Y=50,Justify=Left
Print 'Snapshot:\nTime:'
# Create the clickable timer on the right
Font MonoSpaced,Spacing=1
gpos=240,120
FillRect (gpos1),(gpos2+5),Width=32,Height=241,Color=White
for i=0 to 10
  PosText (gpos1/8+6),(gpos2/12+i*2+1),Justify=Left
  Print '{i*10}%'
  FillRect (gpos1+32),(gpos2+i*24+5),Width=8,Height=1,Color=White
  # Top and bottom button have half the height
  if !i
    y=gpos2+6
    h=12
  else
    y=gpos2+i*24-7
    h=24-12*(i=10)
  ShowButton X=(gpos1+16),Y=(y),Width=30,Height=(h),Border=0,
    Color=(i*320/11),Action='Go ClickTimer,GoPar={i}'
  PosText (gpos1/8+3),(gpos2/12+22),Justify=Center
  Print 'Click'
  PosText (gpos1/8+3),(gpos2/12+23),Justify=Center
  Print 'above'
# Create the buttons
Font Arial,Height=14,Color=White,Spacing=1.5
ShowButton 'Play',X=70,Y=120
ShowButton 'Pause',X=160,Y=120
ShowButton 'Step backward',X=120,Y=170
ShowButton 'Step forward',X=120,Y=220
ShowButton 'Fast backward',X=120,Y=270
ShowButton 'Fast forward',X=120,Y=320
ShowButton 'Rewind to start',X=120,Y=370
Wait 1

# Backwards compatibility: Starting with YASARA version 12.8.1, XTC trajectories no longer contain a number in the filename
old = FileSize (MacroTarget)00000.xtc
if old
  RenameFile (MacroTarget)00000.xtc,(MacroTarget).xtc
# Determine trajectory format and last snapshot number
firstsnapshot=00000
xtc = FileSize (MacroTarget).xtc
if xtc
  format='xtc'
  # It would take too long to scan the XTC file for the last snapshot

```


Lampiran 5. Data energi potensial kompleks AOC pada variasi pH asam

Time[ps]	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5	Time[ps]	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5
0	-2331058	-2944474	-2331562	-2944476	826	-1704323	-1707277	-1708938	-1707278
25	-1744341	-1744956	-1745515	-1744957	850	-1706161	-1705756	-1705596	-1705758
50	-1737017	-1739043	-1738796	-1739044	875	-1705880	-1707549	-1707043	-1707550
75	-1729591	-1729600	-1734684	-1729602	900	-1704850	-1708335	-1706722	-1708336
100	-1725623	-1726410	-1729094	-1726411	925	-1704814	-1705449	-1705671	-1705451
125	-1722931	-1722758	-1725388	-1722760	950	-1706621	-1707039	-1705526	-1707041
150	-1721872	-1718651	-1721524	-1718652	975	-1704555	-1705972	-1706880	-1705974
175	-1718710	-1718483	-1719464	-1718484	1000	-1705124	-1707182	-1706054	-1707184
200	-1716661	-1715083	-1716780	-1715084	1025	-1706370	-1707530	-1706036	-1707532
225	-1713982	-1716757	-1716452	-1716758	1050	-1704571	-1706758	-1706626	-1706760
250	-1712077	-1714994	-1713122	-1714996	1075	-1706299	-1705516	-1706471	-1705518
275	-1712338	-1712677	-1712524	-1712679	1100	-1706826	-1704888	-1705432	-1704890
