

# MENGUNGKAP MISTERI STRUKTUR PROTEIN: TEKNIK PEMODELAN IN SILICO UNTUK PENELITIAN BIOKIMIA

Noer Komari, S.Si., M.Kes  
dr. Iskandar, M.Kes., Sp.A  
Prof. Dr. Eko Suhartono, Drs., M.Si



**MONOGRAF**

**MENGUNGKAP MISTERI  
STRUKTUR PROTEIN:  
TEKNIK PEMODELAN IN  
SILICO UNTUK PENELITIAN  
BIOKIMIA**

**Noer Komari, S.Si, M.Kes**  
**dr. Iskandar, M.Kes., Sp.A**  
**Prof. Dr. Drs. Eko Suhartono, M.Si**



# **MONOGRAF**

## **MENGUNGKAP MISTERI STRUKTUR PROTEIN: TEKNIK PEMODELAN IN SILICO UNTUK PENELITIAN BIOKIMIA**

**Noer Komari, S.Si, M.Kes**

**dr. Iskandar, M.Kes., Sp.A**

**Prof. Dr. Drs. Eko Suhartono, M.Si**

### **PENERBIT:**

ULM Press, 2024

d/a Pusat Pengelolaan Jurnal dan Penerbitan ULM

Lantai 2 Gedung Perpustakaan Pusat ULM

Jl. Hasan Basri, Kayutangi, Banjarmasin 70123

Telp/Fax. 0511 - 3305195

ANGGOTA APPTI (004.035.1.03.2018)

Hak cipta dilindungi oleh Undang Undang

Dilarang memperbanyak sebagian atau seluruh isi buku tanpa izin  
tertulis dari Penerbit, kecuali

untuk kutipan singkat demi penelitian ilmiah dan resensi

I - V + 50 hal, 15,5 × 23 cm

Cetakan Pertama. ... 2024

ISBN : ...

## PRAKATA

Rasa terimakasih yang tinggi kami haturkan Kehadapan Allah, Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat anugrah-Nya sehingga buku Monograf MENGUNGKAP MISTERI STRUKTUR PROTEIN: TEKNIK PEMODELAN IN SILICO UNTUK PENELITIAN BIOKIMIA dapat kami selesaikan dengan baik. Buku ini berisi hasil kajian atau riset tentang pemodelan struktur 3D enzim katalase (CAT) dan superoksida dismutase (SOD) pada tanaman padi (*Oryza sativa*).

Enzim adalah protein fungsional. Penentuan struktur 3D protein menggunakan instrumentasi laboratorium seperti, difraksi sinar-X, Nuclear Magnetic Resonance (NMR) dan mikroskop elektron yang memakan waktu, biaya yang mahal, dan tidak dapat diterapkan untuk beberapa protein yang sulit untuk mengkristal. Banyak protein penting dan esensial lain yang belum diketahui struktur 3D-nya. Struktur 3D protein dapat ditentukan melalui metode bioinformatika (in silico) menggunakan komputer dengan melakukan prediksi struktur 3D protein berdasarkan urutan sekuen asam amino protein. Teknik pemodelan struktur tiga dimensi protein ada 3 yaitu, metode homologi/komparatif, metode fold recognition dan metode ab initio. Buku ini akan membahas 2 teknik pemodelan, yaitu homologi/komparatif menggunakan web server SwissModel dan metode fold recognition menggunakan web server Phyre2. Enzim katalase (CAT) dan superoxide dismutase (SOD) dari tanaman padi adalah enzim antioksidan yang sangat penting karena

berfungsi sebagai penghambat produk Reactivity Oxygen Species (ROS) saat tanaman padi mengalami paparan bahan pencemar. Selain itu, enzim katalase (CAT) dan superoksida dismutase (SOD) banyak dipakai sebagai target penelitian, terutama penelitian tingkat molekular.

Buku monograf ini akan membantu untuk memberikan gambaran bagaimana memodelkan enzim CAT dan SOD menggunakan 2 web server, yaitu Phyre2 dan Swissmodel. Kehadiran buku monograf ini merupakan jawaban atas besarnya minat para peneliti, dosen dan mahasiswa yang ingin membuat model protein secara in silico. Buku monograf ini diharapkan dapat membantu untuk mengembangkan pemahaman ilmu kimia, terutama pemodelan protein dari sisi molekular dengan menggunakan perangkat komputer. Buku ini disampaikan dengan gaya yang mudah dipahami baik oleh pemula maupun expert.

Kami menyadari buku monograf ini masih banyak kekurangan dan memerlukan perbaikan, sehingga kami sangat senang jika para pembaca memberikan kritik dan masukan terhadap buku ini untuk perbaikan di edisi berikutnya. Semoga buku ini dapat bermanfaat.

Banjarbaru, Oktober 2023

Noer Komari ([nkomari@ulm.ac.id](mailto:nkomari@ulm.ac.id))

Prof. Dr. Drs. Eko Suhartono, M.Si ([ekoantioxidant@gmail.com](mailto:ekoantioxidant@gmail.com))

## RINGKASAN

Penentuan struktur tiga dimensi (3D) protein menggunakan instrumentasi laboratorium difraksi sinar-X, Nuclear Magnetic Resonance (NMR) dan mikroskop elektron membutuhkan waktu lama dan biaya mahal. Saat ini dikembangkan metode yang lebih cepat dan murah, yaitu metode *in silico*. Metode *in silico* dalam pemodelan protein meliputi metode homology modeling, fold recognition dan *ab initio* sebagai metode alternatif untuk memprediksi struktur tiga dimensi protein. Kajian ini bertujuan memprediksi model struktur tiga dimensi enzim catalase (CAT) dengan metode homology modeling dan enzim superoxide dismutase (SOD) dengan metode fold recognition pada tanaman padi (*Oryza sativa*). Tanaman padi dipilih karena pentingnya kajian tentang pemodelan protein pada tanaman padi. Protein tanaman padi belum banyak ditemukan pemodelannya secara instrumentasi. Pemodelan protein menggunakan web server Swiss-Model dan Phyre<sup>2</sup>. Sekuen CAT didapat dari database NCBI dengan kode asesi AKO90140 dan SOD didapat dari database UniProt KB dengan kode asesi A0A6F8FUX1. Hasil kajian menunjukkan bahwa model CAT memiliki template dengan kode 4qol.1.A, dimana persentase identity sebesar 51,36%. Evaluasi model CAT pada web server menunjukkan bahwa model yang dibangun bernilai baik. Validasi model CAT dengan Procheck mengidentifikasi bahwa model juga bernilai baik. Model SOD pada Phyre2 mempunyai template c1unfX, dimana nilai coverage 80%, nilai confidence 100% dan identity 51%. Evaluasi model SOD pada web server didapatkan model yang baik. Validasi model dengan Procheck menunjukkan daerah most favored pada Ramachandran Plot sebesar 87,8% dan daerah yang disallowed sebesar 1,1%. Model SOD yang dibangun adalah model yang bernilai baik.

**Kata Kunci:** homologi modeling, fold recognition, Phyre<sup>2</sup>, catalase, superoksida dismutase

## DAFTAR ISI

PRAKATA.....	iv
RINGKASAN .....	vi
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	x
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB II STRUKTUR PROTEIN DAN ENZIM .....	6
2.1 Struktur Protein .....	6
2.2 Fungsi dan Peran Enzim Catalase (CAT).....	10
2.3 Fungsi dan Peran Enzim Superoxide Dismutase (SOD) .	12
2.4 Peran Kajian In Silico dalam Pemodelan Protein .....	13
BAB III INSTRUMENTASI PEMODELAN PROTEIN.....	16
3.1 Pemodelan Protein Menggunakan Swiss-Model.....	16
3.2 Pemodelan Protein Menggunakan Phyre2 .....	17
3.3 Beberapa Cara Validasi Model Protein .....	19
BAB IV TEKNIK PEMODELAN PROTEIN.....	22
4.1 Pemilihan Sekuen Protein Target.....	22

4.2	Analisis Protein Target menggunakan ProtParam.....	23
4.3	Identifikasi Template pada Swiss-Model.....	17
4.4	Identifikasi <i>Template</i> dan Pemodelan Phyre2.....	18
4.5	Evaluasi Model Menggunakan Swiss-Model.....	19
4.6	Evaluasi Model dengan Phyre 2.....	20
4.7	Validasi model Menggunakan Phyre 2 .....	20
4.8	Visualisasi Model Struktur Protein Target.....	21
<b>BAB V KARAKTERISTIK ENZIM CATALASE DAN SUPEROKSIDA DISMUTASE TANAMAN PADI .....</b>		<b>21</b>
5.1	Sekuen Protein Target CAT .....	21
5.2	Sekuen Protein Target SOD .....	22
5.3	Analisis Protein Target SOD .....	25
5.4	Model Protein Catalase pada Swiss-Model.....	28
5.5	Model Protein SOD pada Phyre2 .....	32
5.6	Karakteristik Model Protein CAT Tanaman Padi .....	37
5.7	Karakteristik Model SOD Tanaman Padi.....	47
5.8	Kualitas Model SOD Tanaman Padi .....	49
5.9	Fungsi Model SOD Tanaman Padi.....	55
5.10	Karakteristik Model CAT Tanaman Padi.....	58
5.11	Karakteristik Model SOD Tanaman Padi.....	60
5.12	Penutup.....	68
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>		<b>71</b>
<b>GLOSSARIUM.....</b>		<b>79</b>
<b>INDEKS BUKU.....</b>		<b>82</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b> 20 Asam amino dan simbolnya (Yuwono, 2012).....	6
<b>Tabel 2.</b> Pencarian SOD <i>Oryza sativa</i> pada Uniprot KB.....	23
<b>Tabel 3.</b> Sifat Fisika Kimia Protein kode A0A6F8FUX1 .....	25
<b>Tabel 4.</b> Komposisi Asam Amino SOD <i>Oryza sativa</i> .....	27
<b>Tabel 5.</b> 20 Template Hasil Pemodelan .....	33
<b>Tabel 6.</b> Parameter MolProbity dengan Swiss-Model.....	42

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Struktur Protein: a) primer, b) sekunder, c) tertier, d) kuarterner (Branden & Tooze, 2012).....	9
<b>Gambar 2.</b> Prinsip kerja pemodelan menggunakan web server Phyre <sup>2</sup> (Kelley et al., 2015). .....	19
<b>Gambar 3.</b> Ramachandran plot (Campbell, 2012).....	21
<b>Gambar 4.</b> Penelusuran CAT Oryza sativa pada NCBI.....	21
<b>Gambar 5.</b> Sekuen CAT Oryza sativa dalam format FASTA.....	22
<b>Gambar 6.</b> Hasil penelusuran template pada Swiss-Model .....	29
<b>Gambar 7.</b> Analisis template pada Swiss-Model.....	30
<b>Gambar 8.</b> Hasil pensejajaran sekuen model dan template dengan Swiss-Model.....	32
<b>Gambar 9.</b> Model SOD a1)-(a10) menunjukkan $\alpha$ -helix, (b1)-(b3) menunjukkan $\beta$ -sheet dan (c1)-(c5) menunjukkan coil.....	36
<b>Gambar 10.</b> Hasil penilaian model pada Swiss-Model.....	38
<b>Gambar 11.</b> Analisis kualitas residu asam amino model.....	38
<b>Gambar 12.</b> Analisis kualitas residu asam amino berdasarkan nilai local quality estimate. ....	39

<b>Gambar 13.</b> Kurva distribusi nilai z-score (Benkert et al., 2011).....	40
<b>Gambar 14.</b> Plot posisi antara template dan model dalam sebaran z-score. Bintang adalah model yang telah dibangun.....	41
<b>Gambar 15.</b> Daerah asam amino yang mengalami overlap sterik.....	43
<b>Gambar 16.</b> Daerah allowed asam amino yang berada pada wilayah rotamer outlier.....	44
<b>Gambar 17.</b> Jumlah posisi atom C <sub>β</sub> mengalami deviasi .....	45
<b>Gambar 18.</b> Posisi asam yang mengalami penyimpangan (a) bad bonds dan (b) bad angles. ....	46
<b>Gambar 19.</b> Ramachandran Plot protein AKO90140 dengan template 4qol.1.A.....	47
<b>Gambar 20.</b> a) Run investigator diklik untuk memulai evaluasi model, b) View investigator results menunjukkan bahwa template telah dievaluasi dan dapat diklik lagi apabila ingin melakukan evaluasi lag .....	48
<b>Gambar 21.</b> Tampilan tools untuk evaluasi model pada Phyre2 .....	49
<b>Gambar 22.</b> ProQ2 quality assessment model.....	50
<b>Gambar 23.</b> Model berdasarkan clashes.....	51
<b>Gambar 24.</b> Model berdasarkan rotamers.....	52
<b>Gambar 25.</b> Model berdasarkan ramachandran analysis .....	53
<b>Gambar 26.</b> Model berdasarkan alignment confidence .....	54
<b>Gambar 27.</b> Model berdasarkan disorder .....	55
<b>Gambar 28.</b> Model berdasarkan conservation.....	56
<b>Gambar 29.</b> Model berdasarkan Pocket detection.....	57
<b>Gambar 30.</b> Model berdasarkan mutational sensitivity .....	58
<b>Gambar 31.</b> Ramachandran Plot hasil validasi model CAT dengan Procheck.....	59

<b>Gambar 32.</b> Hasil validasi menggunakan Procheck .....	60
<b>Gambar 33.</b> Ramachandran plot hasil validasi model SOD dengan Procheck.....	62
<b>Gambar 34.</b> Chi Chi1-chi2 plot.....	64
<b>Gambar 35.</b> Side-chain parameters plot .....	66

## BAB I PENDAHULUAN

Analisis bioinformatika terfokus pada tiga jenis data antara lain urutan genom, struktur makromolekul dan genomik fungsional. Analisis bioinformatika juga dapat diaplikasikan pada berbagai data lain, misalnya prediksi struktur untuk meramalkan bentuk struktur tiga dimensi protein (Narita et al., 2014) Pengetahuan dan pemahaman struktur tiga dimensi protein sangat penting karena dapat memberikan informasi secara detil dalam memahami sifat dan fungsi biokimia protein pada tingkat molekular. Penjelasan rinci tentang interaksi struktur protein sangat dibutuhkan untuk pemahaman komprehensif tentang sistem biologis. Pemahaman itu meliputi bagaimana kompleksitasnya, bagaimana jaringan protein beroperasi dan bagaimana dapat memodulasikannya (Waterhouse et al., 2018)

Protein merupakan polimer dari monomer-monomer asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida. Molekul protein mengandung karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen dan kadang kala sulfur serta fosfor (Rosmawati, 2013). Secara hierarki, struktur protein dapat dikelompokkan menjadi empat struktur utama yang terdiri atas struktur primer, sekunder, tersier, dan kuartener. Fungsi protein dapat ditentukan setelah mengetahui rangkaian asam amino melakukan pelipatan dalam bentuk 3 dimensi (3D) sebagai struktur tersier (Haryanto & Budiman, 2015).

Penentuan struktur 3D protein dapat dilakukan dengan menggunakan instrumentasi di laboratorium seperti, difraksi sinar-X, *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dan mikroskop elektron (Westbrook et al., 2003). Namun, metode uji tersebut masih memakan waktu, biaya yang mahal, dan tidak dapat diterapkan untuk beberapa protein yang sulit untuk mengkristal (Xu et al., 2016). Hal ini menyebabkan struktur protein yang tersedia melalui

eksperimen tidak sebanding atau masih jauh lebih kecil dibandingkan jumlah sekuen protein yang berhasil diurutkan (Schwede, 2013). Hingga bulan April 2021 jumlah total struktur 3D protein yang berhasil diperoleh secara eksperimen dan tersimpan di *Protein Data Bank* (RSCB PDB) adalah 176.247, sedangkan jumlah sekuen protein yang berhasil dipetakan dan tersimpan di UniProt KnowledgeBase (UniProt KB) adalah 546,227 entri sekuen yang telah dilengkapi informasi biologis dan telah *direview* secara manual. Hal ini menunjukkan masih banyak protein-protein penting dan esensial lain yang belum diketahui struktur 3D-nya (Saudale, 2020).

Struktur 3D protein dapat ditentukan melalui metode bioinformatika (*in silico*) menggunakan komputer dengan melakukan prediksi struktur 3D protein berdasarkan urutan sekuen asam amino protein. Teknik pemodelan struktur tiga dimensi protein ada 3 yaitu, metode homologi/komparatif, metode *fold recognition* dan metode *ab initio*. Metode homologi lebih mudah dan cepat pengerjaannya dibandingkan metode *fold recognition* dan *ab initio* (Zaki & Brystoff, 2008). Namun, metode homologi tidak dapat menghasilkan model yang akurat jika *sequence identity* antara target dan *template* rendah (*sequence identity* <30%) (Khor *et al.*, 2015). Metode homology modeling adalah metode berbasis template protein yang telah diketahui struktur tiga dimensinya secara laboratorium. Selama identitas antara dua protein (target dan template) serupa dan saling tumpang tindih pada daerah yang sama, maka kedua perotein tersebut pasti akan mengadopsi lipatan yang sama (Makigaki & Ishida, 2020). Metode homologi modeling merupakan salah satu metode termudah untuk memprediksi protein dengan ketepatan yang relatif tinggi. Berbeda dengan metode *ab initio* yang berprinsip menghitung sekuen berdasarkan fungsi energi yang paling menyerupai aslinya. Metode ini sangat terbatas karena membutuhkan sumber daya komputasi yang besar dan hanya efisien

terhadap protein yang relatif kecil. Oleh karena itu, metode homologi modeling adalah metode yang paling efisien jika template yang diperoleh memiliki persentase kemiripan (similarity) lebih dari 40% (Srivastava et al., 2012); (Gupta et al., 2017).

Di sisi lain, metode fold recognition memiliki prinsip yang hampir mirip dengan homology modeling yaitu membandingkan sekuen target dengan struktur template yang tersimpan pada library namun, metode ini biasanya digunakan jika persentase kemiripan (similarity) template terhadap sekuen target kurang dari 40% karena, metode fold recognition memiliki fitur pencarian yang lebih sensitif dalam menyelaraskan atau menyambung sekuen pada lipatan yang sama. Metode *Fold recognition* mampu membangun struktur 3D protein berdasarkan identifikasi fragmen lipatan (*fold recognition*) yang sama yang didapat dari protein pada *database* yang memiliki kekerabatan dekat maupun jauh secara evolusi (Saudale, 2020). Pemodelan dengan metode *fold recognition* dapat dilakukan menggunakan *web server* Phyre<sup>2</sup>. Phyre<sup>2</sup> adalah *web server* untuk prediksi struktur 3D protein dimana target tidak hanya didasarkan atas protein homolog yang dekat secara evolusi (*close*), tapi juga yang jauh (*remote*) (Kelley et al., 2015).

Penentuan struktur 3D protein dapat dilakukan pada protein dari tanaman padi, terutama pada protein yang biasa dijadikan bahan kajian, misalnya CAT (katalase) dan SOD (*Superoxide dismutase*). Catalase (CAT) dan *Superoxide dismutase* (SOD) adalah enzim antioksidan pada tanaman padi. Protein CAT dan SOD adalah protein penting pada tanaman padi. Sebagaimana diketahui, tanaman padi yang tumbuh di daerah terbuka dapat mengalami cekaman garam yang mempengaruhi efek ionik, osmotik, ketidakseimbangan nutrisi, dan produksi *Reactivity Oxygen Species* (ROS) (Ashraf & Foolad, 2007). *Reactivity Oxygen Species* (ROS) merupakan radikal bebas berbahaya yang mengganggu metabolisme tanaman dan meningkat produksinya ketika mengalami cekaman garam (Foyer et

al., 1994). Namun, tanaman padi memiliki sistem antioksidan enzimatis seperti CAT (catalase) dan SOD (*Superoxide dismutase*) untuk melawan efek negatif dari senyawa oksidan yang dapat menghindari  $O^{2-}$  dan  $H_2O_2$  untuk mengatur tingkat keaktifan oksigen pada jaringan tanaman (Munné-Bosch & Alegre, 2002).

Enzim katalase berperan penting dalam proses beradaptasi tanaman padi terhadap suhu tinggi akibat perubahan cuaca ekstrim. Perubahan suhu ekstrim menyebabkan heat stress pada tanaman padi yang akan memperlambat laju pertumbuhan dan sistem metabolit, serta mengganggu kesuburan tanaman sehingga menurunkan hasil panen (Zafar et al., 2018). Potensi dari katalase terhadap tanaman telah dikaji diantaranya mengatasi stres oksidatif pada tanaman Arabidopsis (Mhamdi et al., 2010), mengatasi stres salinitas pada tanaman padi (Thorat et al., 2018), 2018; (Hussain et al., 2017), sebagai antioksidan serba guna pada tanaman (Sharma & Ahmad, 2014).

Widowati *et al* (2005) melakukan penelitian uji aktivitas enzim SOD pada 140 jenis spesies tumbuhan termasuk padi. Hasilnya menunjukkan 14,2% adanya aktivitas enzim SOD pada biji untuk jenis ketan hitam (*Oryza sativa* L., var. *Glutinosa*) dan 26,7% pada biji untuk jenis ketan putih (*Oryza sativa* L., var. *Glutinosa*). Lee *et al* (2013) juga melakukan penelitian aktivitas enzim SOD pada daun dan akar tanaman padi jenis *Pokkali* dan IR 29. Hasilnya menunjukkan adanya aktivitas enzim SOD yang signifikan saat penambahan garam NaCl 100 mM pada hari ke-7.

Enzim catalase (CAT) dan *superoxide dismutase* (SOD) dari tanaman padi adalah protein yang sangat penting karena berfungsi sebagai penghambat meningkatnya produk *Reactivity Oxygen Species* (ROS) saat tanaman padi mengalami cekaman garam. Selain itu, enzim catalase (CAT) dan *superoxide dismutase* (SOD) banyak digunakan sebagai target penelitian, terutama penelitian tingkat molekular. Namun, penelitian tentang enzim CAT dan SOD masih

sangat terbatas karena salah satunya belum ditemukan struktur 3D-nya. Penelitian penentuan struktur 3D dari enzim CAT dan SOD belum pernah dilakukan. Ini dibuktikan belum tersedianya *database* struktur 3D dari enzim CAT dan SOD pada *Protein Data Bank* (RCSB PDB). Penentuan struktur 3D enzim CAT dan SOD dapat dilakukan secara *in silico* menggunakan *web server Swiss-Model dan Phyre<sup>2</sup>*.

## BAB II STRUKTUR PROTEIN DAN ENZIM

### 2.1 Struktur Protein

Protein tersusun atas satuan yang berupa asam amino. Jumlah asam - asam amino yang umum terdapat pada protein adalah 20 macam. Satu asam amino terdiri atas satu gugus amino, satu gugus karboksil, satu atom hidrogen, dan satu rantai samping yang terikat pada atom karbon. Rantai samping asam amino dapat dibedakan atas (1) polar, bermuatan negatif (aspartat, asam glutamat), (2) polar, bermuatan positif (arginin, histidin, lisin), (3) polar, tidak bermuatan (asparagin, glutamin, serin, dan threonin), (4) non polar/hidrofobik (alanin, cystein, isoleucine, leucine, metionin, phenilalanin, prolin, triptofan, tirosin, dan valin), (5) netral (glisin). Asam-asam amino yang bersifat polar disebut juga sebagai asam-asam amino yang hidrofilik (Annisa et al., 2020); (Yuwono, 2012). Nama asam amino dan simbolnya disajikan pada **Tabel 1**.

