

**SIMULASI DINAMIKA MOLEKULER KOMPLEKS FGF2-FGFR1-  
HEPARIN 8 DAN 12 SAKARIDA DENGAN POLA SULFASI 2S DAN  
KONFORMASI IDURONAT <sup>1</sup>C<sub>4</sub> SEBAGAI ANTIKANKER**

**SKRIPSI**

**oleh:  
MUHAMMAD MAZYADI  
NIM. 18630100**



**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2023**

**SIMULASI DINAMIKA MOLEKULER KOMPLEKS FGF2-FGFR1-  
HEPARIN 8 DAN 12 SAKARIDA DENGAN POLA SULFASI 2S DAN  
KONFORMASI IDURONAT <sup>1</sup>C<sub>4</sub> SEBAGAI ANTIKANKER**

**SKRIPSI**

**Oleh:  
MUHAMMAD MAZYADI  
NIM. 18630100**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2023**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**SIMULASI DINAMIKA MOLEKULER KOMPLEKS FGF2-FGFR1-  
HEPARIN 8 DAN 12 SAKARIDA DENGAN POLA SULFASI 2S DAN  
KONFORMASI IDURONAT 'C<sub>4</sub> SEBAGAI ANTIKANKER**

**SKRIPSI**

Oleh:  
**MUHAMMAD MAZYADI**  
NIM. 18630100

Telah disetujui dan disahkan  
Pada tanggal 12 Juni 2023

**Pembimbing I**



Himmatul Barroroh, M.Si  
NIP. 19750730 200312 2 001

**Pembimbing II**



Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si  
NIP. 19831226 201903 2 008

Mengetahui,  
**Ketua Program Studi Kimia**



Rachmawati Ghosih, M.Si  
NIP. 19810811 200801 2 010

iii

HALAMAN PENGESAHAN

**SIMULASI DINAMIKA MOLEKULER KOMPLEKS FGF2-FGFR1-  
HEPARIN 8 DAN 12 SAKARIDA DENGAN POLA SULFASI 2S DAN  
KONFORMASI IDURONAT 'C<sub>4</sub> SEBAGAI ANTIKANKER**

SKRIPSI

Oleh:  
**MUHAMMAD MAZYADI**  
NIM. 18630100





Telah dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan  
Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan  
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal : 22 Juni 2023


**Penguji Utama : Dr. Anton Prasetyo, M.Si**  
NIP. 19770925 200604 1 003

**Anggota Penguji I : Rif'atul Mahmudah, M.Si**  
NIDT. 19830125 20160801 2 068

**Anggota Penguji II : Himmatul Barroroh, M.Si**  
NIP. 19750730 200312 2 001

**Anggota Penguji III : Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si**  
NIP. 19831226 201903 2 008

  
.....  
  
.....  
  
.....  
  
.....

Mengesahkan  
Ketua Program Studi Kimia  
  
Rachmawati Ningsih, M.Si  
NIP. 19810811 200801 2 010

## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Muhammad Mazyadi

NIM : 18630100

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Simulasi Dinamika Molekuler Kompleks FGF2-FGFR1-Heparin 8 dan 12 Sakarida dengan Pola Sulfasi 2S dan Konformasi Iduronat  ${}^1C_4$  sebagai Antikanker

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi yang saya tulis merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain, kecuali dalam bentuk kutipan yang sudah disebutkan sumbernya. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggungjawabkannya sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 05 Juni 2023  
Yang membuat pernyataan,



Muhammad Mazyadi  
NIM. 18630100

## MOTTO

وَاللَّهُ يَعْلَمُ وَأَنْتُمْ لَا تَعْلَمُونَ

“Allah mengetahui, sedang kamu tidak mengetahui.” (QS. Al-Baqarah:216)

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji syukur kehadiran Allah Swt. atas limpahan anugerah dan hidayah-Nya kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Simulasi Dinamika Molekuler Kompleks FGF2- FGFR1- Heparin 8 dan 12 Sakarida dengan Pola Sulfasi 2S dan Konformasi Iduronat <sup>1</sup>C<sub>4</sub> sebagai Antikanker**”. Tak lupa sholawat dan salam kepada Nabi Muhammad saw. yang telah menjadi suri tauladan bagi kita semua. Dalam penyusunan skripsi ini penulis mendapat banyak bimbingan, arahan, nasehat, bantuan serta dorongan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. H.M. Zainuddin, MA. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si. selaku ketua Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Himmatul Baroroh, M.Si. selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan proposal penelitian sampai dengan skripsi.
5. Ibu Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si selaku Dosen Pembimbing yang telah memberikan pengarahan dan bimbingan selama proses penyusunan proposal penelitian sampai dengan skripsi

6. Segenap dosen dan staff Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim yang telah meluangkan waktu sekaligus memberikan dukungan sarana dan prasarana dalam penyusunan proposal penelitian.
7. Ibu, Bapak, dan adik penulis yang selalu mendoakan serta memberi dukungan dengan sepuh hati.
8. Seluruh pihak yang telah memberikan bantuan, dukungan dan bimbingan yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan skripsi ini dan penulis berharap semoga skripsi ini bisa memberikan manfaat kepada para pembaca khususnya kepada penulis sendiri *Amin Ya Rabbal Alamin*

Malang, 23 Mei 2023

Penulis



## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	Error! Bookmark not defined.
HALAMAN PENGESAHAN.....	Error! Bookmark not defined.
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	iv
MOTTO .....	v
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	xi
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR SINGKATAN.....	xiv
ABSTRAK .....	xv
ABSTRACT.....	xvi
مستخلص البحث.....	xvii
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Tujuan.....	7
1.4 Batasan Masalah.....	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>8</b>
2.1 Kanker .....	8
2.2 Heparin .....	11
2.3 Kompleks FGF-FGFR.....	15
2.4 Penambatan Molekul ( <i>Docking</i> ).....	17
2.5 Simulasi Dinamika Molekul.....	17
2.5.1 Medan Gaya .....	18
2.5.2 <i>Ensemble</i> NVT .....	19
2.5.3 <i>Ensemble</i> NPT.....	19
2.6 Teknik Simulasi Dinamika Molekul.....	20
2.6.1 Kotak Simulasi.....	20
2.6.2 PBC .....	21
2.7 Tahapan Simulasi Dinamika Molekul .....	22
2.7.1 Inisiasi .....	22
2.7.2 Ekuilibrasi .....	23
2.7.3 Produksi .....	23
2.8 Analisis .....	23
2.8.1 RMSD .....	23
2.8.2 RMSF .....	24
2.9 Aplikasi Komputasi .....	24
2.9.1 Gromacs .....	24
2.9.2 Grace .....	25
2.9.3 VMD .....	26
2.9.4 Discovery Studio.....	27

2.9.5 PyMol.....	27
<b>BAB III METODE PERCOBAAN.....</b>	<b>28</b>
3.1 Pelaksanaan Penelitian .....	28
3.2 Alat dan Bahan .....	28
3.2.1 Alat.....	28
3.2.2 Bahan .....	28
3.3 Rancangan Penelitian .....	29
3.4 Tahapan penelitian.....	30
3.5 Prosedur penelitian .....	31
3.5.1 Preparasi Makromolekul FGF2-FGFR1 .....	31
3.5.2 Preparasi Ligan Heparin.....	31
3.5.3 Validasi Penambatan Ulang Molekul ( <i>Redocking</i> ).....	32
3.5.4 Penambatan Molekul.....	33
3.5.5 Analisis Hasil <i>Docking</i> .....	33
3.5.6 Preparasi Simulasi Dinamika Molekul .....	34
3.5.7 Simulasi Dinamika Molekul .....	34
3.5.7.1 Minimalisasi Energi.....	34
3.5.7.2 Ekuilibrasi.....	35
3.5.7.3 Produksi .....	35
3.5.8 Analisis.....	35
3.5.8.1 RMSD .....	36
3.5.8.2 RMSF.....	37
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.1 Preparasi Makromolekul FGF2-FGFR1 <b>Error! Bookmark not defined.</b>	
4.2 Preparasi Ligan Heparin .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.3 Validasi Penambatan Ulang Ligan Natif.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.4 Penambatan Molekul ( <i>Molecular Docking</i> ) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.5 Analisis Hasil <i>Docking</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.6 Preparasi Dinamika Molekul.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.7 Simulasi Dinamika Molekul.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.8 Analisis Hasil Dinamika Molekul .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.8.1 Analisis hasil <i>Root Mean Square Deviation</i> (RMSD) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.8.2 Analisis hasil <i>Root Mean Square Fluctuation</i> (RMSF) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
4.9 Heparin sebagai Kandidat Antikanker dalam Perspektif Islam.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>38</b>
5.1 Kesimpulan.....	38
5.2 Saran .....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>39</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>44</b>



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian .....	44
Lampiran 2 Diagram Alir.....	45
Lampiran 3 Hasil <i>Running Redocking</i> .....	49
Lampiran 4 Interaksi Hasil <i>Docking</i> .....	54
Lampiran 5 Visualisasi Konformasi Asam Iduronat.....	56

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Heparin disakarida.....	12
Gambar 2.2 Konformasi heliks heparin .....	13
Gambar 2.3 Konformasi residu heparin.....	14
Gambar 2.4 Kompleks terner Heparin-FGF-FGFR .....	16
Gambar 2.5 PBC dalam dua dimensi .....	22
Gambar 4.1 Stuktur kompleks FGFR1-FGF2-Heparin.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.2 (a) Heparin konformasi <sup>2</sup> S <sub>0</sub> (b) Heparin konformasi <sup>1</sup> C <sub>4</sub> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.3 Ligan heparin konformasi <sup>1</sup> C <sub>4</sub> sulfasi 2S .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.4 Interaksi ligan hasil <i>redocking</i> .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.5 Hasil <i>docking</i> ligan uji heparin 8 mer 2S dan 12 mer 2S.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.6 Hasil preparasi kompleks FGF-FGFR-Heparin menggunakan CHARMM-GUI.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.7 Nilai RMSD <i>backbone</i> protein FGFR1-FGF2 .	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.8 RMSD ligan heparin .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.9 RMSD asam iduronat pada ligan heparin .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.10 RMSF asam amino pada kompleks FGFR1-FGF2-natif.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.11 Visualisasi residu dengan fluktuasi tertinggi pada kompleks FGFR1-FGF2-natif.....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.12 RMSF asam amino pada kompleks FGFR1-FGF2-heparin 8 mer 2S .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.13 Visualisasi residu dengan fluktuasi tertinggi pada kompleks FGFR1-FGF2-heparin 8 mer 2S .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.14 RMSF asam amino pada kompleks FGFR1-FGF2-heparin 12 mer 2S .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Gambar 4.15 Visualisasi residu dengan fluktuasi tertinggi pada kompleks FGFR1-FGF2-heparin 12 mer 2S .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>

## DAFTAR TABEL

- Tabel 4.1 Hasil penambatan ulang ligan natif.....**Error! Bookmark not defined.**  
Tabel 4.2 Interaksi hasil docking natif dan *redocking* ..... **Error! Bookmark not defined.**  
Tabel 4.3 Hasil *docking* ligan uji .....**Error! Bookmark not defined.**  
Tabel 4.4 Interaksi hasil *docking* .....**Error! Bookmark not defined.**  
Tabel 4.5 Interaksi residu protein pada waktu tertentu ..... **Error! Bookmark not defined.**

## DAFTAR SINGKATAN

Simbol / Singkatan	Keterangan
2S	2-O-sulfat
2SNS	2-O-sulfat dan N-sulfat
AMBER	<i>Assisted Model Building with Energy Refinement</i>
AT	<i>Antithrombin</i>
CHARMM	<i>Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics</i>
DLG	<i>Docking Log File</i>
DPF	<i>Docking Parameter File</i>
DSV	<i>Discovery Studio Visualizer</i>
FGF	<i>Fibroblast Growth Factor</i>
FGFR	<i>Fibroblast Growth Factor Receptor</i>
GAG	<i>Glycosaminoglycan</i>
GlcA	<i>Glucuronic Acid</i>
GlcN	<i>Glucosamine</i>
GLG	<i>Grid Log File</i>
GPF	<i>Grid Parameter File</i>
GRACE	<i>Graphing Advanced Computation and Exploration of data</i>
GROMACS	<i>Groningen Machine for Chemical Simulation</i>
GROMOS	<i>GRoningen MOlecular Simulation</i>
HS	<i>Heparan Sulfate</i>
IdoA	<i>Iduronic Acid</i>
LMWH	<i>Low Molecular Weight Heparine</i>
MDP	<i>Molecular Dynamic Parameter</i>
MMPBSA	<i>Molecular Mechanics Poisson-Boltzmann Surface Area</i>
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
OPLS	<i>Optimized Potentials for Liquid Simulations</i>
PBC	<i>Periodic Boundary Conditions</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
RMSF	<i>Root Mean Square Fluctuation</i>
TFPI	<i>Tissue Factor Pathway Inhibitor</i>
UFH	<i>Unfractionated Heparine</i>
VMD	<i>Visual Molecular Dynamics</i>

## ABSTRAK

Mazyadi, Muhammad. 2023. **Simulasi Dinamika Molekuler Kompleks FGF2-FGFR1-Heparin 8 dan 12 Sakarida dengan Pola Sulfasi 2S dan Konformasi Iduronat <sup>1</sup>C<sub>4</sub> sebagai Antikanker**. Skripsi. Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing I: Himmatul Barroroh, M.Si; Pembimbing II: Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si

---

**Kata Kunci:** *Antikanker, Heparin, Penambatan Molekul, Dinamika Molekuler.*

Heparin merupakan polimer linear yang terdiri dari unit berulang 1-4 asam iduronat dan glukosamin. Heparin dikenal potensinya sebagai obat antikanker karena kemampuannya dalam mengurangi pertumbuhan sel kanker. Heparin melakukan fungsinya dengan memediasi persinyalan FGF dan FGFR. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perubahan struktur 3D dan stabilitas kompleks FGF2-FGFR1-Heparin 8 dan 12 sakarida. Metode yang digunakan dalam mempelajari stabilitas heparin sebagai kandidat obat antikanker dalam penelitian ini adalah penambatan molekul dan simulasi dinamika molekul. Ligan uji yang digunakan adalah heparin 8 dan 12 sakarida 2S konformasi <sup>1</sup>C<sub>4</sub>. Penambatan ligan uji dengan protein FGFR1-FGF2 mengacu pada parameter ikatan yang dihasilkan dan visualisasi terhadap protein target. Hasil penambatan molekul divalidasi dan disimulasikan dinamika molekulnya menggunakan Gromacs berdasarkan parameter nilai RMSD dan RMSF. Ligan heparin 12 sakarida 2S memiliki kemampuan yang lebih baik daripada heparin 8 sakarida 2S dalam mempertahankan ikatan dan struktur kompleks dengan FGFR1-FGF2 hingga akhir simulasi. Hal ini menunjukkan ligan heparin 12 sakarida 2S dapat menjadi kandidat sebagai antikanker.



## ABSTRACT

Mazyadi, Muhammad. 2023. **Simulation of Complex Molecular Dynamics of FGF2-FGFR1-Heparin 8 and 12 Saccharides with 2S Sulfation Patterns and <sup>1</sup>C<sub>4</sub> Iduronat Conformation as Anticancer**. Thesis. Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor I: Himmatul Barroroh, M.Si; Supervisor II: Lilik Miftahul Khoiroh, M.Si

---

**Keyword:** *Anticancer, Heparin, Molecular Docking, Molecular dynamic.*

Heparin is a linear polymer composed of repeating units 1–4 of iduronic acid and glucosamine. Heparin is known for its potential as an anticancer drug due to its ability to reduce cancer cell growth. Heparin performs its function by mediating FGF and FGFR signaling. The purpose of this study was to determine the changes in 3D structure and stability of FGF2-FGFR1-Heparin 8 and 12 saccharide complexes. The methods used in studying the stability of heparin as an anticancer drug candidate in this study are molecular tethering and molecular dynamics simulation. The test ligands used were heparin 8 and 12 saccharides in 2S conformation 1C<sub>4</sub>. The tethering of the test ligands with FGFR1-FGF2 proteins refers to the resulting binding parameters and visualization of the target proteins. The molecular tethering results were validated and simulated using Gromacs based on RMSD and RMSF value parameters. The heparin 12 saccharide 2S ligand has a better ability than the heparin 8 saccharide 2S ligand to maintain the bond and complex structure with FGFR1-FGF2 until the end of the simulation. This suggests the heparin-12 saccharide 2S ligand can be a candidate as an anticancer agent.