300	-1709648	-1712084	-1710911	-1712086	1125	-1706999	-1706919	-1705700	-1706920
325	-1709938	-1708870	-1709130	-1708871	1150	-1705017	-1705083	-1704919	-1705084
350	-1708112	-1710775	-1709789	-1710776	1175	-1704910	-1705784	-1706136	-1705786
375	-1709094	-1709502	-1711030	-1709504	1200	-1707131	-1707554	-1703965	-1707556
400	-1710838	-1707279	-1709055	-1707280	1225	-1708300	-1707479	-1705694	-1707480
425	-1708775	-1707131	-1709535	-1707133	1250	-1707141	-1705871	-1707388	-1705873
450	-1707544	-1706946	-1706418	-1706948	1275	-1704523	-1705827	-1707298	-1705829
475	-1705992	-1707999	-1705434	-1708000	1300	-1705697	-1704506	-1706310	-1704508
500	-1706743	-1706193	-1707915	-1706194	1325	-1706278	-1704764	-1705902	-1704765
525	-1706665	-1705986	-1707376	-1705988	1350	-1707423	-1707254	-1704725	-1707256
550	-1706958	-1706306	-1709103	-1706307	1375	-1706039	-1707394	-1705670	-1707396
575	-1706881	-1705263	-1706216	-1705265	1400	-1706583	-1708387	-1705005	-1708385
600	-1707711	-1706514	-1709022	-1706516	1425	-1707265	-1706877	-1704458	-1706879
625	-1706801	-1706733	-1707647	-1706734	1450	-1706655	-1708532	-1705722	-1708534
650	-1704858	-1705801	-1708316	-1705803	1475	-1707546	-1706540	-1708123	-1706542
675	-1704842	-1708800	-1707010	-1708902	1500	-1707280	-1707075	-1707433	-1707077
700	-1706891	-1705526	-1705876	-1705327	1525	-1705680	-1706059	-1706987	-1706061
725	-1704718	-1704145	-1706573	-1704146	1550	-1706639	-1705112	-1706729	-1705114
750	-1705155	-1706079	-1706517	-1706081	1575	-1705183	-1706793	-1706866	-1706795
775	-1706154	-1707365	-1707111	-1707367	1600	-1706838	-1706953	-1707378	-1706954
800	-1705705	-1707562	-1706102	-1707564	1625	-1705625	-1708677	-1706148	-1708679

Time[ps]	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5	Time[ps]	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5
1650	-17.05929	-17.06173	-17.07877	-17.06174	2475	-1.760349	-1.708017	-1.707787	-1.708019
1675	-17.06646	-17.06455	-17.09077	-1.706456	2500	-1.760071	-1.707015	-1.706066	-1.707017
1700	-17.08377	-17.05326	-1.705949	-1.705328	2525	-1.761682	-1.707437	-1.707461	-1.707439
1725	-17.05812	-1.705898	-1.706783	-1.705900	2550	-1.760680	-1.707966	-1.704970	-1.707967
1750	-17.06727	-1.706189	-1.706789	-1.706191	2575	-1.762410	-1.705536	-1.705692	-1.705538
1775	-17.07914	-1.706560	-1.706611	-1.706562	2600	-1.762544	-1.708775	-1.705524	-1.708777
1800	-17.07245	-1.705964	-1.706606	-1.705966	2625	-1.761046	-1.706730	-1.707271	-1.706732
1825	-17.05577	-1.704845	-1.705675	-1.704847	2650	-1.762771	-1.706202	-1.705391	-1.706204
1850	-17.06389	-1.705299	-1.708006	-1.705301	2675	-1.764090	-1.706771	-1.706471	-1.706772