**Tabel 1.** 20 Asam amino dan simbolnya (Yuwono, 2012)

Asam amino	Simbol satu huruf	Simbol tiga huruf
Alanine	A	Ala
Arginine	R	Arg
Asparagine	N	Asn
Asam asparatat	D	Asp
Cysteine	C	Cys
Glutamine	Q	Gln
Asam glutamate	E	Glu
Glycine	G	Gly
Histidine	H	His
Isoleucine	I	Ile
Leucine	L	Leu
Lysne	K	Lys
Methionine	M	Met
Phenylalanine	F	Phe

Proline	P	Pro
Serine	S	Ser
Theronine	T	Thr
Tryptophan	W	Trp
Tyrosine	Y	Tyr
Valine	V	Val

Protein berdasarkan strukturnya terbagi menjadi 4, yaitu:

a. Struktur primer

Urutan asam amino yang menyusun suatu rantai polipeptida membentuk struktur primer protein. Struktur primer sering disebut juga sebagai struktur satu dimensi atau 1D. Struktur primer menentukan struktur 2D, 3D, 4D dan juga fungsi protein. Struktur primer tersusun atas polimer asam amino linear yang dihubungkan oleh ikatan peptida (Saudale, 2020b).

b. Struktur Sekunder

Struktur sekunder protein adalah daerah pada rantai polipeptida yang terstabilisasi dengan jembatan atom H dan membentuk konformasi yang terdefinisi. Ikatan hidrogen terbentuk di antara atom-atom di sepanjang tulang punggung (*backbone*) rantai polipeptida. Interaksi intermolekul, melalui rantai samping asam amino membentuk pola lipatan dari rangka protein menghasilkan pola tiga dimensi berulang. Pada sebagian besar protein globular, struktur heliks- $\alpha$  ( $\alpha$ -*helix*) dan lembar bergelombang  $\beta$  ( $\beta$ -*sheet*) dijumpai berdampingan. Di samping itu, terdapat juga daerah yang tidak beraturan atau *random coil* dari rantai peptida (Susanti & Febriana, 2017).

c. Struktur Tersier

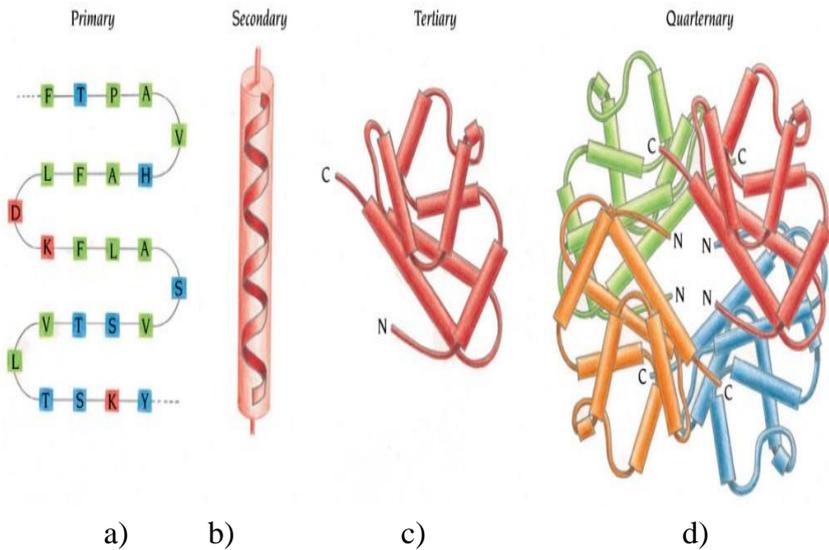
Konformasi tiga dimensi dari suatu protein yang terlipat dan aktif secara biologis, dikenal sebagai struktur tersier. Struktur tersier protein terbentuk karena terjadinya pelipatan (*folding*) rantai  $\alpha$ -*helix*,  $\beta$ -*sheet*, maupun *random coil* suatu polipeptida, membentuk globular, yang struktur tiga dimensinya lebih rumit daripada protein

tersebut. Interaksi intramolekuler seperti ikatan hidrogen, ikatan ion, *van der Waals*, dan ikatan hidrofobik turut menentukan orientasi struktur tiga dimensi dari protein (Susanti & Febriana, 2017).

#### d. Struktur Kuartener

Beberapa protein tersusun lebih dari satu rantai polipeptida. Struktur kuartener protein menggambarkan subunit-subunit yang berbeda dihimpun bersama-sama membentuk struktur protein. Beberapa molekul protein dapat berinteraksi secara fisik tanpa ikatan kovalen membentuk oligomer yang stabil (misalnya dimer, trimer, atau kuartomer) dan struktur kuartener. Kemantapan struktur kuartener suatu protein oligomer disebabkan oleh interaksi dan ikatan nonkovalen yang lemah antara masing-masing subbagiannya. Kemampuan untuk berhimpun diri dari beberapa subbagian ini merupakan ciri struktur kuartener suatu protein oligomer (Susanti & Febriana, 2017).

**Gambar 1** menunjukkan masing-masing struktur protein, yaitu protein primer, sekunder, tersier dan kuartener. Protein primer berupa urutan sekuen asam amino. Protein sekunder dalam bentuk *helix*. Protein tersier dalam bentuk 3D. Sedangkan protein kuartener adalah struktur 3D yang lebih rumit.



**Gambar 1.** Struktur Protein: a) primer, b) sekunder, c) tertier, d) kuartern (Branden & Tooze, 2012)

Protein di dalam tubuh manusia maupun hewan memegang peranan yang penting. Protein berperan sebagai komponen penyusun struktur sel. Protein juga berfungsi sebagai antibodi, protein hemoglobin, protein myoglobin, sebagai hormon, protein sebagai enzim (Nurhayati & Darmawati, 2019). Berikut adalah beberapa contoh peran protein dalam tubuh manusia:

a) Peran sebagai enzim

Protein yang memfasilitasi reaksi biokimia, misalnya, pepsin. Pepsin merupakan enzim pencernaan dalam perut yang membantu untuk memecah protein dalam makanan.

b) Peran sebagai antibodi

Protein yang diproduksi oleh sistem kekebalan tubuh untuk membantu menghilangkan zat-zat asing dan melawan infeksi.

c) Peran sebagai dalam DNA

Protein DNA mengatur struktur kromosom selama pembelahan sel dan/atau berperan dalam mengatur ekspresi gen, misalnya, protein histon dan kohesin.

d) Peran protein dalam otot

Protein kontraktil terlibat dalam kontraksi dan gerakan otot misalnya, aktin dan myosin.

e) Peran protein pada struktural

Protein struktural memberikan dukungan dalam tubuh kita, misalnya, protein dalam jaringan ikat, seperti kolagen dan elastin.

f) Peran protein dalam hormon

Protein hormon fungsi tubuh koordinasi, misalnya, insulin mengontrol kadar gula glukosa dalam sel.

g) Protein sebagai *transport*

Protein dapat melakukan transportasi dan bergerak disekitar molekul di tubuh kita, misalnya, hemoglobin mengangkut oksigen melalui darah (Sumbono, 2016).

## 2.2 Fungsi dan Peran Enzim Catalase (CAT)

Enzim katalase atau peroksidase mengandung senyawa heme yang mampu menguraikan senyawa hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen yang terbentuk melalui reaksi oksidasi dalam organel peroksisom (Untari et al., 2014). Katalase juga dikenal sebagai enzim antioksidan unik karena memiliki struktur yang sangat kaku dan cukup stabil sehingga relatif lebih tahan terhadap perubahan pH dan suhu, serta proteolisis (van Lith & Ameer, 2016). Enzim ini biasanya ditemukan pada manusia, hewan dan tumbuhan serta semua jenis eukariot aerob (Arabaci & Usluoglu, 2013). Enzim katalase memiliki struktur tetramer dengan empat gugus protoporfirin besi yang masing-masing terdiri lebih dari 500 asam amino (Alam & Ghosh, 2018).

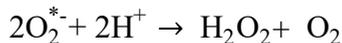
Berdasarkan sumbernya, enzim katalase dapat dipecah menjadi tiga kelas yaitu protein katalase kelas I banyak ditemukan pada bakteri dan tumbuhan dan memiliki sekitar 500 residu asam amino per subunit. Subunit besar memiliki 750 residu asam amino dalam enzim katalase kelas II yang ditemukan pada jamur dan bakteri. Terakhir, kelas enzim katalase yang paling banyak dipelajari adalah sistem kelas III pada spesies mamalia dan bakteri, yaitu hati daging sapi dan katalase manusia (Collins & Dawson, 2013). Berdasarkan homologi sekuens dan sifat kinetik enzimnya, protein katalase dapat diklasifikasikan menjadi typical catalase, katalase peroksidase, dan katalase mangan (Alam & Ghosh, 2018).

Aktivitas enzim katalase dapat dipertimbangkan sebagai biomarker yang sensitif terhadap stres oksidatif pada organisme karena enzim katalase mampu berperan sebagai sistem pertahanan antioksidan (Dewi, 2018). Stres oksidatif adalah kondisi patofisiologis, yang ditandai dengan ketidakseimbangan antara produksi pro-oksidan yang berlebihan dengan kemampuan mekanisme pertahanan antioksidan untuk mengatasi pro-oksidan tersebut. Ketika keseimbangan ini terganggu, spesies oksigen reaktif (ROS) dapat merusak lipid, DNA, karbohidrat, dan protein, yang dapat berdampak negatif pada fungsi sel, jaringan, dan organ (van Lith & Ameer, 2016). Kurangnya enzim katalase juga menghambat penguraian  $H_2O_2$  sehingga terproduksi secara berlebihan. Akibatnya, senyawa  $H_2O_2$  akan bereaksi terhadap molekul yang mengandung logam  $Fe^{2+}$  melalui reaksi fenton dan menghasilkan dua radikal  $\bullet OH$  yang berbahaya. Reaksi langsung  $H_2O_2$  dengan gugus  $-SH$  juga dapat menonaktifkan enzim, seperti fruktosa bifosfatase, sedoheptulosa bifosfatase, dan gliseraldehid 3-fosfat dehidrogenase. Selain itu, senyawa  $H_2O_2$  dapat bereaksi dengan metaloprotein, menyebabkan disosiasi ion logamnya dan menghambat aktivitas biologis (Sharma & Ahmad, 2014)..

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Wutipraditkul et al., (2011) menunjukkan bahwa stabilitas aktifitas enzim katalase dari *Oryza sativa* dipengaruhi oleh perubahan ekstrim pada pH dan suhu. Enzim katalase dari *Oryza sativa* dapat beraktifitas secara optimal pada kisaran pH 7 hingga 8. Hal ini sedikit berbeda dari beberapa enzim katalase yang berasal dari jagung dan kentang manis yang beraktifitas optimal berturut-turut pada pH 6,5 hingga 8,5 dan 7 hingga 9. Selain itu, enzim katalase dari *Oryza sativa* beraktifitas optimal pada suhu kisaran 25 oC hingga 30 oC dan enzim akan terdenaturasi pada kisaran suhu 50 oC hingga 55 oC. Di samping itu, enzim katalase dari *Oryza sativa* tergolong dalam typical catalase monofunctional, yaitu sebuah homotetramer yang mengandung empat gugus porfirin heme (Fe) yang memungkinkan enzim bereaksi dengan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.

### 2.3 Fungsi dan Peran Enzim Superoxide Dismutase (SOD)

Enzim *superoxide dismutase* adalah antioksidan berupa enzim yang mengkatalisis dismutase superoksida menjadi hidrogen peroksida dan oksigen. Secara skematis aktivitas enzim ini dapat ditulis sebagai berikut :



Enzim *superoxide dismutase* (SOD) merupakan enzim antioksidan yang dihasilkan oleh rantai transport elektron pada proses rantai pernapasan sel yang menghasilkan hidrogen peroksida. Enzim superoksida dismutase terdiri dari MnSOD pada mitokondria, Cu/ZnSOD pada sitosol dan FeSOD pada sitosol dan mitokondria. Fungsi enzim *superoxide dismutase* adalah memberikan perlindungan bagi organisme aerob terhadap kemungkinan efek superoksida yang merusak (Yuslianti, 2018).

Tumbuhan dengan berbagai jenis spesies yang berbeda umumnya mengandung isoform *superoxide dismutase* (SOD).

Berdasarkan situs logam aktifnya enzim SOD pada tumbuhan terbagi menjadi 3, yaitu FeSOD (Fe sebagai kofaktor), MnSOD (Mn sebagai kofaktor) dan Cu/ZnSOD (Cu dan Zn sebagai kofaktor; Cu adalah logam katalitik aktif redoks). Enzim *superoxide dismutase* (SOD) terletak di berbagai kompartemen seluler. FeSOD terletak di plastida, MnSOD terletak di matriks mitokondria, peroksisom dan ditemukan di dinding sel, sedangkan Cu/ZnSOD terjadi di sitosol, peroksisom, plastida, dan mungkin ruang ekstraseluler (Momčilović *et al.*, 2014).

*Reactive Oxygen Species* (ROS) diproduksi pada tanaman termasuk padi pada saat dalam keadaan stress oksidatif maupun tidak. Tanaman padi akan mengalami stress oksidatif yang disebabkan oleh lingkungan. Stress oksidatif menyebabkan meningkatnya produksi ROS seperti radikal superoksida dan hidrogen peroksida. Stress oksidatif dapat mengurangi pertumbuhan, mengganggu ultrastruktur kloroplas, menurunkan klorofil, dan kandungan nutrisi pada padi. Namun, tanaman padi memiliki sistem pertahanan yang berkembang dengan baik untuk membatasi produksi dan menghilangkan ROS. Enzim *superoxide dismutase* (SOD) adalah garis pertahanan pertama tanaman padi dalam mengatasi ROS. Penurunan klorofil dapat menurunkan efisiensi fotosintesis dengan cara menurunkan pembentukan ATP dan NADPH karena terhambatnya asimilasi CO<sub>2</sub>, meningkatkan peroksidasi lipid sehingga aktivitas enzim *superoxide dismutase* (SOD) dan katalase (CAT) meningkat dan menurunkan aktivitas enzim askorbat peroksidase dan enzim glutathione reduktase secara signifikan (Surakusumah *et al.*, 2020).

## **2.4 Peran Kajian In Silico dalam Pemodelan Protein**

Bioinformatika didefinisikan sebagai bidang ilmu yang merupakan pertemuan berbagai disiplin ilmu dengan tujuan mengatur dan menyimpan sejumlah besar informasi biologis yang

didorong oleh kemajuan yang dihasilkan dalam genetika, biologi molekular, dan bioteknologi. Sejumlah disiplin ilmu yang mendukung bioinformatika antara lain adalah biologi, biokimia, kimia, ilmu komputer, teknik, matematika dan statistika. Kajian bioinformatika tentang prediksi struktur 3 dimensi (3D) umumnya dilakukan untuk mengungkap hubungan struktur-fungsi protein. Karena struktur 3D suatu protein dapat ditentukan berdasarkan analisis urutan dan penyelarasan (*alignment*) asam amino penyusunnya (Ethica, 2019).

Secara bioinformatika (*in silico*), pemodelan struktur 3D protein terbagi menjadi 3, yaitu:

a. Pemodelan Homologi (*Homology Modelling*)

Pemodelan homologi dilakukan dengan cara membandingkan kemiripan susunan asam amino protein target dengan protein organisme lain yang memiliki kedekatan secara evolusi dan yang berasal dari leluhur yang sama. Protein homolog dari organisme yang lain tersebut adalah protein yang telah diketahui struktur 3D-nya melalui eksperimen dan yang memiliki kesamaan susunan asam amino dengan protein target minimal di atas 30%. Protein homolog ini kemudian digunakan sebagai cetakan (*template*) untuk membangun model protein target. Pemodelan homologi dilakukan berdasarkan atas asumsi bahwa protein dengan susunan asam amino yang mirip atau sama mempunyai bentuk struktur 3D yang mirip dan sama pula. *Web server* yang dapat digunakan untuk pemodelan homologi adalah I-TASSER, MODELLER, dan SWISS-MODEL (Saudale, 2020b).

b. *Fold Recognition*

Metode *fold recognition* membangun struktur 3D protein target berdasarkan pendeteksian fragmen - fragmen lipatan (*fold recognition*) yang sama yang didapat dari protein yang tersimpan di *Protein Data Bank* RSCB PDB yang memiliki kemiripan urutan asam amino dari protein target. Fragmen - fragmen lipatan yang

sudah teridentifikasi ini kemudian dirangkai satu sama lain menjadi suatu struktur 3D protein yang utuh. *Web server* yang digunakan pada pemodelan metode *fold recognition* adalah Phyre<sup>2</sup> (Saudale & Suatu, 2020).

c. *Ab initio*

Istilah lain *Ab initio* adalah *de novo modeling* dan *free template based*. *Ab initio* melakukan pemodelan protein target yang didasarkan hanya berdasarkan informasi susunan residu asam amino penyusunnya. Memprediksi struktur 3D protein target dengan hanya berdasarkan informasi sekuen asam amino melalui analisis sifat fisikokimia dan energi struktural merupakan prediksi yang sulit dilakukan dengan akurat dan masih didapatkan tingkat kesalahan yang tinggi. Hal ini disebabkan karena masih sedikitnya pengetahuan yang didapatkan tentang mekanisme bagaimana protein melipat ke dalam bentuk struktur 3D yang spesifik berdasarkan informasi urutan asam aminonya. Metode pemodelan yang menerapkan pendekatan *Ab initio* adalah ROSETTA(Saudale, 2020b).

## **BAB III INSTRUMENTASI PEMODELAN PROTEIN**

### **3.1 Pemodelan Protein Menggunakan Swiss-Model**

Swiss-Model adalah salah satu server pemodelan homologi protein otomatis pertama dan terus ditingkatkan selama 25 tahun terakhir. Saat ini, Swiss-Model menghasilkan lebih dari 3000 model sehari pada tahun 2014 sehingga menjadikannya salah satu server pemodelan struktur yang paling banyak digunakan di seluruh dunia (Waterhouse et al., 2018). Ruang kerja Swiss-Model menyediakan berbagai fitur yang memungkinkan pengguna untuk memvalidasi dan memodifikasi langkah pemodelan yang berbeda secara manual. Selain itu juga, mengintegrasikan program dan database yang diperlukan untuk pemodelan homologi berbasis web yang mudah digunakan. Ini memungkinkan pengguna untuk membangun model protein komparatif dari komputer dengan koneksi web tanpa perlu mengunduh dan menginstal program dan database yang besar (Arnold et al., 2006a). Dari pengidentifikasian protein template hingga pembangunan model diproses secara otomatis oleh server secara keseluruhan (Saudale, 2020b). Semua data yang relevan dari proyek pemodelan disajikan dalam sinopsis grafis (Bordoli et al., 2009).

Akurasi, stabilitas, dan kehandalan dari jaringan server Swiss-Model telah divalidasi oleh proyek evaluasi EVACM secara otomatis (Arnold et al., 2006b). Namun, memvalidasi kualitas model merupakan aspek sentral dari pemodelan struktur protein karena keakuratan kualitas model menentukan kegunaannya untuk aplikasi spesifik dalam penelitian ilmu hayati. Seringkali ketika membangun model struktural untuk protein tertentu, sebaiknya menghasilkan beberapa model berdasarkan alternatif penyelarasan target-template, terutama jika urutannya hanya berhubungan jauh (Bordoli & Schwede, 2012).

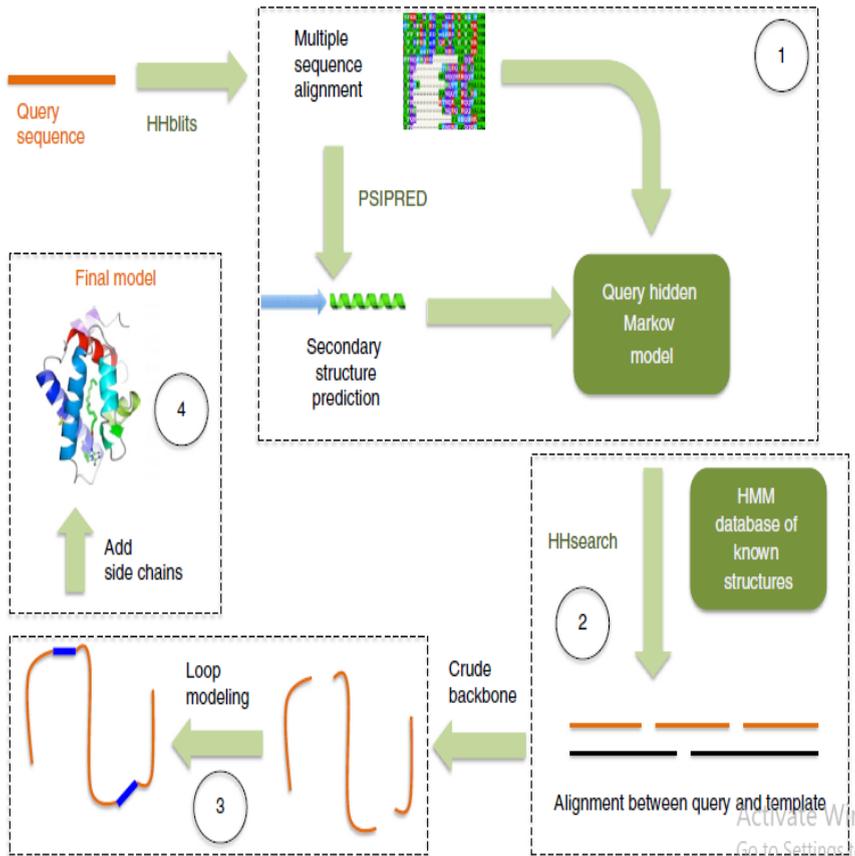
Menurut Bordoli & Schwede (2012), Swiss-Model didukung oleh beberapa tools yang diperlukan untuk menyelesaikan tugas pemodelan di antaranya sebagai berikut:

1. Program anotasi struktur urutan protein seperti InterProScan untuk motif domain protein dan pengenalan famili, PsiPred untuk prediksi struktur sekunder, DisoPred untuk prediksi gangguan, dan MEMSAT untuk memprediksi segmen transmembran.
2. Program pencarian database untuk pemilihan template seperti Blast, Iterative Profile Blast, dan HHsearch.
3. Program untuk struktur protein dan evaluasi kualitas model seperti QMEAN, Gromos, dan ANOLEA untuk memperkirakan akurasi lokal (per residu) pada model, DFire untuk memperkirakan kualitas global model, WHATCHECK dan PROCHECK untuk memverifikasi stereokimia struktur protein dan model molekuler, dan DSSP dan Promotif untuk mengevaluasi fitur struktural, seperti elemen.

### **3.2 Pemodelan Protein Menggunakan Phyre2**

Salah satu *web server* yang umum digunakan untuk memodelkan struktur 3D protein adalah Phyre<sup>2</sup>. Phyre<sup>2</sup> adalah seperangkat alat yang tersedia di *web* untuk memprediksi dan menganalisis struktur, fungsi, dan mutasi protein. Phyre<sup>2</sup> dirilis pada Januari 2015 dan merupakan salah satu *web server* yang paling banyak digunakan untuk prediksi struktur protein, melayani ~40.000 pengguna per tahun dan memproses ~700–1.000 protein yang dikirim pengguna per hari. Fokus dari Phyre<sup>2</sup> adalah menyediakan alat bioinformatika protein yang mutakhir dengan antarmuka yang sederhana dan intuitif. Phyre<sup>2</sup> menggunakan metode deteksi homologi jarak jauh lanjutan untuk membangun model 3D, memprediksi pengikatan ligan situs dan menganalisis pengaruh varian asam amino untuk urutan protein target (Kelley et al., 2015).

Prinsip kerja Phyre<sup>2</sup> adalah pertama-tama membangun profil evolusi dari protein target dengan cara mengumpulkan sejumlah besar protein homolog yang beragam baik yang jauh maupun dekat secara evolusi. Ini dilakukan dengan metode HHblits (Remmert *et al.*, 2012). HHblits digunakan untuk memindai sekuen asam amino protein target (*query sequence*) terhadap sekuen asam amino protein-protein di *database* yang tidak memiliki identitas di atas 20%. Proses ini menghasilkan suatu profil sekuen yang ditampilkan dalam bentuk penjajaran sekuen jamak (*multiple sequence alignment*) yang juga digunakan untuk memprediksi keberadaan struktur sekunder (*secondary structure prediction*) seperti  *$\alpha$ -helix*,  *$\beta$ -sheet* dan *coil* menggunakan metode PSIPRED (Jones, 1999). Fragmen-fragmen lipatan kemudian diidentifikasi di dalam *database* (*fold library scanning*) dari struktur protein-protein yang telah diketahui dalam bentuk penjajaran sekuen. Hasil penjajaran ini digunakan untuk menghasilkan model rantai utama protein yang masih kasar (*crude backbone*) yang belum memiliki rantai samping dan terkadang juga terdapat insersi (penyisipan asam amino baru) dan delesi (penghapusan asam amino yang ada). *Loop* dan rantai samping kemudian ditambahkan untuk menghasilkan struktur model yang lengkap (Saudale, 2020). Prinsip kerja pemodelan protein menggunakan Phyre<sup>2</sup> dapat dilihat pada Gambar 2.