## مستخلص البحث

مزيد ، محمد. 2023. محاكاة الديناميات الجزيئية Heparin-FGFR1-FGF2 للسكريات 8 و 12 مع نمط الكبريت 2S وتشكيل ايدورونات  $^1C_4$  كمضاد للسرطان. البحث الجامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة 1: همة البررة، الماجستير. المشرفة 2: ليليك مفتاح الخيرة، الماجستير.

---

**الكلمات المفتاحية:** مضاد للسرطان, الهيبارين, الإلتحام الجزيئي, الديناميات الجزيئية.

الهيبارين هو بوليمر خطي يتكون من 1-4 وحدات متكررة من حمض الأيدورونيك والجلوكوزامين. يُعرف الهيبارين بإمكانياته كدواء مضاد للسرطان بسبب قدرته على الحد من نمو الخلايا السرطانية. سيقوم الهيبارين بأداء وظيفته بواسطة إشارات FGF و FGFR. كان الغرض من هذه الدراسة هو تحديد التغيير في البنية ثلاثية الأبعاد و ثبات مجمعات Heparin 8 و 12 السكريات. كانت الطرق المستخدمة في دراسة ثبات الهيبارين كعقار مرشح مضاد للسرطان في هذه الدراسة هي الإلتحام الجزيئي ومحاكاة الديناميكيات الجزيئية. كانت روابط الاختبار المستخدمة هي سكريات الهيبارين 8 و 12 S2 في التشكل  $^1C_4$ . يشير ارتباط يجند الاختبار مع بروتين FGFR1-FGF2 إلى معلم الربط الناتجة وتصور البروتين المستهدف. تم التحقق من صحة نتائج الإلتحام الجزيئي ومحاكاة الديناميات الجزيئية باستخدام Gromacs بناءً على قيم معلم RMSD و RMSF. يتمتع يجند Heparin 12 السكريات 2S بقدرة أفضل من الهيبارين 8 السكريات 2S في الحفاظ على الروابط والهياكل المعقدة باستخدام FGFR1-FGF2 حتى نهاية المحاكاة. هذا يدل على أن يجند الهيبارين 12 سكريات S2 يمكن أن يكون مرشحاً كمضاد للسرطان.

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kanker adalah penyakit penyebab utama kematian kedua di dunia setelah penyakit kardiovaskular dan diproyeksikan untuk memulai penyebab utama kematian dalam beberapa tahun mendatang. Data *Global Cancer Observatory* tahun 2018 menunjukkan angka kejadian penyakit kanker di Indonesia (136,2/100.000 penduduk) berada pada urutan 8 di Asia Tenggara, sedangkan di Asia urutan ke 23 (Kemenkes RI, 2019).

Heparin telah dikenal luas sebagai polisakarida yang berfungsi sebagai obat antikoagulan. Heparin pertama kali ditemukan oleh JayMcLean pada tahun 1916 yang diisolasi dari hati anjing. Saat ini, secara umum heparin diperoleh dari ekstrak paru sapi atau mucosa usus babi. (Mulyadi, 2007). Pengobatan menggunakan heparin dapat menurunkan angka kematian dan kesakitan akibat penyakit trombosis akut. Prosedur uji klinis oleh Crafoord dan Best pada tahun 1935 mampu membuktikan efektivitas dari heparin sebagai antikoagulan, sehingga penggunaannya secara medis dilanjutkan hingga sekarang. (Capila, 2002).

Heparin merupakan polisakarida linier yang dicirikan oleh unit disakarida berulang dari 12 kemungkinan residu glukosamin tersubstitusi N (GlcN) dan satu dari 4 residu asam heksuronat yang terdiri dari asam glukoronat (GlcA) atau asam iduronate (IdoA). Selama biosintesis terjadi modifikasi pada rantai heparin, yakni sulfasi pada posisi C-2 O dari asam iduronat (2S) dan sulfasi posisi N, C-6 dan C-3 O dari glukosamin (2SNS). Residu 2-O-asam iduronat tersulfasi (IdoA2S)

memiliki 3 macam konformasi yakni  ${}^4C_1$ ,  ${}^1C_4$ , dan  ${}^2S_0$ . Konformasi Iduronat  ${}^2S_0$  memiliki interaksi N-sulfat glukosamin dengan FGF dengan energi yang besar, sedangkan konformasi  ${}^4C_1$  dan  ${}^1C_4$  hanya mengikat reseptor sementara. (Guerrini, 2007). Penelitian yang dilakukan Cole, dkk. (2010) bahwa ligan heparin oligosakarida memiliki 7-12 residu sakarida 2-O-sulfat iduronat (2S) atau 2-O-sulfat iduronat dan glukosamina N-sulfat (2SNS). Kemampuan oligosakarida dalam mengikat FGF2 meningkat secara signifikan dengan panjang oligosakarida dan sulfasi. Hal ini juga sejalan dengan potensi penghambatan oligosakarida terhadap respon sel endotel yang diinduksi FGF2. Pada oligosakarida 8 sakarida 2S tidak ditemukan pengaruh terhadap sel endotel. Sedangkan pada heparin 12 sakarida 2S terdapat pengurangan sebesar 75% dalam menghambat pengikatan FGF2 terhadap heparin.

Berdasarkan strukturnya heparin dibagi menjadi *unfractionated heparin* (UFH) dan *low molecular weight heparin* (LMWH). UFH memiliki aktivitas biologis bervariasi dikarenakan rantai polisakaridanya yang heterogen (Atallah, dkk., 2020). Rantai UFH dapat menyebabkan efek samping bagi metabolisme tubuh ketika berikatan dengan protein. Oleh sebab itu, dikembangkan LMWH yang merupakan kelompok senyawa turunan dari UFH (Oduah, dkk., 2016). LMWH menunjukkan sifat antitrombotik yang lebih besar dengan sedikit sifat antikoagulan dan komplikasi pendarahan daripada UFH. Hal ini dapat meningkatkan efikasi obat (Kakkar, 2004).

Penggunaan heparin dalam mengobati kanker telah lama diteliti karena kemampuannya untuk melemahkan kerusakan yang disebabkan oleh berbagai kanker, terutama dalam hal metastasis (Alyahya, dkk., 2015). Sifat anti kanker

heparin berkaitan dengan pelepasan penghambat koagulasi *Tissue Factor Pathway Inhibitor* (TFPI) dari endotel vascular yang menghambat persinyalan TF. Persinyalan TF akan menghambat faktor  $x$  untuk berubah menjadi faktor  $xa$ , sehingga pembentukan trombin tidak dapat terjadi. Trombin dapat menghentikan aktivitas fibrinogen menjadi helai-helai fibrin yang berdampak pada perkembangan tumor (Mousa dan Petersen, 2009). Heparin untuk melakukan fungsinya akan dimediasi oleh persinyalan *fibroblast growth factor* (FGF) dan *fibroblast growth factor receptor* (FGFR), dimana persinyalan mempengaruhi perkembangan kanker melalui empat kelompok yaitu, perubahan genom FGFR melalui tiga mekanisme, pembentukan lingkaran parakrin, pembentukan lingkaran autokrin, dan efek stroma FGF (Turner dan Grose, 2010).

Heparin yang ditemukan ditubuh makhluk hidup memiliki kemampuan dalam mengurangi pertumbuhan sel kanker. Namun, masih perlu dilakukan berbagai penelitian lebih lanjut untuk memaksimalkan kerja heparin sebagai antikanker. Hal tersebut mendorong perlunya usaha menemukan heparin yang lebih spesifik dan lebih stabil. Allah SWT menciptakan semua yang ada di bumi ini tidaklah sia-sia. Semua yang telah diciptakan oleh Allah SWT dapat dimanfaatkan oleh manusia jika manusia itu dapat berfikir. Sebagaimana yang telah dijelaskan di dalam al-Qur'an surat al-Jatsiyah, ayat 13 :

وَسَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمٰوٰتِ وَمَا فِي الْاَرْضِ جَمِيعًا مِنْهُۥ اِنَّ فِيْ ذٰلِكَ لَاٰيٰتٍ لِّقَوْمٍ يَّتَفَكَّرُوْنَ

Artinya : “Dan Dia telah menundukkan untukmu apa yang di langit dan apa yang di bumi semuanya, (sebagai rahmat) daripada-Nya. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kekuasaan Allah) bagi kaum yang berfikir.” (Q.S.al-Jatsiyah :13)

Ayat tersebut menjelaskan bahwa Allah menundukkan semua makhluk ciptaan Nya yang ada di langit dan di bumi agar manusia dapat menggunakan dan memanfaatkannya untuk kepentingan mereka dalam melaksanakan tugas sebagai khalifah Allah di bumi. Hal ini berarti bahwa manusia wajib berusaha mencari manfaat dan kegunaan ciptaan Allah bagi mereka. Kunci dari semuanya adalah kemauan berusaha dan keinginan mengetahui sebagian pengetahuan Allah. Semua ini untuk kepentingan hidup dan kehidupan manusia. Namun, baru sebagian kecil saja dari ilmu Allah yang telah diketahui manusia. Berdasarkan ayat tersebut menjelaskan pula bahwa penggunaan heparin sebagai obat merupakan bentuk upaya berpikir manusia untuk memanfaatkan ciptaan-Nya menjadi sesuatu yang bermanfaat, salah satunya sebagai antikanker.

Beberapa tahun terakhir, teknologi *microarray* dan bioinformatika telah diterapkan secara luas untuk mempelajari mekanisme perkembangan tumor dan telah terbukti menjadi alat yang bermanfaat untuk mengidentifikasi biomarker diagnostik dan prognostik baru untuk banyak jenis kanker (Qin, dkk., 2021). Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Harir (2022) pada senyawa heparin 2S dan 2SNS 2-12 sakarida konformasi iduronat  $^4C_1$  pada kompleks protein FGF2-FGFR1 sebagai antikanker menggunakan metode *docking* diketahui bahwa interaksi untuk molekul docking tergantung pada sulfasi dan panjang heparin. Interaksi yang terbentuk yaitu ikatan hidrogen, interaksi elektrostatik, jembatan garam, ikatan hidrofobik, dan ikatan pi.

Metode penambatan molekul (*docking*) memberikan fleksibilitas tinggi untuk ligan, sementara protein disimpan kurang lebih tetap atau disediakan dengan fleksibilitas terbatas untuk residu yang ada di dalam atau di dekat situs aktif. Hal

ini meningkatkan kompleksitas ruang dan waktu komputasi secara eksponensial. Namun, merancang inhibitor struktur tunggal yang kaku atau molekul obat dapat menyebabkan hasil yang salah. Karena terdapat kekurangan pada metode *docking*, maka pada penelitian ini digunakan metode dinamika molekular sebagai alat pasca pemrosesan untuk memvalidasi dan/atau menyempurnakan solusi *docking*.

Dinamika molekular adalah teknik simulasi komputer yang mengamati pergerakan molekul-molekul yang saling berinteraksi satu sama lain. Pada dinamika molekuler, besar gaya antar molekul dihitung secara eksplisit dan pergerakan molekul dikomputasi dengan metode integrasi. Metode ini digunakan untuk menyelesaikan persamaan newton pada atom yang konstituen, dimana kondisi awal digambarkan dengan posisi dan kecepatan atom. Berdasarkan persepsi newton, dari posisi awal, dapat dilakukan penghitungan posisi dan kecepatan selanjutnya dalam interval waktu yang kecil serta penghitungan gaya pada posisi yang baru. Hal ini berulang untuk beberapa saat, bahkan hingga ratusan kali (Astuti dan Mutiara, 2011).

Gromacs merupakan salah satu *software* yang dapat menampilkan model dinamis dari model statis melalui simulasi dinamika molekular (Makarewicz dan Kaźmierkiewicz, 2013). Berdasarkan penelitian Van der Spoel (2005) *Gromacs* merupakan *software* dinamika molekular yang cepat dan juga kompatibel dengan berbagai *force field*. Pendekatan yang digunakan dalam aplikasi Gromacs berupa pendekatan persamaan hukum newton dan mekanika klasik (Astuti dan Mutiara, 2011).

Hasil simulasi berupa file *trajectory* kemudian dianalisis menggunakan *software* Gromacs untuk mengetahui nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD)

dan *Root Mean Square Fluctuation* (RMSF). RMSD merupakan parameter kemiripan berdasarkan perbandingan perubahan jarak dan konformasi ligan terbaik hasil simulasi dengan jarak dan konformasi ligan awal sebelum simulasi (Puratchikody, dkk., 2016). Nilai RMSD berfungsi mengamati perubahan struktur kompleks yang terjadi selama simulasi. Sedangkan RMSF merupakan fluktuasi setiap atom tunggal berdasarkan rata-rata posisinya selama simulasi (Shahraki, dkk., 2018). Nilai RMSF berfungsi mengidentifikasi bagian fleksibel dalam molekul, nilai RMSF rendah dianggap memiliki kestabilan yang lebih baik (Fakih, dkk., 2020). Kedua nilai tersebut akan memberikan informasi bagaimana interaksi obat heparin sebagai kandidat antikanker mengubah perilaku residu asam amino protein FGFR1-FGF2.

Pada penelitian Harir (2022) pengujian heparin 8 sakarida 2S konformasi  ${}^4C_1$  menggunakan metode *docking* diperoleh nilai RMSD sebesar 1,869 Å. Sedangkan pada heparin 12 sakarida 2S konformasi  ${}^4C_1$  menggunakan metode *docking* diperoleh nilai RMSD sebesar 2,262 Å. Hal ini membuktikan bahwa heparin 8 dan 12 sakarida 2S konformasi  ${}^4C_1$  hasil *docking* dianggap tidak berbeda jauh dengan heparin di alam dan memiliki sifat biologis yang sama.

Oleh karena itu dalam penelitian ini akan dilakukan simulasi dinamika molekul kompleks FGF2-FGFR1-Heparin 8 dan 12 sakarida dengan pola sulfasi 2S dan konformasi asamiduronat  ${}^1C_4$  sebagai antikanker.

## 1.2 Rumusan Masalah

Adapun rumusan masalah dalam penelitian ini adalah:

- a. Bagaimana perubahan struktur 3D kompleks FGF2-FGFR1-Heparin 8 dan 12 sakarida 2S konformasi  ${}^1C_4$  selama waktu simulasi dinamika molekuler?



- b. Bagaimana stabilitas interaksi kompleks FGF2-FGFR1-Heparin 8 dan 12 sakarida 2S konformasi  ${}^1C_4$  ditinjau dari interaksinya selama waktu simulasi dinamika molekuler sebagai antikanker?

### 1.3 Tujuan

Adapun tujuan dalam penelitian ini adalah:

- a. Mengetahui perubahan struktur 3D kompleks FGF2-FGFR1-Heparin 8 dan 12 sakarida 2S konformasi  ${}^1C_4$  selama waktu simulasi dinamika molekuler?
- b. Mengetahui stabilitas interaksi kompleks FGF2-FGFR1 Heparin 8 dan 12 sakarida 2S konformasi  ${}^1C_4$  ditinjau dari parameter energi interaksinya selama waktu simulasi dinamika molekuler sebagai antikanker?