1875	-17.06730	-1.707345	-1.705725	-1.707347	2700	-1.760841	-1.706547	-1.707626	-1.706549
1900	-17.06739	-1.707877	-1.706126	-1.707879	2725	-1.760262	-1.707565	-1.705119	-1.707567
1925	-17.05994	-1.705961	-1.705879	-1.705963	2750	-1.760922	-1.706506	-1.705681	-1.706507
1950	-17.05826	-1.704740	-1.707785	-1.704742	2775	-1.760148	-1.705218	-1.705384	-1.705219
1975	-17.07959	-1.708837	-1.705559	-1.708339	2800	-1.760973	-1.705244	-1.707080	-1.705246
2000	-17.07629	-1.706775	-1.704674	-1.706777	2825	-1.759746	-1.706891	-1.706245	-1.706893
2025	-17.08457	-1.703989	-1.707768	-1.703991	2850	-1.759776	-1.705970	-1.706312	-1.705972
2050	-17.04847	-1.707032	-1.706772	-1.707033	2875	-1.761178	-1.707300	-1.705184	-1.707302
2075	-17.06887	-1.706627	-1.706944	-1.706629	2900	-1.760239	-1.706663	-1.705965	-1.706665
2100	-17.05946	-1.706289	-1.706896	-1.706291	2925	-1.761300	-1.706049	-1.706032	-1.706051
2125	-17.61562	-1.707214	-1.709154	-1.707216	2950	-1.759062	-1.707302	-1.704923	-1.707304
2150	-17.61082	-1.706214	-1.707199	-1.706216	2975	-1.762135	-1.706086	-1.706005	-1.706088
2175	-17.62537	-1.705044	-1.707028	-1.705046	3000	-1.760777	-1.706235	-1.707182	-1.706237
2200	-17.59835	-1.708823	-1.704324	-1.708825	3025	-1.762106	-1.704873	-1.707624	-1.704875
2225	-17.61597	-1.705967	-1.706756	-1.705969	3050	-1.761377	-1.707184	-1.708240	-1.707186
2250	-17.61088	-1.708187	-1.705051	-1.708189	3075	-1.649977	-1.705430	-1.706740	-1.705432
2275	-17.59552	-1.707113	-1.705410	-1.707115	3100	-1.656274	-1.706118	-1.705039	-1.706120
2300	-17.60959	-1.707029	-1.705406	-1.707031	3125	-1.662865	-1.707239	-1.707232	-1.707235
2325	-17.61437	-1.706316	-1.705354	-1.706318	3150	-1.665673	-1.706733	-1.705800	-1.706735
2350	-17.61985	-1.707624	-1.704981	-1.707626	3175	-1.674542	-1.706697	-1.705717	-1.706698
2375	-17.62229	-1.706292	-1.704865	-1.706294	3200	-1.679410	-1.705304	-1.706525	-1.705306
2400	-17.61441	-1.707356	-1.706548	-1.707368	3225	-1.684046	-1.706310	-1.705824	-1.706312
2425	-17.62242	-1.707682	-1.706082	-1.707683	3250	-1.686271	-1.705405	-1.705558	-1.705407
2450	-17.61011	-1.707509	-1.707130	-1.707510	3275	-1.688139	-1.709461	-1.706785	-1.709463

Time[ps]	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5
3300	-1689414	-1707342	-1705295	-1707344
3325	-1692913	-1707057	-1706796	-1707059
3350	-1696101	-1707151	-1706191	-1708044
3375	-1697496	-1706725	-1706609	-1708091
3400	-1698717	-1706767	-1704908	-1708816
3425	-1701723	-1706238	-1706997	-1706986
3450	-1697984	-1704517	-1707237	-1706527
3475	-1701007	-1707367	-1707551	-1706450
3500	-1702442	-1707178	-1706773	-1705895
3525	-1702143	-1707023	-1707195	-1703740
3550	-1703934	-1707502	-1705724	-1706322