**Gambar 2.** Prinsip kerja pemodelan menggunakan web server *Phyre<sup>2</sup>* (Kelley et al., 2015).

### 3.3 Beberapa Cara Validasi Model Protein

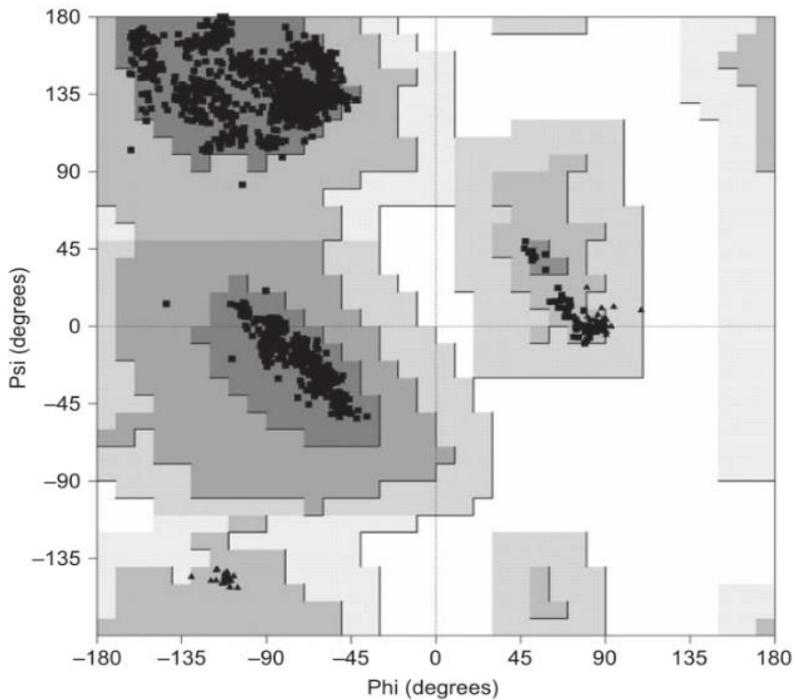
Validasi model protein dapat dilakukan dengan menggunakan *web server Structure Analysis and Verification Server v6.0* atau dikenal *SAVESv6.0* (<https://saves.mbi.ucla.edu/>). *SAVESv6.0* menyediakan 5 program validasi struktural yaitu *VERIFY 3D*, *ERRAT*, *PROVE*, *PROCHECK* dan *WHATCHECK*. *VERIFY 3D* memeriksa kompatibilitas struktur model 3D protein

berdasarkan letak residu penyusun dan membandingkannya dengan struktur eksperimental yang tersedia (Lüthy et al., 1992). ERRAT memverifikasi keakuratan interaksi-interaksi non-ikatan antara berbagai jenis atom di dalam struktur model berdasarkan perbandingan parameter statistik menggunakan struktur eksperimental dengan resolusi tinggi (Colovos & Yeates, 1993). PROVE menghitung penyimpangan statistik (*z-score*) model dari struktur eksperimental dengan membandingkan volume atom-atomnya (Pontius et al., 1996). PROCHECK menilai kualitas stereokimia protein berdasarkan analisis geometri residu-residu asam amino penyusun model struktur yang dibandingkan dengan struktur protein eksperimental resolusi tinggi dan menampilkannya dalam bentuk Plot Ramachandran (Laskowski et al., 1993). WHATCHECK melakukan perhitungan secara lebih ekstensif terhadap parameter-parameter stereo-kimia (Hooft et al., 1996).

Validasi model protein pada penelitian ini dilakukan menggunakan program PROCHECK yang terdapat pada *web server* SAVESv6.0 (<https://saves.mbi.ucla.edu/>). PROCHECK digunakan untuk memeriksa kualitas model protein secara stereokimia seperti pemeriksaan simetri, pemeriksaan geometri (panjang ikatan, sudut ikatan, sudut torsi, dll) (Raza et al., 2017). Model protein yang berhasil dilakukan melalui pemodelan umumnya masih terdapat keterbatasan dalam data struktural dan kesalahan yang dapat terjadi. Oleh karena itu, melakukan validasi pada model protein yang dihasilkan sangat penting untuk dilakukan. Validasi yang paling penting dilakukan adalah membandingkan sudut *backbone dihedral* ( $\Phi$  dan  $\psi$ ) pada model protein. Sudut *backbone dihedral* yaitu phi dan psi ( $\Phi$  dan  $\psi$ ) dapat divisualisasikan lewat *Ramachandran plot*. *Ramachandran plot* memberikan informasi bahwa struktur yang bagus akan mempunyai sudut pada daerah yang diperbolehkan (*allowed*). Selain itu, distribusi asam amino yang bersifat hidrofobik

dan hidrofilik serta populasi *rotamers sidechain* juga dapat diketahui (Campbell, 2012).

**Gambar 3** adalah contoh *Ramachandran plot* dimana pada daerah yang berwarna putih pada plot menunjukkan secara energi tidak disukai (*unfavored*) dan seharusnya sebuah struktur tidak memiliki banyak residu pada daerah yang tidak disukai (*unfavored*) ini. Daerah pada warna abu-abu gelap lebih disukai. Pada plot dapat dilihat bahwa sebagian besar titik hitam yang ditentukan secara eksperimental terletak pada daerah yang diperbolehkan (*allowed*) (Campbell, 2012).



**Gambar 3.** Ramachandran plot (Campbell, 2012)

## BAB IV TEKNIK PEMODELAN PROTEIN

### 4.1 Pemilihan Sekuen Protein Target

Protein yang dipilih adalah enzim katalase dari tanaman padi (*Oryza sativa*) yang sekuennya telah ditentukan secara eksperimental tetapi belum ditentukan struktur tiga dimensinya. Sekuen enzim katalase dicari pada database NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) yang diakses menggunakan laptop yang telah terkoneksi internet. Kata kunci catalase *Oryza sativa* dengan preferensi protein yang diketik pada kolom pencarian untuk penelusuran sekuen target, lalu tekan enter. Setelah data dari daftar protein target ditemukan, protein target dengan kode accession AKO90140 yang terdapat pada daftar teratas dipilih sebagai protein target. Data yang tersedia disimpan bersamaan dengan urutan sekuen asam amino yang diunduh dalam format FASTA (Komari et.al., 2022). Langkah-langkah pemilihan sekuen protein sebagai berikut:

1. Server NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) diakses dengan Google Chrome.
2. Tulisan “catalase and *Oryza sativa*” diketik pada kolom pencarian dengan prefensi protein.
3. ENTER ditekan lalu ditunggu beberapa saat.
4. Tampilan akan menunjukkan daftar data enzim katalase *Oryza sativa*
5. Kode akses AKO90140 dipilih dengan mengklik pada daftar tampilan yang nampak.
6. Data sekuen enzim katalase dengan kode asesi AKO90140 *Oryza sativa* ditampilkan secara menyeluruh.
7. Tools FASTA ditekan untuk mengakses sekuen protein dalam format FASTA.
8. Sekuen protein disalin dan disimpan dalam format FASTA.
9. Sekuen protein target didapat untuk pekerjaan selanjutnya.

Sedangkan sekuen asam amino protein enzim *superoxide dismutase* (SOD) pada padi (*Oryza sativa*) diambil dari database *Web server* UniProt KB (<https://www.uniprot.org/>) dalam format FASTA dengan kode UniProt A0A6F8FUX1. Sekuen protein yang dipilih disimpan dalam format FASTA. Langkah-langkah pemilihan sekuen protein sebagai berikut:

1. *Web server* UniProt KB (<https://www.uniprot.org/>) diakses dengan Google Chrome.
2. Tulisan “SOD” diketik pada kolom pencarian.
3. *ENTER* ditekan dan ditunggu beberapa saat sampai muncul data semua SOD.
4. Tampilan data protein SOD nampak pada layar.
5. Tulisan “*Oryza sativa*” diketik pada kolom *other organisms*, untuk memilih jenis organismenya.
6. *ENTER* ditekan dan ditunggu beberapa saat sampai data nampak di layar
7. Tampilan data protein SOD pada padi (*Oryza sativa*) dapat dilihat di layar
8. Dipilih salah satu protein yang belum memiliki struktur 3D pada RSCB PDB dengan meng klik kode aksesnya.
9. Sekuen protein disalin dan disimpan dalam format FASTA
10. Sekuen target protein didapat dan digunakan untuk proses selanjutnya.

#### **4.2 Analisis Protein Target menggunakan ProtParam**

Analisis protein target dilakukan pada *web server* ProtParam tool (<https://web.expasy.org/protparam/>). Analisis dilakukan untuk mengetahui sifat fisika dan kimia protein target. *Web server* ProtParam tool diakses menggunakan *software* Google Chrome pada perangkat keras komputer yang telah terhubung dengan koneksi internet. Sekuen protein target dalam format FASTA

diisikan pada kolom *amino acid sequence*. *Compute parameters* diklik dan tunggu beberapa saat. Tampilan akan memunculkan sifat fisika dan kimia protein target. Langkah-langkah analisis karakteristik fisikokimia dengan ProtParam sebagai berikut:

1. *Web server* ProtParam tool (<https://web.expasy.org/protparam/>) diakses dengan google chrome.
2. Sekuen protein target dalam format FASTA disalin dan diisikan/disubmit pada kolom *acid amino sequence*.
3. *Compute parameters* diklik dan ditunggu beberapa saat.
4. Tampilan akan memunculkan sifat fisika dan kimia protein target yang telah diisikan sekuennya.
5. Hasil didapat pada layer dan dapat disimpan.
6. Analisis hasil dilakukan pada setiap parameter yang disajikan.

#### **4.3 Identifikasi Template pada Swiss-Model**

*Web server* Swiss-Model (<https://swissmodel.expasy.org/>) digunakan untuk pemilihan *template* dan pemodelan. *Server* Swiss-Model diakses hingga halaman beranda (*home*) ditampilkan. Kemudian *Start Modelling* ditekan untuk memulai pengidentifikasian. Setelah teralih pada layer atau halaman *interactive workspace*, data sekuen protein target yang telah disimpan dalam format FASTA dimasukkan/diisikan pada kolom "*Target Sequence*". Kemudian data umum berupa *project title* dan *email address* diisi dengan data yang sesuai. Lalu, dipilih *tools* "*Search For Templates*" untuk memulai penelusuran *template* yang cocok terhadap target. Terakhir, beberapa saat ditunggu hingga hasil *template* yang cocok terhadap target berhasil diperoleh.

Pemodelan dilakukan setelah *template* berhasil didapatkan dan dipilih salah satu *template* yang dianggap baik. *Template* 4qol.1.A dari daftar *template* yang tersedia dipilih sebagai *template* yang paling cocok dengan target. Kemudian, ditekan *tools* "*Build Models*" yang tersedia pada halaman *interactive workspace* yang secara otomatis akan membangun struktur tiga dimensi dari protein

target. Hasil pemodelan akan ditampilkan setelah menunggu beberapa saat. Langkah-langkah identifikasi template sebagai berikut:

1. *Server* Swiss-Model (<https://swissmodel.expasy.org/>) diakses dengan google chrome.
2. *Start Modelling* ditekan atau di klik untuk memasukkan sekuen protein dalam format FASTA.
3. Sekuen target dimasukkan pada kolom *Target Sequence* dan *project title* serta *email address* diisi dengan data yang sesuai.
4. Tampilan daftar *template* yang cocok dengan target Nampak pada layer.
5. *Template* 4qol.1.A dipilih sebagai *template* yang paling cocok untuk dimodelkan.
6. *Build Models* ditekan untuk melakukan proses pemodelan sampai didapat model.
7. Hasil model yang didapat selanjutnya dianalisis dan dievaluasi.

#### **4.4 Identifikasi *Template* dan Pemodelan Phyre<sup>2</sup>**

Identifikasi *template* dan pemodelan dilakukan pada *web server* Phyre<sup>2</sup>

(<http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/~phyre2/html/page.cgi?id=index>).

*Web server* Phyre<sup>2</sup> diakses menggunakan *software* Google Chrome pada perangkat keras komputer yang telah terhubung dengan koneksi internet. Sekuen protein target dalam format FASTA dari UniProt KB disalin dan ditempelkan pada kolom *Amino Acid Sequence*. *Normal mode* dipilih dan diklik *Phyre Search* untuk memulai identifikasi *template* dan pemodelan. *Template* yang dihasilkan akan dipilih berdasarkan nilai *confidence* 100% dan nilai i.d. di atas 20%. Langkah-langkah identifikasi template sebagai berikut:

1. *Web server* Phyre<sup>2</sup> diakses dengan google chrome.
2. Tampilan *homepage* Phyre<sup>2</sup> akan Nampak pada layer.
3. Sekuen protein target dalam format FASTA disalin dari file yang sebelumnya telah dipersiapkan.

4. Kolom *Amino Acid Sequence* diisi sekuen protein target dalam format FASTA.
5. Kolom *E-mail Address* diisi sesuai data diri.
6. Kolom *Optional Job description* diisi sesuai data protein target (opsional).
7. *Modelling mode* dipilih *Normal* dan dipilih *NOT for Profit*, untuk keperluan pembelajaran.
8. *Phyre Search* diklik untuk memulai pemodelan dan ditunggu beberapa saat. Terkadang memerlukan waktu cukup lama, tergantung tingkat kerumitan model. Proses ini juga melalui beberapa tahap pemodelan.
9. Tampilan beberapa *template* dan model akan Nampak di layer.
10. *Template* dan model dipilih berdasarkan nilai *Confidence* 100% dan nilai i.d. diatas 20% sebagai model terbaik.
11. *Template* dan model didapat dan selanjutnya digunakan evaluasi model.

#### 4.5 Evaluasi Model Menggunakan Swiss-Model

Evaluasi model dilakukan dengan penilaian struktur hasil permodelan protein target menggunakan Swiss-Model dengan cara memilih Tools “*Structure Assessment*” pada tampilan model result untuk memperoleh data yang telah dievaluasi. Terakhir, ditunggu beberapa saat hingga hasil evaluasi model selesai diproses. Evaluasi model akan menjelaskan penilaian struktur seperti nilai Identity, QMEAN, GMQE, *Quality Estimate*, *Molprobit* dan *Ramachandran Plots*. Langkah-langkah evaluasi model sebagai berikut:

1. *Server* Swiss-Model diakses (pada halaman *models results* setelah pemodelan selesai) dengan google chrome.
2. Model yang telah dibangun ditampilkan bersama struktur tiga dimensi pada layar.
3. Tools “*Structure Assesment*” ditekan dan ditunggu beberapa saat.
4. Hasil evaluasi model ditampilkan pada layar.
5. Hasil evaluasi model dianalisis dari beberapa aspek.

#### 4.6 Evaluasi Model dengan Phyre 2

Evaluasi model dilakukan pada *web server* Phyre<sup>2</sup> setelah proses identifikasi *template* dan pemodelan protein selesai ([http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/phyre2\\_output/ca601671cde736c0/summary.html](http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/phyre2_output/ca601671cde736c0/summary.html)). Model dengan nilai-nilai parameter tertinggi dipilih kemudian *Run investigator* diklik pada *Detailed template information*. *Confirm Phyre Investigator submission* diklik untuk memulai evaluasi model. Parameter-parameter untuk evaluasi model akan muncul seperti *Quality* dan *Function*. *Quality* memiliki 7 *tools* untuk validasi model yaitu *ProQ2 quality assessment*, *clashes*, *rotamers*, *Ramachandran analysis*, *alignment confidence* dan *disorder*. *Function* memiliki 3 *tools* untuk evaluasi model yaitu *conservation*, *pocket detection* dan *mutational sensitivity*. Langkah-langkah evaluasi model sebagai berikut:

1. *Web server* Phyre<sup>2</sup> diakses (pada halaman setelah pemodelan selesai) dengan google chrome.
2. *Template* dipilih dan *Run investigator* diklik pada *Detailed template information*.
3. *Confirm Phyre Investigator submission* diklik dan ditunggu beberapa saat
4. Tampilan untuk memulai evaluasi model muncul di layar.
5. Hasil evaluasi model dengan berbagai variabel nampak
6. Hasil evaluasi model dianalisis dari semua factor yang tersedia.

#### 4.7 Validasi model Menggunakan Phyre 2

Validasi model protein dilakukan menggunakan program PROCHECK pada *web server* SAVESv6.0 (<https://saves.mbi.ucla.edu/>). *File* model yang dipilih pada *web server* Phyre<sup>2</sup> diunduh dalam format .pdb dan disimpan pada tempat penyimpanan (*harddisk*). *Web server* SAVESv6.0 diakses menggunakan *software* Google Chrome pada perangkat keras komputer yang telah terhubung dengan koneksi internet. *Choose file* diklik dan unggah *file* model dalam format .pdb kemudian *Run programs* diklik. Tampilan akan memunculkan beberapa program selain PROCHECK, *Start* diklik pada program PROCHECK untuk memulai proses validasi dan tunggu beberapa saat. *Results* diklik dan tampilan akan memunculkan parameter-parameter untuk

validasi model protein seperti, *Ramachandran plot*, *chi1-chi2 plot*, *side-chain params* dan *residue properties*. Langkah-langkah validasi model sebagai berikut:

1. *Web server SAVESv6.0* (<https://saves.mbi.ucla.edu/>) diakses dengan google chrome.
2. *Choose file* diklik dan diunggah *file model* dalam format *.pdb*
3. *Run programs* diklik untuk menampilkan hasil.
4. *Start* diklik pada pilihan program PROCHECK untuk memulai proses validasi model.
5. *Results* diklik dan tampilan akan memunculkan parameter-parameter untuk validasi protein model.
6. Hasil dianalisis dari data yang tersedia.

#### **4.8 Visualisasi Model Struktur Protein Target**

Visualisasi struktur tiga dimensi antara protein *template* dan protein target dilakukan menggunakan program UCSF Chimera. Setelah data model dan *template* disimpan dalam format *.pdb* program Chimera dibuka hingga tampilan awal ditampilkan. *File* ditekan lalu *open* dipilih untuk membuka folder penyimpanan dan memasukkan data ke dalam program UCSF Chimera. Data model yang tersimpan dipilih dan dibuka hingga struktur tiga dimensi ditampilkan pada jendela grafik. Selanjutnya, data *template* dimasukkan dengan cara yang sama yaitu *file* ditekan lalu *open* dipilih untuk membuka folder penyimpanan dan memasukkan data ke dalam program Chimera. Setelah kedua struktur ditampilkan, perbandingan struktur dilakukan. *Structure comparison* yang berada dalam sub-grup *tools* dipilih dan fitur *matchmaker* ditekan untuk memulai proses pencocokan kedua struktur tersebut. Hasil ditampilkan pada jendela grafik dan dapat diamati struktur dari model dan *template* yang saling tumpang tindih satu sama lain. Langkah-langkah visualisasi model sebagai berikut:

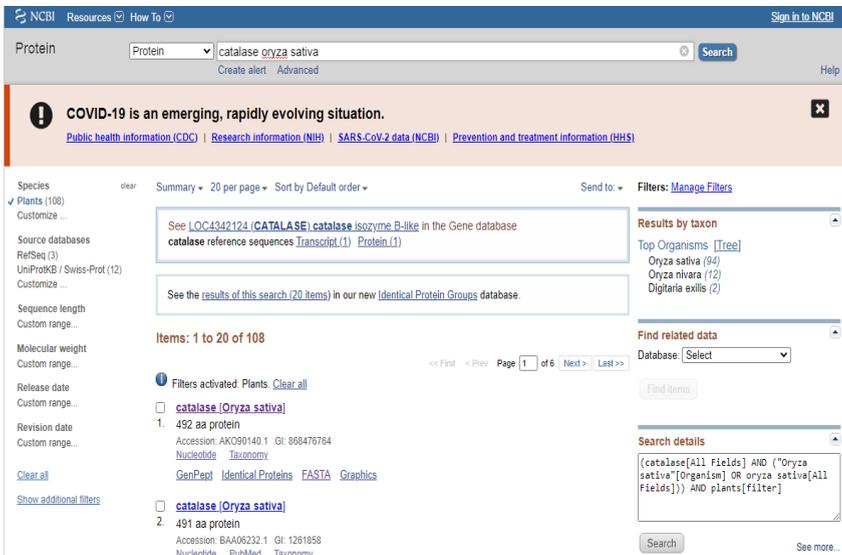
1. Program UCSF Chimera dibuka dengan google chrome.
2. *Open* pada *subgrup file* dipilih untuk memasukkan data model dan *template* dari file dengan format *pdb* yang telah disiapkan.

3. Kedua struktur ditampilkan pada jendela grafik, sehingga di layar nampak ada 2 struktur protein.
4. *Structure comparison* pada subgrup *tools* ditekan dan fitur *matchmaker* dipilih untuk melihat perbandingan kedua protein.
5. Kedua struktur yang saling bertumpang tindih ditampilkan pada jendela grafik dengan diberi label atau warna yang berbeda
6. Hasil perbandingan gambar dari residu asam amino dianalisis

# BAB V KARAKTERISTIK ENZIM CATALASE DAN SUPEROKSIDA DISMUTASE TANAMAN PADI

## 5.1 Sekuen Protein Target CAT

Pemilihan protein target pada penelitian ini telah ditetapkan yaitu enzim katalase dari tanaman padi (*Oryza sativa*). Pencarian dilakukan dengan mengekses *database* pada *server* NCBI menggunakan kata kunci “*catalase AND Oryza sativa*” dengan preferensi protein. Hasil pencarian enzim katalase pada tanaman padi sebanyak 108 protein yang di akses pada tanggal 1 Maret 2021. Berdasarkan hasil yang didapat, dipilih enzim katalase dari tanaman padi dengan kode *accession* AKO90140 karena belum mempunyai struktur tiga dimensi. Hasil penelusuran dapat dilihat pada tampilan **Gambar 4**.



The screenshot shows the NCBI protein search interface. The search query is "catalase oryza sativa". The results page displays 108 items, with the first two items listed:

1. 492 aa protein  
Accession: AKO90140.1 | GI: 888476764  
Nucleotide | Taxonomy  
GenPept | Identical Proteins | FASTA | Graphics
2. 491 aa protein  
Accession: BAA06232.1 | GI: 1261858  
Nucleotide | PubMed | Taxonomy

The interface also includes a left sidebar with filters for Species (Plants), Source databases, and other search options. A right sidebar shows taxonomic results and search details.

**Gambar 4.** Penelusuran CAT *Oryza sativa* pada NCBI

*Database* terkait enzim katalase dengan kode *accession* AKO90140 yang tersimpan pada *server* NCBI meliputi *locus*, *definition*, *accession*, *version*, *DBSource*, *keyword*, *source*, *organism*, *reference*, *author*, *title journal*, *comment*, *features*, dan *origin* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/AKO90140.1>). Dalam permodelan protein, identitas protein target adalah data sekuen asam aminonya dalam format FASTA yang terdapat pada Gambar 14. Protein target yang dipilih merupakan protein enzim katalase *Oryza sativa*, sejenis biji-bijian. Jumlah sekuen dari protein target yang didapat dari *database* NCBI sebanyak 492 residu asam amino. Data sekuen ini dipublikasikan pada tanggal 11 Juli 2015 pada *server* NCBI., seperti pada **Gambar 5**.

## catalase [Oryza sativa]

GenBank: AKO90140.1

[GenPept](#) [Identical Proteins](#) [Graphics](#)

```
>AKO90140.1 catalase [Oryza sativa]
MDPYKHRPSSGSNSTFWTTNSGAPVWNNNSALTVGERGPILLEDYHLIEKLAQFDRERIPERVVHARGAS
AKGFFEVTHTDISHLTCADFLRAPGVQTPVIVRFSTVVERGSPETLRDPRGFVAVKLYTREGNFDLVGNM
PVFFIRDGMKFPDMVHAFKPSPTNMQENWRIVDFFSHHPESLHMFSFLFDDVGIPLNYRHMEGFGVNTY
TLINKDGKPHLVKFWKPTCGVKCLLDDEAVTVGGTCHSHATKDLTDSIAAGNYPEWKLYIQTIDPDHED
RFDPLDVTKTWPEDIIPVGRMVLNKNIDNFFAENEQLAFCPAIIIVPGIHYSDDKLLQTRIFSYAD
TQRHRLGPNYMLPVNAPKCAYHNNHHDGSMNFMHRDEEVNYFSPSRFDAARHAEKVPIPRVLTGCREKC
VIDKENNFQAGERYRSLDPARQDRFLQRWVDALSDPRITHELRLGIWISYNSQCDASLGKLASRLNLKP
NM
```

**Gambar 5.** Sekuen CAT *Oryza sativa* dalam format FASTA

## 5.2 Sekuen Protein Target SOD

Protein yang ingin diketahui struktur 3D-nya adalah *Superoxide dismutase* (SOD) pada padi (*Oryza sativa*). Hasil pencarian protein target pada *web server* UniProt KB (<https://www.uniprot.org/>) dengan memasukkan kata kunci “SOD” dengan pilihan organisme pada kolom *other organisms* “*Oryza*

*sativa*” adalah sebanyak 8 jenis protein yang berbeda. Data diakses pada tanggal 31 Maret 2021. Hasil pencarian ditunjukkan pada **Tabel 2**.

**Tabel 2.** Pencarian SOD *Oryza sativa* pada Uniprot KB

No	Kode	Nama protein	Nama gen	Organisme	Panjang asam amino
1.	A0A6F8 FUX1	<i>Superoxide dismutase</i>	Fe-SOD	<i>Oryza sativa</i>	255
2.	A0A6F8 F8N3	<i>Superoxide dismutase</i>	Mn-SOD	<i>Oryza sativa</i>	231
3.	A0A6F8 FQT0	<i>Superoxide dismutase (Cu-Zn)</i>	Cu Zn- SOD	<i>Oryza sativa</i>	211
4.	Q43803	<i>Superoxide dismutase</i>	rmsod2	<i>Oryza sativa</i>	231
5.	Q01JW 6	OSIGBa014 7H17.7 protein	OSIGBa0 147H17.7	<i>Oryza sativa</i>	316
6.	Q7M23 8	<i>Superoxide dismutase (Cu-Zn) IV, cytosolic</i>	Belum diketahui	<i>Oryza sativa</i>	57
7.	Q7M24 0	<i>Superoxide dismutase (Cu-Zn) I, chloroplast</i>	Belum diketahui	<i>Oryza sativa</i>	55
8.	Q7M23 7	<i>Superoxide dismutase</i>	Belum diketahui	<i>Oryza sativa</i>	48

**Tabel 2** menunjukkan 8 protein SOD pada organisme padi (*Oryza sativa*) dengan berbagai kode unik dari *web server* UniProt KB. Protein SOD pada nomor 1 sampai dengan nomor 5 memiliki nama gen yang memberikan informasi berbagai kofaktor (logam) yang berikatan dengan enzim *superoxide dismutase* (SOD). Sedangkan protein *superoxide dismutase* (SOD) pada nomor 6 sampai dengan nomor 8 belum diketahui nama gennya. Kode protein enzim *superoxide dismutase* (SOD) Q01JW6 memiliki panjang asam amino yang paling panjang yaitu 316, sedangkan kode protein enzim *superoxide dismutase* (SOD) Q7M237 memiliki panjang asam amino yang paling pendek yaitu 48.

