



PEMROSESAN ULANG STRUKTUR TRANSPORTER EKSTRUSI SENYAWA BERACUN DAN MULTI-OBAT (ESBM) *Halalkalibacterium halodurans* C-125

ERVAN THARNA



DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PERNYATAAN MENGENAI SKRIPSI DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “Pemrosesan Ulang Struktur Transporter Ekstrusi Senyawa Beracun dan Multi-Obat (ESBM) *Halalkalibacterium halodurans* C-125” adalah karya saya dengan arahan dari dosen pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir skripsi ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor.

Bogor, Juni 2024

Ervan Tharna
G8401201083



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



ABSTRAK

ERVAN THARNA. Pemrosesan Ulang Struktur Transporter Ekstrusi Senyawa Beracun dan Multi-Obat (ESBM) *Halalkalibacterium halodurans* C-125. Dibimbing oleh INDA SETYAWATI dan KENI VIDILASERIS

Transporter ekstrusi senyawa beracun dan multi-obat (ESBM) diketahui ikut berkontribusi dalam munculnya resistensi antibiotik pada bakteri *Halalkalibacterium halodurans*. Struktur transporter pada pangkalan data perlu mengalami perbaikan untuk menunjang penelitian resistensi antibiotik akibat ESBM. Penelitian ini bertujuan meningkatkan kualitas struktur tiga dimensi protein ESBM *H. halodurans* C-125 (PDB Id 5c6o) menggunakan teknik *molecular replacement* dengan basis struktur hasil pemodelan AlphaFold2 yang diikuti proses *refinement*. Struktur hasil pemodelan AlphaFold2 menunjukkan tingkat kepercayaan yang tinggi, ditunjukkan dari nilai pLDDT 89,7 dan pTM 0,874. Struktur AlphaFold2 digunakan sebagai basis *molecular replacement* menghasilkan nilai top LLG sebesar 407,61 dan top TFZ sebesar 18. Hasil *refinement* menunjukkan kualitas yang cukup buruk, beberapa parameter mengalami penurunan dan adanya tanda *overfitting* dari selisih *Rworks* dan *Rfree*. Meskipun demikian, beberapa parameter kualitas mengalami peningkatan, sehingga penelitian cukup berpotensi untuk dapat dilanjutkan melalui penggunaan fungsi lanjutan, seperti RefMac CCP4.

Kata kunci: AlphaFold2, kristalografi X-ray, *molecular replacement*, *refinement*, transporter ESBM,

ABSTRACT

ERVAN THARNA. Reprocessing of Multi-drug and Toxic Compound Extrusion (MATE) from *Halalkalibacterium halodurans* C-125. Supervised by INDA SETYAWATI and KENI VIDILASERIS

Multidrug and toxic compound extrusion (MATE) transporter known to have played a part in the emergence of antibiotic resistance from *Halalkalibacterium halodurans* bacteria. Research related to antibiotic resistance due to MATE can be supported by improving the structure of transporters in the database. This study aimed to improve the quality of the three-dimensional structure of the MATE protein from *H. halodurans* C-125 (PDB Id 5c6o) using molecular replacement techniques based on the AlphaFold2 modeling structure followed by a refinement process. The AlphaFold2 modeling structure showed high level of confidence, indicated by a value of 89.7 for pLDDT and 0.874 for pTM. The AlphaFold2 structure used as the basis for molecular replacement produced top LLG value of 407.61 and a top TFZ of 18. The refinement results showed poor qualities, some parameters decreased and there were signs of overfitting from the difference between *Rworks* and *Rfree*. However, there were several quality parameters that increased, so the research has the potential to be continued through the use of advanced functions, such as RefMac CCP4.

Keyword: AlphaFold2, X-ray crystallography, molecular replacement, refinement, MATE transporter



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

© Hak Cipta milik IPB, tahun 2024
Hak Cipta dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah, dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB.

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB.



PEMROSESAN ULANG STRUKTUR TRANSPORTER EKSTRUSI SENYAWA BERACUN DAN MULTI-OBAT (ESBM) *Halalkalibacterium halodurans* C-125

ERVAN THARNA

Skripsi
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana pada
Program Studi Biokimia

**DEPARTEMEN BIOKIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2024**



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.

Tim Penguji pada Ujian Skripsi:

1 Syaefudin, S.Si., M.Si., Ph.D.

2 Ukhradiya Magharaniq Safira P., S.Si., M.Si.



Judul Skripsi : Pemrosesan Ulang Struktur Transporter Ekstrusi Senyawa
Beracun dan Multi-Obat (ESBM) *Halalkalibacterium halodurans*
C-125

Nama : Ervan Tharna
NIM : G8401201083

Disetujui oleh

Pembimbing 1:
Dr. Inda Setyawati, S.TP., M.Si.



Pembimbing 2:
Keni Vidilaseris, Ph.D.



Diketahui oleh

Ketua Departemen
Dr. Mega Safithri, S.Si., M.Si.
NIP. 197709152005012002



Tanggal Ujian:
31 Juli 2024

Tanggal Lulus:



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan Desember 2023 sampai bulan Maret 2024 ini adalah reproses struktur protein, dengan judul “Pemrosesan Ulang Struktur Transporter Ekstrusi Senyawa Beracun dan Multi-Obat (ESBM) *Halalkalibacterium halodurans* C-125”.