3575	-1701249	-1706040	-1705049	-1705653
3600	-1705111	-1707649	-1706286	-1705152
3625	-1703950	-1707496	-1704461	-1707414
3650	-1705565	-1707826	-1707632	-1707193
3675	-1706552	-1707053	-1706949	-1706322
3700	-1704937	-1706986	-1706875	-1706571
3725	-1704026	-1706719	-1707636	-1706288
3750	-1705728	-1704239	-1705428	-1707774
3775	-1705327	-1707783	-1706358	-1705982
3800	-1704681	-1706913	-1705473	-1706356
3825	-1706380	-1706248	-1706583	-1706169
3850	-1706157	-1708477	-1702701	-1705004
3875	-1706322	-1707936	-1707281	-1707441
3900	-1707989	-1706880	-1707794	-1706390
3925	-1706927	-1706664	-1706779	-1707637
3950	-1706380	-1706260	-1707636	-1707095
3975	-1706573	-1707081	-1706307	-1708166
4000	-1707082	-1707350	-1705433	-1705577



Lampiran 6. Data RMSD kompleks AOC pada variasi pH asam

Time[ps]	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5	Time[ps]	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5
0	0.668	0.695	0.691	0.695	825	1.855	2.143	1.768	2.143
25	1.363	1.275	1.356	1.275	850	1.924	2.405	1.905	2.405
50	1.52	1.409	1.354	1.409	875	1.899	2.467	1.907	2.467
75	1.659	1.475	1.421	1.475	900	1.987	2.403	1.918	2.403
100	1.57	1.577	1.485	1.577	925	1.908	2.498	2.105	2.498
125	1.541	1.534	1.484	1.534	950	1.889	2.657	2.109	2.657
150	1.511	1.659	1.416	1.659	975	1.878	2.525	2.206	2.525
175	1.566	1.729	1.526	1.729	1000	2.171	2.478	2.181	2.478
200	1.634	1.744	1.491	1.744	1025	2.169	2.468	2.13	2.468
225	1.662	1.858	1.56	1.858	1050	2.041	2.591	2.058	2.591
250	1.636	1.745	1.612	1.745	1075	2.026	2.727	1.996	2.727
275	1.672	1.765	1.617	1.765	1100	1.871	3.05	2.05	3.05
300	1.781	1.743	1.567	1.743	1125	1.808	3.092	2.149	3.092
325	1.784	1.909	1.735	1.909	1150	2.069	2.989	2.166	2.989
350	1.801	1.949	1.669	1.949	1175	1.943	2.947	2.075	2.947
375	1.823	1.848	1.78	1.848	1200	1.857	2.855	2.095	2.855
400	1.792	1.785	1.79	1.785	1225	1.849	2.815	1.883	2.815
425	1.785	1.876	1.785	1.876	1250	2.064	2.822	1.941	2.822
450	1.791	2.16	1.851	2.16	1275	1.86	2.92	1.999	2.92
475	1.81	2.077	1.758	2.077	1300	1.805	2.929	1.977	2.929
500	1.806	2.262	1.796	2.262	1325	2.04	3.036	2.081	3.036
525	1.568	2.289	1.759	2.289	1350	2.007	2.815	1.961	2.815
550	1.756	2.292	1.934	2.292	1375	1.841	2.821	2.191	2.821
575	1.842	2.461	1.915	2.461	1400	1.969	2.807	2.052	2.807
600	1.895	2.159	1.783	2.159	1425	2.049	2.995	1.896	2.995
625	1.912	2.282	1.759	2.282	1450	2.014	3.009	2	3.009
650	1.889	2.307	1.657	2.307	1475	2.021	3.432	1.943	3.432
675	1.621	2.307	1.866	2.307	1500	2.124	3.216	2.099	3.216
700	1.823	2.278	1.764	2.278	1525	2.099	3.145	2.158	3.145
725	1.971	2.364	1.815	2.364	1550	2.059	3.438	1.998	3.438
750	1.945	2.281	1.896	2.281	1575	2.148	3.332	2.067	3.332