Sekuen target protein dipilih dari protein yang belum memiliki struktur 3D. Pada penelitian ini dipilih jenis protein enzim *superoxide dismutase* (Fe-SOD) dengan kode UniProt A0A6F8FUX1. Sekuen protein enzim *superoxide dismutase* (SOD) dengan kode A0A6F8FUX1 dalam format FASTA disajikan dalam Gambar 15.

```
>tr|A0A6F8FUX1|A0A6F8FUX1_ORYSA Superoxide dismutase OS=Oryza sativa  
MAAFASALRVLPSPPAAVPRRLRSREQRQGCRRRYSKVVAYYALTPPYKLDALPYIS  
KRTVELHWGKHQQDYVDSLNLKQLATSMFYGYTLEELIKEAYNNGNPLPEYNNAQVWNHH  
FFWESMQPEGGGSPGRGVLQQIEKDFGSFTNFREEFIRSALLLGGGWVWLVLKRKRF  
SVVHTQNAISPLALGDIPLINLDLWEHAYYLDYKDDRRMYVTNFIDHLVSWDTVTLRMMR  
AEAFVNLGEPNIPVA
```

**Gambar 15.** Sekuen SOD dalam format FASTA

Data sekuen ini digunakan untuk pembuatan model struktur 3D protein menggunakan *web server* Phyre<sup>2</sup>. Penyalinan sekuen protein dari *web server* UniProt ke *web server* Phyre<sup>2</sup> dilakukan dengan menggunakan format FASTA sesuai pada Gambar 9.

### 5.3 Analisis Protein Target SOD

Analisis dilakukan untuk mengetahui sifat fisika dan kimia protein target. Analisis protein target dilakukan dengan menggunakan *web server* ProtParam tool (<https://web.expasy.org/protparam/>). Sekuen protein enzim *superoxide dismutase* (SOD) dengan kode A0A6F8FUX1 dalam format FASTA disalin dan ditempelkan pada kolom *amino acid sequence* kemudian *Compute parameters* diklik. Tampilan selanjutnya adalah memunculkan beberapa sifat fisika dan kimia dari protein target. Hasil sifat fisika dan kimia protein target ditunjukkan pada **Tabel 3**.

**Tabel 3.** Sifat Fisika Kimia Protein kode A0A6F8FUX1

Sifat fisika dan kimia	Hasil
Rumus kimia	$C_{1338}H_{2041}N_{367}O_{374}S_7$
Jumlah asam amino	255
Berat molekul	29475,58
Titik isoelektrik (pI)	8,84
Waktu paruh	30 jam pada mamalia retikulosit ( <i>in vitro</i> ) >20 jam pada ragi ( <i>in vivo</i> ) >10 jam pada <i>Escherichia coli</i> ( <i>in vivo</i> )
<i>Instability index</i> (II)	52,32
<i>Aliphatic index</i>	82,24
<i>Grand average of hydropathicity</i> (GRAVY)	-0,413

**Tabel 3** memberikan informasi jumlah asam amino yang terdapat pada protein target adalah 255, berat molekul 29475,58 dengan rumus kimia  $C_{1338}H_{2041}N_{367}O_{374}S_7$ . Titik isoelektriknya (pI) adalah 8,84. Titik isoelektrik (pI) adalah nilai pH dimana total muatan gugus bermuatan positif dan negatif mencapai kestabilan (sehingga total muatan asam amino tersebut adalah nol). Apabila pH berada di atas titik isoelektrik protein bermuatan negatif, sedangkan di bawah titik isoelektrik maka protein bermuatan positif (Thenawidjaja *et al.*, 2017). Perkiraan waktu paruh protein target pada mamalia retikulosit secara *in vitro* adalah 30 jam, ragi secara *in vivo* >20 jam dan *Escherichia coli* secara *in vivo* >10 jam. Waktu paruh adalah prediksi waktu yang diperlukan setengah dari jumlah protein dalam sel untuk menghilang setelah sintesisnya di dalam sel (Walker, 2005).

*Instability index* (II) pada protein target sebesar 52,32. *Instability index* (indeks ketidakstabilan) adalah ukuran protein yang memberikan perkiraan stabilitas suatu protein. Sebuah protein yang indeks ketidakstabilannya lebih kecil dari 40 diprediksi stabil, jika lebih besar maka kemungkinan tidak stabil (Guruprasad *et al.*, 1990). Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa protein target merupakan protein yang tidak stabil. Hal ini akan berpengaruh terhadap proses pembentukan dari struktur tersier (3D) protein target. *Aliphatic index* protein target adalah sebesar 82,24. *Aliphatic index* (indeks alifatik) merupakan volume relatif yang ditempati oleh asam amino seperti alanin, valin, isoleusin dan leusin, yang memiliki rantai samping alifatik dalam strukturnya dan dianggap sebagai faktor yang dapat meningkatkan termostabilitas protein (Walker, 2005).

GRAVY (*grand average of hydropathicity*) atau rata-rata hidropatik merupakan parameter yang menentukan sifat hidrofobik suatu protein, apabila nilai indeks hidropati asam amino semakin positif, semakin hidrofobik asam amino tersebut. Sebaliknya jika

nilai indeks hidropati asam amino semakin negatif, semakin hidrofilik asam amino tersebut (Nelson & Cox, 2007). Nilai *grand average of hydropathicity* (GRAVY) dari protein target sebesar -0,413. Nilai tersebut menunjukkan bahwa protein target bersifat hidrofilik. Hal ini sangat berpengaruh terhadap proses pelipatan suatu asam amino dalam pembentukan struktur tersiernya. Umumnya protein yang kaya akan residu asam amino yang bersifat hidrofilik sulit membentuk lipatan menjadi stuktur tersier (3D) yang baik. Komposisi asam amino protein target dapat dilihat pada **Tabel 4**.

**Tabel 4.** Komposisi Asam Amino SOD *Oryza sativa*

Asam amino	Simbol satu huruf	Simbol tiga huruf	Komposisi Asam amino	Persentase
Alanine	A	Ala	20	7,8%
Arginine	R	Arg	19	7,5%
Asparagine	N	Asn	13	5,1%
Asam asparatat	D	Asp	11	4,3%
Cysteine	C	Cys	1	0,4%
Glutamine	Q	Gln	10	3,9%
Asam glutamate	E	Glu	16	6,3%
Glycine	G	Gly	14	5,5%
Histidine	H	His	7	2,7%
Isoleucine	I	Ile	9	3,5%
Leucine	L	Leu	27	10,6%
Lysne	K	Lys	11	4,3%
Methionine	M	Met	6	2,4%
Phenylalanine	F	Phe	11	4,3%
Proline	P	Pro	15	5,9%
Serine	S	Ser	17	6,7%
Theronine	T	Thr	10	3,9%
Tryptophan	W	Trp	7	2,7%
Tyrosine	Y	Tyr	14	5,5%

Valine	V	Val	17	6,7%
--------	---	-----	----	------

Berdasarkan Tabel 4 dapat dilihat bahwa komposisi asam amino yang paling tinggi adalah leucine (L) sebanyak 27 dengan persentase 10,6%. Sedangkan untuk komposisi asam amino yang paling rendah adalah cysteine (C) sebanyak 1 dengan persentase 0,4%. Protein target didominasi oleh beberapa asam amino seperti leucine (L) sebanyak 27 (10,6%), alanine (A) sebanyak 20 (7,8%) dan arginine (R) sebanyak 19 (7,5%).

#### 5.4 Model Protein Catalase pada Swiss-Model

Pemodelan enzim katalase *Oryza sativa* menggunakan server Swiss-Model yang telah dilengkapi dengan anotasi struktur kartener, ligan serta kofaktor penting yang memungkinkan untuk melakukan pemodelan struktur tiga dimensi yang disertai struktur oligomernya . Setelah proses penelusuran *template* selesai, didapatkan 187 data *template* yang tersedia seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 6**. Menurut Kopp & Schwede (2004), untuk memperoleh model protein target yang mempunyai kemiripan tinggi, harus menggunakan *template* yang mempunyai *sequence identity* lebih atau sama dengan 50%.

## Template Results

A total of 187 templates were found to match the target sequence. This list was filtered by a heuristic down to 50. The top templates are:

Template	Sequence Identity	Biounit Oligo State	Description
4qol.1	51.36	homo-tetramer	Catalase Structure of <i>Bacillus pumilus</i> catalase
4qol.1	52.43	homo-tetramer	Catalase Structure of <i>Bacillus pumilus</i> catalase
1e93.1	42.74	homo-tetramer	CATALASE High resolution structure and biochemical properties of a recombinant catalase depleted in iron
2j2m.1	48.85	homo-tetramer	CATALASE CRYSTAL STRUCTURE ANALYSIS OF CATALASE FROM <i>EXIGUOBACTERIUM OXIDOTOLERANS</i>
1mqf.1	42.74	homo-tetramer	Catalase Compound I from <i>Proteus mirabilis</i> catalase

**Gambar 6.** Hasil penelusuran *template* pada Swiss-Model

Selain itu, nilai GMQE (*global model quality estimate*) menentukan kualitas model struktur yang akan dihasilkan (Benkert *et al.*, 2011). Hasil dari identifikasi yang ditunjukkan pada Gambar 17, *template* 4qol.1.A memperoleh persentase *identity* sebesar 51,36%. *Template* yang memiliki persentase *identity* di atas 50% akan sangat membantu dalam menghasilkan model struktur tiga dimensi protein yang stabil pada tingkat kemiripan yang tinggi. Menurut Suprianto *et al.*, (2020), persentase identitas antara *template* dan target di atas 30% akan menghasilkan pemodelan struktur tiga dimensi protein yang setara dengan hasil penelitian struktur tiga dimensi secara eksperimental menggunakan sinar-X beresolusi rendah. Di samping itu, nilai GMQE sebesar 0,80 yang membuktikan bahwa *template* tersebut layak untuk dilakukan proses pemodelan protein, karena *template* yang dapat dikategorikan baik saat memiliki nilai GMQE dalam kisaran 0,6 hingga 1 (Suprianto *et*

al., 2020). Berdasarkan hasil yang diperoleh dapat diketahui bahwa *template* 4qol.1.A merupakan protein *template* terbaik., seperti pada **Gambar 7**.

Sort	Coverage	GMQE	QSQE	Identity	Method	Oligo State	Ligands		
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	4qol.1.A Catalase	Structure of <i>Bacillus pumilus</i> catalase	0.84	0.92	51.36	X-ray, 1.6Å	homo-tetramer ✓	8 x HEM <sup>Ⓢ</sup>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	4qol.1.A Catalase	Structure of <i>Bacillus pumilus</i> catalase	0.83	0.91	52.43	X-ray, 1.6Å	homo-tetramer ✓	8 x HEM <sup>Ⓢ</sup>
<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	2j2m.1.A CATALASE	CRYSTAL STRUCTURE ANALYSIS OF CATALASE FROM EXIGUOBACTERIUM OXIDOTOLERANS	0.83	0.89	48.85	X-ray, 2.4Å	homo-tetramer ✓	4 x HEM <sup>Ⓢ</sup>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	1m7s.1.A Catalase	Crystal Structure Analysis of Catalase CatF of <i>Pseudomonas syringae</i>	0.82	0.84	48.83	X-ray, 1.8Å	homo-tetramer ✓	4 x HEM <sup>Ⓢ</sup>

**Gambar 7.** Analisis *template* pada Swiss-Model

*Template* 4qol.1.A merupakan enzim katalase dari organisme bakteri tanah *Bacillus pumilus*. Menurut laporan Loewen et al., (2015), enzim katalase dari *Bacillus pumilus* memiliki dua gen katalase heme, salah satunya tidak memiliki kodon inisiasi dan tampak samar atau tidak diekspresikan. Analisis kristalografi sinar-X mengungkapkan bahwa katalase yang diekspresikan menunjukkan persamaan yang cukup besar terhadap katalase heme lain, tetapi memiliki satu bagian yang berbedaan yaitu enzim tersebut menunjukkan aktivitas peroksidase yang signifikan pada situs pengikatan untuk sejumlah substrat polifenol yang telah teridentifikasi sebagai tiga situs aktif dalam struktur kristal dari enam kompleks ligan-protein yang berbeda.

Penjajaran sekuen protein target dan *template* dapat dilakukan menggunakan SWISS-MODEL bertujuan untuk mengetahui kemiripan antara sekuen asam amino target dengan *template* (Komari et al., 2020). Bentuk dari model protein target sangat dipengaruhi oleh variasi dari asam amino sebagai penyusun protein. Hasil penjajaran menunjukkan adanya variasi asam amino antara protein target dengan *template* yang ditunjukkan pada Gambar 19. Menurut Suprianto et al., (2020) menjelaskan bahwa tingkat kemiripan antara protein *template* dan target cenderung tinggi jika tingkat variasi asam amino dari keduanya relatif rendah. Semakin tinggi kemiripan yang diperoleh, prediksi model struktur protein target yang didapat juga akan mendekati dengan model eksperimental.

Chain A : range 12-490;  
coverage 0,97

Method X-RAY DIFFRACTION 1.65 Å  
Found By HHblits  
Seq Similarity 0.44  
Biounit Oligo State homo-tetramer  
Target Prediction It is possible to build a homo-tetramer. The target model is also predicted to be a homo-tetramer.  
Build a homo-tetramer  monomer

Target	4qol.1
MDPYKHRPSSGSNSTFWITNSGAPVWNNNSALTVGERGPILLEDYHLIEKLAQFDRERIPERVVHARGAS 70	-----SNHEKLNQGVGVGDNQNSRITGHRGFLDLDVHLIEKLAQFDRERIPERVVHARGA 62
Target AKGFFEVTIHDISHLTCADFLRAPGVQTPVIVRFSTVVHERGSPETLRDPRGFAVKLYTREGNFDLVGNM 140	4qol.1 A G F E V T I H D I S H L T C A D F L R A P G V Q T P V I V R F S T V V H E R G S P E T L R D P R G F A V K L Y T R E G N F D L V G N M 132
Target PVFFIRDGMKFPDMVHAFKPSPKTNMQENWRIVDFSSHPESLHMFSLFDDVGIPLNRYRHMEGFGVNTY 210	4qol.1 P V F F I R D G M K F P D M V H S K P S P K T N M Q E N W R I V D F S S H P E S L H M F S L F D D V G I P L N R Y R H M E G F G V N T Y 202
Target TLINKDGPVHVKFHWKPTCGVKCLLDDEAVIVGGTCHSHATKDLTDSIAAGNYPEWKLYIQTIDPDHED 280	4qol.1 T L I N K D G P V H V K F H W K P T C G V K C L L D D E A V I V G G T C H S H A T K D L T D S I A A G N Y P E W K L Y I Q T I D P D H E D 272
Target RFDFDPLDVKITWPEDIIPLOQVGRMVLNKNIDNFFAENEQLAFCPAIIIVPGIHYSDDKLLQTRIFSYAD 350	4qol.1 R F D F D P L D V K I T W P E D I I P L O Q V G R M V L N K N I D N F F A E N E Q L A F C P A I I I V P G I H Y S D D K L L Q T R I F S Y A D 342
Target TQRHRLGPNLYRFPVNCYAEVHNNQDGFMTITRPSGHIYEPNRWDQPEKNEPWESEPELHGTSK 418	4qol.1 T Q R H R L G P N Y L Y R F P V N C Y A E V H N N Q D G F M T I T R P S G H I Y E P N R W D Q P E K N E P W E S E P E L H G T S K 412
Target KCVIDKENNFKQAGERYRSLDPAQRDRFLQRWVDALSDPRITHELRGIWISYNSQCQDASLGQKIASRLNL 488	4qol.1 K C V I D K E N N F K Q A G E R Y R S L D P A Q R D R F L Q R W V D A L S D P R I T H E L R G I W I S Y N S Q C Q D A S L G Q K I A S R L N L 480
Target KPNM 492	4qol.1 D I - - 482

## **Gambar 8.** Hasil pensejajaran sekuen model dan template dengan Swiss-Model

**Gambar 8** menunjukkan adanya dua warna yang menebal pada sekuen *template*. Warna tersebut menunjukkan bentuk rantai dalam struktur tiga dimensi yang membangun *template* seperti warna hijau merupakan rantai berbentuk  $\beta$ -sheet dan warna biru merupakan rantai berbentuk  $\alpha$ -helix. Selain itu, sekuen *template* dimulai dengan asam amino SER 4 A pada urutan ke-12 asam amino target dan diakhiri dengan asam amino ILE 482 A pada urutan ke-490. Berdasarkan cakupan sekuen (*coverage*), dapat dilihat asam amino *template* dapat mencakup sebanyak 482 asam amino target yang dikalkulasi menjadi 0,97. Di samping itu juga, Gambar 19 juga menampilkan nilai *similarity* sebesar 0,44 antara asam amino *template* terhadap asam amino target yang ditandai dengan cetakan huruf yang tebal pada urutan sekuen. Nilai lainnya seperti nilai QSQE (*quaternary structure quality estimate*) menunjukkan akurasi dari perkiraan interaksi antarmuka di antara rantai protein yang berdasarkan penjajaran sekuen target dan *template*. Semakin nilai QSQE mendekati 1, semakin identik pula struktur permukaannya. Nilai ini dikalkulasi jika dimungkinkan membangun dalam bentuk oligimernya (Bertoni et al., 2017). *Template* 4qol.1.A memperoleh nilai QSQE sebesar 0,92, sehingga dapat dipastikan bahwa 4qol.1.A merupakan *template* terbaik.

### **5.5 Model Protein SOD pada Phyre2**

Data sekuen target protein dalam format FASTA seperti pada Gambar 9 *disubmit* dengan cara disalin dan ditempelkan di kolom *Amino acid Sequence* pada *web server* Phyre<sup>2</sup>. *Template* yang dihasilkan setelah *Phyre Search* diklik adalah 104 *template* yang berbeda. *Template* yang dihasilkan dapat dilihat pada bagian *Detailed template information* pada *web server* Phyre<sup>2</sup>. *Template* sudah dilengkapi dengan model protein yang berhasil dimodelkan

berdasarkan sekuen protein target. *Template* memiliki informasi nilai *confidence*, nilai *coverage* dan nilai *i.d.* yang berbeda-beda. *Template* 1-20 memiliki model protein, sedangkan sisanya tidak berhasil dimodelkan. Informasi 20 *template* yang berhasil dimodelkan ditunjukkan pada **Tabel 5**.

**Tabel 5.** 20 *Template* Hasil Pemodelan

No	Kode <i>template</i>	Nilai <i>Coverage</i> (%)	Nilai <i>Confidence</i> (%)	Nilai <i>i.d.</i> (%)
1.	c6bejA	77% (43-241 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	40%
2.	c1xreB	78% (42-241 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	40%
3.	c1gv3B	77% (43-241 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	36%
4.	c1my6A	77% (43-240 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	43%
5.	c3js4C	78% (42-241 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	43%
6.	c6jovC	76% (43-239 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	43%

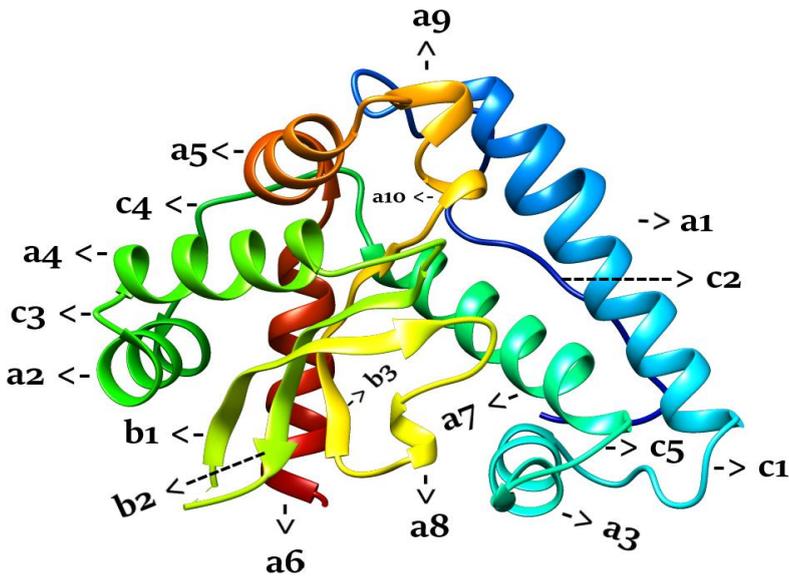
7.	c4yioB	78% (43-242 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	38%
8.	c1unfX	80% (38-244 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	51%
9.	c1mngA	78% (41-241 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	32%
10.	c1gn4B	79% (41-243 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	32%
11.	c3ceiA	78% (42-243 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	33%
12.	c5a9gB	80% (38-242 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	32%
13.	c1y67D	78% (43-242 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	41%
14.	c1ma1E	78% (41-241 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	35%
15.	c1dt0A	79% (43-245 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	43%

16.	c4f2nL	78% (43-242 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	34%
17.	c2rcvA	77% (43-240 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	39%
18.	c5n57B	78% (43-242 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	36%
19.	c4h3eB	78% (41-242 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	32%
20.	c4ffkA	80% (38-242 residu dari sekuen target tersejajarkan ( <i>aligned</i> ))	100%	33%

Berdasarkan **Tabel 5** dapat dilihat 20 *template* berhasil dimodelkan dengan nilai *confidence* yang sama yaitu 100%. Namun, untuk nilai i.d. beberapa *template* ada yang dapat dimodelkan dengan nilai i.d. >40% dan <40%, nilai *coverage* rata-rata >75% dan 80%. *Template* dengan kode c1unfX memiliki nilai *confidence*, *coverage* dan i.d. tertinggi di antara 20 *template* yang berhasil dimodelkan. *Template* c1unfX menghasilkan model dengan nilai *confidence* 100%, nilai *coverage* 80% dan nilai i.d. 51%. Nilai *coverage* adalah nilai yang menunjukkan berapa banyak residu asam amino yang berhasil disejajarkan (*aligned*) antara sekuen asam amino target dan *template*. Nilai *coverage* 80% menunjukkan bahwa 38-244 residu asam amino berhasil disejajarkan (*aligned*) Nilai *confidence* mewakili kemungkinan (dari skala 0 sampai 100) bahwa kecocokan antara sekuen protein target dan *template* adalah

homologi. Nilai *confidence* >90% sudah dapat menghasilkan model dengan akurasi yang tinggi. Nilai i.d. adalah nilai persentase identitas antara sekuen protein target dan *template*. Nilai i.d. di atas 30-40% menunjukkan model memiliki akurasi yang sangat tinggi. Namun, model dengan *template* yang memiliki nilai i.d. yang sangat rendah (<15%) bisa digunakan selama nilai *confidence*-nya tinggi (Kelley et al., 2015).

Berdasarkan parameter-parameter tersebut maka *template* yang dipilih adalah *template* dengan kode c1unfX yang menghasilkan model protein enzim *superoxide dismutase* (SOD) pada **Gambar 9**.



