



Analisis Interaksi α -Amilase *Bacillus licheniformis* (BLA) dan Mutannya (MTBLA) dengan Maltoheptaosa pada Suhu Tinggi menggunakan Metode *In Silico*

Interaction Analysis of α -Amylase *Bacillus licheniformis* (BLA) and its Mutant (MTBLA) with Maltoheptaose at High Temperature using *In Silico* Method

Annisyaban Fatiha Azzahra¹, Regaputra Satria Janitra¹, Wahyu Widayat², Farhan Azhwin Maulana³, Safri Ishmayana⁴, Muhammad Yusuf^{4,5,*}

¹Program Studi Magister Bioteknologi, Fakultas Sekolah Pascasarjana, Universitas Padjadjaran, Bandung 40132, Indonesia

²Laboratorium Riset dan Pengembangan Farmaka Tropis, Fakultas Farmasi, Universitas Mulawarman, Samarinda 75119, Indonesia

³Departemen Life Sciences, National Central University, Taoyuan, Taiwan

⁴Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran, Sumedang 45363, Indonesia

⁵Pusat Riset Bioteknologi Molekuler dan Bioinformatika, Universitas Padjadjaran, Bandung 40132, Indonesia

*Email Korespondensi: m.yusuf@unpad.ac.id

Data Pendukung

Daftar Tabel

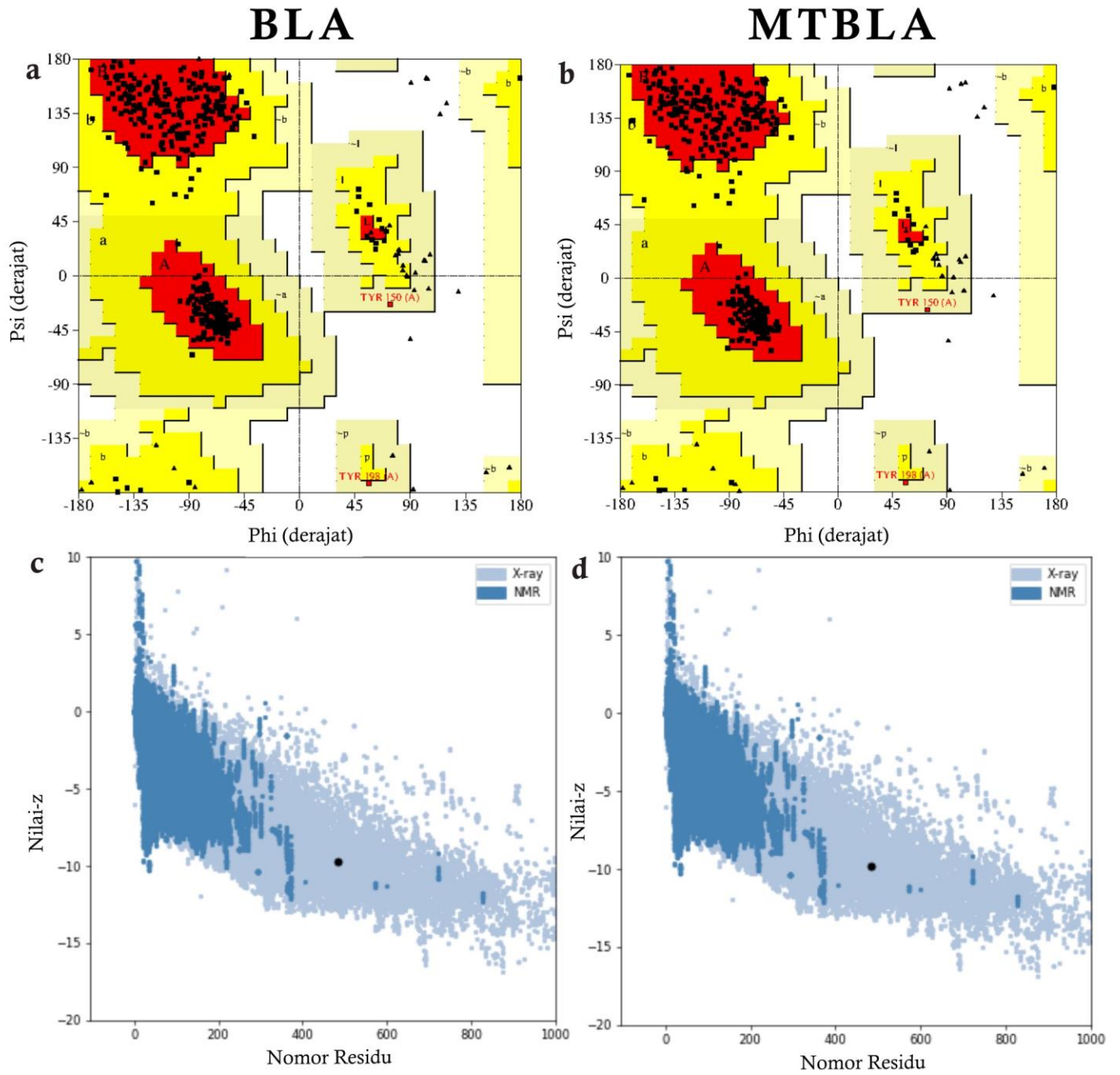
Tabel	Isi	Halaman
S1	Nilai validasi model BLA dan MTBLA Validation dari server SAVES dan PROSA	6