775	2.006	2.28	2.048	2.28	1600	2.094	3.357	1.971	3.357
800	1.914	2.34	1.958	2.34	1625	2.07	3.321	2.02	3.321

Time[ps]	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5	Time[ps]	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5
1650	2.193	3.08	2.037	3.08	2475	2.624	3.517	2.37	3.517
1675	2.21	3.178	2.048	3.178	2500	2.466	3.912	2.618	3.912
1700	2.133	3.171	1.964	3.171	2525	2.73	3.998	2.397	3.998
1725	2.181	3.429	2.056	3.429	2550	2.659	3.85	2.426	3.85
1750	2.135	3.679	1.9	3.679	2575	2.503	3.969	2.329	3.969
1775	2.147	3.545	1.833	3.545	2600	2.571	4.21	2.381	4.21
1800	2.213	3.508	1.892	3.508	2625	2.62	3.866	2.373	3.866
1825	2.203	3.297	1.965	3.297	2650	2.548	3.876	2.479	3.876
1850	2.307	3.546	1.95	3.546	2675	2.596	3.925	2.425	3.925
1875	2.185	3.567	2.052	3.567	2700	2.543	3.915	2.327	3.915
1900	2.198	3.496	1.969	3.496	2725	2.458	4.042	2.239	4.042
1925	2.163	3.683	2.037	3.683	2750	2.657	3.923	2.237	3.923
1950	2.175	3.854	1.908	3.854	2775	2.646	3.707	2.253	3.707
1975	2.213	3.771	1.947	3.771	2800	2.64	3.838	2.405	3.838
2000	2.257	3.8	2.098	3.8	2825	2.581	3.605	2.349	3.605
2025	2.324	3.821	2.056	3.821	2850	2.483	3.536	2.317	3.536
2050	2.303	3.931	2.158	3.931	2875	2.515	3.763	2.366	3.763
2075	2.282	3.874	2.197	3.874	2900	2.562	3.737	2.32	3.737
2100	2.124	3.742	2.418	3.742	2925	2.636	3.758	2.293	3.758
2125	2.082	3.836	2.237	3.836	2950	2.513	3.61	2.356	3.61
2150	2.26	3.943	2.218	3.943	2975	2.733	3.862	2.331	3.862
2175	2.344	3.962	2.408	3.962	3000	3.047	3.772	2.361	3.772
2200	2.239	3.983	2.246	3.983	3025	3.193	3.902	2.357	3.902
2225	2.487	3.826	2.282	3.826	3050	2.991	3.957	2.292	3.957
2250	2.522	3.828	2.451	3.828	3075	2.929	4.144	2.228	4.144
2275	2.631	3.927	2.273	3.927	3100	3.16	4.343	2.232	4.343
2300	2.505	4.057	2.378	4.057	3125	3.003	4.081	2.351	4.081
2325	2.695	4.088	2.53	4.088	3150	2.769	4.289	2.23	4.289
2350	2.664	4.169	2.498	4.169	3175	2.748	4.081	2.44	4.081
2375	2.529	4.164	2.51	4.164	3200	2.759	4.165	2.413	4.165
2400	2.731	3.896	2.521	3.896	3225	2.999	4.16	2.409	4.16
2425	2.7	3.788	2.434	3.788	3250	3.095	4.135	2.469	4.135
2450	2.719	3.769	2.441	3.769	3275	2.898	4.074	2.418	4.074



Time[ps]	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5
3300	2.869	4.268	2.331	4.268
3325	2.794	4.207	2.561	4.207
3350	2.96	4.185	2.473	4.242
3375	2.582	4.099	2.499	4.173
3400	2.632	3.993	2.459	4.421
3425	2.798	4.291	2.431	4.357
3450	2.796	4.462	2.236	4.358
3475	3.181	4.434	2.254	4.486
3500	3.213	4.702	2.367	4.492
3525	2.964	4.478	2.523	4.527
3550	3.056	4.332	2.335	4.719
3575	2.971	4.676	2.436	4.607
3600	2.952	4.94	2.43	4.914
3625	2.917	4.907	2.353	4.837
3650	2.977	5.02	2.38	5.076
3675	2.99	4.886	2.414	4.847