**Gambar 9.** Model SOD a1)-(a10) menunjukkan  $\alpha$ -helix, (b1)-(b3) menunjukkan  $\beta$ -sheet dan (c1)-(c5) menunjukkan coil

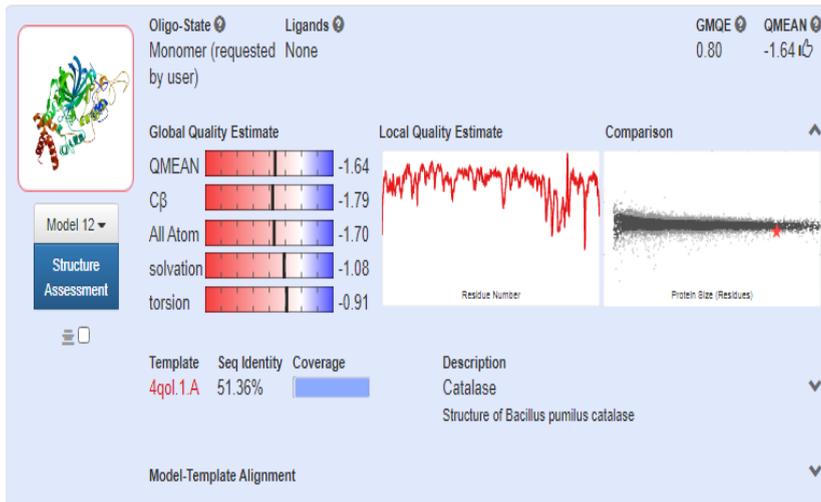
Model protein enzim *superoxide dismutase* (SOD) pada padi dengan *template* c1unfX strukturnya tersusun atas 10  $\alpha$ -helix, 5  $\beta$ -sheet dan 17 coil namun tidak ditampilkan semua menggunakan kode tertentu pada Gambar 10.  $\alpha$ -helix terpanjang ditunjukkan pada

nomor (a1) dengan jumlah asam amino sebanyak 24, sedangkan  $\alpha$ -*helix* terpendek ditunjukkan pada nomor (a8) dan (a9) dengan jumlah asam amino masing-masing sebanyak 3.  $\beta$ -*sheet* terpanjang ditunjukkan pada nomor (b1) dan (b2) dengan jumlah asam amino masing-masing sebanyak 8, sedangkan  $\beta$ -*sheet* terpendek terdapat 2  $\beta$ -*sheet* dengan jumlah asam amino masing-masing sebanyak 1. *Coil* terpanjang ditunjukkan pada nomor (c2) dengan jumlah asam amino sebanyak 23, sedangkan *coil* terpendek terdapat 6 *coil* dengan jumlah asam amino masing-masing sebanyak 1.

Informasi *template* c1unfX dapat diketahui melalui RCSB PDB (<https://www.rcsb.org/>) dengan memasukkan kata kunci “1UNF” pada kolom pencarian. Enzim *superoxide dismutase* (SOD) pada *template* c1unfX merupakan enzim FeSOD dengan Fe sebagai kofaktornya. Enzim tersebut termasuk dalam jenis enzim oksidoreduktase. Enzim FeSOD ditemukan pada organisme *Vigna unguiculata* atau dikenal dengan kacang tunggak. Struktur 3D enzim FeSOD ditemukan menggunakan instrumen difraksi sinar-X dengan resolusi 1,97 Å. Informasi enzim SOD pada *template* c1unfX telah dipublikasi oleh Muñoz et al., (2005).

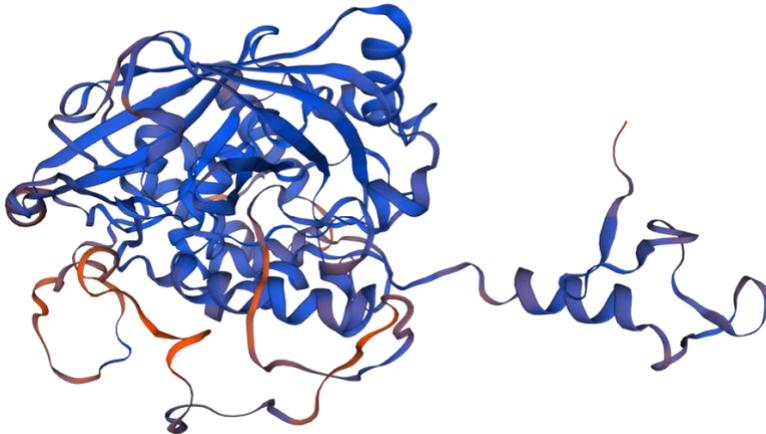
## 5.6 Karakteristik Model Protein CAT Tanaman Padi

Menurut Suprianto et al., (2020) hasil dari permodelan yang diperoleh dapat dikatakan baik maupun buruk kualitasnya dapat diketahui dengan mengamati karakter ibu jari yang muncul pada *model result* Swiss-Model (Gambar 21). Hasil permodelan monomer yang dibangun berdasarkan rantai A pada *template* memperoleh karakter ibu jari yang menghadap ke atas yang menandakan model tersebut merupakan model baik. Hasil pemodelan seperti pada **Gambar 10**.



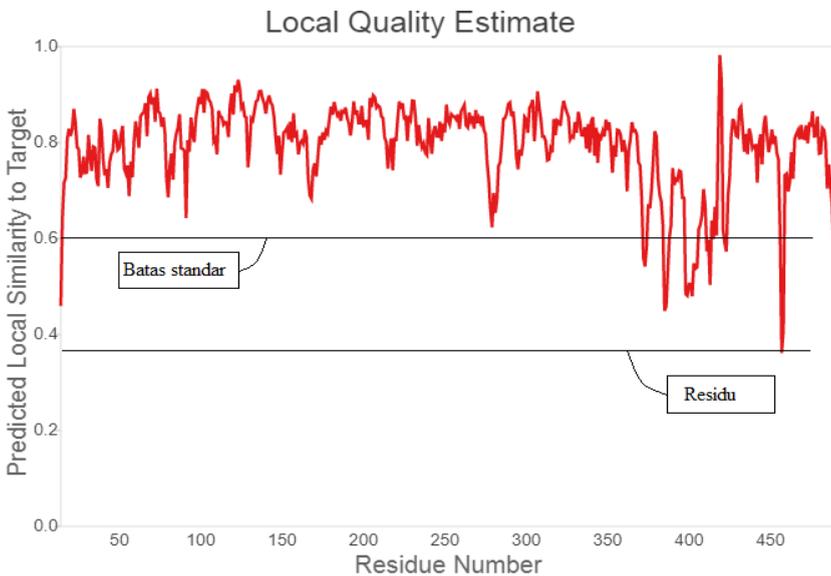
**Gambar 10.** Hasil penilaian model pada Swiss-Model

Berdasarkan parameter kualitas residu yang dapat dinilai dengan mengamati warna yang ditampilkan dari struktur model protein. Suprianto et al., (2020) berpendapat bahwa residu *high quality* berwarna ungu dan residu *low quality* berwarna merah atau merah keunguan seperti yang dapat diamati pada **Gambar 11**.



**Gambar 11.** Analisis kualitas residu asam amino model

Hasil lainnya dalam bentuk nilai kualitas lokal residu asam amino (*local quality estimate*) dapat dilihat pada **Gambar 12**. Berdasarkan data yang diperoleh, *score* yang berada pada daerah di atas batas standar (0,6 hingga 1) merupakan residu asam amino berkualitas tinggi karena memiliki tingkat similaritas yang cukup baik. Sebaliknya, keberadaan residu yang melampaui batas standar (di bawah 0,6) merupakan residu asam amino berkualitas rendah yang berkemungkinan akan mempengaruhi kestabilan model struktur protein (Suprianto et al., 2020). Oleh karena itu, disimpulkan bahwa sebagian besar residu asam amino model tergolong dalam residu yang berkualitas bagus.

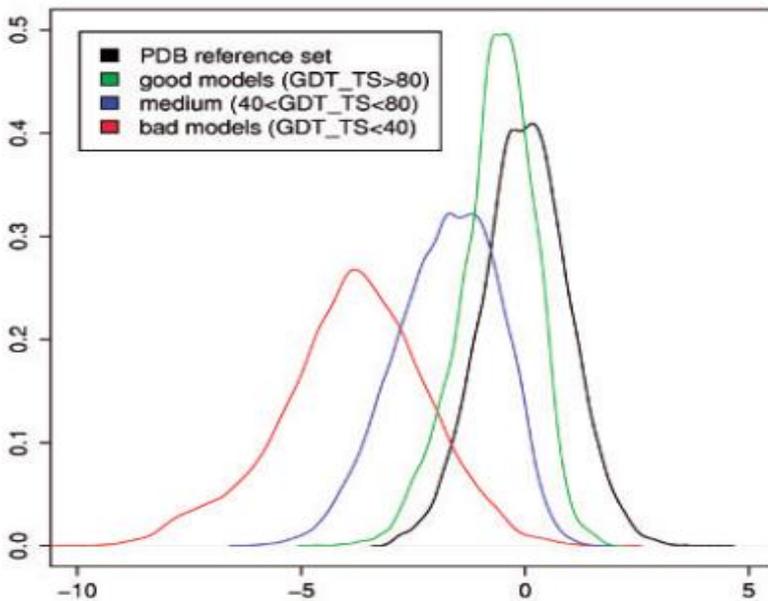


**Gambar 12.** Analisis kualitas residu asam amino berdasarkan nilai local quality estimate.

Selain itu, Swiss-Model memberikan perkiraan kualitas dalam fungsi nilai QMEAN (Qualitative Model Energy Analysis). QMEAN menggunakan potensi statistik kekuatan rata-rata untuk menghasilkan perkiraan kualitas dalam skala global (GMQE) dan lokal (*local quality estimate*) (Waterhouse et al., 2018). Potensi statistik tersebut berupa analisis geometri lokal dengan potensial sudut torsi tiga asam amino berurutan, dua potensial interaksi yang

terjadi berdasarkan jarak  $C_{\beta}$  dengan semua atom, dan potensial solvasi (Yeni; Tjahjono, 2017). Nilai dari GMQE yang berkisar antara 0 hingga 1 mencerminkan akurasi dari model yang dibangun dengan penyelarasan serta normalisasi antara sekuen target terhadap sekuen *template* (Waterhouse et al., 2018). Hasil dari model yang dibangun memperoleh nilai GMQE sebesar 0,80 yang menunjukkan bahwa model memiliki akurasi relatif tinggi.

Mengaitkan kualitas model dengan struktur sinar-X resolusi tinggi, nilai QMEAN dinyatakan sebagai *z-score* di mana nilai tersebut menunjukkan perkiraan tingkat kemiripan apakah model yang dibangun (target) memiliki kualitas yang sebanding dengan struktur eksperimental (*template*). Secara teoritis, distribusi nilai *z-score* dapat dilihat pada **Gambar 13**. Kurva berwarna hijau dengan nilai berkisar antara -5 ke atas menunjukkan tingkat model protein yang baik (Benkert et al., 2009).



**Gambar 13.** Kurva distribusi nilai *z-score* (Benkert et al., 2011)

Berdasarkan teori-teori tersebut, sehingga dapat diasumsikan bahwa model yang telah diperoleh merupakan model yang baik

dengan nilai QMEAN  $z$ -score sebesar -1,64. **Gambar 14** menampilkan plot perbandingan antara panjang protein terhadap QMEAN  $score$  yang dinormalisasi. Plot tersebut menggambarkan hubungan kesamaan antara jumlah residu asam amino model (sumbu x) terhadap struktur asli (sumbu y) (Komari et al., 2020). Titik hitam menunjukkan  $z$ -score dengan batas standar deviasi antara 0,5 hingga 1. Sedangkan, titik berwarna abu-abu menunjukkan  $z$ -score dengan batas standar deviasi antara 1 hingga 2. Setiap titik mewakili satu struktur protein *template* (Benkert et al., 2011).



**Gambar 14.** Plot posisi antara *template* dan model dalam sebaran  $z$ -score. Bintang adalah model yang telah dibangun.

Parameter evaluasi selanjutnya untuk menilai tingkat kualitas protein target dengan menganalisis kestabilan dari suatu model struktur protein menggunakan fitur *MolProbity Result* yang tersedia pada program Swiss-Model. Kualitas stereokimia dari struktur protein dikatakan baik atau buruk tergantung pada sedikit atau banyaknya residu non-glisin di wilayah *favoured region* (daerah disukai) dan *disallowed* (daerah yang tidak disukai) dalam

*Ramachandran Plots* (Suprianto et al., 2020). Hasil analisis *MolProbity Result* disajikan pada **Tabel 6**.

**Tabel 6.** Parameter MolProbity dengan Swiss-Model

Penilaian <i>MolProbity</i>		<i>MolProbity Result</i>
<i>MolProbity Score</i>		1,68
<i>Clashscore</i>	5,52	(A176 PHE-A186 PHE), (A450 TRP-A471 TRP), (A172 ILE-A176 PHE), (A446 PHE-A450 TRP), (A186 PHE-A467 TRP)
<i>Favoured Region</i>		95,37%
<i>Outlier Region</i>	0,84 %	A406 VAL, A410 PRO, A388 GLU, A401 ARG
<i>Rotamer Outlier</i>	1,18 %	A118 ASP, A197 LEU, A478 LEU, A128 THR, <u>A482 LEU</u>
<i>C-Beta Deviation</i>	6	A401 ARG, A187 SER, A388 GLU, A128 THR, A172 ILE, A207 VAL
<i>Bad Bonds</i>	1 / 3987	A450 TRP
<i>Bad Angles</i>	52 / 5418	A172 ILE, (A406 VAL-A407 PRO), A191 ASP, A184 HIS, A338 ASP, A186 PHE, (A275 ASP-A276 PRO), (A151 PHE-A152 PRO), (A363 LEU-A364 PRO), A283 ASP, A446 PHE, A280 ASP, A288 ASP, A225 HIS, (A118 ASP-A119 PRO), A107 VAL, A250 HIS, A128 THR, A401 ARG, A461 HIS, A334 HIS, A402 HIS, A385 HIS, A156 HIS, A373 HIS, A85 THR, (A285 ASP-A286 PRO), A220 HIS, A46 HIS, A354 HIS, A407 PRO, (A414 THR-A415 GLY), A83 HIS, A104 SER, A208 ASN,

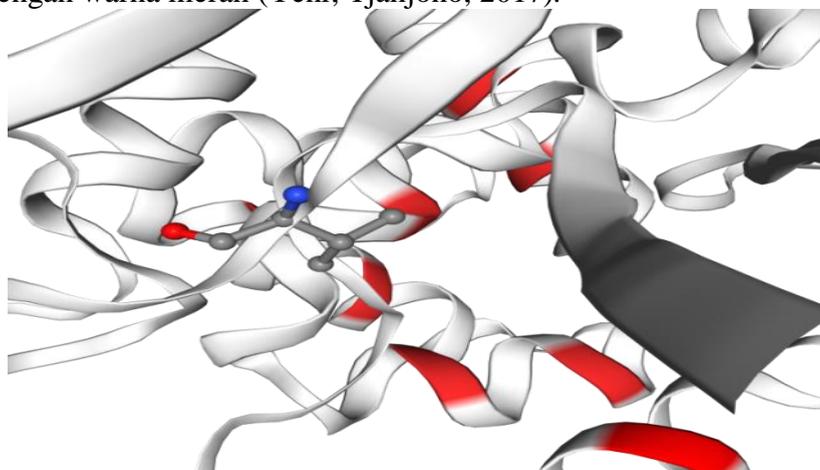
---

(A23 ALA-A24 PRO), A108 HIS, A278 HIS, A254 ASP, A376 HIS, A248 HIS, A319 ASN, (A393 PHE-A394 PRO), A377 HIS, A132 ASN, A187 SER

---

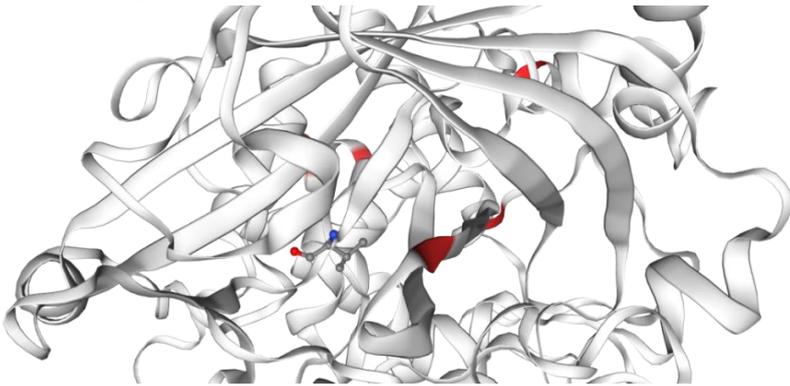
Berdasarkan **Tabel 6**, nilai *Molprobit* yang diperoleh sebesar 1,68. Nilai *Molprobit* merupakan cerminan kualitas dari resolusi kristalografi yang sesuai dengan model, yang berasal dari gabungan nilai *clashscore*, persentase *disallowed region* dan persentase *bad rotamer*. Kualitas model dikatakan baik ketika nilai *Molprobit* target lebih kecil daripada *template* (Komari et al., 2020). Selain itu, nilai ini juga menunjukkan sejumlah asam amino mengalami konformasi dalam jumlah kecil (Suprianto et al., 2020).

Selanjutnya, nilai *clashscore* yang diperoleh sebanyak 5,52. Nilai ini digunakan untuk mengetahui interaksi antar atom yang didasarkan pada jumlah *overlap steric* per 1000 atom. Semakin kecil nilai pada *clash score* maka model yang dihasilkan semakin baik. **Gambar 15** menunjukkan daerah asam amino yang mengalami *overlap steric* akibat adanya interaksi antar atom yang ditandai dengan warna merah (Yeni; Tjahjono, 2017).



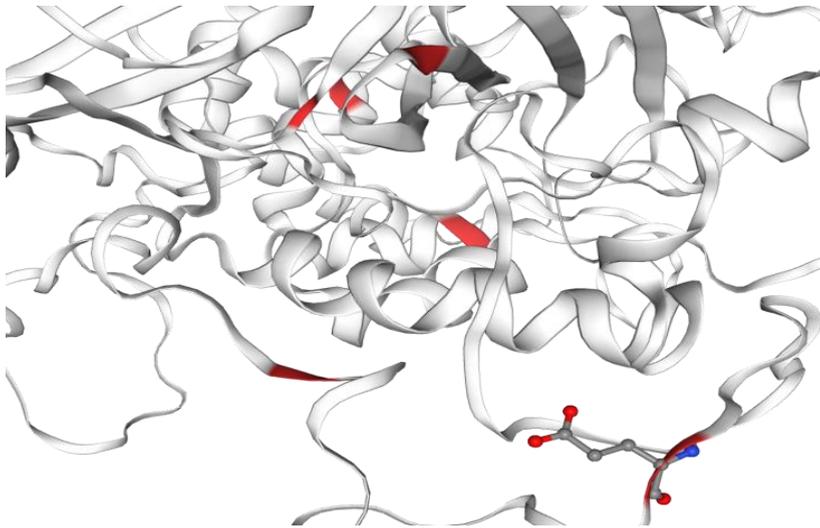
**Gambar 15.** Daerah asam amino yang mengalami overlap steric.

Rantai samping protein mengambil konformasi yang disukai yang termasuk dalam minimum energi lokal berbeda yang dikenal sebagai rotamer (Hintze et al., 2016). Nilai *rotamer outliers* merupakan nilai yang menunjukkan daerah *allowed* (diizinkan) pada model struktur protein memiliki kategori  $\geq 0,3\%$  atau  $\leq 2,0\%$  (Suprianto et al., 2020). Nilai yang diperoleh adalah sebesar 1,18% yang berarti sesuai dengan teori di mana dengan menggunakan nilai ini, memungkinkan untuk mengetahui konformasi sejumlah asam amino yang berada di tepi distribusi rotamer dekat wilayah *outlier*. Menurut Ravikumar et al. (2019) penyebab distribusi pada wilayah *outlier*, yaitu disebabkan ketidakakuratan dalam struktur akibat interaksi antaratom atau kerapatan elektron. **Gambar 16** menunjukkan daerah *allowed* asam amino yang berada pada wilayah *rotamer outlier*.



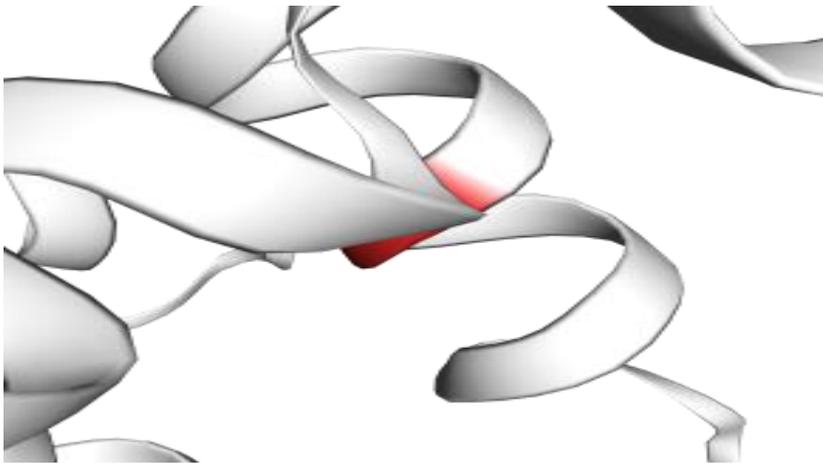
**Gambar 16.** Daerah *allowed* asam amino yang berada pada wilayah rotamer outlier

*MolProbity* mengevaluasi distorsi keseluruhan yang dihasilkan dari posisi  $C_{\beta}$  dari idealitas yang disebut  $C_{\beta}$ -Deviation. Posisi atom  $C_{\beta}$  dipengaruhi oleh posisi atom  $C_{\alpha}$  yang menjadi perantara antara rantai utama dengan rantai samping protein. Hal ini mempengaruhi sudut ikatan atau dihedral yang tidak tepat yang menentukan atom  $C_{\beta}$  (Chen et al., 2010). Berdasarkan **Gambar 17** dapat dilihat ada sebanyak enam atom  $C_{\beta}$  terdeviasi.

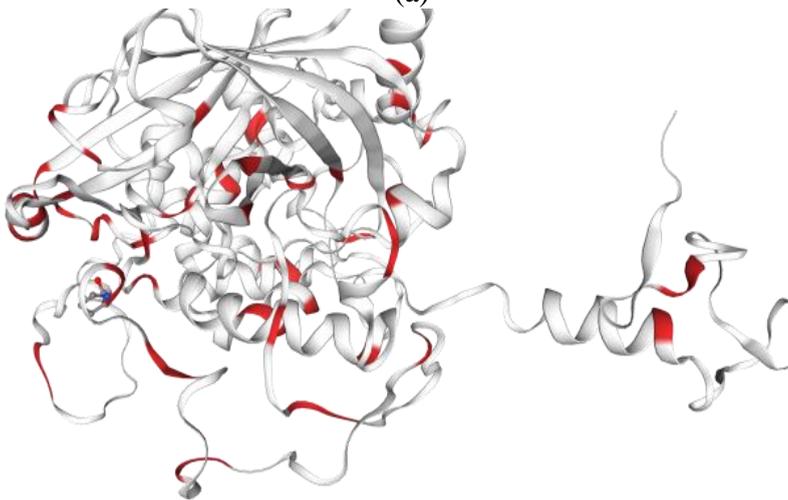


**Gambar 17.** Jumlah posisi atom  $C_{\beta}$  mengalami deviasi

Adanya efek deviasi menyebabkan terbentuk ikatan yang buruk (*bad-bond*) seperti pada **Gambar 18a**. Asam amino A450 TRP (NE1-CE2) dengan nilai deviasi sebesar  $4,1\sigma$ . Selain itu juga, Gambar 28 b menunjukkan posisi asam amino yang mengalami penyimpangan sehingga berada pada posisi sudut yang buruk (*bad angle*). Berdasarkan Tabel 1. diperoleh sebanyak 52 asam amino yang mengalami penyimpangan dengan nilai deviasi yang bervariasi. Data hasil tersebut dapat diakses pada (<https://swissmodel.expasy.org/assess/8aMZEE/12>).



(a)

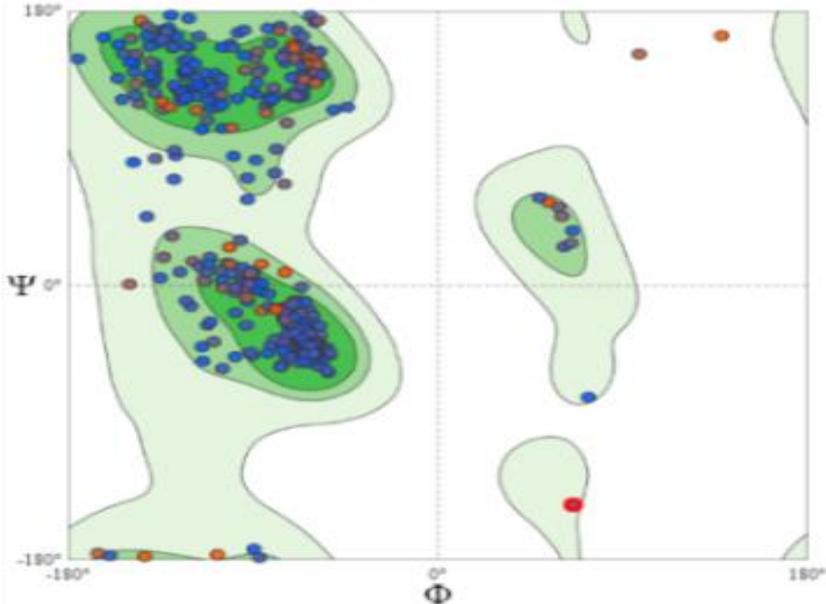


(b)

**Gambar 18.** Posisi asam yang mengalami penyimpangan (a) bad bonds dan (b) bad angles.

**Gambar 19** menunjukkan sebaran residu struktur protein target menggunakan *template* 4qol.1.A dalam *Ramachandran Plots*. Suprianto et al. (2020) memaparkan *ramachandran plot* adalah gambaran residu asam amino dalam dua dimensi di mana sudut *phi* ( $\phi$ ) sebagai sumbu x dan sudut *psi* ( $\psi$ ) sebagai sumbu y yang terbagi menjadi empat kuadran. Hasil analisis *Ramachandran Plot* menunjukkan bahwa residu non-glisin pada *outliers region*

sebanyak 0,84% dan di daerah *favoured region* yaitu sebanyak 94,79%. Suatu model memiliki kualitas struktur yang baik jika residu asam amino lebih banyak berada pada daerah *favoured* dibandingkan *outliers* (Lovell et al., 2003); (Laskowski et al., 1996); (Morris et al., 1992).