Daftar Gambar

Gambar	Isi	Halaman
S1	Plot Ramachandran (a) BLA, (b) MTBLA, (c) plot nilai-z BLA, dan (d) MTBLA.	5
S2	Interaksi asam amino (a) His133Val (b) Asn190Phe (c) Ala209Val (d) Gln264Ser dan Asn265Tyr pada MTBLA suhu 373 K. Garis putus-putus warna merah muda, magenta, dan hijau masing-masing merepresentasikan interaksi CH/ π , π - π , dan ikatan hidrogen.	7
S3	Struktur optimasi (a) acarbose dan (b) maltoheptaosa.	8
S4	Gambar S1 <i>Superimposed</i> hasil penambatan molekul (biru) dan kristal (hijau) pose dari acarbose.	9

Bagian I: Pemodelan Homologi dan Validasi

Pemodelan ulang menggunakan Modeller menghasilkan 20 model. Dipilih 1 model terbaik yang memiliki nilai DOPE terendah serta nilai GA341 mendekati 1,0. Nilai DOPE merepresentasikan kualitas keseluruhan dari struktur model yang dihasilkan sedangkan nilai GA341 dengan nilai 1,0 menggambarkan kualitas model terbaik [1]. *Web server* SAVES memprediksi nilai PROCHECK untuk kualitas struktur dari sudut phi dan psi pada kerangka rantai utama enzim dalam bentuk plot Ramachandran (Gambar S1). Hasil analisis menunjukkan asam amino model BLA dan MTBLA 91,9% dan 91,2% berada pada daerah disukai serta tidak ada asam amino yang berada di daerah terlarang. Idealnya model dengan kualitas baik memiliki nilai >90% pada daerah disukai artinya rantai polipeptida yang terbentuk sudah sesuai sehingga struktur yang terbentuk baik [2]. *Web server* SAVES memprediksi nilai Verify3D dan ERRAT pada BLA sebesar 95,45% dan 83,78% sedangkan untuk MTBLA sebesar 94,62% dan 85,05%. Verify3D menilai kompatibilitas model atom (3D) dengan sekuen asam aminonya dengan menetapkan kelas struktural berdasarkan lokasi dan lingkungannya (alfa, beta, *loop*, polar, dan nonpolar) dan membandingkannya dengan struktur terbaik [3]. ERRAT berfungsi untuk mendeteksi kesalahan lokal pada struktur berdasarkan data statistik dari interaksi atomik nonikatan dan membandingkannya secara statistik dengan struktur kualitas terbaik untuk menentukan kualitasnya secara menyeluruh [4]. Analisis nilai-z pada BLA dan MTBLA sebesar -9,72% dan -9,81% yang ditunjukkan dalam titik hitam pada plot nilai-z (Gambar S1). Hasilnya menunjukkan model BLA dan MTBLA memiliki rentang skor yang sama dengan enzim lainnya yang berukuran sama di daerah Sinar-X (Gambar S1 c dan d). Dari hasil validasi (Tabel S1) mengindikasikan bahwa model prediksi memiliki kualitas model terbaik dan dapat digunakan sebagai tahapan analisis *in silico* selanjutnya.