### 1.4 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dalam penelitian ini adalah:

- a. Sampel berasal dari PDB (*Protein Data Bank*).
- b. Heparin 8 dan 12 sakarida 2S dengan konformasi  ${}^1C_4$ .
- c. Metode yang digunakan adalah penambatan molekul dan simulasi dinamika molekul dengan running 100 ns.
- d. Menggunakan perangkat lunak Gromacs, Grace, PyMol, Discovery Studio, UCSF Chimera, dan VMD.

### 1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah memberikan pengetahuan mengenai heparin untuk obat antikanker dan berkontribusi dalam pengembangan ilmu sains, agama, dan bidang kimia.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kanker**

Kanker adalah sekelompok penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan dan penyebaran sel abnormal yang tidak terkendali. Jika penyebaran sel kanker atau metastasis tidak terkontrol, dapat mengakibatkan kematian (Mathur, dkk., 2015). Kanker dapat terjadi akibat proliferasi abnormal dari berbagai jenis sel di dalam tubuh, sehingga ada lebih dari seratus jenis kanker berbeda, yang dapat bervariasi dalam perilaku dan responsnya terhadap pengobatan. Isu yang paling penting dalam patologi kanker adalah perbedaan antara tumor jinak dan ganas. Tumor jinak, seperti kutil kulit biasa, tetap terbatas pada lokasi aslinya dan tidak menyerang jaringan normal di sekitarnya atau menyebar ke bagian tubuh lain. Namun, tumor ganas mampu menyerang jaringan normal di sekitarnya dan menyebar ke seluruh tubuh melalui sistem peredaran darah atau limfatik (metastasis). Hanya tumor ganas yang secara tepat disebut sebagai kanker. Kemampuan mereka untuk menyerang dan bermetastasis yang membuat kanker begitu berbahaya (Cooper GM, 2000).

Kanker disebabkan oleh banyak faktor eksternal (tembakau, bahan kimia, radiasi, dan organisme menular) serta beberapa faktor internal (mutasi bawaan, hormon, kondisi kekebalan, dan mutasi gen acak). Penyebab kanker beragam, kompleks dan hanya sebagian yang dipahami. Banyak hal yang diketahui dapat meningkatkan risiko kanker, termasuk diet, infeksi tertentu, kurangnya aktivitas fisik, obesitas, dan polusi lingkungan. Faktor-faktor ini dapat bertindak bersama

sama untuk memulai karsinogenesis dalam tubuh manusia dan menjadi penyebab utama kematian (Mathur, dkk., 2015).

Pada tingkat sel, perkembangan kanker dipandang sebagai proses multistep yang melibatkan mutasi dan seleksi sel dengan kapasitas yang semakin meningkat untuk proliferasi, kelangsungan hidup, invasi, dan metastasis. Langkah pertama dalam proses ini, inisiasi tumor, dianggap sebagai hasil dari perubahan genetik yang menyebabkan proliferasi abnormal dari satu sel. Proliferasi sel kemudian mengarah pada pertumbuhan populasi sel tumor yang diturunkan secara klonal. Perkembangan tumor berlanjut ketika mutasi tambahan terjadi di dalam sel-sel tumor. Beberapa dari mutasi ini memberikan keuntungan selektif pada sel, seperti pertumbuhan yang lebih cepat. Proses ini disebut seleksi klon, karena klon baru sel tumor telah berevolusi berdasarkan peningkatan laju pertumbuhannya atau sifat lain (seperti kelangsungan hidup, invasi, atau metastasis) yang memberikan keuntungan selektif. Seleksi klon berlanjut sepanjang perkembangan tumor, sehingga tumor terus tumbuh lebih cepat dan semakin ganas (Cooper GM, 2000).

Pengobatan penyakit kanker telah dikembangkan berbagai macam pengobatan dari terapi farmakologi, radioterapi, kemoterapi, hormonoterapi, imunoterapi, bahkan tindakan pembedahan dengan resiko yang timbul sehingga pasien penderita kanker memerlukan pendekatan sistemik pada pengobatan penyakit tersebut. Kemoterapi dilakukan untuk membunuh sel kanker dengan obat anti kanker (Setiawan, 2015). Tujuan kemoterapi adalah untuk menghambat proliferasi sel dan multiplikasi tumor, sehingga menghindari invasi dan metastasis. Meskipun kemoterapi adalah pendekatan terapi yang penting untuk kanker,

keberhasilannya sangat terbatas karena kurangnya selektivitas, yang menyebabkan eliminasi sel tumor dan toksisitas sistemik yang tidak memadai. Oleh karena itu, terapi bertarget molekuler mendapatkan banyak daya tarik karena kekhususannya terhadap sel kanker dengan menyelamatkan sel normal. Pada dasarnya, terapi bertarget molekuler melibatkan pengembangan obat yang memblokir ciri khas kanker. Oleh karena itu, identifikasi target molekuler merupakan dorongan utama untuk terapi kanker bertarget melalui teknologi dan pendekatan baru (Hou, dkk., 2022). Hal ini sesuai dengan hadist yang diriwayatkan oleh Imam Abul Husain Muslim yang berbunyi:

حَدَّثَنَا هَارُونُ بْنُ مَعْرُوفٍ وَأَبُو الطَّاهِرِ وَأَحْمَدُ بْنُ عَيْسَى قَالُوا حَدَّثَنَا ابْنُ وَهْبٍ أَخْبَرَنِي عَمْرُو وَهُوَ ابْنُ الْحَارِثِ عَنْ عَبْدِ رَبِّهِ بْنِ سَعِيدٍ عَنْ أَبِي الزُّبَيْرِ عَنْ جَابِرٍ عَنْ رَسُولِ اللَّهِ صَلَّى اللَّهُ عَلَيْهِ وَسَلَّمَ أَنَّهُ قَالَ لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

Artinya: “Telah menceritakan kepada kami Harun bin Ma'ruf dan Abu Ath Thahir serta Ahmad bin 'Isa mereka berkata; Telah menceritakan kepada kami Ibnu Wahb; Telah mengabarkan kepadaku 'Amru, yaitu Ibnu al-Harits dari 'Abdu Rabbih bin Sa'id dari Abu Az Zubair dari Jabir dari Rasulullah shallallahu 'alaihi wasallam, beliau bersabda: "Setiap penyakit ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit, akan sembuhlah penyakit itu dengan izin Allah 'azza wajalla." (HR Muslim).

Maksud hadist tersebut adalah semua penyakit yang menimpa manusia melainkan sudah tersedia obatnya, hanya Allah tidak menyingkapkannya secara terang-terangan. Hikmahnya adalah manusia harus berusaha secara maksimal dalam setiap usahanya (Dirhamzah, dkk., 2020). Pengembangan heparin sebagai obat antikanker merupakan salah satu usaha manusia dalam menghadapi penyakit kanker.

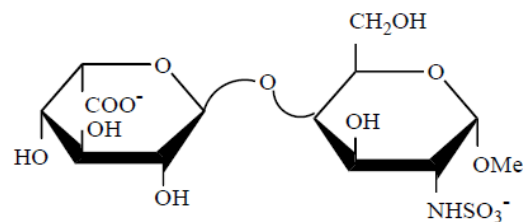
Mekanisme seluler yang mendorong atau menekan proliferasi dan diferensiasi sel sangat rumit, melibatkan beberapa gen, reseptor, dan transduksi sinyal. Investigasi dalam biologi sel kanker telah menghasilkan wawasan yang signifikan tentang mekanisme apoptosis, angiogenesis, metastasis, transduksi sinyal sel, diferensiasi, dan modulasi faktor pertumbuhan. Para peneliti sedang merancang terapi bertarget molekuler pada jalur ini, secara selektif menghambat pertumbuhan, misalnya dengan menargetkan pensinyalan sel atau angiogenesis dan memblokir degradasi protein (Amjad, dkk., 2022).

## 2.2 Heparin

Heparin adalah salah satu obat tertua yang tetap digunakan secara luas sebagai antikoagulan (Aláez-Versón, dkk., 2017). Heparin merupakan polimer linear yang terdiri dari unit berulang 1-4 asam iduronat dan glukosamin. Residu asam iduronat biasanya terdiri dari 90% L-asam iduronat (IdoA) dan 10% D- asam glukuronat (GlcA). Sedangkan, residu dari gula amino hanya D-glukosamina (GlcN). Heparin memiliki kerapatan muatan negatif tertinggi dari semua makromolekul biologis. Hal ini merupakan hasil dari tingginya kandungan gugus sulfo dan karboksil bermuatan negatif. Rata-rata heparin disakarida mengandung 2,7 gugus sulfo (Capila dan Linhardt, 2002). Heparin diperoleh dari ekstrak paru sapi atau mukosa usus babi. Secara umum juga dapat ditemukan pada jaringan manusia dan sel radang seperti sel jaringan ikat (*mast*) (Mulyadi, 2015).

Heparin adalah bagian dari keluarga molekul glikosaminoglikan, yang mencakup berbagai anggota yang terkait erat seperti heparin sulfat. Terdapat dua jenis heparin: UFH dan LMWH. UFH memiliki aktivitas biologis yang bervariasi

karena campurannya yang heterogen dari rantai polisakarida linier. LMWH adalah kelompok beragam senyawa yang berasal dari UFH. Sebagian besar diproduksi dengan berbagai teknik depolimerisasi kimia atau fisik, sementara beberapa diproduksi oleh depolimerisasi enzimatik. Karena perbedaan cara pembuatannya, LMWH tersedia dalam berbagai berat molekul dan campuran panjang rantai polisakarida. Sedangkan produknya berbeda secara signifikan dalam hal sifat farmakologisnya (Atallah, dkk., 2020).

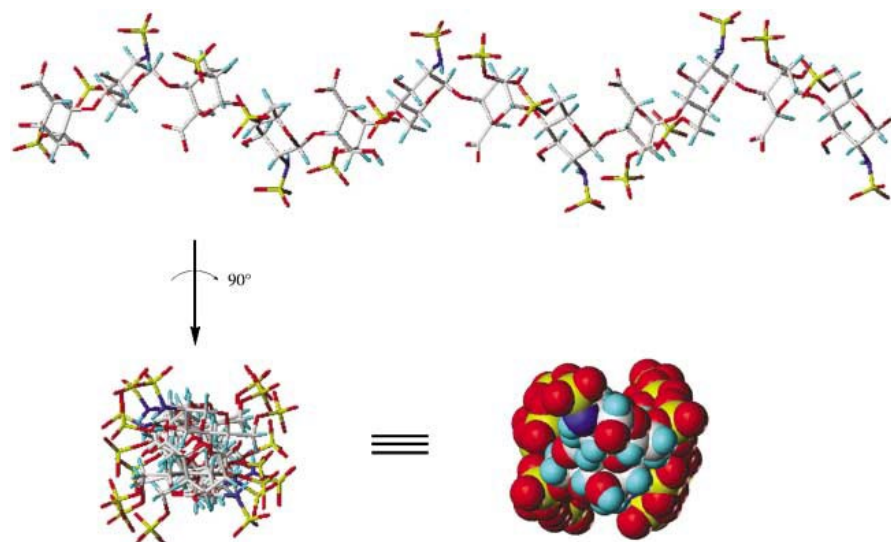


Gambar 2.1 Heparin disakarida (Guerrini, dkk., 2007)

Heparin banyak digunakan untuk aktivitas antitrombotiknya. Secara khusus, digunakan dalam mengobati dan mencegah emboli paru, trombosis vena dalam, infark miokard, angina pectoris, dan trombosis arteri. Heparin dan molekul mirip heparin bekerja dengan mengikat residu lisil pada antitrombin dan mempercepat laju pembentukan kompleks. Terdapat bukti pada pasien kanker, bahwa penggunaan UFH dan LMWH memberikan keuntungan kelangsungan hidup yang lebih besar. Menariknya, tampaknya ada hubungan penting antara trombosis dan tumor kanker, dengan yang pertama berperan dalam patogenesis dan tumorigenesis. Hal ini telah menyebabkan penyelidikan penggunaan terapi potensial untuk agen antitrombotik dalam pengobatan kanker (Atallah, dkk., 2020).

UFH adalah bentuk GAG alami yang paling sedikit diproses dan dihasilkan melalui pemurnian dari jaringan hewan, paling sering usus babi. Beberapa dekade

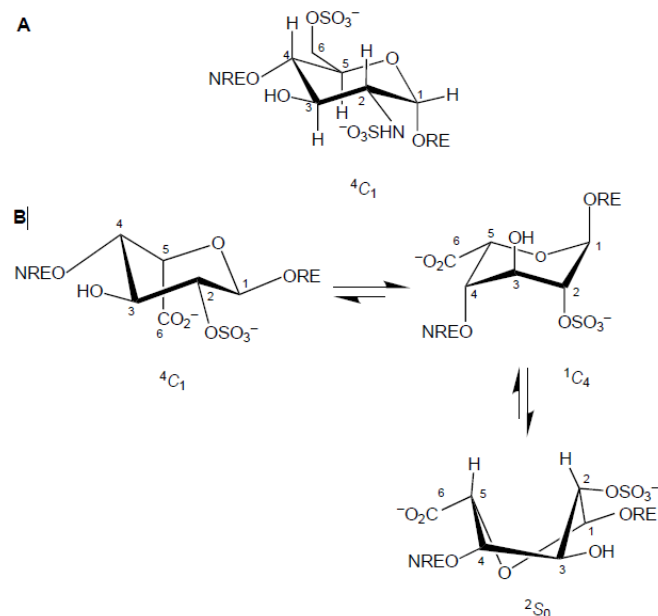
penelitian telah memberikan wawasan tambahan tentang struktur dan mekanisme aktivitas antikoagulannya. Sekarang diketahui bahwa heparin memberikan sifat antikoagulannya secara tidak langsung dengan mengikat antitrombin III (AT) dan memfasilitasi efek penghambatan AT berikutnya pada trombin dan faktor *X* yang diaktifkan (faktor *Xa*). Hanya UFH yang mengandung paling sedikit 18 rangkaian sakarida yang dapat mempengaruhi kerja AT pada trombin; namun, fragmen UFH dengan panjang berapa pun yang mengandung urutan pentasakarida unik dapat menghambat kerja faktor *Xa* (Guerrini, dkk., 2007).



Gambar 2.2 Konformasi heliks heparin (Guerrini, dkk., 2007).

Heparin adalah polisakarida linier, tidak bercabang, dan sangat sulfat yang diketahui memiliki struktur heliks. Interaksi heparin dengan beragam protein penting menunjukkan bahwa heparin menampilkan gugus sulfo dan karboksilnya dalam pola serta orientasi yang ditentukan untuk melakukan interaksi protein spesifik. Fleksibilitas konformasi residu L-asam iduronat dalam heparin bertanggung jawab atas berbagai interaksi protein spesifik yang ditunjukkan oleh keluarga GAG (Capila dan Linhardt, 2002). Beberapa studi telah difokuskan pada

penjelasan struktur persyaratan untuk mengikat FGF2 menunjukkan bahwa interaksi dimediasi pada dasarnya oleh kelompok N- dan 2-O-sulfat. Data juga menunjukkan bahwa kelompok 6-O-sulfat tidak diperlukan untuk pembentukan kompleks FGF2-GAG. Namun, kelompok ini memainkan peran penting dalam interaksi dengan reseptor. Persyaratan struktural lainnya adalah adanya residu IdoA dalam rantai GAG. Variasi urutan dicapai dengan substitusi satu atau lebih residu IdoA dengan residu GlcA dan menginduksi pengurangan afinitas oligosakarida terhadap FGF2 (Guerrini, dkk., 2007).



Gambar 2.3 Konformasi residu heparin (Capila dan Linhardt, 2002).