**Gambar 19.** Ramachandran Plot protein AKO90140 dengan template 4qol.1.A.

## 5.7 Karakteristik Model SOD Tanaman Padi

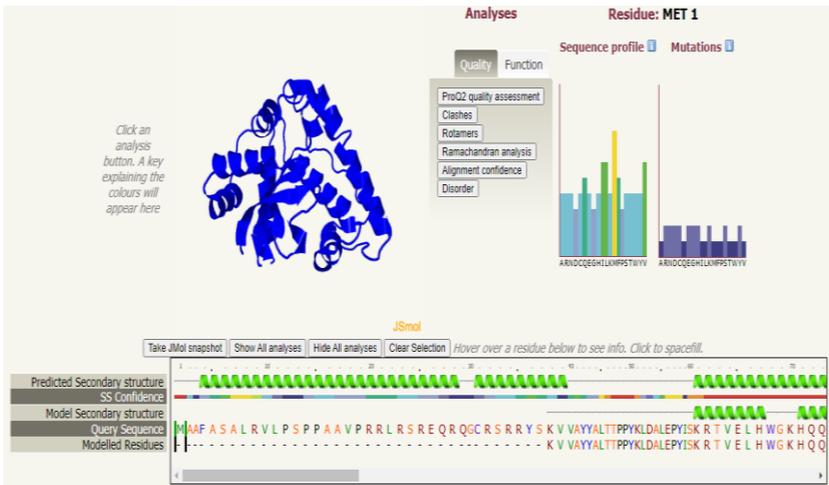
Evaluasi model dilakukan pada *web server* Phyre<sup>2</sup> setelah proses identifikasi *template* dan pemodelan protein selesai ([http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/phyre2\\_output/ca601671cde736c0/summary.html](http://www.sbg.bio.ic.ac.uk/phyre2/phyre2_output/ca601671cde736c0/summary.html)). Model dengan *template* yang memiliki parameter-parameter yang tertinggi adalah *template* c1unfX. Pada bagian *Detailed template information template* c1unfX dipilih dan *Run investigator* diklik seperti pada **Gambar 20**.

Detailed template information [\[Hide\]](#)

#	Template	Alignment Coverage	3D Model	Confidence	% I.D.	Template Information
1	<a href="#">c0be1A</a> Alignment			100.0	40	<p>PDB header:oxidoreductase            Chain: A: PDB Molecule:superoxide dismutase;            PDBTitle: crystal structure of manganese superoxide dismutase from xanthomonas2 citri</p> <p><a href="#">View Investigator results</a> -&gt; b)</p>
2	<a href="#">c1xrE8</a> Alignment			100.0	40	<p>PDB header:oxidoreductase            Chain: B: PDB Molecule:superoxide dismutase;            PDBTitle: crystal structure of soda-2 (ba5696) from bacillus2 anthracis at 1.8a resolution.</p> <p> -&gt; a)</p>
3	<a href="#">c1gw2B</a> Alignment			100.0	36	<p>PDB header:manganese superoxide dismutase            Chain: B: PDB Molecule:manganese superoxide dismutase;            PDBTitle: the 2.0 angstrom resolution structure of the catalytic portion of a2 cyanobacterial membrane-bound manganese superoxide dismutase</p> <p></p>

**Gambar 20.** a) Run investigator diklik untuk memulai evaluasi model, b) View investigator results menunjukkan bahwa *template* telah dievaluasi dan dapat diklik lagi apabila ingin melakukan evaluasi lag

Selanjutnya muncul tampilan baru dan *Confirm Phyre Investigator submission* diklik. Tampilan selanjutnya akan memunculkan beberapa *tools* yang dapat digunakan sebagai evaluasi model seperti pada **Gambar 21**.

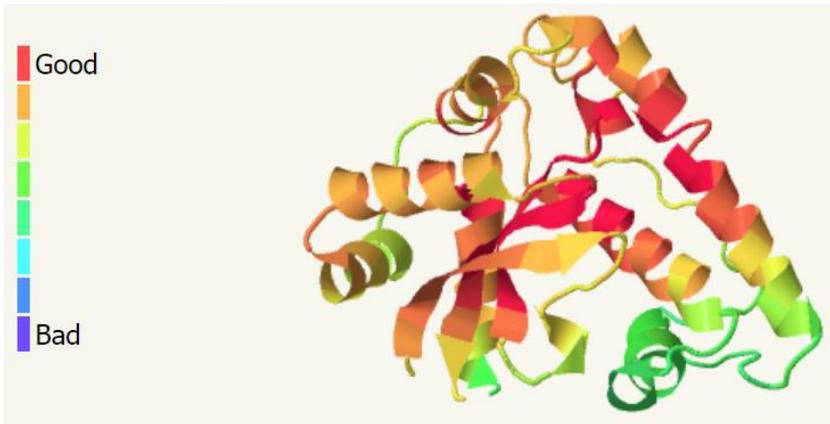


**Gambar 21.** Tampilan tools untuk evaluasi model pada Phyre2

**Gambar 21** menunjukkan beberapa *tools* untuk evaluasi model. Evaluasi model dilakukan dengan 2 parameter, yaitu *quality* dan *function*. *Quality* memiliki 7 *tools* untuk evaluasi model, yaitu *ProQ2 quality assessment*, *Clashes*, *Rotamers*, *Ramachandran analysis*, *Alignment confidence* dan *Disorder*. *Function* memiliki 3 *tools* untuk evaluasi model yaitu *Conservation*, *Pocket detection* dan *Mutational sensitivity*.

## 5.8 Kualitas Model SOD Tanaman Padi

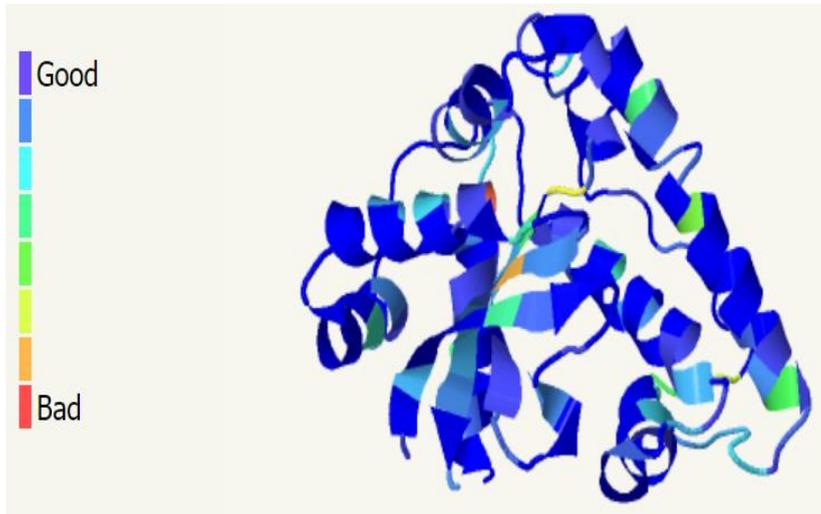
*ProQ2 quality assessment* menunjukkan nilai *ProQ2 score* pada setiap asam amino yang tersejajarkan dengan sekuen protein target, jika nilainya mendekati atau sama dengan 1 maka menunjukkan nilai yang kurang baik dan jika nilainya mendekati atau sama dengan 0 maka menunjukkan nilai yang baik. *ProQ2 score* menunjukkan nilai yang paling mendekati 1 adalah 0,396 pada asam amino 38 (K) dan nilai yang paling mendekati 0 adalah -0,050 pada asam amino 67 (H), 71 (H), 72 (Q), 122 (F), 167-171 (G, W, V, W, L), 199 (L), 202 (L), 204 (L), 205 (W), 230 (S), dan 231 (W). **Gambar 22** menunjukkan model yang dilihat dari *ProQ2 quality assessment*.



**Gambar 22.** ProQ2 quality assessment model

Indikator warna dari hijau ke merah menunjukkan daerah residu yang mempunyai *ProQ2 score* yang baik, semakin menuju warna merah maka semakin baik (*Good*). Sedangkan indikator warna dari hijau ke ungu mempunyai *ProQ2 score* yang kurang baik, semakin menuju warna ungu maka semakin kurang baik (*Bad*). **Gambar 22** menunjukkan model didominasi warna merah, jingga dan hijau pada daerah  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -sheet dan coil, sehingga dapat dikatakan model yang dibangun dengan *template clunfX* bagus berdasarkan *ProQ2 quality assessment* (Ray *et al.*, 2012).

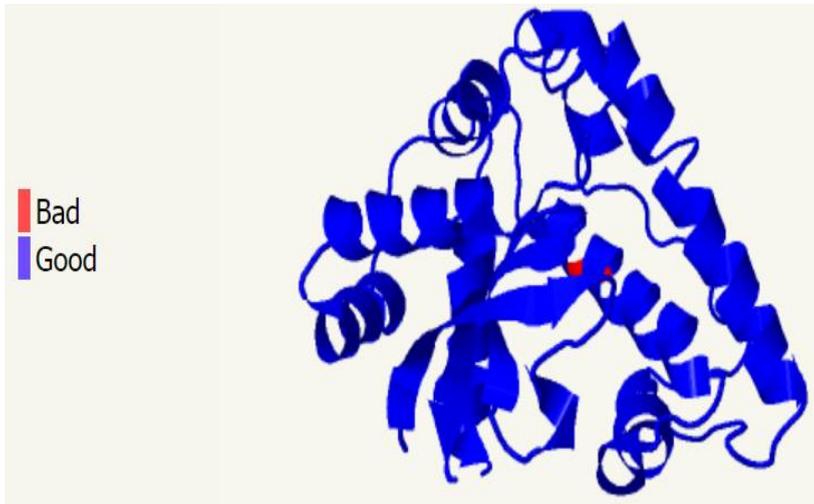
*Clashes* adalah nilai bentrokan terhadap beberapa residu, nilai yang tinggi menunjukkan penempatan *sidechain* yang buruk, atau mungkin *backbone* yang salah. Nilai *clashes* menunjukkan nilai bentrokan yang rata-rata kecil, hanya 7 asam amino yang memiliki nilai *clashes* yang tinggi. Nilai *clashes* yang tinggi ditunjukkan pada asam amino 38 (K), 40 (V), 72 (Q), 83 (L), 160 (A), 169 (V) dan 204 (L). Gambar 14 menunjukkan model yang dilihat dari *clashes*.



**Gambar 23.** Model berdasarkan clashes

Indikator warna dari hijau ke ungu menunjukkan daerah residu yang mempunyai nilai *clashes* yang baik, semakin menuju warna ungu maka semakin baik (*Good*). Sedangkan indikator warna dari hijau ke merah mempunyai nilai *clashes* yang kurang baik, semakin menuju warna merah maka semakin kurang baik (*Bad*). **Gambar 23** menunjukkan model didominasi warna ungu, biru muda dan hijau pada daerah  $\alpha$ -*helix*,  $\beta$ -*sheet* dan *coil*, sehingga dapat dikatakan model yang dibangun dengan *template* clunfX bisa dikatakan bagus berdasarkan nilai *clashes*.

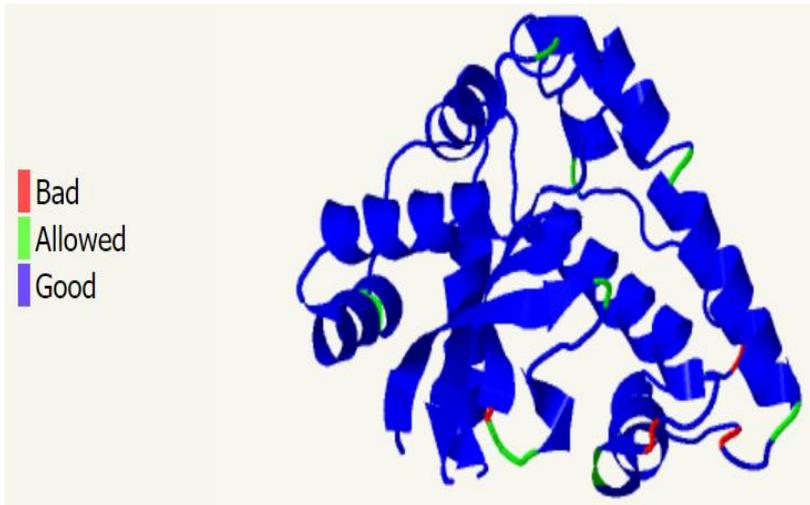
*Rotamers* memberikan informasi berapa banyak *sidechain* dalam model yang tidak dimodelkan secara ideal yang mungkin menunjukkan masalah pada *backbone* atau *alignment*. Dari 38-244 residu hanya 120 (H) yang menunjukkan adanya masalah. **Gambar 24** menunjukkan model yang dilihat dari *rotamers*.



Gambar 24. Model berdasarkan rotamers

Indikator warna merah menunjukkan daerah residu yang kemungkinan tidak dimodelkan secara ideal (*Bad*), sedangkan indikator warna biru menunjukkan daerah residu yang kemungkinan dimodelkan secara ideal (*Good*). Gambar 15 menunjukkan model didominasi warna biru pada daerah  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -sheet dan coil, sehingga dapat dikatakan model yang dibangun dengan *template* c1unfX bisa dikatakan bagus berdasarkan *rotamers*.

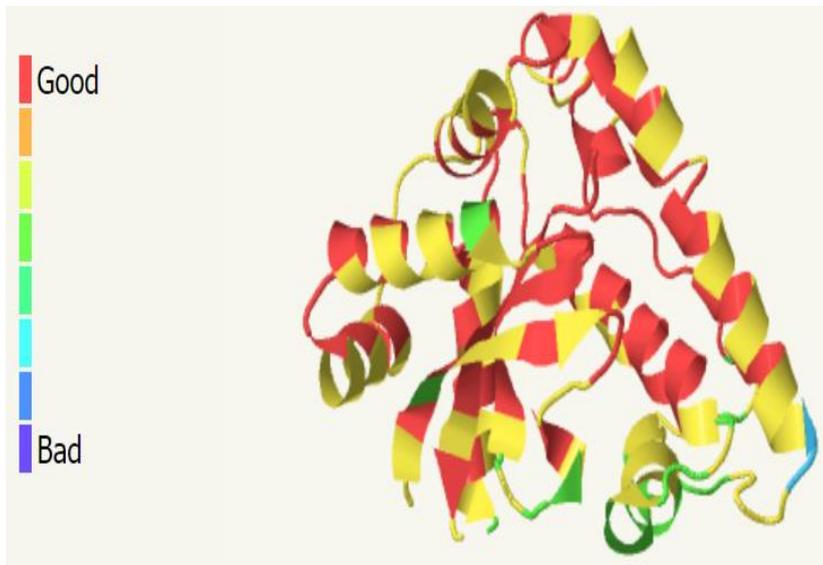
*Ramachandran analysis* menunjukkan residu berada pada daerah yang disukai (*favorable*), dibolehkan (*allowed*) dan tidak diperbolehkan (*disallowed*). Residu pada daerah yang *disallowed* menunjukkan residu yang mungkin bermasalah dengan sudut phi/psi *backbone*. Residu yang *allowed* adalah 39 (V), 49 (P), 70 (K), 85 (T), 103 (N), 136 (R), 187 (N), 194 (L), 195 (G) dan 214 (K). Residu yang *disallowed* adalah 41 (A), 88 (F), 105 (N), dan 196 (D). **Gambar 25** menunjukkan model yang dilihat berdasarkan *ramachandran analysis*.



**Gambar 25.** Model berdasarkan ramachandran analysis

Indikator warna merah menunjukkan daerah residu yang *disallowed* (*Bad*), sedangkan indikator warna biru menunjukkan daerah residu yang *favored* (*Good*). Indikator warna hijau menunjukkan daerah residu yang *allowed*. Gambar 16 menunjukkan model didominasi warna biru terutama pada daerah  $\alpha$ -*helix*, sedangkan warna hijau dan merah beberapa terdapat pada sebagian *coil*. Model yang dibangun dengan *template* c1unfX bisa dikatakan bagus berdasarkan *Ramachandran analysis*.

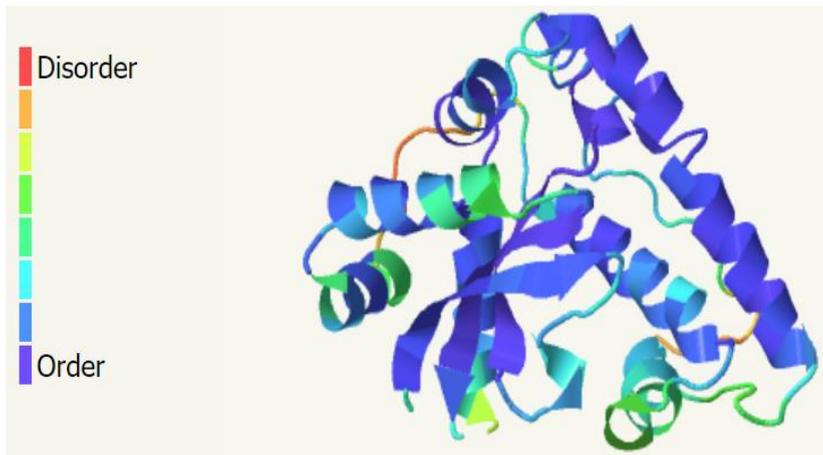
*Alignment confidence* adalah nilai yang menunjukkan hasil dari penjajaran (*alignment*) antara *template* dan sekuen protein target. Nilai *alignment confidence* yang mendekati atau sama dengan 0 maka penjajaran bisa dikatakan bagus, jika nilai mendekati atau sama dengan 1 maka penjajaran bisa dikatakan kurang baik. Penjajaran yang kurang baik terdapat pada residu 84 (A) dan 85 (T) dengan nilai 0,54. **Gambar 26** menunjukkan model yang dilihat dari *alignment confidence*.



**Gambar 26.** Model berdasarkan alignment confidence

Indikator warna dari hijau ke merah menunjukkan daerah residu yang mempunyai nilai *alignment confidence* yang baik, semakin menuju warna merah maka semakin baik (*Good*). Sedangkan indikator warna dari hijau ke ungu mempunyai nilai *alignment confidence* yang kurang baik, semakin menuju warna ungu maka semakin kurang baik (*Bad*). Gambar 17 menunjukkan model didominasi warna merah, kuning dan hijau pada residu di daerah  $\alpha$ -*helix* dan  $\beta$ -*sheet*, sedangkan warna biru muda terdapat pada residu di daerah salah satu *coil*. Model yang dibangun dengan *template c1unfX* bisa dikatakan bagus berdasarkan *alignment confidence*.

Prediksi *disorder* penting untuk dilakukan karena melalui prediksi *disorder* dapat mengidentifikasi daerah fleksibel yang dapat menghalangi berhasil tidaknya kristalisasi suatu protein. Jika nilainya mendekati atau sama dengan 1 maka menunjukkan *disorder* dan jika nilainya mendekati atau sama dengan 0 maka menunjukkan *order*. Daerah *disorder* ditunjukkan pada residu 1-42, 128-135, dan 249-255. **Gambar 27** menunjukkan model yang dilihat dari *disorder*.

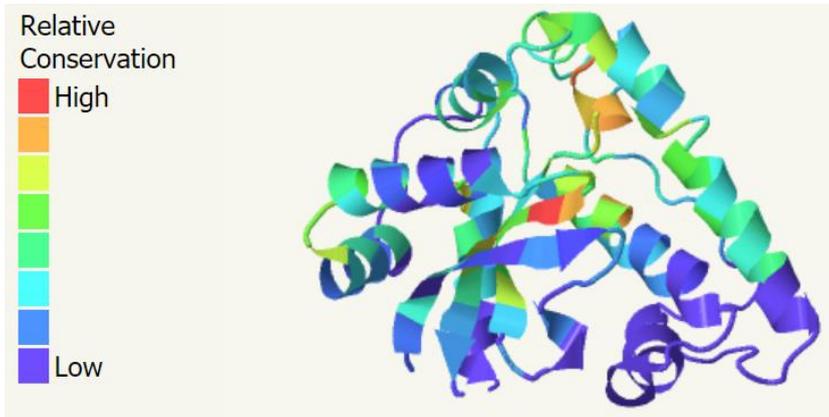


**Gambar 27.** Model berdasarkan disorder

Indikator warna dari hijau ke merah menunjukkan daerah residu yang *disorder*, sedangkan indikator warna dari hijau ke ungu menunjukkan daerah residu yang *order*. Gambar 18 menunjukkan model pada daerah  $\alpha$ -*helix* dan  $\beta$ -*sheet* didominasi warna ungu dan sedikit warna biru muda dan hijau, daerah pada *coil* didominasi warna hijau dan biru muda. model yang dibangun dengan *template* c1unfX bisa dikatakan bagus berdasarkan *disorder*.

## 5.9 Fungsi Model SOD Tanaman Padi

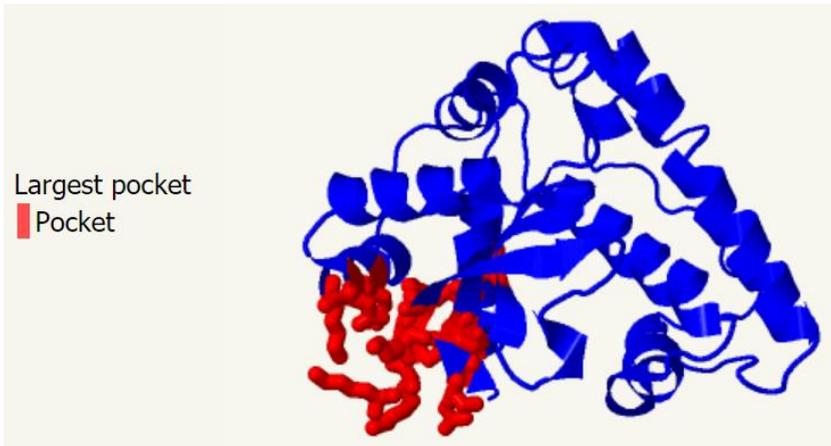
*Conservation* dapat memberikan informasi tentang kemungkinan adanya residu yang fungsional. Gambar 19 menunjukkan model yang dilihat dari *conservation*.



**Gambar 28.** Model berdasarkan conservation

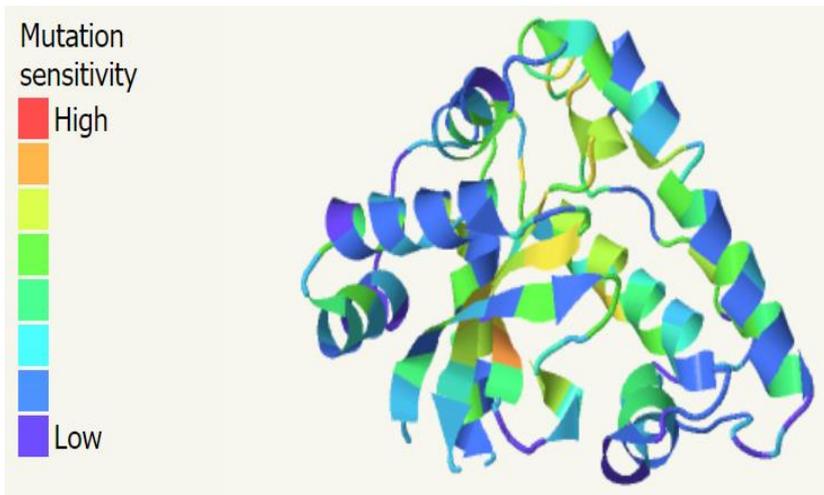
*Conservation* adalah *tools* yang memberikan warna pada area  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -sheet dan *coil* tertentu pada model dengan indikator warna. Indikator warna dari hijau ke merah menunjukkan daerah residu yang mempunyai nilai *conservation* yang tinggi, semakin menuju warna merah maka semakin tinggi (*High*). Sedangkan indikator warna dari hijau ke ungu mempunyai nilai *conservation* yang rendah, semakin menuju warna ungu maka semakin rendah (*Low*). Konservasi tinggi dan konservasi rendah untuk menunjukkan area yang penting untuk fungsi protein. **Gambar 28** menunjukkan model didominasi warna ungu, biru muda dan hijau pada residu di daerah  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -sheet dan *coil*, sedangkan warna merah terdapat pada residu di daerah salah satu  $\beta$ -sheet yaitu residu 168 (W) dan warna jingga pada salah satu  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -sheet dan *coil* yaitu residu 119 (H), 167 (G), 206 (E), 207 (H) dan 209 (Y).