Terima kasih penulis ucapkan kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan karya ilmiah ini. Penulis menyampaikan terima kasih kepada Dr. Inda Setyawati, S.TP, M.Si. selaku pembimbing utama dan Keni Vidilaseris, Ph.D. selaku pembimbing kedua yang telah membimbing dan banyak memberi saran. Ucapan terima kasih juga orang tua, keluarga, teman-teman biokimia Angkatan 57, serta semua pihak yang telah membantu dan tidak dapat disebutkan satu persatu atas doa dan semangat yang telah diberikan. Selain itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada Ahmad Fadhlullah Husaini dan Gisella Herni Riyana selaku kakak satu bimbingan yang berjasa besar dalam membantu penelitian ini. Semoga Tuhan yang Maha Pengasih mengaruniakan rahmat dan hidayah-Nya kepada mereka semua. Penulis menyadari bahwa di dalam penelitian ini masih ada banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis meminta maaf atas kesalahan yang dilakukan penulis.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat bagi pihak yang membutuhkan dan bagi kemajuan ilmu pengetahuan..

Bogor, Juni 2024

Ervan Tharna



@Hak cipta milik IPB University

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	2
1.4 Manfaat	2
1.5 Hipotesis	2
II TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 <i>Research Collaboratory for Structural Bioinformatics Protein Data Bank (RCSB PDB)</i>	3
2.2 <i>Halalkalibacterium halodurans</i> C-125	3
2.3 Transporter Ekstrusi Senyawa Beracun dan Multi-Obat (ESBM)	4
2.4 Prediksi Struktur Protein Menggunakan Model <i>Deep Learning</i>	6
2.5 <i>Molecular Replacement</i>	7
III METODE	8
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	8
3.2 Alat dan Bahan	8
3.3 Prosedur Kerja	8
3.3.1 Persiapan ESBM <i>H. halodurans</i> C-125	8
3.3.2 Prediksi Struktur ESBM <i>H. halodurans</i> C-125 menggunakan AlphaFold2	8
3.3.3 <i>Molecular Replacement</i>	8
3.3.4 <i>Refinement</i>	9
3.3.5 Visualisasi	9
IV HASIL	10
4.1 Hasil Prediksi AlphaFold2	10
4.2 Hasil <i>Phasing Molecular Replacement</i>	11
4.3 Hasil <i>Refinement</i> dengan Phenix.refine dan WinCoot	12
4.4 Perbandingan Hasil <i>Refinement</i> dengan <i>Database RCSB</i>	13
V PEMBAHASAN	16
5.1 Prediksi Struktur MATE dengan AlphaFold2	16
5.2 <i>Molecular replacement</i> dengan Phaser.mr	16
5.3 <i>Refinement</i> Struktur MATE dengan Phenix.refine dan WinCoot	17
5.4 Perbandingan Struktur <i>Refinement</i> dengan Struktur <i>Database</i>	19
VI SIMPULAN DAN SARAN	20
6.1 Simpulan	20
6.2 Saran	20
DAFTAR PUSTAKA	21
LAMPIRAN	25
RIWAYAT HIDUP	29

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Diarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB University.

2. Diarang menggunakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB University.



DAFTAR TABEL

1	Nilai pTM dan pLDDT dari lima model transporter ESBM AlphaFold2	10
2	Strategi <i>refinement</i> yang digunakan dalam program Phenix.refine	12
3	Perbandingan parameter struktur protein hasil <i>molecular replacement</i> (mr) dan hasil pemrosesan	12
4	Perbandingan parameter struktur protein <i>database</i> dengan struktur hasil pemrosesan	13

DAFTAR GAMBAR

1	Enam famili transporter multi-obat (Du <i>et al.</i> 2018)	4
2	Mekanisme transpor MATE transporter (Du <i>et al.</i> 2018)	5
3	Visualisasi model struktur transporter ESBM prediksi terbaik AlphaFold2 (unrelaxed_rank1_model2)	10
4	<i>Superimpose</i> struktur prediksi terbaik AlphaFold2 dan struktur hasil <i>molecular replacement</i> terhadap struktur <i>database</i>	11
5	<i>Summary</i> program Phenix.xtriage yang digunakan untuk memeriksa data kristalografi yang digunakan.	12
6	<i>Superimpose</i> struktur hasil pemrosesan dengan struktur <i>database</i>	13
7	Visualisasi <i>electron density map</i> struktur transporter ESBM (Id: 5c6o) residu buruk (a) dan residu baik (b); berdasarkan nilai $\sigma = 1,00$ dan <i>carve</i> = 2. (a) residu Gln1-Ala24, (b) residu Met25- Ile40	14
8	Visualisasi <i>superimpose</i> struktur transporter ESBM (Id: 5c6o) chain 7; residu Ser236-Phe273 struktur hasil pemrosesan terhadap struktur <i>database</i>	15
9	Visualisasi <i>electron density map</i> struktur transporter ESBM (Id: 5c6o) chain 7; residu Ser236-Phe273 struktur <i>database</i> (a) dan struktur hasil pemrosesan (b); berdasarkan nilai $\sigma = 1,00$ dan <i>carve</i> = 2.	15

DAFTAR LAMPIRAN

1	Bagan alir penelitian	26
2	Grafik <i>predicted local distance difference test</i> (pLDDT) dari lima model transporter ESBM yang diprediksi oleh AlphaFold2	26
3	Grafik <i>predicted aligned error</i> (PAE) model transporter ESBM ranking 1-5 yang dihasilkan AlphaFold2	27
4	Grafik <i>heatmap sequence coverage</i> sekuens model transporter ESBM yang dihasilkan AlphaFold2	27
5	Bagian transmembran transporter ESBM 5c6o berdasarkan <i>Orientations of Proteins in Membranes</i> (OPM)	28
6	Hasil Top LLG dan Top TFZ dari <i>Molecular Replacement</i> Struktur Model 5c6o	28