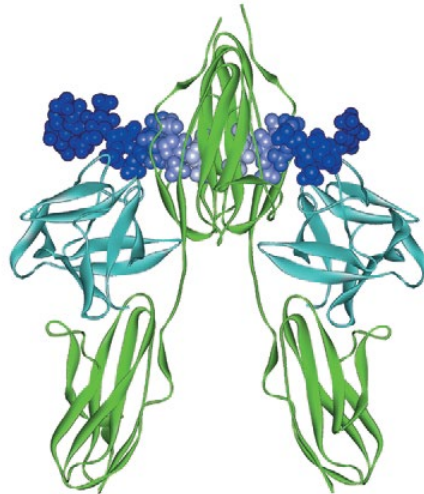
Analisis konformasi gula individu dalam heparin menunjukkan bahwa residu D-glukosamin dan asam D-glukuronat mengasumsikan konformasi  ${}^4C_1$  yang lebih disukai (Gambar 2.3 A). Fleksibilitas konformasi residu asam L-iduronat (IdoA) bervariasi, tergantung pada substitusi pola residu ini dan pada posisi relatifnya dalam rantai. Ketika residu IdoA berada di ujung pereduksi oligosakarida, data NMR menyarankan tiga kemungkinan konformer, yakni  ${}^4C_1$ ,  ${}^1C_4$  (kursi) dan  ${}^2S_0$



(perahu miring) (Gambar 2.3 B). Ketika residu IdoA internal, maka hanya konformasi  ${}^1C_4$  dan  ${}^2S_0$  yang dapat diakses. Untuk residu 2-O-sulfo- $\alpha$ -L idopyranosyluronate (IdoAp2S) juga kedua konformasi yang sama ini dapat diakses, dan studi NMR larutan pada heksasakarida turunan heparin menunjukkan bahwa residu IdoAp2S internal ada dalam keseimbangan antara kursi dan bentuk perahu miring. Bentuk  ${}^2S_0$  tampaknya sedikit disukai dalam hal stabilitas konformasi, karena cenderung meminimalkan interaksi tak-terikat 1,3 diaksial yang tidak diinginkan yang diharapkan dalam bentuk  ${}^1C_4$ , di mana empat substituen berorientasi aksial dan hanya gugus karboksil yang ekuator. Namun, penghalang energi untuk bentuk  ${}^1C_4$  tidak tinggi, sehingga memungkinkan cincin iduronate untuk berubah antara bentuk  ${}^2S_0$  dan  ${}^1C_4$  sehingga dalam keadaan terikat protein dapat membuat interaksi elektrostatik yang menguntungkan dengan asam amino basa pada protein (Capila dan Linhardt, 2002).

### 2.3 Kompleks FGF-FGFR

*Fibroblast growth factors* (FGF) adalah keluarga dari 23 polipeptida yang terkait secara struktural yang terlibat dalam proses perkembangan dan fisiologis, termasuk proliferasi sel, diferensiasi, morfogenesis, dan angiogenesis. Cara kerja FGF adalah mengikat ke empat reseptor tirosin kinase transmembran yang berbeda dengan afinitas tinggi (FGFR1–FGFR4). Langkah pertama dari jalur sinyal spesifik dan respons biologis berikutnya disebut dengan dimerisasi FGF-FGFR. Membran sel heparan sulfat (HS) melindungi FGF dari denaturasi dan degradasi proteolitik meningkatkan afinitas FGF untuk reseptornya, memfasilitasi dan menstabilkan pembentukan oligomer FGF yang berorientasi dengan benar (Guerrini, dkk., 2007).



Gambar 2.4 Kompleks terner Heparin-FGF-FGFR (Schlessinger, dkk., 2000).

Heparin eksogen bersaing dengan HS untuk mengikat FGF. Tergantung pada panjangnya, mengikat rantai heparin dapat bertindak baik sebagai inhibitor atau aktivator. Rantai heparin tersebut cukup panjang untuk mengikat lebih dari satu molekul FGF dan untuk mengatur dimer FGF atau oligomer yang lebih tinggi mendukung pembentukan kompleks terner dengan FGFR. Kompleks tersebut mendukung aktivasi reseptor akibatnya memberikan respon biologis. Heparin dengan rantai lebih pendek, ketika berinteraksi dengan FGF dapat menghambat perakitan kompleks terner dengan HS dan FGFR. Akibatnya menghambat respons biologis (Guerrini, dkk., 2007). Oleh karena itu, salah satu peran heparin dalam kompleks pensinyalan FGF adalah untuk meningkatkan stabilitas kompleks FGF-FGFR biner dengan menghubungkan ligan dan reseptor silang. Interaksi yang berperan penting dalam mengikat sisi aktif pada FGFR1 yaitu Lys 160, Lys 163, Lys 172, dan Lys 177. Sedangkan interaksi pada FGF2 yaitu Asn 27, Arg 120, Thr 121, Lys 125, Lys 129, Gln 134, Lys 135, dan Ala 136 (Mahdavi, dkk., 2017).

## 2.4 Penambatan Molekul (*Docking*)

Pendekatan *in silico* dilakukan untuk eksperimen kering dengan menggunakan komputer. Metode untuk pendekatan ini yaitu penambatan molekul (*Molecular Docking*). Penambatan molekul merupakan prosedur komputasi yang digunakan untuk memprediksikan sebuah molekul besar (reseptor) dan molekul kecil (ligan) secara efisien, dimulai dari struktur-struktur yang tidak berikatan dari simulasi dinamika molekul, *homology modelling*, dan lain-lain (Yannuar, 2012).

Fungsi *docking* adalah memprediksi orientasi molekul yang mengikat satu sama lain untuk membentuk kompleks yang stabil. Informasi tentang orientasi ini dapat digunakan untuk memprediksi kekuatan hubungan atau afinitas ikatan antara dua molekul. Hubungan antara molekul yang relevan secara biologis (seperti protein, asam nukleat, karbohidrat dan lipid) memainkan peran sentral dalam proses ini. Orientasi relatif dari kedua pasangan tersebut berpengaruh terhadap jenis sinyal yang dihasilkan. *Docking* dapat digunakan untuk memprediksi kekuatan dan jenis sinyal yang dihasilkan. *Docking* biasanya digunakan untuk memprediksi orientasi kandidat obat bermolekul kecil terhadap target protein untuk memprediksi afinitas dan aktivitas molekul, sehingga *docking* memainkan peran penting dalam desain obat yang rasional (Mukesh dan Rakesh, 2011).

## 2.5 Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul pertama kali dikembangkan pada akhir 70-an. Teknik ini telah berkembang dari simulasi beberapa ratus atom ke sistem dengan relevansi biologis, termasuk seluruh protein dalam larutan dengan representasi pelarut eksplisit, protein tertanam membran, atau kompleks makromolekul besar

seperti nukleosom atau ribosom. Simulasi dinamika molekul telah berkembang menjadi teknik yang dapat digunakan secara efektif untuk memahami hubungan struktur dan fungsi makromolekul. Waktu simulasi yang digunakan saat ini mendekati waktu yang relevan secara biologis. Informasi yang dikumpulkan tentang sifat dinamis makromolekul cukup kaya untuk mengubah paradigma bioinformatika struktural yang biasa dari mempelajari struktur tunggal menjadi menganalisis ansambel konformasi (Filipe dan Loura, 2022).

Model awal sistem diperoleh dari struktur eksperimental atau data pemodelan komparatif. Sistem simulasi dapat direpresentasikan pada tingkat detail yang berbeda. Representasi atomistik adalah representasi yang mengarah pada reproduksi terbaik dari sistem aktual. Namun, representasi kasar menjadi sangat populer ketika sistem besar atau simulasi panjang diperlukan. Representasi pelarut adalah kunci dalam definisi sistem (Filipe dan Loura, 2022).

### **2.5.1 Medan Gaya**

Dalam konteks pemodelan molekul, medan gaya mengacu pada bentuk dan parameter fungsi matematika yang digunakan untuk menggambarkan energi potensial dari sistem partikel (biasanya molekul dan atom). Fungsi medan gaya dan set parameter diturunkan dari pekerjaan eksperimental dan perhitungan mekanika kuantum tingkat tinggi. Medan gaya “*All-Atom*” memberikan parameter untuk setiap jenis atom dalam suatu sistem, termasuk hidrogen, sedangkan medan gaya “*United-Atom*” memperlakukan atom hidrogen dan karbon dalam gugus metil dan metilen sebagai pusat interaksi tunggal. Medan gaya “*Coarse-Grained*” sering digunakan dalam simulasi protein jangka panjang, memberikan representasi yang

lebih kasar untuk meningkatkan efisiensi komputasi (Sharma, dkk., 2019). Terdapat 15 paket medan gaya yang disediakan pada Gromacs berupa AMBER, CHARMM, GROMOS, dan OPLS. Namun medan gaya lain dapat digunakan dengan menambahkan secara mandiri.

### 2.5.2 *Ensemble* NVT

Pada *ensemble* kanonik, volume sistem adalah tetap dan energi dapat berpindah melintasi batas antara sistem dan lingkungan, tetapi materi tidak. Kita dapat menggambarkan sistem sebagai terendam dalam penangas panas pada suhu ( $T$ ), di mana penangas panas jauh lebih besar dari sistem. Tidak ada jumlah panas yang dilepaskan oleh sistem yang akan secara signifikan meningkatkan suhu lingkungan. *Ensemble* kanonik berlaku untuk sistem dengan ukuran berapa pun. Sementara perlu untuk mengasumsikan bahwa ukuran relatif dari penangas panas sangat besar, sistem itu sendiri mungkin kecil atau besar. Sekarang karena sistem dan lingkungan berada dalam kontak termal, sistem akan mentransfer panas ( $q$ ) ke dan dari lingkungan sampai mereka berada dalam kesetimbangan termal. Oleh karena itu, tidak seperti *ensemble* mikrokanonik, suhu *ensemble* kanonik dapat berupa konstanta yang ditentukan ( $T$ ). *Ensemble* ini sangat berguna untuk merawat sistem eksperimental aktual yang umumnya memiliki  $V$ ,  $N$ , dan  $T$  tetap (Satoh, 2003).

### 2.5.3 *Ensemble* NPT

Pada *ensemble* isothermal-isobarik, energi dapat berpindah melintasi batas, tetapi materi tidak. Volume sistem dapat berubah sedemikian rupa sehingga tekanan

internal sistem sesuai dengan tekanan yang diberikan pada sistem oleh lingkungannya. Mirip dengan *ensemble* kanonik, kita dapat menggambarkan ansambel isothermal-isobarik sebagai sistem yang direndam dalam penangas panas pada suhu ( $T$ ), di mana penangas panas jauh lebih besar daripada sistem. Tidak ada jumlah panas yang dilepaskan oleh sistem yang akan secara signifikan meningkatkan suhu lingkungan.

*Ensembel* isothermal-isobarik adalah ansambel mekanik statistik yang mempertahankan jumlah total partikel yang konstan, dan suhu ( $T$ ) dan tekanan ( $p$ ) yang konstan, biasanya disingkat NPT. Ansambel ini sangat berguna untuk menangani sistem fisik dimana volume sistem berfluktuasi, meskipun tekanan dijaga konstan (Sato, 2003).

## **2.6 Teknik Simulasi Dinamika Molekul**

### **2.6.1 Kotak Simulasi**

Kotak simulasi merupakan suatu proses peniruan dari sesuatu yang nyata beserta keadaan sekelilingnya dalam suatu kotak. Pada Gromacs terdapat beberapa jenis kotak simulasi seperti kotak kubik/persegi panjang, oktahedron terpotong, prisma heksagonal, dan dodekahedron belah ketupat. Sel kubik adalah sistem periodik paling sederhana untuk divisualisasikan dan diprogram. Namun, sel dengan bentuk yang berbeda mungkin lebih sesuai untuk simulasi yang diberikan. Ini mungkin sangat penting untuk simulasi sistem yang terdiri dari molekul tunggal atau kompleks antarmolekul yang dikelilingi oleh molekul pelarut. Pada sistem seperti itu biasanya perilaku molekul zat terlarut pusat yang paling menarik, sehingga diinginkan bahwa waktu komputer sesedikit mungkin dihabiskan untuk mensimulasikan pelarut jauh dari zat terlarut. Pada prinsipnya, setiap bentuk sel

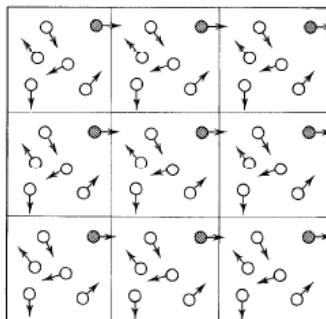
dapat digunakan asalkan mengisi semua ruang dengan operasi translasi kotak pusat dalam tiga dimensi. Lima bentuk memenuhi kondisi ini: kubus (dan hubungan dekatnya, paralelepiped), prisma heksagonal, oktahedron terpotong, dodecahedron belah ketupat dan dodecahedron 'memanjang' (Leach, 2001).

Dari lima kemungkinan bentuk, kubus/paralelepiped dan oktahedron terpotong paling banyak digunakan, dengan beberapa simulasi dalam prisma heksagonal. Mungkin lebih baik menggunakan salah satu sel periodik yang lebih umum bahkan jika ada alasan estetika untuk menggunakan alternatif. Ini karena ekspresi untuk menghitung gambar mungkin sulit dan tidak efisien untuk diterapkan, meskipun simulasi akan menggunakan lebih sedikit atom (Leach, 2001).

## 2.6.2 PBC

*Periodic boundary conditions* (PBC) memungkinkan simulasi dilakukan dengan menggunakan jumlah partikel yang relatif kecil, sedemikian rupa sehingga partikel mengalami gaya seolah-olah berada dalam fluida. Bayangkan sebuah kotak kubik partikel yang direplikasi ke segala arah untuk memberikan susunan periodik. Sebuah kotak dua dimensi ditunjukkan pada Gambar 2.7. Pada contoh dua dimensi setiap kotak dikelilingi oleh delapan tetangga. Sedangkan dalam tiga dimensi setiap kotak akan memiliki 26 tetangga terdekat. Koordinat partikel dalam kotak gambar dapat dihitung hanya dengan menambahkan atau mengurangi kelipatan integral dari sisi kotak. Jika sebuah partikel meninggalkan kotak selama simulasi maka akan digantikan oleh partikel gambar yang masuk dari sisi yang berlawanan, seperti yang diilustrasikan pada Gambar 2.7. Dengan demikian, jumlah partikel di dalam kotak pusat tetap konstan. Perhitungan dalam PBC hanya menghitung interaksi antar

partikel yang berbeda, tidak menghitung interaksi antara atom yang sama (hasil replikasi) (Leach, 2001).



Gambar 2.5 PBC dalam dua dimensi (Leach, 2001).

## 2.7 Tahapan Simulasi Dinamika Molekul

### 2.7.1 Inisiasi

Sebelum simulasi dapat dilakukan, perlu untuk memilih konfigurasi awal sistem. Simulasi sistem pada kesetimbangan adalah memilih konfigurasi awal yang dekat dengan keadaan yang diinginkan untuk disimulasikan. Jika pengaturan yang ditentukan secara eksperimental tersedia maka dapat digunakan, asalkan sesuai dengan simulasi yang dilakukan. Ketika tidak ada struktur eksperimental yang tersedia, konfigurasi awal dapat dipilih dari salah satu kisi kristalografi umum. Kisi yang paling umum adalah kisi kubik berpusat muka. Ukuran kisi dipilih sehingga densitasnya sesuai dengan sistem yang diteliti. Pada simulasi molekul, juga perlu menetapkan orientasi untuk setiap molekul. Sedangkan untuk molekul linier kecil, struktur padat CO<sub>2</sub> sering dipilih sebagai konfigurasi awal. Ini adalah kisi kubik berpusat muka dengan molekul yang berorientasi secara teratur di sepanjang empat diagonal sel satuan. Orientasi dapat dipilih sepenuhnya secara acak atau dengan membuat perubahan acak kecil dari orientasi dalam kisi biasa. Pada kepadatan tinggi, tumpang tindih non-fisik dapat terjadi, terutama jika molekulnya besar;



dalam kasus seperti itu lebih penting untuk menggunakan konfigurasi awal yang dekat dengan distribusi ekuilibrium yang diharapkan (Leach, 2001).