*Pocket detection* adalah *tools* untuk mengetahui prediksi asam amino apa saja yang dapat dijadikan *active site*. *Largest pocket* menunjukkan bahwa pada daerah residu tersebut merupakan daerah *active site*. *Largest pocket* ditandai dengan warna merah seperti pada **Gambar 29**. Residu yang merupakan *active site* adalah 141 (Q), 144 (K), 145 (D), 173 (L), 175 (R), 176 (K), 178 (R), 179 (K), 180 (F), 199 (L), 238 (M), 241 (A) dan 242 (E).



**Gambar 29.** Model berdasarkan Pocket detection

*Mutational sensitivity* adalah *tools* untuk analisis yang memprediksi efek masing-masing dari dua puluh kemungkinan terjadinya *missense mutasi* pada asam amino tertentu pada urutan asam amino protein target. Nilai *mutation sensitivity* dimulai dari skala 0 sampai 9 dimana jika nilainya mendekati 0 menunjukkan bahwa residu memiliki sifat mutasi yang rendah. Sebaliknya jika nilai *mutation sensitivity* mendekati 9 menunjukkan bahwa residu memiliki sifat mutasi yang tinggi. **Gambar 30** menunjukkan model yang dilihat dari *mutational sensitivity*.



**Gambar 30.** Model berdasarkan mutational sensitivity

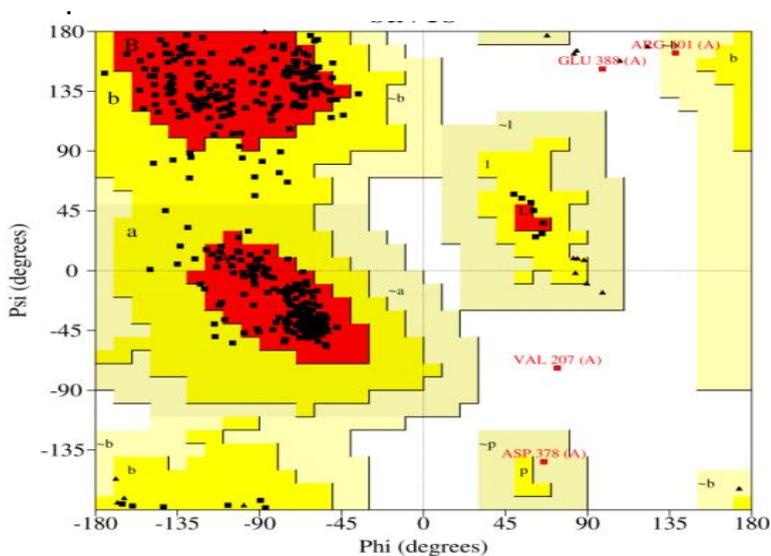
Indikator warna dari hijau ke merah menunjukkan daerah residu yang mempunyai nilai *mutation sensitivity* yang tinggi, semakin menuju warna merah maka semakin tinggi (*High*). Sedangkan indikator warna dari hijau ke ungu mempunyai nilai *mutation sensitivity* yang rendah, semakin menuju warna ungu maka semakin rendah (*Low*). Gambar 21 menunjukkan residu yang memiliki nilai mutasi yang paling tinggi adalah residu 198 (P) dengan nilai 8 yang ditandai dengan warna jingga pada salah satu  $\beta$ -sheet. Sedangkan residu dengan nilai mutasi tertinggi kedua sebesar 7 ditandai dengan warna kuning yang terdapat pada beberapa  $\alpha$ -helix,  $\beta$ -sheet dan coil. Namun, secara keseluruhan model masih didominasi warna ungu, biru muda dan hijau yang menunjukkan bahwa banyak residu yang memiliki nilai mutasi yang tergolong rendah.

### 5.10 Karakteristik Model CAT Tanaman Padi

Procheck merupakan validasi untuk menilai kualitas stereokimia protein berdasarkan analisis geometri residu-residu asam amino penyusun model struktur yang dibandingkan dengan

struktur protein eksperimental resolusi tinggi dan menampilkannya dalam bentuk *Ramachandran Plot* (Saudale, 2020b). Berdasarkan *Ramachandran Plot* dapat diprediksi terkait konformasi rantai utama dari model yang bisa diamati dari penyebaran sudut dan daerah-daerah *favoured* maupun *allowed region* (Ruslin et al., 2019).

Hasil validasi disajikan pada **Gambar 31**. Diagram tersebut menunjukkan bahwa residu asam amino non-glisin dan non-prolin, teridentifikasi sebanyak 88,2% residu yang berada pada *favoured region* (sebanyak 367 buah residu asam amino), 10,8% residu yang berada pada *additional allowed region* (sebanyak 45 buah residu asam amino), 0,5% atau dua buah residu yang berada pada daerah batas toleransi (*generously allowed region*) dan pada daerah yang tidak disukai (*disallowed region*) dengan total residu sebanyak 416 serta residu lain berupa asam amino glisin sebanyak 27, prolin sebanyak 33 dan residu ujung satu buah, hingga jika ditotalkan menjadi 477 residu.



**Gambar 31.** Ramachandran Plot hasil validasi model CAT dengan Procheck

Procheck juga mengidentifikasi (**Gambar 32**) bahwa model mempunyai 10 residu yang di beri label berdasarkan data *All Ramachandrans* dan 2 residu yang diberi label berdasarkan data *chi1-chi2 Plot*. Residu yang diberi label berada pada wilayah *outlier* yang tidak menguntungkan. Selain itu, model memiliki 5 buah rantai samping yang berada di posisi *better* serta mengalami penyimpangan mencapai hingga 5,1 dengan panjang/sudut ikatan sebesar 5,6.

```

All Ramachandrans:  10 labelled residues (out of 475)
Chi1-chi2 plots:   2 labelled residues (out of 301)
Side-chain params:  5 better      0 inside      0 worse

Residue properties: Max.deviation:    5.1                Bad contacts:    0
                   Bond len/angle:   5.6                Morris et al class: 1 1 2
  
```

**Gambar 32.** Hasil validasi menggunakan Procheck

### 5.11 Karakteristik Model SOD Tanaman Padi

Validasi model dilakukan dengan menggunakan program PROCHECK pada *web server* SAVESv6.0 (<https://saves.mbi.ucla.edu/>). Model dengan *template* c1unfX diunduh dari *web server* Phyre<sup>2</sup> dan disimpan dalam format .pdb. *Web server* diakses dan *file* model dalam format .pdb diunggah untuk proses validasi model. Proses validasi memerlukan waktu 42 detik. Tampilan hasil validasi akan memunculkan beberapa parameter untuk validasi model. Hasil validasi dapat dilihat pada **Tabel 7**.

**Tabel 7.** Validasi model dengan PROCHECK

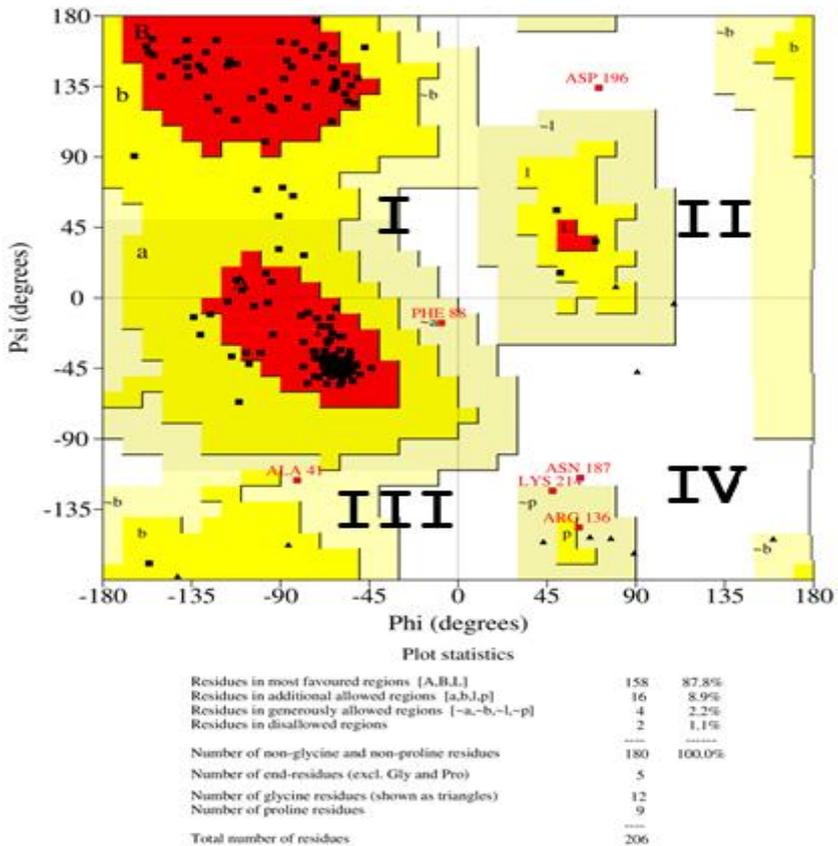
Parameter	Hasil
<i>Ramachandran plot</i>	Residu berada pada daerah yang <i>most favored</i> sebesar 87,8%
	Residu berada pada daerah yang <i>additional allowed</i> sebesar 8,9%
	Residu berada pada daerah yang <i>generously allowed</i> sebesar 2,2%

	Residu berada pada daerah yang <i>disallowed</i> sebesar 1,1%
<i>All Ramachandrans</i>	10 residu <i>labelled</i> (dari 201 residu)
<i>Chi1-chi2 plots</i>	2 residu <i>labelled</i> (dari 137 residu)

Tabel 6. Lanjutan

Parameter	Hasil
<i>Side-chain params</i>	4 <i>better</i> , 1 <i>inside</i> , 0 <i>worse</i>
<i>Residue properties</i>	<i>Max. deviation</i> : 10,6
<i>G-factor</i>	<i>Overall</i> : 0,01
<i>Planar groups</i>	100% <i>within limits</i> , 0% <i>highlighted</i>

*Ramachandran plot* yang dihasilkan dari validasi model menggunakan PROCHECK dapat dilihat pada **Gambar 22**.



**Gambar 33.** Ramachandran plot hasil validasi model SOD dengan Procheck

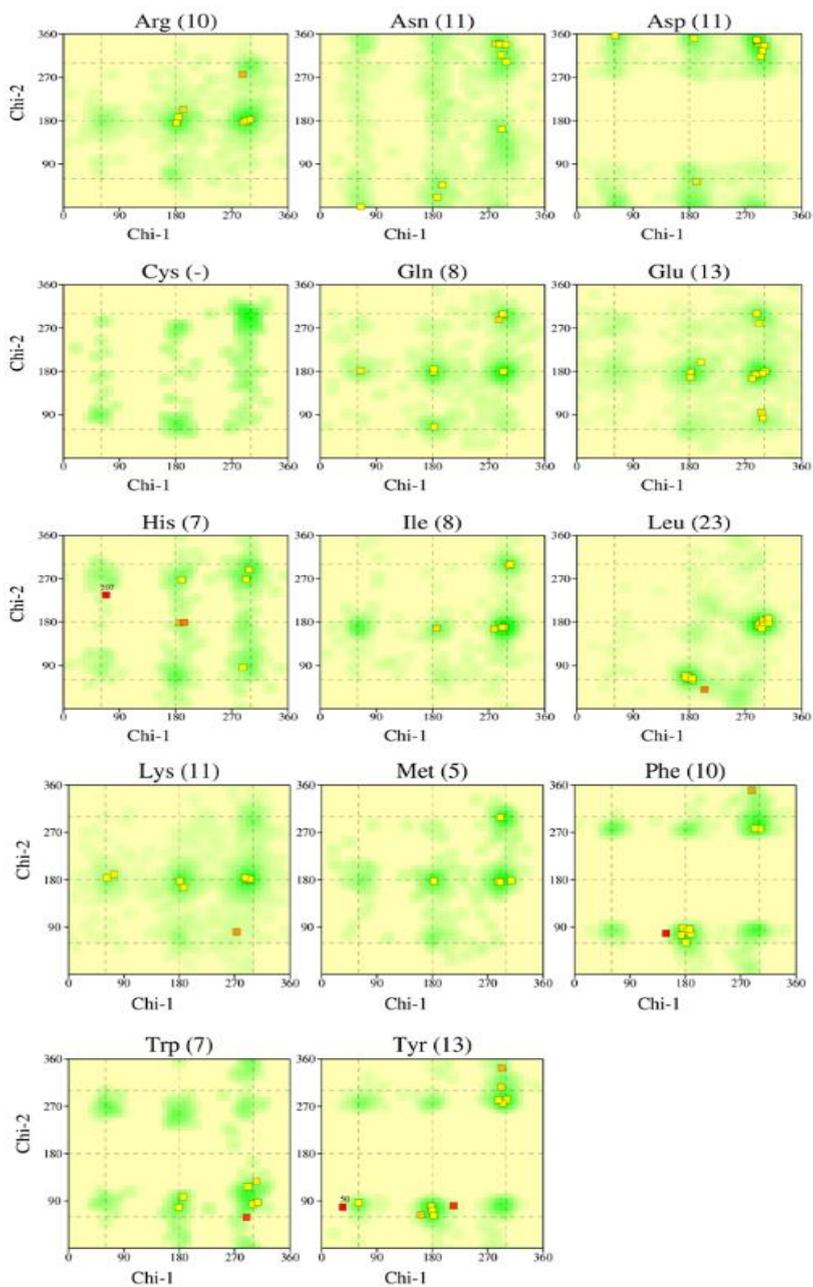
**Gambar 33** menunjukkan sebaran asam amino pada *Ramachandran plot*. *Ramachandran plot* menggambarkan rantai asam amino yang termasuk  $\alpha$ -helix dan  $\beta$ -sheet. Asam amino penyusun  $\alpha$ -helix berada pada daerah *generously allowed regions* dan *additional allowed regions*. Asam amino penyusun  $\beta$ -sheet berada pada daerah *most favoured regions* dan *disallowed regions*. *Ramachandran plot* mempunyai empat kuadran yaitu kuadran I menunjukkan daerah *most favoured regions*, kuadran II menunjukkan daerah *additional allowed regions*, kuadran III menunjukkan daerah *generously allowed regions*, dan kuadran IV

menunjukkan daerah *disallowed regions*. Phi ( $\Phi$ ) menyatakan sumbu x, sedangkan psi ( $\psi$ ) menyatakan sumbu y dari asam amino suatu struktur protein. *Ramachandran plot* adalah indikator untuk mengetahui kualitas intrinsik dari struktur 3D (Petsko & Ringe, 2004).

Kualitas struktur protein yang baik atau buruk tergantung dari sedikit atau banyaknya residu non-glisin yang berada pada daerah *outlier/disallowed regions*. Kualitas struktur protein dikatakan baik jika residu non-glisin pada daerah *outlier* lebih kecil dari 15% dan semakin kecil akan semakin baik kualitas struktur protein (Lovell et al., 2003). Jumlah residu asam amino pada kuadran I (87,8%), kuadran II (8,9%), kuadran III (2,2%), dan kuadran IV (1,1%), ini menandakan bahwa struktur model memiliki kualitas yang baik karena memiliki residu non glisin pada *disallowed regions* berada di bawah 15% yaitu 1,1%. Menurut Ho & Brasseur (2005) menyatakan bahwa kualitas dan kestabilan model ditandai dengan keberadaan residu asam amino yang berada pada *most favoured regions* lebih besar dari residu asam amino pada *disallowed regions*.

**Tabel 7** menunjukkan hasil pada *All Ramachandran plot* bahwa dari 201 residu terdapat 10 residu yang *labelled*. *Labelled* ditunjukkan dengan titik warna merah yang di atas titik merah tersebut terdapat angka. Titik merah dengan angka tersebut menunjukkan bahwa residu pada daerah di suatu grafik *unfavorable* (tidak disukai). Tanda kurung yang berisi angka disamping nama asam amino menunjukkan jumlah asam amino pada grafik. *All Ramachandran plot* pada Gambar 23 menunjukkan residu apa saja yang *labelled* dari 10 residu yang *labelled*. 10 residu tersebut adalah alanine, asam aspartat, asam glutamat, leucine, lysine, phenylalanine, proline, threonine, dan 2 asam amino valine.

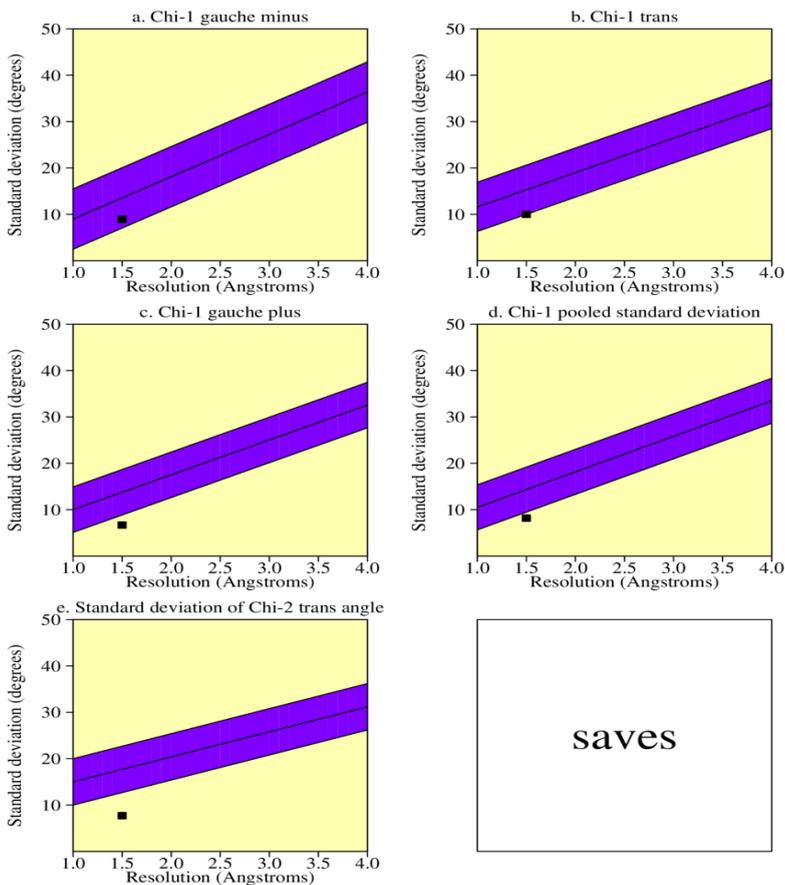
*Chi1-chi2 plots* menunjukkan kombinasi sudut torsi *chi1-chi2 sidechain* untuk semua jenis residu yang *sidechain*-nya cukup panjang untuk memiliki kedua sudut tersebut. Hasil *chi1-chi2 plots* diunjukkan pada **Gambar 34**.



**Gambar 34.** Chi Chi1-chi2 plot

Bayangan pada setiap grafik pada plot menunjukkan seberapa *favorable* daerah pada setiap grafik tersebut, semakin gelap warna bayangannya maka semakin *favorable*. Setiap grafik terdapat keterangan asam amino apa saja yang terdapat pada grafik tersebut dan diikuti dengan angka dalam kurung setelah nama asam amino yang menunjukkan berapa banyak titik yang terdapat pada setiap grafik pada *chi1-chi2 plots*. **Tabel 7** menunjukkan hasil *chi1-chi2 plots* bahwa dari 137 residu terdapat 2 residu yang *labelled*. *Labelled* ditunjukkan dengan titik warna merah yang di atas titik merah tersebut terdapat angka. Titik merah dengan angka tersebut menunjukkan bahwa residu pada daerah di suatu grafik *unfavorable* (tidak disukai). Berdasarkan Gambar 24, 2 residu yang *labelled* adalah histidine dan tyrosine.

Lima grafik pada *side-chain parameters plot* menunjukkan bagaimana model (kotak hitam kecil pada grafik) dibandingkan dengan struktur yang telah disempurnakan dengan baik (*well-refined structure*) pada resolusi yang sama. Pita gelap berwarna ungu pada setiap grafik mewakili hasil dari struktur yang telah disempurnakan dengan baik. Tabel 6 menunjukkan hasil bahwa dari kelima grafik pada *side-chain parameters plot* ada 1 grafik memiliki keterangan *Inside*, 4 grafik memiliki keterangan *BETTER* dan yang menunjukkan *worse* adalah 0. *Side-chain parameters plot* ditunjukkan pada **Gambar 35**.



Plot statistics

Stereochemical parameter	No. of data pts	Parameter value	Comparison values		No. of band widths from mean	
			Typical value	Band width		
a. Chi-1 gauche minus st dev	18	8.9	13.6	6.5	-0.7	Inside
b. Chi-1 trans st dev	59	10.0	15.3	5.3	-1.0	BETTER
c. Chi-1 gauche plus st dev	95	6.7	13.8	4.9	-1.4	BETTER
d. Chi-1 pooled st dev	172	8.2	14.3	4.8	-1.3	BETTER
e. Chi-2 trans st dev	53	7.7	17.7	5.0	-2.0	BETTER

**Gambar 35.** Side-chain parameters plot

Berdasarkan Gambar 35 dari kelima grafik yang ada pada *Side-chain parameters plot* tidak ada menunjukkan hasil yang *worse* (buruk). Grafik (a) pada Gambar 26 menunjukkan hasil *Inside* (di dalam) dimana kotak hitam kecil berada di dalam pita ungu. Sedangkan grafik (b) sampai (e) pada Gambar 35 menunjukkan hasil

*BETTER* (lebih baik). Sehingga dapat dikatakan model tergolong model yang baik.

Berbagai grafik dan diagram pada *residu properties plot*

## 5.12 Penutup

Model struktur tiga dimensi enzim katalase dari tanaman padi (*Oryza sativa*) yang dihasilkan dengan menggunakan program Swiss-Model mengindikasikan bahwa model yang dibangun relatif baik. Hal tersebut dibuktikan melalui data yang menunjukkan nilai GMQE sebesar 0,80 dan nilai QMEAN sebesar -1,64 dengan nilai *sequence identity* sebesar 51,36%. Selain itu, data tersebut didukung dengan hasil visualisasi menggunakan program UCSF Chimera yang memperlihatkan struktur tiga dimensi model memiliki konformasi yang mirip dengan struktur tiga dimensi protein eksperimentalnya (*template*) yang berasal dari *Bacillus pumilus*.

Hasil evaluasi model dengan menggunakan *structure assessment* pada Swiss-Model menunjukkan bahwa model yang dibangun sudah cukup akurat karena hasil evaluasi model memenuhi parameter yang telah ditentukan. Hasil evaluasi tersebut berasal dari nilai-nilai seperti *MolProbity* sebesar 1,68; *clashscore* 5,52; *favoured region* 95,37%; *outlier* 0,84%; *rotamer outlier* 1,18%; *C-β deviation* 6; *bad bonds* 1/3987; *bad angles* 52/5418. Dan hasil validasi parameter menggunakan *Saves v6.0* menunjukkan bahwa model tersebut sudah cukup baik dengan nilai dari masing-masing validasi seperti, *Errat* sebesar 90,865% dan *Procheck* mengidentifikasi 88,2% residu pada *favoured region*. Di sisi lain, berdasarkan parameter lain seperti *Verify3D*, *Prove*, dan *Whatcheck*, model tersebut masih belum mampu memenuhi standar karena disebabkan oleh rantai samping pada model serta resolusi sinar-X yang digunakan pada *template* masih tergolong kecil yaitu 1,6 Å, sehingga menyebabkan kesalahan pada proses validasi.

Pemodelan struktur 3D protein SOD menggunakan *web server* *Phyre<sup>2</sup>* menghasilkan model dengan struktur yang tersusun atas 10  $\alpha$ -*helix*, 5  $\beta$ -*sheet* dan 17 *random coil*. Model dibangun berdasarkan *template* *c1unfX* yang merupakan FeSOD pada *Vigna unguiculata* (kacang tunggak). *Template* *c1unfX* menghasilkan model dengan nilai *coverage* 80%, nilai *confidence* 100% dan nilai i.d. 51%.