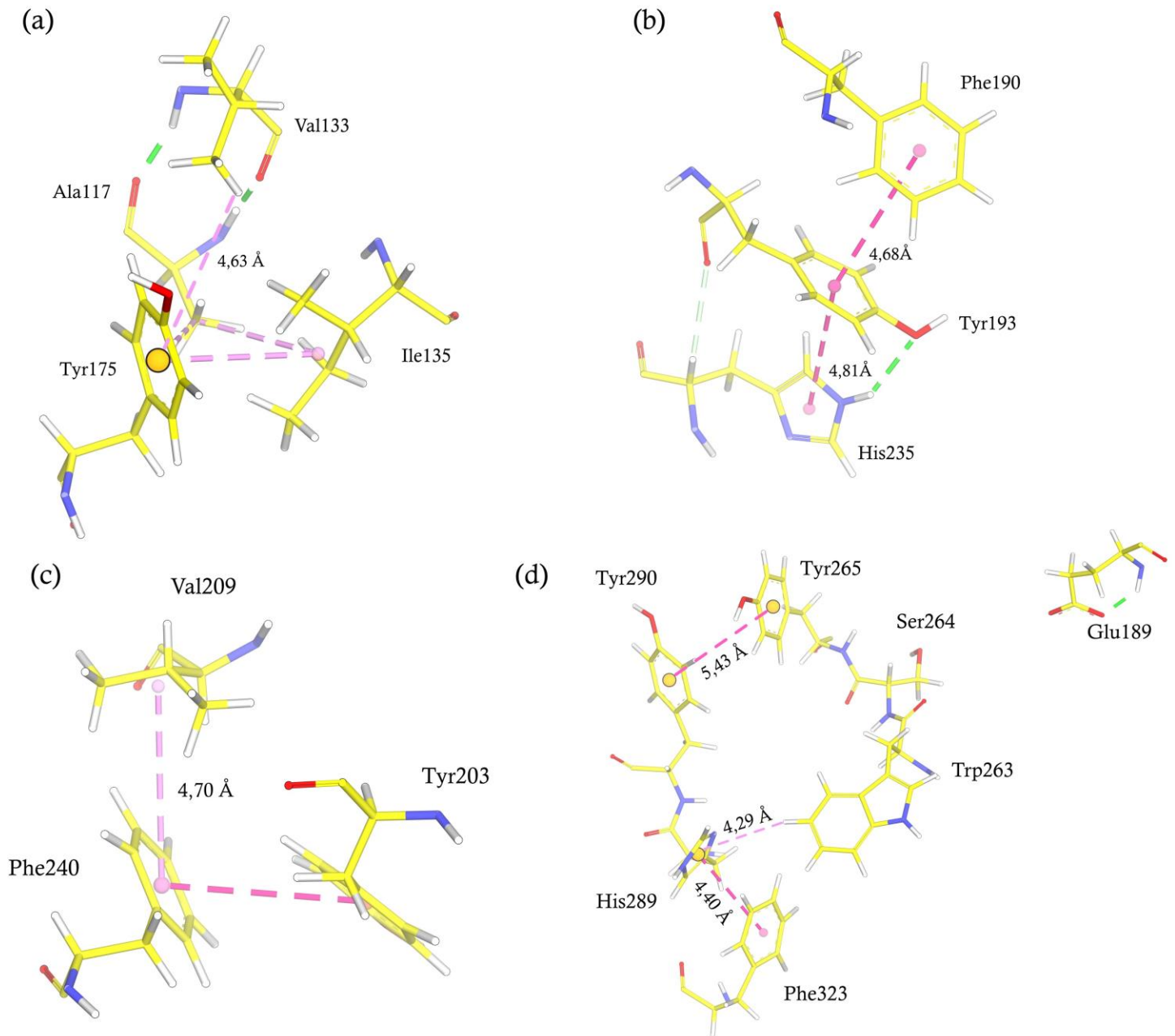


Gambar S2 Plot Ramachandran (a) BLA, (b) MTBLA, (c) plot nilai-z BLA, dan (d) MTBLA.

Tabel S1 Nilai validasi model BLA dan MTBLA Validation dari server SAVES dan PROSA

Struktur	PROCHECK	Verify3D	ERRAT	PROSA (nilai-z)
BLA	Residu asam amino di: Daerah disukai 91,9% Daerah diperbolehkan 8,1% Daerah terlarang 0%	95,45%	83,78%	-9,72
MTBLA	Residu asam amino di: Daerah disukai 91,2% Daerah diperbolehkan 8,8% Daerah terlarang 0%	94,62%	85,05%	-9,81