### **2.7.2 Ekuilibrasi**

Tujuan dari fase ekuilibrasi adalah untuk memungkinkan sistem berevolusi dari konfigurasi awal untuk mencapai keseimbangan. Ekuilibrasi harus berlanjut sampai nilai dari sekumpulan properti yang dipantau menjadi stabil. Sifat-sifat yang akan dipantau biasanya meliputi besaran termodinamika seperti energi, suhu dan tekanan serta sifat-sifat struktural. Dalam cairan, bagaimanapun, kita akan mengharapkan mobilitas yang cukup besar dari spesies yang ada, sehingga menimbulkan gangguan translasi (Leach, 2001).

### **2.7.3 Produksi**

Selama fase produksi, sifat sederhana dari sistem dihitung menggunakan parameter ansambel NPT. Pada interval reguler, konfigurasi sistem (yaitu koordinat atom) dikeluarkan ke file *trajectory*. Hasil produksi simulasi dianalisis untuk menemukan bagaimana struktur sistem berubah dan memeriksa perilaku yang tidak biasa yang mungkin menunjukkan masalah dengan simulasi (Leach, 2001).

## **2.8 Analisis**

### **2.8.1 RMSD**

Salah satu parameter penting untuk menganalisis kompleks protein-ligan adalah RMSD dari atom C- $\alpha$  *backbone* protein yang mencirikan stabilitas konformasi keseluruhannya dalam keadaan dinamis selama simulasi. Sistem diseimbangkan dan distabilkan ketika memperoleh tingkat RMSD yang rendah

dengan fluktuasi yang konsisten untuk seluruh simulasi. Fluktuasi yang lebih tinggi menunjukkan stabilitas yang rendah. Grafik RMSD yang sangat menyimpang juga dapat menyiratkan transisi konformasi utama yang terjadi dalam protein untuk mendapatkan konformasi yang stabil dengan ligan (Sharma, dkk., 2021).

### **2.8.2 RMSF**

Residu protein memainkan peran penting dalam mencapai konformasi yang stabil untuk kompleks protein-ligan dan dapat diukur dengan menggunakan RMSF sebagai parameter. RMSF residu pada dasarnya menganalisis segmen tertentu dari protein yang menyimpang dari struktur rata-ratanya yang umumnya terjadi pada interaksi ligan. Fluktuasi yang diamati untuk setiap residu menandakan tingkat fleksibilitas yang diperoleh oleh mereka. Jadi residu atau sekelompok residu yang menunjukkan tingkat RMSF yang lebih tinggi menyiratkan peningkatan fleksibilitas yang pada gilirannya menunjukkan peningkatan potensi mereka untuk berinteraksi dengan molekul ligan. Demikian pula, fluktuasi RMSF yang lebih rendah menyiratkan fleksibilitas yang lebih rendah, sehingga mengurangi potensi interaksi (Sharma, dkk., 2021).

## **2.9 Aplikasi Komputasi**

### **2.9.1 Gromacs**

GROMACS adalah singkatan dari *GRO*ningen *MACH*ine for *CHEM*ical *SIM*ulation. Nama itu muncul dari proyek kolaborasi di Departemen Kimia Universitas Groningen, Belanda, dengan Departemen Ilmu Komputer di Groningen pada awal 1990-an untuk membangun sebuah sistem komputer paralel khusus untuk simulasi molekuler. Karena GROMACS telah dikembangkan seluruhnya

dalam proyek-proyek yang didanai publik, diputuskan untuk menawarkan perangkat lunak di bawah GNU *General Public License* (GPL). Ini menjamin tidak hanya akses terbuka untuk komunitas ilmiah, tetapi juga ketersediaan kode sumber (Van Der Spoel, dkk., 2005).

GROMACS bertujuan untuk menyediakan program MD yang serbaguna dan efisien dengan kode sumber, terutama diarahkan pada simulasi molekul biologis (makro) dalam lingkungan berair dan membran, dan mampu berjalan pada prosesor tunggal serta pada sistem komputer paralel. Ini tidak hanya menyediakan mekanika Hamiltonian mikrokanonik, tetapi juga dinamika stokastik termasuk dinamika Langevin dan Brownian, dan minimisasi energi. Berbagai metode kopling untuk suhu dan tekanan disertakan, juga memungkinkan tekanan anisotropik dan perubahan kotak triklinik dalam menanggapi fluktuasi tensor tekanan. Kekuatan eksternal dapat diterapkan untuk menegakkan dinamika nonequilibrium atau "MD yang dikemudikan." Atom dapat diatur dalam kelompok khusus untuk tujuan partisipasi selektif dalam dinamika atau analisis rinci energi. Ada juga ketentuan untuk penggunaan situs virtual, yaitu situs interaksi tak bermassa yang dibangun dari posisi atom. Paket program mencakup berbagai macam alat analisis, mulai dari analisis lintasan grafis ekstensif hingga mode normal dan analisis komponen utama fluktuasi struktural. Lihat Lampiran untuk daftar fitur (Van Der Spoel, dkk., 2005).

### **2.9.2 Grace**

Grace (*Graphing, Advanced Computation and Exploration of data*) adalah alat plotting grafik 2D untuk sistem operasi mirip Unix. Grace menggunakan Sistem X Window dan Motif untuk GUI-nya. Pada tahun 1996, Linux Journal

menggambarkan Xmgr (nama awal untuk Grace) sebagai salah satu dari dua paket grafik paling menonjol untuk Linux. Grace dapat digunakan dari antarmuka *point-and-click* atau skrip (mengggunakan bahasa pemrograman *built-in* atau sejumlah *binding* bahasa). Ini melakukan baik kuadrat terkecil linier dan nonlinier yang sesuai dengan fungsi yang ditentukan pengguna yang kompleks secara sewenang-wenang, dengan atau tanpa kendala. Alat analisis lainnya termasuk FFT, integrasi dan diferensiasi, *splines*, interpolasi, dan *smoothing* (Vaught, 1996).

### 2.9.3 VMD

VMD (*Visual Molecular Dynamics*) adalah program grafis molekuler yang dirancang untuk tampilan dan analisis molekul, khususnya biopolimer seperti protein dan asam nukleat. VMD dapat secara bersamaan menampilkan sejumlah struktur menggunakan berbagai gaya rendering dan metode pewarnaan. Molekul ditampilkan sebagai satu atau lebih "representasi", dimana setiap representasi mewujudkan metode *rendering* tertentu dan skema pewarnaan untuk subset atom yang dipilih. Atom yang ditampilkan dalam setiap representasi dipilih menggunakan sintaks pemilihan atom ekstensif yang mencakup operator Boolean dan ekspresi reguler. VMD menyediakan antarmuka pengguna grafis lengkap untuk kontrol program, serta antarmuka teks menggunakan parser yang dapat disematkan Tcl untuk memungkinkan skrip kompleks dengan substitusi variabel, *loop* kontrol, dan panggilan fungsi. Pencatatan sesi penuh didukung, yang menghasilkan skrip perintah VMD untuk pemutaran nanti. Gambar raster resolusi tinggi dari molekul yang ditampilkan dapat dihasilkan dengan menghasilkan skrip input untuk digunakan oleh sejumlah aplikasi perenderan gambar fotorealistik. VMD juga telah

dirancang dengan kemampuan untuk menganimasikan lintasan simulasi dinamika molekul (MD), diimpor baik dari file atau dari koneksi langsung ke simulasi MD yang sedang berjalan. VMD adalah komponen visualisasi MDScope, seperangkat alat untuk pemecahan masalah interaktif dalam biologi struktural, yang juga mencakup program MD paralel NAMD, dan perangkat lunak MDCOMM yang digunakan untuk menghubungkan program visualisasi dan simulasi. VMD ditulis dalam C++, menggunakan desain berorientasi objek program, termasuk kode sumber dan dokumentasi ekstensif (Humphrey, dkk., 1996).

#### **2.9.4 Discovery Studio**

Discovery studio merupakan perangkat lunak paling komprehensif, terukur, dan kolaboratif untuk penelitian dalam bidang ilmu hayati. Discovery studio merupakan salah satu program visualisasi molekul kecil dan besar. Visualisasi dapat berupa molekul 2D atau 3D dalam menampilkan interaksi ligan-protein (Ahkam, dkk., 2020).

#### **2.9.5 PyMol**

PyMOL adalah sistem visualisasi molekuler tidak berbayar yang banyak digunakan untuk visualisasi tiga dimensi (3D) protein, asam nukleat, molekul kecil, kerapatan elektron, mengedit molekul, dan membuat film hasil visualisasi. Perangkat lunak berbasis Python ini, telah dikembangkan untuk meningkatkan utilitasnya dan memfasilitasi desain obat di PyMOL. PyMOL dapat menghasilkan film dan gambar makromolekul berkualitas tinggi dalam berbagai representasi termasuk pita, kartun, titik, permukaan, bola, tongkat, dan garis (Yuan, dkk., 2017).

## **BAB III**

### **METODE PERCOBAAN**

#### **3.1 Pelaksanaan Penelitian**

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium Kimia Komputasi Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang pada Januari – April 2023 .

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Perangkat keras yang digunakan dalam penelitian ini adalah HP Laptop 14s-fq1006AU dengan spesifikasi AMD Ryzen 5 5500U dengan grafik radeon 12 CPU 2.1 GHz RAM 8,00 GB.

Perangkat lunak yang digunakan yaitu sistem operasi Windows 11 *Home Single Language* 64-bit 10.0 *Build* 22000, Ubuntu 20.04 on windows, Gromacs 2020.1, Grace 5.1.25, VMD 1.9.4, Discovery Studio 2021, UCSF Chimera, AutodockTools 4.2, dan PyMol 2.5.4.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini berupa molekul tiga dimensi reseptor FGFR1-FGF2 dengan kode ID 1FQ9 serta ligan uji heparin 8 dan 12 sakarida 2S konformasi <sup>1</sup>C<sub>4</sub> dengan kode ID 1HPN dalam format *.pdb*.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan secara *in silico* menggunakan komputer. Bahan penelitian menggunakan reseptor dengan PDB ID 1FQ9, karena model ini memberikan dasar struktural untuk aktivasi FGFR oleh heparin molekul kecil dan dapat memfasilitasi desain heparin yang mampu memodifikasi sinyal FGF (Schlessinger, dkk., 2000). Sedangkan ligan yang digunakan adalah struktur dengan PDB ID 1HPN, karena merupakan struktur yang memiliki kemungkinan sebagai senyawa antikanker (Cole, dkk., 2010). Struktur yang diinginkan di persiapkan pada Chimera. Tahap selanjutnya yaitu proses *molecular docking* menggunakan Autodock 4.2. Proses ini melalui beberapa tahapan seperti persiapan ligan dan reseptor, penentuan kotak grid (*Grid box*), *docking*, dan *run*. Adapun proses persiapan ligan dan reseptor dengan minimasi molekul air, penyempurnaan atom hidrogen, penataan muatan atomik, penentuan torsi pada ligan, dan *Set Rigid Filename* pada makromolekul. Proses grid dilakukan setelah persiapan struktur usai dengan memilih kotak grid aktif. Selanjutnya struktur dilakukan proses *docking* dengan pemilihan parameter *Genetic Algorithm* dan *Lamarckian GA*. Tahap terakhir dari proses ini yaitu *running* menggunakan Command Prompt. *Running* dilakukan dua cara yaitu eksekusi terhadap kotak grid dan eksekusi *docking* dengan optimasi 200.

Selanjutnya kompleks hasil docking dengan energi terendah dipreparasi untuk simulasi dinamika molekul. Pertama kompleks hasil *docking* dipreparasi pada situs Charmm-GUI. Selanjutnya diatur kotak simulasi sebesar 15Å. Kemudian ditambahkan ion Na<sup>+</sup> dan Cl<sup>-</sup> untuk menstabilkan muatan. Hasil preparasi berupa *file .tgz* diekstrak kemudian dilakukan minimalisasi energi. Selanjutnya tahap

equilibrasi menggunakan *ensemble* NVT (volume dan temperatur konstan) dan *ensemble* NPT (tekanan dan temperatur konstan) selama 2 ns. Suhu dan tekanan sistem diseimbangkan pada 310K dan 1 atm. Persamaan gerak diintegrasikan pada langkah waktu 2 fs, memperbarui daftar tetangga setiap 5 langkah. Akhirnya kompleks terlarut dan seimbang ini dimasukkan ke fase produksi selama 100 ns untuk menghasilkan berkas *trajectory*.

Hasil simulasi dinamika molekul dapat divisualisasikan dengan menggunakan *Discovery Studio Visualizer* (DSV) serta *Visual Molecular Dynamics* (VMD). Visualisasi menggunakan DSV bertujuan untuk mengetahui perubahan interaksi ligan dengan reseptor berdasarkan panjang ikatan, distribusi atom, dan asam amino yang terikat. Sedangkan analisis menggunakan VMD bertujuan untuk mengetahui pergerakan dari molekul selama waktu simulasi berupa animasi.

Berkas *trajectory* dianalisis menggunakan Gromacs untuk mengetahui RMSD, RMSF, dan interaksi residu asam aminonya. Analisis RMSD dilakukan untuk mengamati perubahan konformasi yang terjadi selama simulasi. Sedangkan analisis RMSF dilakukan untuk mengidentifikasi bagian fleksibel dalam molekul. Nilai RMSF yang rendah dianggap memiliki kestabilan yang lebih baik (Fakih, dkk., 2020). Berkas hasil analisis di visualisasikan menggunakan Grace.

### 3.4 Tahapan penelitian

Tahapan dalam penilitan ini adalah:

- a) Preparasi Makromolekul FGF2-FGFR1
- b) Preparasi Ligan Heparin
- c) Validasi Penambatan Ulang Molekul (*Redocking*)



- d) Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)
- e) Analisis Hasil *Docking*
- f) Preparasi Dinamika Molekul
- g) Simulasi Dinamika Molekul
- h) Analisis

### **3.5 Prosedur penelitian**

#### **3.5.1 Preparasi Makromolekul FGF2-FGFR1**

Struktur protein diunduh pada situs [www.rcsb.org/pdb](http://www.rcsb.org/pdb), dengan kode PDB 1FQ9 dan dibuka pada aplikasi UCSF Chimera. Data makromolekul disimpan dalam format *.pdb*. selanjutnya, dilakukan penghapusan ligan dengan *File* → *Open* → *Select* → *Structure* → *protein* → *Invert (selected models)* → *Atoms/Bonds* → *delete*. Setelah itu ligan dan reseptor ditambahkan hidrogen dan muatan di Chimera, dengan *Tools* → *Structre Editing* → *Add H* → OK dan *Structre Editing* → *Add Charge* → OK. File disimpan dalam format *.pdb*.

#### **3.5.2 Preparasi Ligan Heparin**

Ligan yang digunakan adalah senyawa heparin yang diunduh dari situs PDB (<http://www.rcsb.org>). Kode PDB yang digunakan adalah 1HPN. Setelah itu divisualisasikan pada aplikasi Pymol. diambil model 2 yang berbentuk  ${}^1C_4$ . Dipotong senyawa  $SO^3$  pada SGN dan ditambah hidrogen dengan (*h\_add*). Senyawa heparin dipotong menjadi 8 dan 12 mer, dan disimpan dalam bentuk PDB.

### 3.5.3 Validasi Penambatan Ulang Molekul (*Redocking*)

Proses *redocking* ini dilakukan dengan cara menambatkan ulang ligan natif pada makromolekul FGFR1-FGF2. Ligan yang akan berinteraksi dengan protein dibuat fleksibel dengan makromolekul yang *rigid*.

#### 1. Persiapan ligan-reseptor

File ligan dibuka dalam bentuk PDB, kemudian klik *edit* → *delete water*, penetapan jenis atom (*Assign AD4 type*), dan pemilihan muatan (*Compute Gasteiger*). Tahap berikutnya klik *Ligand* → *Input* → *Choose ligand* → *Select* dan *Input* → *Torsion Tree* → *Choose root* → *Detect root* kemudian disimpan dalam format *.pdbqt*.