Hasil evaluasi model tergolong baik berdasarkan *quality* dengan *ProQ2 quality assessment*, *clashes*, *rotamers*, *ramachandran analysis*, *alignment confidence* dan *disorder* yang didominasi indikator baik (*Good*). Evaluasi model berdasarkan *function* menunjukkan bahwa nilai *conservation* dan nilai *mutational sensitivity* yang tergolong rendah tiap residu. Hasil validasi model pada *Ramachandran plot* menunjukkan residu pada daerah yang *most favored* sebesar 87,8%, daerah yang *additional allowed* sebesar 8,9%, daerah yang *generously allowed* sebesar 2,2%, dan daerah yang *disallowed* sebesar 1,1%. Model yang dihasilkan tergolong baik karena residu pada daerah *disallowed* masih di bawah 15% dan masih kecil dibandingkan dengan daerah yang *most favored* sebesar 87,8%.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmed, A., & H. Gohlke. 2009. Multi-Scale Modeling of Macromolecular Conformational Changes. *Proceedings of 1<sup>st</sup> International Conference on Mathematical and Computational Biomedical Engineering*, Swansea : 1 Juli 2009. Hal. 1-4.
- Suntono, A. (2016). Biokimia Pangan Dasar. *Deepublish*, 10(1).
- Alam, N. B., & Ghosh, A. (2018). Comprehensive analysis and transcript profiling of Arabidopsis thaliana and Oryza sativa catalase gene family suggests their specific roles in development and stress responses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 123. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.11.018>
- Annisa, R., Yuwono, M., & Hendradi, E. (2020). Effect of vegetable oil on self-nanoemulsifying drug delivery system of dayak onion [eleutherine palmifolia (L.) merr.] extract using hydrophilic-lipophilic balance approach: Formulation, characterization. *International Journal of Drug Delivery Technology*, 10(2). <https://doi.org/10.25258/ijddt.10.2.4>
- Arabaci, G., & Usluoglu, A. (2013). Catalytic properties and immobilization studies of catalase from Malva sylvestris L. *Journal of Chemistry*. <https://doi.org/10.1155/2013/686185>
- Arnold, K., Bordoli, L., Kopp, J., & Schwede, T. (2006a). The SWISS-MODEL workspace: A web-based environment for protein structure homology modelling. *Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti770>
- Arnold, K., Bordoli, L., Kopp, J., & Schwede, T. (2006b). The SWISS-MODEL workspace: A web-based environment for protein structure homology modelling. *Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bti770>
- Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), 206–216. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006>

- Benkert, P., Biasini, M., & Schwede, T. (2011). Toward the estimation of the absolute quality of individual protein structure models. *Bioinformatics*.  
<https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq662>
- Benkert, P., Schwede, T., & Tosatto, S. C. (2009). QMEANclust: Estimation of protein model quality by combining a composite scoring function with structural density information. *BMC Structural Biology*. <https://doi.org/10.1186/1472-6807-9-35>
- Bertoni, M., Kiefer, F., Biasini, M., Bordoli, L., & Schwede, T. (2017). Modeling protein quaternary structure of homo- and hetero-oligomers beyond binary interactions by homology. *Scientific Reports*, 7(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-09654-8>
- Bordoli, L., Kiefer, F., Arnold, K., Benkert, P., Battey, J., & Schwede, T. (2009). Protein structure homology modeling using SWISS-MODEL workspace. *Nature Protocols*. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.197>
- Bordoli, L., & Schwede, T. (2012). Automated protein structure modeling with swiss-model workspace and the protein model portal. *Methods in Molecular Biology*. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-588-6\\_5](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-588-6_5)
- Branden, C. I., & Tooze, J. (2012). Introduction to Protein Structure. In *Introduction to Protein Structure*. Garland Science. <https://doi.org/10.1201/9781136969898>
- Chen, V. B., Arendall, W. B., Headd, J. J., Keedy, D. A., Immormino, R. M., Kapral, G. J., Murray, L. W., Richardson, J. S., & Richardson, D. C. (2010). MolProbity: All-atom structure validation for macromolecular crystallography. *Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography*. <https://doi.org/10.1107/S0907444909042073>
- Collins, D. P., & Dawson, J. H. (2013). Recent History of Heme-Containing Proteins: Advances in Structure, Functions, and Reaction Intermediate Determination. In *Comprehensive Inorganic Chemistry II (Second Edition): From Elements to Applications* (Vol. 3). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-097774-4.00306-5>
- Colovos, C., & Yeates, T. O. (1993). Verification of protein

- structures: Patterns of nonbonded atomic interactions. *Protein Science*. <https://doi.org/10.1002/pro.5560020916>
- Dewi, N. P. K. (2018). Efek Paparan Logam Berat Terhadap Kadar Malondialdehida dan Aktivitas Katalase Ikan Mas dan Ikan Nila di Sungai Kaligarang. *Jurnal Mipa*, 41(2).
- Ethica, S. N. (2019). *Pengantar Bioinformatika untuk Mahasiswa Laboratorium Medis* (1st ed.). Publisher: Deepublish.
- FOYER, C. H., DESCOURVIÈRES, P., & KUNERT, K. J. (1994). Protection against oxygen radicals: an important defence mechanism studied in transgenic plants. *Plant, Cell & Environment*, 17(5), 507–523. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1994.tb00146.x>
- Gupta, R., Dey, A., Vijan, A., & Gartia, B. (2017). In Silico Structure Modeling and Characterization of Hypothetical Protein YP\_004590319.1 Present in Enterobacter aerogens. *Journal of Proteomics & Bioinformatics*, 10(6). <https://doi.org/10.4172/jpb.1000436>
- Guruprasad, K., Reddy, B. V. B., & Pandit, M. W. (1990). Correlation between stability of a protein and its dipeptide composition: A novel approach for predicting in vivo stability of a protein from its primary sequence. *Protein Engineering, Design and Selection*. <https://doi.org/10.1093/protein/4.2.155>
- Haryanto, T., & Budiman, B. (2015). Penggunaan Fitur Kimia Fisik dan Posisi Atom untuk Prediksi Struktur Sekunder Protein. *Jurnal Edukasi Dan Penelitian Informatika (JEPIN)*, 1(2). <https://doi.org/10.26418/jp.v1i2.11919>
- Hintze, B. J., Lewis, S. M., Richardson, J. S., & Richardson, D. C. (2016). Molprobity's ultimate rotamer-library distributions for model validation. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*, 84(9). <https://doi.org/10.1002/prot.25039>
- Ho, B. K., & Brasseur, R. (2005). The Ramachandran plots of glycine and pre-proline. *BMC Structural Biology*, 5, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1472-6807-5-14>
- Hooft RW, Vriend G, Sander C, & Abola EE. (1996). Errors in Protein structures. *Nature*, 381(6580), 272.
- Hussain, S., ZHANG, J. hua, ZHONG, C., ZHU, L. feng, CAO, X. chuang, YU, S. miao, Allen Bohr, J., HU, J. jie, & JIN, Q. yu.

- (2017). Effects of salt stress on rice growth, development characteristics, and the regulating ways: A review. In *Journal of Integrative Agriculture* (Vol. 16, Issue 11). [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61608-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61608-8)
- Jones, D. T. (1999). <Jones 1999 - PSIpred.pdf>. *Journal of Molecular Biology*.
- Kelley, L. A., Mezulis, S., Yates, C. M., Wass, M. N., & Sternberg, M. J. E. (2015). The Phyre2 web portal for protein modeling, prediction and analysis. *Nature Protocols*, 10(6). <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.053>
- Khor, B. Y., Tye, G. J., Lim, T. S., & Choong, Y. S. (2015). General overview on structure prediction of twilight-zone proteins. *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s12976-015-0014-1>
- Komari, N., K. Anwar & E. Suhartono (2022). Three Dimension Structure Modeling of The Superoxide Dismutase (SOD) of Rice (*Oryza sativa*) Using Fold Recognition Method Using Phyre2 Web Server. *Jurnal Berkala Ilmiah Sains dan Terapan Kimia*, 16(2), 86-97.
- Komari, N., Hadi, S., & Suhartono, E. (2020). *Pemodelan Protein dengan Homology Modeling menggunakan SWISS-MODEL Protein Modeling with Homology Modeling using SWISS-MODEL*. 2(2), 65–70.
- Kopp, J., & Schwede, T. (2004). Automated protein structure homology modeling: A progress report. In *Pharmacogenomics*. <https://doi.org/10.1517/14622416.5.4.405>
- Laskowski, R. A., MacArthur, M. W., Moss, D. S., & Thornton, J. M. (1993). PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures. *Journal of Applied Crystallography*, 26(2), 283–291. <https://doi.org/10.1107/s0021889892009944>
- Laskowski, R. A., Rullmannn, J. A., MacArthur, M. W., Kaptein, R., & Thornton, J. M. (1996). AQUA and PROCHECK-NMR: programs for checking the quality of protein structures solved by NMR. *Journal of Biomolecular NMR*, 8(4), 477–486. <https://doi.org/10.1007/BF00228148>
- Lee, M. H., Cho, E. J., Wi, S. G., Bae, H., Kim, J. E., Cho, J. Y.,

- Lee, S., Kim, J. H., & Chung, B. Y. (2013). Divergences in morphological changes and antioxidant responses in salt-tolerant and salt-sensitive rice seedlings after salt stress. *Plant Physiology and Biochemistry*, 70. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.047>
- Loewen, P. C., Villanueva, J., Switala, J., Donald, L. J., & Ivancich, A. (2015). Unprecedented access of phenolic substrates to the heme active site of a catalase: Substrate binding and peroxidase-like reactivity of *Bacillus pumilus* catalase monitored by X-ray crystallography and EPR spectroscopy. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics*, 83(5). <https://doi.org/10.1002/prot.24777>
- Lovell, S. C., Davis, I. W., Lii, W. B. A., de Bakker, P. I. W., Word, J. M., Prisant, M. G., Richardson, J. S., & Richardson, D. C. (2003). Structure validation by Calpha geometry: Phi,psi and Cbeta deviation. *Proteins*, 50(3).
- Lüthy, R., Bowie, J. U., & Eisenberg, D. (1992). Assessment of protein models with three-dimensional profiles. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/356083a0>
- Makigaki, S., & Ishida, T. (2020). Sequence alignment generation using intermediate sequence search for homology modeling. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2020.07.012>
- Mhamdi, A., Queval, G., Chaouch, S., Vanderauwera, S., Van Breusegem, F., & Noctor, G. (2010). Catalase function in plants: A focus on *Arabidopsis* mutants as stress-mimic models. In *Journal of Experimental Botany* (Vol. 61, Issue 15). <https://doi.org/10.1093/jxb/erq282>
- Momčilović, I., Pantelić, D., Hfidan, M., Savić, J., & Vinterhalter, D. (2014). Improved procedure for detection of superoxide dismutase isoforms in potato, *Solanum tuberosum* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36(8), 2059–2066. <https://doi.org/10.1007/s11738-014-1583-z>
- Morris, A. L., MacArthur, M. W., Hutchinson, E. G., & Thornton, J. M. (1992). Stereochemical quality of protein structure coordinates. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 12(4). <https://doi.org/10.1002/prot.340120407>

- Munné-Bosch, S., & Alegre, L. (2002). The Function of Tocopherols and Tocotrienols in Plants. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 21(1), 31–57. <https://doi.org/10.1080/0735-260291044179>
- Muñoz, I. G., Moran, J. F., Becana, M., & Montoya, G. (2005). The crystal structure of an eukaryotic iron superoxide dismutase suggests intersubunit cooperation during catalysis. *Protein Science*, 14(2). <https://doi.org/10.1110/ps.04979505>
- Narita, V., Arum, A. L., Isnaeni M, S., & Fawzya, N. Y. (2014). Analisis Bioinformatika Berbasis WEB untuk Eksplorasi Enzim Kitosanase Berdasarkan Kemiripan Sekuens. *JURNAL Al-AZHAR INDONESIA SERI SAINS DAN TEKNOLOGI*, 1(4). <https://doi.org/10.36722/sst.v1i4.84>
- Nurhayati, B., & Darmawati, S. (2019). Biologi sel dan molekuler: Bahan ajar teknologi labotarium medis. *Indo. Kemkes*.
- Pontius, J., Richelle, J., & Wodak, S. J. (1996). <Pontius et al 1996 8950272.pdf>. 121–136.
- Ravikumar, A., Ramakrishnan, C., & Srinivasan, N. (2019). Stereochemical Assessment of ( $\phi, \psi$ ) Outliers in Protein Structures Using Bond Geometry-Specific Ramachandran Steric-Maps. *Structure*, 27(12). <https://doi.org/10.1016/j.str.2019.09.009>
- Ray, A., Lindahl, E., & Wallner, B. (2012). Improved model quality assessment using ProQ2. *BMC Bioinformatics*. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-13-224>
- Raza, M., Khan, Z., Ahmad, A., Raza, S., Khan, A., Mohammadzai, I. U., & Zada, S. (2017). In silico 3-D structure prediction and molecular docking studies of inosine monophosphate dehydrogenase from Plasmodium falciparum. *Computational Biology and Chemistry*, 71(September), 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2017.09.002>
- Remmert, M., Biegert, A., Hauser, A., & Söding, J. (2012). HHblits: Lightning-fast iterative protein sequence searching by HMM-HMM alignment. *Nature Methods*, 9(2), 173–175. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1818>
- Rosmawati, T. (2013). Lama perebusan terhadap kandungan protein pada kerang darah (Anadara granosa). *Jurnal Biology Science*

- & *Education*, 2(2), 103–109.
- Ruslin, R., Putri, S. R., & Arba, M. (2019). Pemodelan Homologi Protein Receptor Orphan Receptor-1 (ROR-1) Sebagai Target Terapi Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). *Pharmauho: Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*. <https://doi.org/10.33772/pharmauho.v5i1.8992>
- Saudale, F. Z. (2020a). Biokimia di Era Big Data Genomik: Tantangan, Aplikasi dan Peluang Inovasi. *Chem. Notes*, 1(2), 21–43.
- Saudale, F. Z. (2020b). Pemodelan Homologi Komparatif Struktur 3d Protein dalam Desain dan Pengembangan Obat. *Al-Kimia*. <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v8i1.9463>
- Saudale, F. Z., & Suatu, I. R. S. (2020). Pemodelan Homologi Komparatif FABP Belalang Kembara (*Locusta migratoria*) Dengan PHYRE2 dan Skrining Virtual Inhibitor Potensial. *Indo. J. Chem. Res.*, 7(2). <https://doi.org/10.30598/ijcr.2020.7-fre>
- Schwede, T. (2013). Protein modeling: What happened to the “protein structure gap”? In *Structure*. <https://doi.org/10.1016/j.str.2013.08.007>
- Sharma, I., & Ahmad, P. (2014). Catalase: A Versatile Antioxidant in Plants. In *Oxidative Damage to Plants: Antioxidant Networks and Signaling*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-799963-0.00004-6>
- Srivastava, M., Gupta, S. K., Abhilash, P. C., & Singh, N. (2012). Structure prediction and binding sites analysis of curcin protein of *Jatropha curcas* using computational approaches. *Journal of Molecular Modeling*. <https://doi.org/10.1007/s00894-011-1320-0>
- Suprianto, Budiarsa, M., & Dhafir, F. (2020). 3D Structure of VP1 Structural Protein on Enterovirus A71 Using Swiss-Model. *BIOEDUSCIENCE: Jurnal Pendidikan Biologi Dan Sains*, 4(1), 37–47. <https://doi.org/10.29405/j.bes/4137-474353>
- Surakusumah, W., Nilawati, T. S., & ... (2020). Potensi Alocasia macrorrhiza Sebagai Fitoremediator Logam Kromium. *Jurnal Ilmu Alam Dan ...*, 11(2), 8–14.
- Susanti, R., & Febriana, F. (2017). Teknologi Enzim. *Yogyakarta:*

- Penerbit Andi Offset. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.*
- Thorat, B. S., Bagkar, T. A., & Raut, S. M. (2018). Responses of rice under salinity stress : A review. *International Journal of Chemical Studies*, 6(4).
- van Lith, R., & Ameer, G. A. (2016). Antioxidant Polymers as Biomaterial. In *Oxidative Stress and Biomaterials*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803269-5.00010-3>
- Waterhouse, A., Bertoni, M., Bienert, S., Studer, G., Tauriello, G., Gumienny, R., Heer, F. T., De Beer, T. A. P., Rempfer, C., Bordoli, L., Lepore, R., & Schwede, T. (2018). SWISS-MODEL: Homology modelling of protein structures and complexes. *Nucleic Acids Research*. <https://doi.org/10.1093/nar/gky427>
- Westbrook, J., Feng, Z., Chen, L., Yang, H., & Berman, H. M. (2003). The Protein Data Bank and structural genomics. *Nucleic Acids Research*, 31(1), 489–491. <https://doi.org/10.1093/nar/gkg068>
- Widowati, W., Safitri, R., Rumumpuk, R., & Siahaan, M. (2005). Penapisan Aktivitas Superoksida Dismutase pada Berbagai Tanaman. *JKM*, 5(1).
- Wutipraditkul, N., Boonkomrat, S., & Buaboocha, T. (2011). Cloning and characterization of catalases from rice, *Oryza sativa* L. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. <https://doi.org/10.1271/bbb.110214>
- Yeni; Tjahjono, D. (2017). *Homology modeling epitop isocitrate dehydrogenase tipe 1 (r132h) 2 menggunakan modeller, i-tasser dan (ps) untuk vaksin glioma*. 4(1), 21–32.
- Yuslianti Euis R. (2018). Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan. In *Deepublish.Yogyakarta*.
- Yuwono T. (2012). Bioteknologi Pertanian. *Gadjah Mada University Press. Cetakan Ketiga*.
- Zafar, S. A., Hameed, A., Nawaz, M. A., MA, W., Noor, M. A., Hussain, M., & Mehboob-ur-Rahman. (2018). Mechanisms and molecular approaches for heat tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) under climate change scenario. In *Journal of Integrative Agriculture* (Vol. 17, Issue 4). <https://doi.org/10.1016/S2095->

## GLOSSARIUM

$\alpha$ -helix	motif umum dalam struktur sekunder protein dan merupakan konformasi heliks tangan kanan di mana setiap ikatan hidrogen gugus N-H tulang punggung ke gugus C=O asam amino tulang punggung terletak empat residu sebelumnya di sepanjang urutan protein.
B-sheet:	motif umum dari struktur sekunder protein.
Bioinformatika:	ilmu yang mempelajari penerapan 79embra komputasi untuk mengelola dan menganalisis informasi hayati.
Catalase (CAT):	enzim yang mengandung empat gugus heme, pada tulang, 79embrane mukosa, ginjal dan hati. Aktivitas enzim ditemukan dalam mitokondria, sitoplasma dan peroksisom
Difraksi sinar-X:	salah satu cara untuk mempelajari keteraturan atom atau molekul dalam suatu struktur tertentu.
Fold recognition model:	Model struktur tiga dimensi protein yang didapat dengan Menyusun lipatan per lipatan residu asam amino.

Genomik:	cabang biologi yang mempelajari genom dari suatu organisme atau virus.
Homologi modeling:	pemodelan protein didasarkan pada kesamaan sekuen asam amino, metode pemodelan protein yang cukup akurat untuk menghasilkan model struktur protein tiga dimensi.
In silico:	istilah untuk percobaan atau uji yang dilakukan dengan metode simulasi computer
Model protein:	Struktur protein yang didapat dari hasil pemodelan secara homologi modeling atau fold recognition.
Nuclear magnetic resonance:	salah satu jenis spektroskopi frekuensi radio yang didasarkan pada medan magnet yang berasal dari spin inti atom yang bermuatan listrik
<i>Oryza sativa</i> :	Tanaman padi
PDB:	Protein Data Bank, database protein
Phyre-2:	(Protein Homology/AnalogY Recognition Engine; diucapkan seperti kata 'fire') adalah layanan berbasis website gratis untuk prediksi struktur protein. Phyre adalah salah satu metode paling populer untuk informasi prediksi struktur protein.
Ramachandran plot:	diagram Ramachandran yang dikembangkan pada tahun 1963 oleh GN Ramachandran, C. Ramakrishnan,

dan V. Sasisekharan. Cara untuk memvisualisasikan secara energetika yang diizinkan daerah untuk sudut dihedral tulang punggung terhadap residu asam amino dalam struktur protein.

Sekuen protein:	urutan asam amino protein
Superoksida dismutase (SOD):	enzim yang secara bergantian mengkatalisis hidrogen (atau partisi) superoksida ( $O_2^-$ ) radikal menjadi molekul oksigen biasa ( $O_2$ ) dan hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ).
Swiss-Model:	web server bioinformatika struktural yang didedikasikan untuk pemodelan homologi struktur protein 3D
Template:	cetakan model protein yang memiliki kemiripan
Uniprot:	database sekuens protein dan informasi fungsional yang dapat diakses secara bebas, banyak entri berasal dari proyek pengurutan genom

## INDEKS BUKU

- 3 dimensi, 1, 14  
*ab initio*, iii, 2  
*Ab initio*, 15  
antioksidan, iii, 3, 4, 10, 11, 12  
Arabidopsis, 4, 71, 75  
asam amino, iii, 1, 2, 6, 7, 8, 10, 11, 14, 15, 17, 18, 20, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 31, 32, 35, 37, 38, 39, 41, 43, 44, 45, 46, 49, 50, 56, 57, 59, 62, 63, 65  
bioinformatika, iii, 1, 2, 14, 17  
Catalase, 3, 10, 75, 77  
Chimera, 21, 68  
*database*, v, 3, 5, 16, 17, 18, 22, 21, 22  
difraksi sinar-X, iii, v, 1, 37  
*disallowed region*, 43, 59  
FASTA, 22, 23, 17, 18, 22, 24, 25, 32  
*fold recognition*, iii, v, 2, 3, 14  
*Function*, 20, 49, 55, 73, 75  
GMQE, 19, 29, 39, 68  
GRAVY, 25, 26  
homologi, iii, v, 2, 11, 14, 16, 17, 36  
homology modeling, v, 2, 3, 72, 74, 75  
*in silico*, iii, iv, v, 2, 5, 14  
katalase, iii, 3, 4, 10, 11, 12, 13, 22, 21, 22, 28, 30, 68  
*most favoured regions*, 62, 63  
NCBI, v, 22, 21, 22  
oligomer, 8  
*Oryza sativa*, iii, v, 4, 12, 22, 23, 21, 22, 23, 24, 27, 28, 68, 71, 78  
Phyre<sup>2</sup>, iii, iv, v, 3, 5, 15, 17, 18, 19, 18, 20, 24, 32, 47, 49, 60, 68, 74  
polimer, 1, 7  
primer, 1, 7, 8, 9  
PROCHECK, 17, 19, 20, 21, 60, 61, 74  
*Protein Data Bank*, 2, 5, 14, 78  
PSIPRED, 18  
QMEAN, 17, 19, 39, 40, 41, 68  
QSQE, 32  
*Quality*, 19, 20, 49  
*Ramachandran plot*, 20, 21, 60, 61, 62, 63, 69  
*Ramachandran Plot*, v, 46, 47, 59  
ROS, iii, 3, 4, 11, 13  
Sekuen, v, 22, 23, 17, 18, 21, 22, 24, 25  
*sequence identity*, 2, 28, 68  
*Superoxide dismutase*, 3, 22, 23

*Swiss-Model*, v, 5, 16, 17, 18,  
19, 28, 29, 30, 32, 37, 38, 39,  
41, 42, 68, 77

*template*, v, 2, 3, 14, 15, 16, 17,  
18, 19, 20, 21, 28, 29, 30, 31,  
32, 33, 35, 36, 37, 40, 41, 43,

46, 47, 48, 50, 51, 52, 53, 54,  
55, 60, 68

Uniprot, 23

UniProt, v, 2, 23, 18, 22, 24

$\beta$ -*sheet*, 7, 18, 32, 36, 50, 51, 52,  
54, 55, 56, 58, 62, 68

# MENGUNGKAP MISTERI STRUKTUR PROTEIN: TEKNIK PEMODELAN IN SILICO UNTUK PENELITIAN BIOKIMIA

Penentuan struktur tiga dimensi (3D) protein menggunakan instrumentasi laboratorium difraksi sinar-X, Nuclear Magnetic Resonance (NMR) dan mikroskop elektron membutuhkan waktu lama dan biaya mahal. Saat ini dikembangkan metode yang lebih cepat dan murah, yaitu metode in silico. Metode in silico dalam pemodelan protein meliputi metode homology modeling, fold recognition dan ab initio sebagai metode alternatif untuk memprediksi struktur tiga dimensi protein. Kajian ini bertujuan memprediksi model struktur tiga dimensi enzim catalase (CAT) dengan metode homology modeling dan enzim superoxide dismutase (SOD) dengan metode fold recognition pada tanaman padi (*Oryza sativa*). Tanaman padi dipilih karena pentingnya kajian tentang pemodelan protein pada tanaman padi. Protein tanaman padi belum banyak ditemukan pemodelannya secara instrumentasi. Pemodelan protein menggunakan web server Swiss-Model dan Phyre2. Sekuen CAT didapat dari database NCBI dengan kode asesi AKO90140 dan SOD didapat dari database UniProt KB dengan kode asesi A0A6F8FUX1. Hasil kajian menunjukkan bahwa model CAT memiliki template dengan kode 4qol.1.A, dimana persentase identity sebesar 51,36%. Evaluasi model CAT pada web server menunjukkan bahwa model yang dibangun bernilai baik. Validasi model CAT dengan Procheck mengidentifikasi bahwa model juga bernilai baik. Model SOD pada Phyre2 mempunyai template c1unfX, dimana nilai coverage 80%, nilai confidence 100% dan identity 51%. Evaluasi model SOD pada web server didapatkan model yang baik. Validasi model dengan Procheck menunjukkan daerah most favored pada Ramachandran Plot sebesar 87,8% dan daerah yang disallowed sebesar 1,1%. Model SOD yang dibangun adalah model yang bernilai baik.



Jl. Hasan Basri, Kayutangi, Banjarmasin 70123  
Telp/Fax. 0511-3305195  
ANGGOTA APPTI (004.035.1.03.2018)