3700	3.136	4.642	2.39	4.818
3725	3.03	4.874	2.19	4.629
3750	3.378	5.073	2.364	4.733
3775	3.375	4.886	2.419	4.667
3800	3.391	4.653	2.41	4.519
3825	3.506	4.716	2.633	4.609
3850	3.455	4.664	2.493	4.751
3875	3.258	4.454	2.452	4.856
3900	3.237	4.548	2.37	4.777
3925	3.259	4.354	2.394	5.06
3950	3.696	4.438	2.51	5.038
3975	3.932	4.35	2.643	4.842
4000	3.866	4.237	2.408	5.288





Lampiran 7. Data energi ikat ligan

Waktu (ps)	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5	Waktu (ps)	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5
0	-172512	-173608	-172620	-173608	825	-94868.2	-94988.5	-93800.1	-94988.5
25	-97786.3	-98064.7	-98910.7	-98064.7	850	-94716	-95144.2	-94068.3	-95144.2
50	-98544.1	-97185.7	-98870.7	-97185.7	875	-95785.5	-94140.1	-95295.8	-94140.1
75	-98543.8	-97720.7	-99101.8	-97720.7	900	-95510.4	-95830.9	-93892.7	-95830.9
100	-98228.1	-97693.3	-98372.2	-97693.3	925	-93304.4	-94504.2	-94895.1	-94504.2
125	-97416.2	-97892.8	-97512.7	-97892.8	950	-93773.1	-95200.9	-95117.8	-95200.9
150	-96492.2	-97511.5	-97233.8	-97511.5	975	-93735.3	-94995.3	-93886	-94995.3
175	-95972.7	-97418.2	-96749	-97418.2	1000	-94527.5	-95474.8	-93805.2	-95474.8
200	-95587	-95517.5	-96407.2	-95517.5	1025	-93856.9	-95150.1	-95150.1	-95150.1
225	-95271.2	-96102.5	-95923.2	-96102.5	1050	-94266.9	-95792.3	-94710.5	-95792.3
250	-94533.1	-95798.1	-95976.5	-95798.1	1075	-94597.7	-93610.7	-93861.6	-93610.7
275	-95706.2	-94877.1	-96672	-94877.1	1100	-94857.2	-93834.2	-94090.8	-93834.2
300	-94532.9	-93800.2	-95005.9	-93800.2	1125	-94250.1	-95158.4	-93593.1	-95158.4
325	-94384.3	-94325.7	-94952	-94325.7	1150	-94191.2	-95013.3	-93277.3	-95013.3
350	-94335.5	-94430.9	-95648.5	-94430.9	1175	-92808.4	-93352.1	-94430.1	-93352.1
375	-94278.1	-94734.9	-94747.5	-94734.9	1200	-94624.9	-93193.5	-94744.8	-93193.5
400	-95229	-94839.8	-95476.7	-94839.8	1225	-93640.5	-93959.8	-93360.3	-93959.8
425	-93497.8	-95536.5	-94536	-95536.5	1250	-94451.2	-94955	-93717.9	-94955
450	-94261.8	-95350.8	-93713.1	-95350.8	1275	-94629.6	-94691.4	-94484.9	-94691.4
475	-94170.3	-97059.3	-94406.1	-97059.3	1300	-93894	-94457.6	-92558.2	-94457.6
500	-94305.5	-94581.1	-94598.4	-94581.1	1325	-93802.2	-94041.9	-93628.5	-94041.9
525	-94743.3	-95453.7	-93830	-95453.7	1350	-94843.7	-94502.4	-94237.7	-94502.4
550	-93992.4	-96051.1	-95189.8	-96051.1	1375	-93912.7	-94652.1	-93807	-94652.1
575	-94208.6	-94182.7	-94448.5	-94182.7	1400	-94418.5	-94355.7	-94751.7	-94355.7
600	-93469.4	-95609.5	-93787.1	-95609.5	1425	-94081.5	-95107.4	-93703.8	-95107.4
625	-94109.9	-95322.9	-93126.4	-95322.9	1450	-94168.7	-94606.7	-93867.9	-94606.7
650	-94202.7	-94960	-93449.3	-94960	1475	-92603.8	-93625	-93901.5	-93625