Bagian II: Simulasi Dinamika Molekul

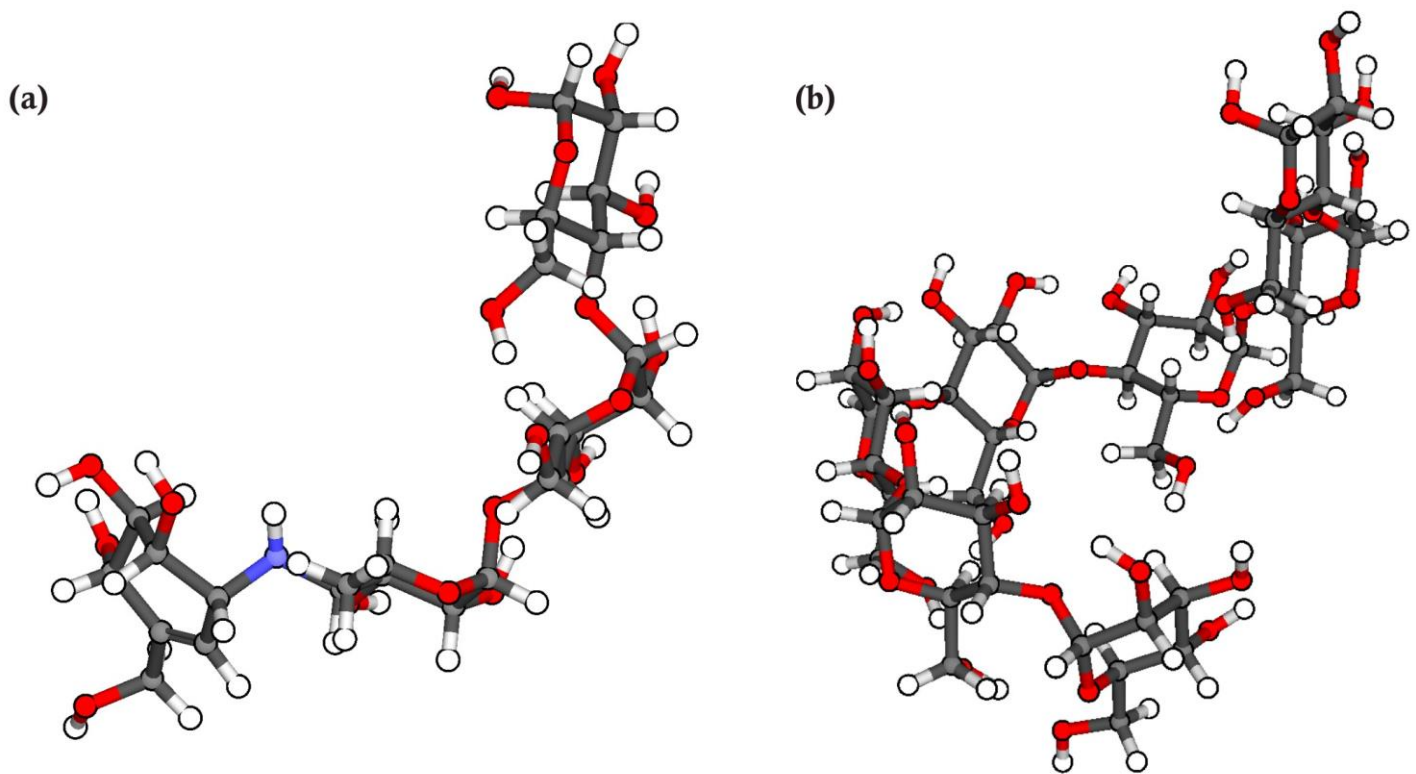


Gambar S3 Interaksi asam amino (a) His133Val (b) Asn190Phe (c) Ala209Val (d) Gln264Ser dan Asn265Tyr pada MTBLA suhu 373 K. Garis putus-putus warna merah muda, magenta, dan hijau masing-masing merepresentasikan interaksi CH/ π , π - π , dan ikatan hidrogen.