#### 2. Penentuan *Grid box*

Menentukan sisi pengikatan protein dengan klik *grid* → *Macromolecule* → *Choose*. lalu, pilih *Set Map Types* → *Open Ligand* dan *Set Map Types* → *Choose Ligand* → klik *ligand* → *Select*. Pada penentuan posisi aktif pengikatan molekul dengan klik *Grid* diatur *grid box* pada X: 80,459, Y: 23,095, Z: 104,054 dan volume *grid* sebesar 90 x 90 x 90 Å, dengan *spacing* 0,375 (default) lalu disimpan ke bentuk *grid parameter file* (GPF).

#### 3. Proses *redocking*

Proses penambatan ini menggunakan parameter *Genetic Algorithm* dan *Lamarckian GA*. Dengan langkah awal memilih *Macromolecule* → pilih *Set Rigid Filename* dan pilih *Ligand* → *Choose* → *Select* → *Accepted*. Kemudian klik *Search Parameters* → *Genetic Algorithm* → *number runs of GA* 200 → *Docking Parameters* → *Accepted* dan *Output* → *Lamarckian GA*, setelah itu file disimpan dalam bentuk *docking parameter file* (DPF).

#### 4. *Running*

Pada proses *running redocking* ini menggunakan Command Prompt untuk *Autogrid* (autogrid4 -p file.gpf -l file.glg) sehingga dihasilkan *grid log file* (GLG) dan *Autodock* (autodock4 -p file.dpf -l file.dlg) dihasilkan *docking log file* (DLG).

#### 3.5.4 Penambatan Molekul

Penambatan molekul dilakukan pada ligan uji heparin 8 mer 2S dan 12 mer 2S yang telah dipreparasi pada reseptor FGFR1-FGF2 menggunakan aplikasi Autodock Tools dengan prosedur yang sama dengan validasi penambatan ulang molekul. Pengaturan *gridbox* untuk senyawa 8 mer 2S adalah X: 88,459, Y: 27,095, Z: 111,053 dan volume grid sebesar 126 x 126 x 126 Å, dengan *spacing* 0,375 (default). Sedangkan untuk senyawa 12 mer 2S menggunakan pengaturan X: 82,54, Y: 26,378, Z: 111,967.

#### 3.5.5 Analisis Hasil *Docking*

Visualisasi Interaksi hasil *docking* dilakukan menggunakan aplikasi AutodockTools dan Discovery Studio Visualizer. Visualisasi menggunakan AutodockTools digunakan untuk mengetahui konformasi dan energi *binding* tiap sakarida. Program AutodockTools dibuka, lalu kompleks hasil penambatan molekul dibuka dengan klik *Analyze* → *Dockings* → *Open, format file* dalam bentuk *.dlg*. Selanjutnya klik *Analyze* → *Macromolecule* → *Open*. Terakhir, klik *Analyze* → *Conformations* → *Play* → *Load*. Simpan molekul hasil *docking* dalam bentuk file *.pdb*.

Discovery Studio digunakan untuk mengetahui jarak dan jumlah ikatan senyawa hasil *docking*. Discovery Studio dibuka, lalu kompleks hasil penambatan molekul dibuka dengan klik file dengan format *file .pdb*. Selanjutnya pilih *ligand-interaction* untuk menampilkan visualisasi dalam bentuk 3D.

### 3.5.6 Preparasi Simulasi Dinamika Molekul

Preparasi simulasi dinamika molekul dilakukan dengan modul Glycan Reader & modeler pada situs <https://www.charmm-gui.org/>. Kompleks hasil *docking* dengan format *.pdb* dikirim pada web. File *.pdb* → *Model/Chain Selection Option* → *PDB Manipulation* → *Generate PDB* → *Water Box Size*, Ukuran kotak 15Å → *Add Ions*, ditambahkan ion Na<sup>+</sup> dan ion Cl<sup>-</sup> → *Solvate Molecule* → *File Input*, pilih Gromacs → Suhu simulasi 310K → *Download .tgz file*.

### 3.5.7 Simulasi Dinamika Molekul

#### 3.5.7.1 Minimalisasi Energi

Minimalisasi energi bertujuan untuk menghindari bentrokan antar atom ketika terjadi proses penambahan dan pemutusan ikatan hidrogen. Parameter yang digunakan adalah file berformat *.mdp* dengan metode *steepest descents* untuk meminimalkan energi, dan untuk menghentikan proses jika besarnya gradien energi potensial sebesar 1000,0 kJ mol<sup>-1</sup> nm<sup>-1</sup> atau lebih kecil. Ukuran langkah maksimum sepanjang gradien adalah 0,02 nm, dan maksimum 50000 langkah diperbolehkan (Lemkul, 2019). Masukkan perintah pada terminal berupa:

```
$ gmx grompp -f step4.0_minimization.mdp -o step4.0_minimization.tpr -c
step3_input.gro -r step3_input.gro -p topol.top -n index.ndx -maxwarn -1
$ gmx mdrun -v -deffnm step4.0_minimization
```

### 3.5.7.2 Ekuilibrasi

Tahap ekuilibrasi dilakukan menggunakan volume yang konstan dan suhu pada 310K (NVT), karena suhu tubuh manusia berkisar 36-37°C (Geneva, dkk., 2019). Ekuilibrasi dilakukan selama 2 ns. Masukkan perintah pada terminal berupa:

```
$ gmx grompp -f step4.1_equilibration.mdp -o step4.1_equilibration.tpr -c
step4.0_minimization.gro -r step3_input.gro -p topol.top -n index.ndx
```

```
$ gmx mdrun -v -deffnm step4.1_equilibration
```

### 3.5.7.3 Produksi

Produksi dilakukan dengan pembuatan *file input .tpr* dengan grompp, yang memberikan koordinat dan *file checkpoint* dari ekuilibrasi untuk memastikan kelanjutan yang tepat (Lemkul, 2019). Produksi dinamika molekul dilakukan selama 100 ns menggunakan program mdrun. Masukkan perintah pada terminal berupa :

```
$ gmx mdrun -deffnm md gmx grompp -f step5_production.mdp -o step5_1.tpr -c
step4.1_equilibration.gro -p topol.top -n index.ndx
```

```
$ gmx mdrun -v -deffnm step5_1
```

### 3.5.8 Analisis

Berkas PDB hasil simulasi di analisis menggunakan DSV untuk mengetahui jarak dan jumlah ikatan hidrogen, elektrostatik, interaksi pi-pi, interaksi pi-alkil, interaksi pi-kation, dll. Discovery Studio dibuka, lalu kompleks hasil simulasi dinamika molekul dibuka dengan klik file dengan format *file .pdb*. Selanjutnya pilih *ligand-interaction* untuk menampilkan visualisasi dalam bentuk 2D atau 3D.

Berkas trayektori dari hasil *running* dinamika molekular divisualisasikan menggunakan perangkat lunak VMD 1.9.4 untuk memberikan gambaran pergerakan molekul selama simulasi terjadi. Sebelum senyawa dianalisis secara visual, protein ditata ulang letaknya karena selama simulasi protein akan bergerak keluar dari box. Program yang digunakan adalah *trjconv*. Masukkan perintah pada terminal berupa :

```
$ gmx trjconv -s md.tpr -f md.xtc -o md_center.pdb -center -pbc mol -ur compact
```

Pilih “Protein” kemudian pilih “System” untuk *output*. Kemudian buka VMD kemudian masukkan file *md\_center.pdb* untuk melihat animasi hasil simulasi

### 3.5.8.1 RMSD

Program GROMACS yang menghitung RMSD disebut *rms*. Program tersebut membaca koordinat referensi, massa, dan topologi dari *file .tpr* yang diteruskan ke *-s* dan menghitung RMSD untuk setiap frame yang ditemukan dalam lintasan yang diteruskan ke *-f* (Lemkul, 2019). Masukkan perintah pada terminal berupa :

```
$ gmx rms -s md.tpr -f analysis.xtc -o rmsd.svg -tu ns
```

Pilih “Backbone” untuk *square fit*. Kemudian pilih “Backbone” untuk perhitungan RMSD. *Output* dari langkah ini berupa berkas *rmsd.svg*. Grafik RMSD ditampilkan menggunakan perangkat lunak Grace.

```
$ xmgrace rmsd.svg
```

### 3.5.8.2 RMSF

RMSF merekam fluktuasi dari setiap atom tentang posisi rata-ratanya. Hal ini memberikan wawasan tentang fleksibilitas daerah peptida. RMSF dihitung menggunakan *gmx rmsf*. Masukkan perintah pada terminal berupa :

```
$ gmx rmsf -s md.tpr -f analysis.xtc -o rmsf.svg -res
```

Pilih “*Backbone*” untuk perhitungan RMSF. Output dari langkah ini berupa berkas *rmsf.svg*. Grafik RMSD ditampilkan menggunakan perangkat lunak Grace.

Masukkan perintah pada terminal berupa :

```
$ xmgrace rmsf.svg
```

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan :

- a. Perubahan struktur kompleks FGFR1-FGF2-heparin 8 mer 2S stabil mulai dari 25 ns hingga akhir simulasi dengan nilai RMSD protein sebesar 0-0.97 nm. Sedangkan kompleks FGFR1-FGF2-heparin 12 mer 2S mengalami perubahan yang fluktuatif diawal simulasi kemudian stabil pada 45 ns terakhir dengan nilai RMSD protein sebesar 0-0.89 nm.
- b. Ligan heparin 12 mer 2S memiliki potensi lebih besar daripada ligan heparin 8 mer 2S sebagai antikanker karena kemampuannya dalam menjaga kestabilan ikatannya dalam membentuk kompleks dengan FGFR1-FGF2.

#### **5.2 Saran**

Perlu dilakukan analisis MMPBSA untuk mengetahui perbedaan energi ikatan sebelum dan sesudah simulasi dinamika molekul.



## DAFTAR PUSTAKA

- Ahkam, A. H., Hermanto, F. E., Alamsyah, A., Aliyyah, I. H., dan Fatchiyah, F. 2020. Virtual prediction of antiviral of ginger bioactive compounds against spike and MPro of SARS-CoV2 protein. *Journal of Biological Researches*, 25(2), 52–57.
- Alález-Versón, C. R., Lantero, E., dan Fernández-Busquets, X. 2017. Heparin: New life for an old drug. *Nanomedicine*, 12(14), 1727–1744.
- Alyahya, R., Sudha, T., Racz, M., Stain, S. C., dan Mousa, S. A. 2015. Anti-metastasis efficacy and safety of non-anticoagulant heparin derivative versus low molecular weight heparin in surgical pancreatic cancer models. *International Journal of Oncology*, 46(3), 1225–1231.
- Amjad, M., Chidharla, A., dan Kasi, A. 2022. *Cancer Chemotherapy*. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing.
- Astuti, A. D., dan Mutiara, A. B. 2011. Simulasi dinamika molekuler protein dengan aplikasi gromacs. *Teknik Informatika dan Industri*, 1(2), 1–9.
- Atallah, J., Khachfe, H. H., Berro, J., dan Assi, H. I. 2020. The use of heparin and heparin-like molecules in cancer treatment: a review. *Cancer Treatment and Research Communications*, 24, 100192.
- Capila, I., dan Linhardt, R. J. 2002. Heparin-Protein Interactions. *Angewandte Chemie International Edition*, 41, 390–412.
- Cieplak, P., Cornel, WD. Bayly, C. Kollman, P. 1995. Application of the Multimolecule and to Biopolymers: Charge Derivation for Multiconformational RESP Methodology DNA, RNA, and Proteins. *Elsevier Oceanography Series*, 16, 1357–1377.
- Cole, C. L., Hansen, S. U., Baráth, M., Rushton, G., Gardiner, J. M., Avizienyte, E., dan Jayson, G. C. 2010. Synthetic heparan sulfate oligosaccharides inhibit endothelial cell functions essential for angiogenesis. *PLoS ONE*, 5(7), 1–15.
- Cooper GM. 2000. *The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition*. Sunderland (MA): Sinauer Associates.
- De Vivo, M., Masetti, M., Bottegoni, G., dan Cavalli, A. 2016. Role of Molecular Dynamics and Related Methods in Drug Discovery. *Journal of Medicinal*

*Chemistry*, 59(9), 4035–4061.

- Dirhamzah, A. S. H., Zulkarnain, Rustam, A., dan Armita, D. 2020. *Islam dan Biologi* (1 ed.). Alauddin University Press.
- Fakih, T. M., Dewi, M. L., dan Syahroni, E. 2020. Prediksi Stabilitas Mucroporin sebagai Kandidat Obat Berbasis Peptida melalui Simulasi Dinamika Molekular. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 7(3), 214.
- Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., dan Andricopulo, A. D. 2015. Molecular docking and structure-based drug design strategies. In *Molecules* 20(7).
- Filipe, H. A. L., dan Loura, L. M. S. 2022. Molecular Dynamics Simulations: Advances and Applications. *Molecules*, 27(7), 37–47.
- Geneva, I. I., Cuzzo, B., Fazili, T., dan Javaid, W. 2019. Normal body temperature: A systematic review. *Open Forum Infectious Diseases*, 6(4), 1–7.
- Guerrini, M., Milos Hricovini, dan Giangiacomo Torri. 2007. Interaction of Heparins with Fibroblast Growth Factors: Conformational Aspects. *Current Pharmaceutical Design*, 13(20), 2045–2056.
- Harir, F. 2022. Docking Senyawa Heparin 2S dan 2SNS 2-12 Sakarida Konformasi IDS <sup>4</sup>C<sub>1</sub> pada Kompleks Protein FGF2-FGFR1 sebagai Antikanker Menggunakan Autodock. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang
- Hou, J., He, Z., Liu, T., Chen, D., Wang, B., Wen, Q., dan Zheng, X. 2022. Evolution of Molecular Targeted Cancer Therapy: Mechanisms of Drug Resistance and Novel Opportunities Identified by CRISPR-Cas9 Screening. *Frontiers in Oncology*, 12, 1–18.
- Humphrey, W., Dalke, A., dan Schulten, K. 1996. VMD: Visual Molecular Dynamics. *Journal of Molecular Graphics*, 12, 694–701.
- Jo, S., Song, K. C., Desaire, H., MacKerell, A. D., dan Im, W. 2011. Glycan reader: Automated sugar identification and simulation preparation for carbohydrates and glycoproteins. *Journal of Computational Chemistry*, 32(14), 3135–3141.
- Kakkar, A. K. 2004. Low- and ultra-low-molecular-weight heparins. *Best Practice and Research: Clinical Haematology*, 17(1), 77–87.