675	-94694.4	-95230.3	-93673.2	-95230.3	1500	-94803.9	-93780.9	-93848.1	-93780.9
700	-94536.9	-95698.6	-94066.8	-95698.6	1525	-94196.4	-93787.3	-93852.6	-93787.3
725	-93602.9	-94603.1	-93720	-94603.1	1550	-93817.3	-93322.2	-94562.9	-93322.2
750	-95279.8	-95259.7	-94314.2	-95259.7	1575	-93638.7	-94049.5	-93602.3	-94049.5
775	-94374.9	-95313.5	-93552.9	-95313.5	1600	-94672	-94102.4	-93863.5	-94102.4
800	-94738	-95294.2	-94346.2	-95294.2	1625	-94135.2	-93601.6	-94401.1	-93601.6

Waktu (ps)	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5	Waktu (ps)	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5
1650	-95460.6	-92914.5	-94666.4	-92914.5	2475	-107841	-93508.5	-95248.2	-93508.5
1675	-94140.9	-94059.1	-93508.7	-94059.1	2500	-107071	-94320.6	-94346.9	-94320.6
1700	-93534.5	-93341.7	-93308.5	-93341.7	2525	-107038	-95243.8	-94606.1	-95243.8
1725	-94683.1	-94149.4	-93598.3	-94149.4	2550	-107064	-94337	-94585.5	-94337
1750	-93912.6	-93451.8	-93425.5	-93451.8	2575	-107759	-93817.8	-94294.1	-93817.8
1775	-94071.5	-95155.5	-93954.2	-95155.5	2600	-106344	-94030.7	-94660.8	-94030.7
1800	-94154.8	-94628.1	-93872.1	-94628.1	2625	-106171	-93738.3	-94390.6	-93738.3
1825	-94464.4	-94673.4	-93946	-94673.4	2650	-106409	-93674.8	-94357.8	-93674.8
1850	-94360.8	-94192.1	-94695	-94192.1	2675	-107373	-94369.5	-93287.1	-94369.5
1875	-95393.9	-94531.9	-94966.1	-94531.9	2700	-107517	-94785.5	-93536	-94785.5
1900	-95143.3	-95805	-92784.6	-95805	2725	-106936	-94966.7	-94763.9	-94966.7
1925	-94456.7	-93457.4	-94283.1	-93457.4	2750	-107379	-93317.4	-93950.1	-93317.4
1950	-94561.2	-95030	-94032.7	-95030	2775	-107582	-93773.1	-94186.2	-93773.1
1975	-95224.7	-94842.4	-94125.9	-94842.4	2800	-106767	-93139.1	-94969	-93139.1
2000	-95205.6	-94464.6	-93857.1	-94464.6	2825	-107890	-92947.3	-95689.8	-92947.3
2025	-93995.3	-93030.4	-93448.2	-93030.4	2850	-107244	-92479.6	-94710.7	-92479.6
2050	-93628	-93937.9	-93851.1	-93937.9	2875	-107440	-92780	-95860.7	-92780
2075	-93881.4	-95897.6	-94262	-95897.6	2900	-106463	-94516.8	-94715	-94516.8
2100	-94924.1	-95108.5	-94028.1	-95108.5	2925	-107518	-94242.9	-94005.8	-94242.9
2125	-106695	-95007.4	-95168.7	-95007.4	2950	-106837	-93930.8	-93841.5	-93930.8
2150	-106701	-95979	-94117.8	-95979	2975	-107613	-93566	-93616.1	-93566
2175	-106708	-94026.2	-92973.9	-94026.2	3000	-106759	-94306	-95514	-94306
2200	-106682	-94520.8	-93993.8	-94520.8	3025	-108217	-93902.6	-94659	-93902.6
2225	-106715	-94753	-96009	-94753	3050	-108138	-94606.5	-95149.2	-94606.5
2250	-106581	-93601.5	-93763.9	-93601.5	3075	-79403	-94882.1	-96191.8	-94882.1
2275	-106361	-93782.9	-93574	-93782.9	3100	-80640.8	-94297	-94302.4	-94297