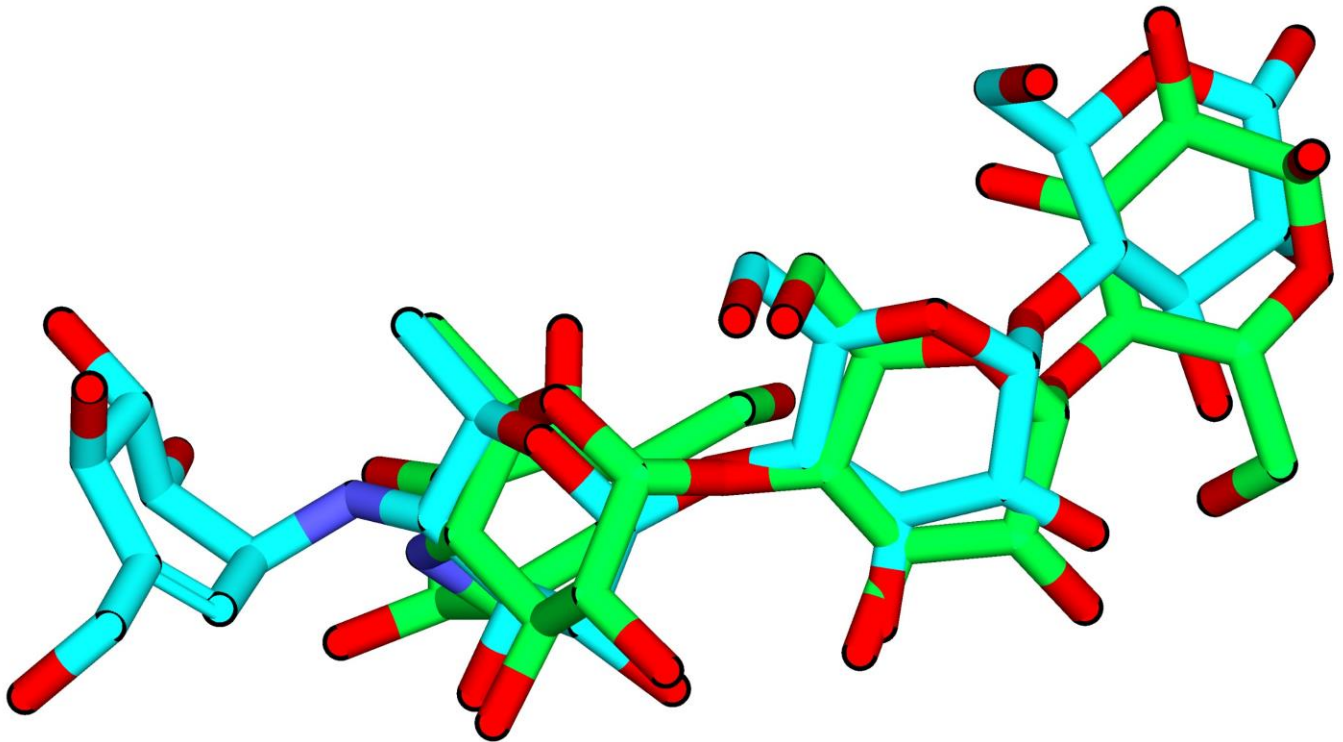
Bagian III: Studi Penambatan Molekul

Validasi Penambatan Molekul

Struktur α -amilase *Bacillus paralicheniformis* ATCC 9945a (BliAmy) (kode PDB 6TOZ) memiliki kemiripan dengan α -amilase *Bacillus licheniformis* (MTBLA) (kode PDB 1OB0, RMSD 0,79 Å) dan dalam struktur kristalnya berikatan dengan 2 acarbose, di domain A dan C. BliAmy, BLA dan MTBLA dilakukan penambatan dengan acarbose sebagai kontrol dan maltoheptaosa sebagai substrat dengan kondisi suhu 298 K dan 373 K untuk menentukan pengaruh suhu terhadap aktivitas BLA dan MTBLA. Optimasi geometri acarbose dan maltoheptaosa ditampilkan pada (Gambar S3). Hasil penambatan ulang memberikan nilai RMSD yang rendah (RMSD = 0,57 Å) (Gambar S4). Hasil ini menunjukkan parameter yang digunakan reliabel untuk pengukuran sistem lainnya pada penelitian ini. Pemilihan pose terbaik didasarkan pada pengikatan acarbose ataupun maltoheptaosa ke bagian sisi aktif, khususnya pada tiga residu katalitik Asp231, Glu261, dan Asp328.



Gambar S4 Struktur optimasi (a) acarbose dan (b) maltoheptaosa.



Gambar S5 *Superimposed* hasil penambatan molekul (biru) dan kristal (hijau) pose dari acarbose.

Daftar Pustaka

- [1] Webb B and Sali A 2016 Comparative Protein Structure Modeling Using MODELLER *CP in Bioinformatics* **54**
- [2] Laskowski R A, MacArthur M W, Moss D S and Thornton J M 1993 PROCHECK: a program to check the stereochemical quality of protein structures *J Appl Crystallogr* **26** 283–91
- [3] Lüthy R, Bowie J U and Eisenberg D 1992 Assessment of protein models with three-dimensional profiles *Nature* **356** 83–5
- [4] Colovos C and Yeates T O 1993 Verification of protein structures: Patterns of nonbonded atomic interactions *Protein Sci.* **2** 1511–9