- Kolina, J., Sumiwi, S. A., dan Levita, J. 2018. Mode Ikatan Metabolit Sekunder di Tanaman Akar Kuning (*Arcangelisia flava* L.) dengan Nitrat Oksida Sintase. *Fitofarmaka Jurnal Ilmiah Farmasi*, 8(1), 50–58.
- Leach, A. R. 2001. *Molecular Modeling : principles and applications*. In *Prentice Hall* (second edi). Prentice Hall.
- Lemkul, J. 2019. From Proteins to Perturbed Hamiltonians: A Suite of Tutorials for the GROMACS-2018 Molecular Simulation Package. *Living Journal of Computational Molecular Science*, 1(1), 1–53.
- Mahdavi, M. S., Shokrgozar, M. A., Sardari, S., Majidi, M., dan Ghadam, M. 2017. Disruption of FGF2-Heparin-FGFR1 Complex Formation by Antiangiogenic Small Molecule Found In Silico. *Asian Pacific Journal of Cancer Biology*, 2(2), 31–39.
- Makarewicz, T., dan Kaźmierkiewicz, R. 2013. Molecular dynamics simulation by GROMACS using GUI plugin for PyMOL. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(5), 1229–1234.
- Mathur, G., Nain, S., dan Sharma, P. 2015. Cancer : an overview. *Academic Journal of Cancer Research*, 8(1), 1–9.
- Mousa, S. A., dan Petersen, L. J. 2009. Anti-cancer properties of low-molecular-weight heparin: Preclinical evidence. *Thrombosis and Haemostasis*, 102(2), 258–267.
- Mukesh, B., dan Rakesh, K. 2011. Molecular Docking: A Review. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 2(6), 1746–1751.
- Mulyadi, J. S. 2015. Trombositopenia pada Pengobatan dengan Heparin. *Jurnal Indonesia*, 21, 114–123.
- Oduah, E. I., Linhardt, R. J., dan Sharfstein, S. T. 2016. Heparin: Past, present, and future. *Pharmaceuticals*, 9(3), 1–12.
- Park, S. J., Lee, J., Qi, Y., Kern, N. R., Lee, H. S., Jo, S., Joung, I., Joo, K., Lee, J., dan Im, W. 2019. CHARMM-GUI Glycan Modeler for modeling and simulation of carbohydrates and glycoconjugates. *Glycobiology*, 29(4), 320–331.
- Pellegrini, L. 2001. Role of heparan sulfate in fibroblast growth factor signalling:

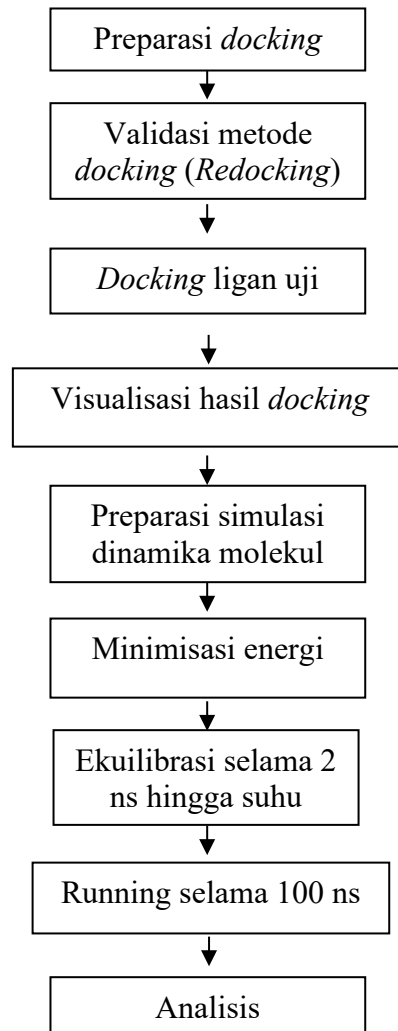
A structural view. *Current Opinion in Structural Biology*, 11(5), 629–634.

- Puratchikody, A., Sriram, D., Umamaheswari, A., dan Irfan, N. 2016. 3-D structural interactions and quantitative structural toxicity studies of tyrosine derivatives intended for safe potent inflammation treatment. *Chemistry Central Journal*, 10(1), 1–20.
- Qin, W., Yuan, Q., Liu, Y., Zeng, Y., Ke, D., Dai, X., Shuai, Y., Hu, J., dan Shi, H. 2021. Identification of key molecular markers in epithelial ovarian cancer by integrated bioinformatics analysis. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 60(6), 983–994.
- RI, K. K. 2019. *Profil Kesehatan Indonesia Tahun 2018*. Kementerian Kesehatan RI.
- Saputra, R., Ahmad Dimisa, A., Rakhmadi, F. A., dan Muhammad. 2020. Anti-Partikel Misteri Qur'an Surat Yasin Ayat 36. *Prosiding Konferensi Integrasi Interkoneksi Islam dan Sains*, 2, 23–24.
- Sari, I. W., Junaidin, J., dan Pratiwi, D. 2020. Studi Molecular Docking Senyawa Flavonoid Herba Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* B.) Pada Reseptor A-Glukosidase Sebagai Antidiabetes Tipe 2. *Jurnal Farmagazine*, 7(2), 54.
- Satoh, A. 2003. Chapter 2 Statistical ensembles. *Studies in Interface Science*, 17, 7–18.
- Schlessinger, J., Plotnikov, A. N., Ibrahim, O. A., Eliseenkova, A. V., Yeh, B. K., Yayon, A., Linhardt, R. J., dan Mohammadi, M. 2000. Crystal structure of a ternary FGF-FGFR-heparin complex reveals a dual role for heparin in FGFR binding and dimerization. *Molecular Cell*, 6(3), 743–750.
- Setiawan, S. D. 2015. the Effect of Chemotherapy in Cancer Patient To Anxiety. *Jurnal Majority*, 4(4), 94–99.
- Shahraki, O., Zargari, F., Edraki, N., Khoshneviszadeh, M., Firuzi, O., dan Miri, R. 2018. Molecular dynamics simulation and molecular docking studies of 1,4-Dihydropyridines as P-glycoprotein's allosteric inhibitors. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 36(1), 112–125.
- Sharma, J., Kumar Bhardwaj, V., Singh, R., Rajendran, V., Purohit, R., dan Kumar, S. 2021. An in-silico evaluation of different bioactive molecules of tea for their inhibition potency against non structural protein-15 of SARS-CoV-2. *Food Chemistry*, 346, 128933.

- Sharma, S., Kumar, P., dan Chandra, R. 2019. Introduction to molecular dynamics. In *Molecular Dynamics Simulation of Nanocomposites using BIOVIA Materials Studio, Lammmps and Gromacs*. Elsevier Inc.
- Turner, N., dan Grose, R. 2010. Fibroblast growth factor signalling: From development to cancer. *Nature Reviews Cancer*, 10(2), 116–129.
- Van Der Spoel, D., Lindahl, E., Hess, B., Groenhof, G., Mark, A. E., dan Berendsen, H. J. C. 2005. GROMACS: Fast, flexible, and free. *Journal of Computational Chemistry*, 26(16), 1701–1718.
- Vaught, A. 1996. Graphing with Gnuplot and Xmgr. *Linux Journal*, 1996(28).
- Yannuar, Arry. 2012. Penambatan Molekular Praktek dan Aplikasi pada Virtual Screening. *Skripsi*. Universitas Indonesia.
- Yuan, S., Chan, H. C. S., dan Hu, Z. 2017. Using PyMOL as a platform for computational drug design. *WIREs Computational Molecular Science*, 7(2), 1–10.

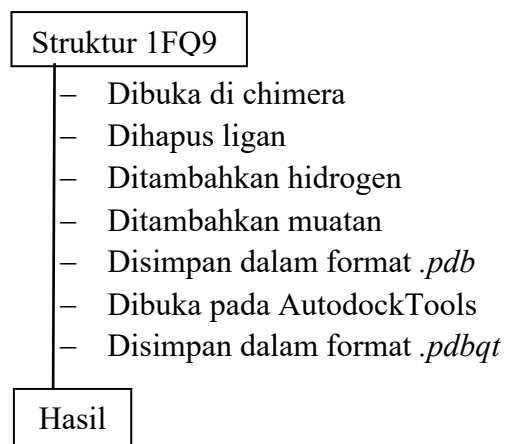
## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Rancangan Penelitian

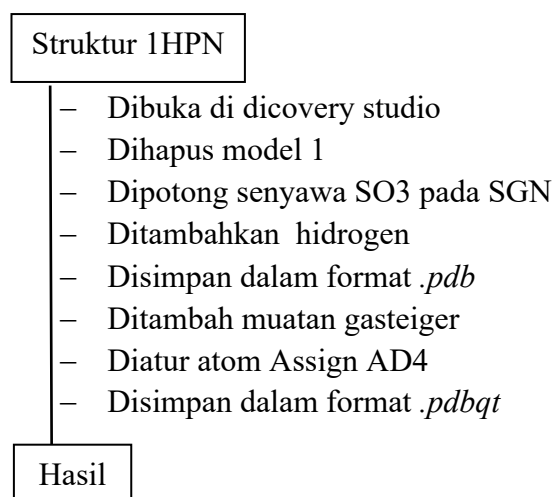


## Lampiran 2. Diagram Alir

### L.2.1 Preparasi Reseptor



### L.2.2 Preparasi Ligan



### L.2.3 Docking

#### Ligan dan Reseptor

- Dibuka *.pdbqt* pada AutodockTools
- Diatur *gridcenter* pada X: 88.459 Y: 27.095 Z: 111.053 untuk ligan heparin 8 mer 2S, dan X: 88.54 Y: 26.378 Z: 111.967 untuk ligan 12 mer 2S
- Disimpan pada format *.gpf*
- Dipilih makromolekul kaku untuk *docking*
- Dipilih parameter *Genetic Algorithm*
- Diatur Number of GA runs 200
- Diatur *docking* parameter *default*
- Dipilih *Lamarckian GA*
- Disimpan dalam format *.dpf*
- Dibuka *command prompt*
- Dilakukan running `autogrid4.exe -p docking.gpf -l docking.glg`
- Dilakukan running `autodock4.exe -p docking.dpf -l docking.dlg`

#### Hasil

### L.2.4 Preparasi Simulasi Dinamika Molekul

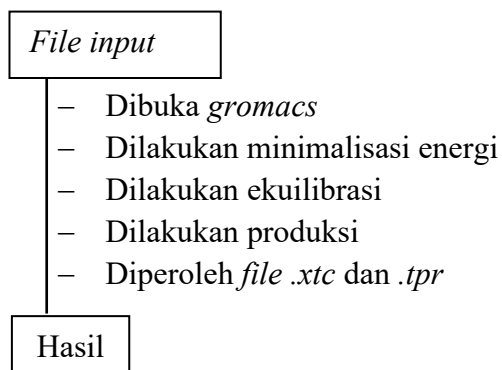
#### Kompleks hasil *docking*

- Dibuka CHARMM-GUI
- Dikirim struktur hasil *docking*
- *Model/Chain Selection Option*
- *PDB Manipulation*
- *Generate PDB*
- Diatur kotak simulasi sebesar 15 Å
- Ditambahkan ion Na<sup>+</sup> dan Cl<sup>-</sup>
- Ditambah pelarut berupa air
- Diatur *input Gromacs*
- Diatur suhu 310° K
- Download file *.tgz*

#### Hasil

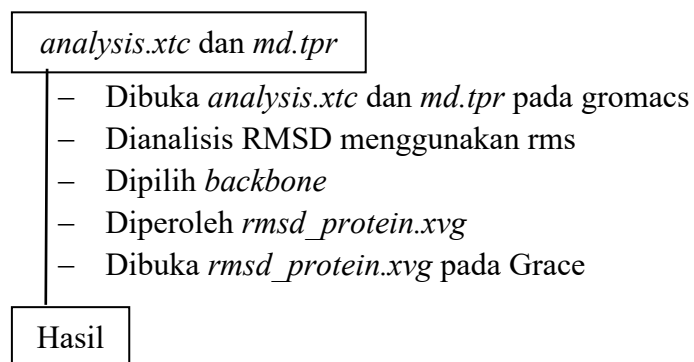


### L.2.5 Simulasi Dinamika Molekul

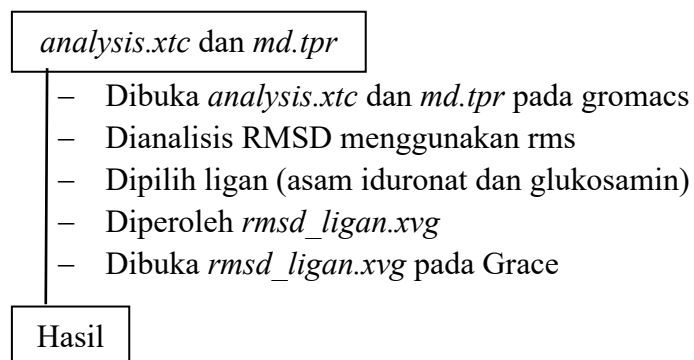


### L.2.6 Analisis

#### a. RMSD *Backbone* Protein



#### b. RMSD Ligan Heparin



## c. RMSD Asam Iduronat

*analysis.xtc* dan *md.tpr*

- Dibuka *analysis.xtc* dan *md.tpr* pada gromacs
- Dianalisis RMSD menggunakan rms
- Dipilih asam iduronat
- Diperoleh *rmsd\_ido.xvg*
- Dibuka *rmsd\_ido.xvg* pada Grace

Hasil

## d. RMSF

*analysis.xtc* dan *md.tpr*

- Dibuka *analysis.xtc* dan *md.tpr* pada gromacs
- Dianalisis RMSF menggunakan rmsf
- Diperoleh *rmsf.xvg*
- Dibuka *rmsf.xvg* pada Grace

Hasil

### Lampiran 3. Hasil Running Redocking

Rank	Sub-Rank	Run	Binding Energy	Cluster RMSD	Reference RMSD	Grep Pattern
1	1	4	-34.22	0.00	1.06	RANKING
1	2	151	-34.06	0.50	1.03	RANKING
1	3	64	-33.94	0.45	1.04	RANKING
1	4	44	-33.92	0.52	1.05	RANKING
1	5	2	-33.87	0.85	1.09	RANKING
1	6	185	-33.77	0.40	1.08	RANKING
1	7	14	-33.71	0.34	1.06	RANKING
1	8	65	-33.69	0.56	1.01	RANKING
1	9	93	-33.64	0.62	1.07	RANKING
1	10	23	-33.56	0.43	1.09	RANKING
1	11	141	-33.50	0.48	1.02	RANKING
1	12	66	-33.49	0.67	0.98	RANKING
1	13	143	-33.44	0.58	1.00	RANKING
1	14	27	-33.43	0.51	1.05	RANKING
1	15	6	-33.42	0.59	1.03	RANKING
1	16	161	-33.39	0.51	1.01	RANKING
1	17	111	-33.38	0.54	1.00	RANKING
1	18	85	-33.31	0.40	1.09	RANKING
1	19	172	-33.29	0.42	1.05	RANKING
1	20	176	-33.29	0.64	1.08	RANKING
1	21	55	-33.26	0.41	1.08	RANKING
1	22	40	-33.26	0.59	1.05	RANKING
1	23	94	-33.25	0.67	1.09	RANKING
1	24	54	-33.24	0.52	1.09	RANKING
1	25	188	-33.24	0.51	1.06	RANKING
1	26	187	-33.24	0.55	1.13	RANKING
1	27	189	-33.23	0.57	0.93	RANKING
1	28	18	-33.21	0.64	1.10	RANKING
1	29	142	-33.20	0.56	1.01	RANKING
1	30	34	-33.19	0.65	0.98	RANKING
1	31	150	-33.16	0.46	1.01	RANKING
1	32	121	-33.13	0.42	1.06	RANKING
1	33	43	-33.12	0.32	1.08	RANKING
1	34	105	-33.09	0.54	1.00	RANKING
1	35	46	-33.06	0.51	1.02	RANKING
1	36	170	-33.02	0.50	0.93	RANKING
1	37	197	-33.00	0.52	0.93	RANKING
1	38	82	-32.99	0.51	1.09	RANKING