2300	-106261	-94918.3	-94173.7	-94918.3	3125	-82145.8	-94812	-93699.2	-94812
2325	-107286	-94142.5	-94052	-94142.5	3150	-84920	-94374.3	-94494.4	-94374.3
2350	-106637	-94392.5	-94810.1	-94392.5	3175	-86846.6	-94855.5	-93837	-94855.5
2375	-106554	-94300.7	-94077.6	-94300.7	3200	-88324	-94542.7	-94347.7	-94542.7
2400	-105957	-95101.8	-95470	-95101.8	3225	-89066.5	-94982.9	-94665	-94982.9
2425	-106210	-94819.8	-94869.2	-94819.8	3250	-89386.6	-94398.4	-94063.2	-94398.4
2450	-106853	-93280.7	-94148.3	-93280.7	3275	-91856.4	-96244.9	-95699.7	-96244.9



Waktu (ps)	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5
3300	-92395.2	-94864.9	-94008.2	-94864.9
3325	-92048.4	-95100.9	-94250.8	-95100.9
3350	-94676.1	-95627	-94758	-94569.4
3375	-93289.5	-94703.8	-95568.4	-94199.7
3400	-93482.8	-95624	-95304.7	-94871
3425	-94057.7	-94619.7	-95614.5	-94384
3450	-95034.1	-93637	-94726.5	-94605.4
3475	-93479.9	-95136.5	-95586.5	-93903.5
3500	-93486.8	-94701.3	-94999.1	-94677.3
3525	-94429.3	-95321.1	-95066	-95341.4
3550	-96040.1	-94965.1	-94318.1	-93370.7
3575	-95233.8	-94710.2	-95004.8	-94664.6
3600	-95055.3	-94575.7	-95382.6	-95129.9
3625	-95980.8	-95089.9	-95628	-94141.3
3650	-96670.1	-94995.3	-94415.1	-95324.9
3675	-95609.3	-95128.3	-94485.8	-94250.7
3700	-96203.4	-93739.3	-93296.3	-96340.1
3725	-95919.5	-94556.2	-93060.3	-95484.5
3750	-95169.8	-94610.7	-94515.9	-95712.4
3775	-95066.7	-95460.8	-94653.8	-95523.6
3800	-95692.3	-96187.4	-93159.3	-94730.9
3825	-96724.4	-94313	-93897	-95067.2
3850	-97722.3	-93771	-93098.1	-95347.3
3875	-95463.8	-94930.9	-95022	-93790.9
3900	-95007.7	-94140.2	-93664.4	-94768.5
3925	-95654.7	-94395.8	-94636	-94699.4
3950	-95686.9	-93458.8	-94641.7	-95589
3975	-96261.6	-94203.1	-94378.6	-95904.6
4000	-96053.7	-93541.9	-94517.2	-95720.2



Lampiran 8. Data RMSD *backbone* residu reseptor

Residu	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5
103 C	2.155	2.733	2.266	3.138
105 C	1.356	2.676	1.367	3.155
104 C	1.828	2.286	1.599	2.608
112 C	2.494	3.067	2.539	3.152
113 C	1.904	2.358	1.963	2.417
166 D	1.428	2.286	1.745	2.441
111 C	1.698	3.106	2.05	3.051
166 C	2.134	2.352	1.992	2.434
113 D	1.854	1.965	1.29	2.145
111 D	2.068	1.956	1.254	2.008
112 D	2.121	2.308	1.32	2.364

Lampiran 9. Data RMSF residu reseptor

Residu	pH 1	pH 1.5	pH 2	pH 2.5
103 C	1.488	1.565	1.155	1.769
105 C	2.11	2.291	1.829	2.898
104 C	1.425	1.253	1.091	1.408
112 C	1.287	1.446	0.99	1.373
113 C	1.23	1.25	0.988	1.263
166 D	1.636	2.014	1.574	1.905
111 C	0.888	1.366	1.066	1.277
166 C	1.902	1.929	1.597	1.81
113 D	1.095	1.055	1.091	1.079
111 D	1.446	1.789	1.181	1.561
112 D	1.743	1.565	1.114	1.31