1	39	131	-32.96	0.52	1.00	RANKING
1	40	195	-32.96	0.59	1.01	RANKING
1	41	72	-32.95	0.54	1.07	RANKING
1	42	159	-32.91	0.47	1.07	RANKING
1	43	114	-32.89	0.65	1.07	RANKING
1	44	86	-32.88	0.64	0.95	RANKING
1	45	168	-32.85	0.51	1.00	RANKING
1	46	52	-32.83	0.56	1.06	RANKING
1	47	122	-32.80	0.67	1.05	RANKING
1	48	78	-32.78	0.57	1.00	RANKING
1	49	104	-32.78	0.82	1.11	RANKING
1	50	174	-32.71	0.72	1.21	RANKING
1	51	120	-32.70	0.54	0.99	RANKING
1	52	91	-32.68	0.72	1.09	RANKING
1	53	157	-32.63	0.59	0.93	RANKING
1	54	113	-32.62	0.57	1.10	RANKING
1	55	84	-32.52	0.47	1.07	RANKING
1	56	96	-32.50	0.76	1.06	RANKING
1	57	135	-32.50	0.76	1.21	RANKING
1	58	163	-32.49	0.55	0.95	RANKING
1	59	148	-32.48	0.57	0.91	RANKING
1	60	164	-32.48	0.74	0.94	RANKING
1	61	11	-32.47	0.71	0.97	RANKING
1	62	193	-32.46	0.43	1.06	RANKING
1	63	29	-32.43	0.55	0.99	RANKING
1	64	173	-32.41	0.60	0.99	RANKING
1	65	154	-32.38	0.58	1.02	RANKING
1	66	199	-32.36	0.58	1.03	RANKING
1	67	128	-32.36	0.55	0.93	RANKING
1	68	191	-32.34	0.65	1.14	RANKING
1	69	81	-32.32	0.56	1.06	RANKING
1	70	196	-32.31	0.46	1.04	RANKING
1	71	137	-32.29	0.63	1.01	RANKING
1	72	146	-32.17	0.71	0.89	RANKING
1	73	171	-32.14	0.60	1.03	RANKING
1	74	183	-32.14	0.64	0.96	RANKING
1	75	100	-32.09	0.67	0.91	RANKING
1	76	130	-32.07	1.06	1.30	RANKING
1	77	70	-32.07	0.47	1.07	RANKING
1	78	74	-32.05	0.61	0.95	RANKING
1	79	166	-32.00	0.62	1.05	RANKING

1	80	53	-31.98	0.58	1.00	RANKING
1	81	41	-31.96	0.79	1.01	RANKING
1	82	68	-31.94	0.57	1.03	RANKING
1	83	149	-31.93	0.64	0.89	RANKING
1	84	92	-31.93	0.91	1.06	RANKING
1	85	63	-31.90	0.75	1.10	RANKING
1	86	178	-31.86	0.80	1.11	RANKING
1	87	106	-31.84	0.76	1.06	RANKING
1	88	145	-31.77	0.76	0.88	RANKING
1	89	129	-31.75	0.78	0.98	RANKING
1	90	39	-31.72	0.68	1.07	RANKING
1	91	118	-31.71	0.47	0.94	RANKING
1	92	138	-31.71	0.58	1.06	RANKING
1	93	71	-31.70	0.59	0.92	RANKING
1	94	181	-31.69	0.58	1.02	RANKING
1	95	59	-31.62	0.60	0.83	RANKING
1	96	48	-31.61	1.10	1.33	RANKING
1	97	117	-31.53	1.01	1.11	RANKING
1	98	160	-31.47	0.96	0.96	RANKING
1	99	5	-31.47	0.61	0.93	RANKING
1	100	56	-31.45	0.64	1.05	RANKING
1	101	180	-31.44	0.58	0.97	RANKING
1	102	32	-31.42	0.68	1.12	RANKING
1	103	49	-31.42	0.66	1.24	RANKING
1	104	25	-31.42	0.72	1.14	RANKING
1	105	194	-31.41	1.23	1.36	RANKING
1	106	38	-31.36	0.80	0.97	RANKING
1	107	24	-31.34	0.68	1.05	RANKING
1	108	124	-31.34	0.70	0.82	RANKING
1	109	144	-31.28	0.63	1.04	RANKING
1	110	17	-31.25	0.65	1.04	RANKING
1	111	101	-31.22	0.82	0.96	RANKING
1	112	186	-31.22	1.08	1.11	RANKING
1	113	192	-31.21	0.61	0.96	RANKING
1	114	33	-31.17	0.47	1.03	RANKING
1	115	67	-31.16	0.65	0.96	RANKING
1	116	107	-31.11	0.63	1.13	RANKING
1	117	95	-31.05	0.65	1.10	RANKING
1	118	99	-31.04	0.55	0.99	RANKING
1	119	89	-31.02	0.84	1.18	RANKING
1	120	73	-31.00	1.00	0.90	RANKING

1	121	45	-31.00	0.68	1.19	RANKING
1	122	158	-30.96	0.79	1.10	RANKING
1	123	58	-30.89	0.93	1.25	RANKING
1	124	19	-30.85	1.03	1.05	RANKING
1	125	152	-30.77	0.89	0.93	RANKING
1	126	126	-30.76	0.68	1.05	RANKING
1	127	134	-30.73	0.76	1.06	RANKING
1	128	57	-30.72	1.15	1.15	RANKING
1	129	30	-30.65	0.92	1.08	RANKING
1	130	97	-30.63	0.61	0.93	RANKING
1	131	35	-30.59	0.62	0.91	RANKING
1	132	79	-30.56	0.93	1.04	RANKING
1	133	162	-30.56	0.85	0.91	RANKING
1	134	77	-30.55	1.10	1.30	RANKING
1	135	167	-30.48	0.76	1.02	RANKING
1	136	119	-30.45	1.04	1.21	RANKING
1	137	102	-30.44	1.41	1.38	RANKING
1	138	21	-30.35	1.01	1.22	RANKING
1	139	165	-30.24	1.48	1.37	RANKING
1	140	115	-30.23	1.32	1.27	RANKING
1	141	110	-30.22	0.88	1.14	RANKING
1	142	116	-30.19	1.30	1.26	RANKING
1	143	8	-30.10	1.36	1.32	RANKING
1	144	123	-30.07	1.70	1.52	RANKING
1	145	200	-30.06	1.76	1.82	RANKING
1	146	136	-30.02	1.35	1.31	RANKING
1	147	3	-30.01	1.75	1.53	RANKING
1	148	75	-30.00	1.29	1.28	RANKING
1	149	87	-30.00	0.91	0.96	RANKING
1	150	175	-29.99	0.72	1.11	RANKING
1	151	60	-29.98	0.88	1.13	RANKING
1	152	90	-29.91	0.73	1.10	RANKING
1	153	103	-29.84	1.58	1.47	RANKING
1	154	9	-29.83	0.79	0.95	RANKING
1	155	140	-29.74	1.35	1.25	RANKING
1	156	88	-29.56	1.29	1.26	RANKING
1	157	12	-29.53	1.36	1.23	RANKING
1	158	26	-29.38	1.03	1.10	RANKING
1	159	153	-29.37	1.10	1.12	RANKING
1	160	177	-29.34	1.06	1.06	RANKING
1	161	31	-29.31	0.97	1.04	RANKING

1	162	98	-29.12	1.10	1.12	RANKING
1	163	112	-29.00	1.68	1.51	RANKING
1	164	50	-28.95	1.92	1.74	RANKING
1	165	147	-28.76	1.48	1.28	RANKING
1	166	61	-28.48	1.66	1.43	RANKING
1	167	51	-27.49	1.72	1.47	RANKING
1	168	47	-26.23	1.79	1.64	RANKING
2	1	16	-28.71	0.00	2.37	RANKING
2	2	190	-28.69	1.74	1.97	RANKING
2	3	37	-28.15	1.92	2.28	RANKING
2	4	15	-27.77	1.88	2.49	RANKING
3	1	62	-27.99	0.00	3.14	RANKING
3	2	125	-27.64	0.40	3.08	RANKING
3	3	127	-27.63	1.00	3.47	RANKING
3	4	76	-27.49	0.49	3.07	RANKING
3	5	80	-27.46	1.59	3.20	RANKING
3	6	10	-27.39	0.72	3.18	RANKING
3	7	22	-27.07	0.95	3.55	RANKING
3	8	139	-26.96	1.09	3.26	RANKING
3	9	36	-26.95	1.94	1.98	RANKING
3	10	133	-26.50	0.92	2.90	RANKING
3	11	169	-26.42	1.94	3.03	RANKING
3	12	184	-26.17	1.31	3.23	RANKING
3	13	20	-25.85	1.63	2.94	RANKING
3	14	42	-25.84	1.75	2.76	RANKING
3	15	155	-25.66	1.60	3.05	RANKING
3	16	109	-25.61	1.60	2.79	RANKING
3	17	1	-24.11	1.26	3.57	RANKING
3	18	156	-23.51	1.62	2.79	RANKING
4	1	83	-27.49	0.00	2.09	RANKING
5	1	132	-24.68	0.00	4.91	RANKING
5	2	179	-24.10	1.52	4.67	RANKING
5	3	28	-23.87	0.97	4.83	RANKING
5	4	198	-23.59	1.39	4.76	RANKING
6	1	7	-22.57	0.00	2.96	RANKING
7	1	108	-20.89	0.00	4.10	RANKING
7	2	69	-20.45	1.00	3.89	RANKING
8	1	182	-17.57	0.00	5.08	RANKING
9	1	13	-15.23	0.00	4.12	RANKING

#### Lampiran 4. Interaksi Hasil *Docking*

No	Ligan Natif	Ligan 8 mer 2s	Ligan 12 mer 2s
1	A:ALA136:N - E:SGN5:O2S (H)	A:ARG120:HH11 - E:IDS6:O5 (H)	A:ARG120:HE - E:IDS12:O6A (H)
2	A:ARG120:CD - E:IDS4:O3S (H)	A:ARG120:HH12 - E:IDS6:O1S (H)	A:ARG120:HE - E:SGN5:O6 (H)
3	A:ARG120:N - E:IDS4:O3S (H)	A:ARG120:HH12 - E:IDS6:O2 (H)	A:ARG120:HH11 - E:IDS10:O6A (H,E)
4	A:ARG120:NE - E:IDS4:O2 (H)	A:ARG120:HH21 - E:IDS6:O5 (H)	A:ARG120:HH22 - E:SGN5:O6 (H)
5	A:ARG120:NH1 - E:IDS6:O3 (H)	A:ARG120:HH21 - E:IDS6:O6A (H,E)	A:ARG120:NH2 - E:IDS12:O6A
6	A:ARG120:NH1 - E:IDS6:O3S (E)	A:ARG120:NH1 - E:IDS6:O2S (E)	A:LYS119:NZ - E:IDS4:O6A
7	A:ARG120:NH1 - E:SGN5:O4 (H)	A:ARG120:NH2 - E:IDS4:O6A (E)	A:LYS125:HZ1 - E:IDS6:O2S (H,E)
8	A:ARG120:NH2 - E:IDS4:O5 (H)	A:ASN27:OD1 - E:SGN5:H02 (H)	A:LYS129:HZ2 - E:IDS4:O6A (H,E)
9	A:ARG120:NH2 - E:IDS4:O6A (E)	A:GLN134:HE21 - E:IDS4:O2S (H)	A:LYS135:CE - E:IDS8:O2S (H)
10	A:ASN27:ND2 - E:IDS4:O3S (H)	A:GLN134:OE1 - E:SGN3:H11 (H)	A:LYS135:HN - E:IDS6:O3S (H)
11	A:ASN27:OD1 - E:SGN5:O3 (H)	A:LYS125:HZ2 - E:IDS4:O2S (H,E)	A:LYS135:HZ2 - E:IDS8:O3S (H)
12	A:LYS119:NZ - E:SGN3:O6S (E)	A:LYS129:HZ3 - E:IDS2:O1S (H)	A:LYS135:NZ - E:IDS8:O2S
13	A:LYS125:CE - E:IDS4:O2S (H)	A:LYS129:NZ - E:IDS2:O2S (E)	C:GLU159:OE2 - E:SGN11:H02 (H)
14	A:LYS125:NZ - E:IDS4:O1S (H)	A:LYS135:HN - E:IDS4:O3S (H)	C:GLU159:OE2 - E:SGN11:H03 (H)
15	A:LYS125:NZ - E:IDS4:O2S (E)	A:LYS135:NZ - E:IDS6:O2S (E)	C:GLU159:OE2 - E:SGN11:H05 (H)
16	A:LYS125:NZ - E:SGN5:O1S (H,E)	C:LYS163:NZ - E:IDS6:O2S (E)	D:ARG209:HH12 - E:IDS10:O2S (H,E)
17	A:LYS125:NZ - E:SGN5:O2S (H)	C:LYS177:HZ2 - E:IDS8:O3 (H)	
18	A:LYS129:NZ - E:IDU2:O6 (E)	C:LYS177:NZ - E:IDS8:O6A (E)	
19	A:LYS129:NZ - E:SGN3:O4S (H)	D:ARG209:HH11 - E:IDS8:O3S (H)	
20	A:LYS129:NZ - E:SGN3:O6S (E)	D:ARG209:NH1 - E:IDS8:O2S (E)	
21	A:LYS135:N - E:SGN5:O3S (H)	D:LYS207:HZ3 - E:IDS6:O3 (H)	
22	A:LYS135:NZ - E:IDS6:O6B (H,E)	D:LYS207:HZ3 - E:IDS8:O2 (H)	
23	A:LYS26:NZ - E:IDS6:O6B (E)	D:LYS207:NZ - E:IDS6:O2S (E)	
24	C:HIS166 - E:SGN7:S2 (pi-S)	D:LYS207:NZ - E:IDS8:O2S (E)	
25	C:HIS166:CE1 - E:SGN7:O6S (H)	D:LYS207:NZ - E:IDS8:O6A (E)	
26	C:LYS160:NZ - E:SGN7:O3S (E)		



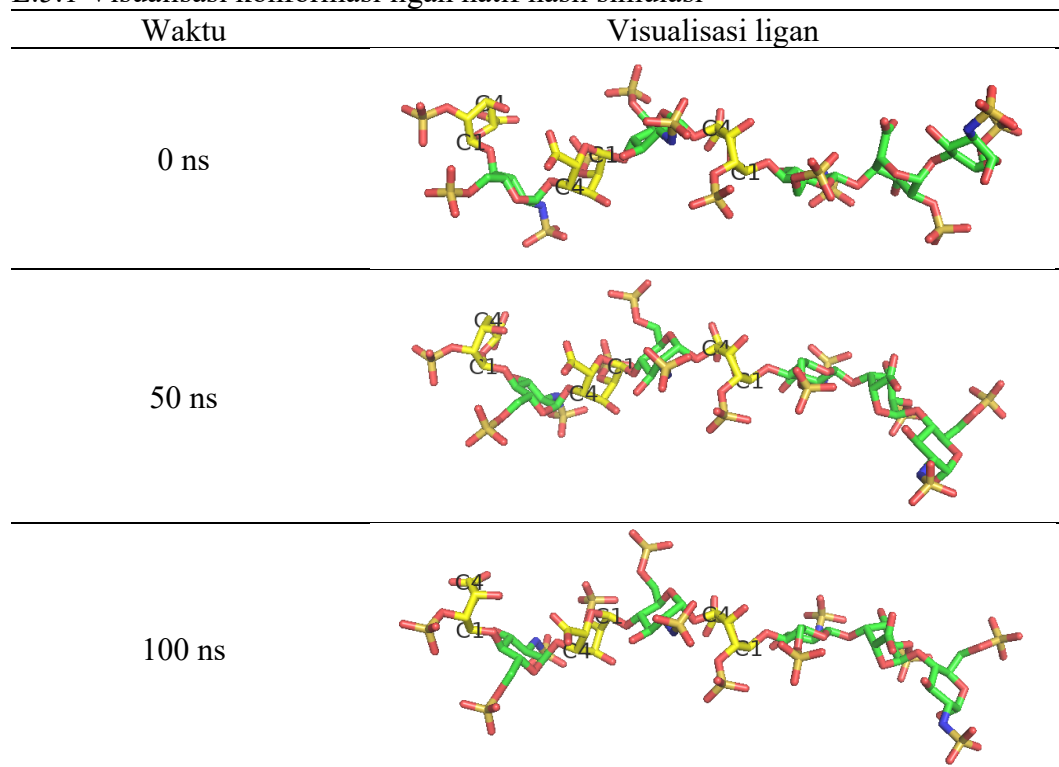
---

27	C:LYS163:CE - E:SGN7:O5S (H)
28	C:LYS163:NZ - E:SGN7:O6S (E)
29	C:LYS172:NZ - E:UAP8:O3S (E)
30	C:LYS175:NZ - E:UAP8:O6A (H)
31	C:LYS175:NZ - E:UAP8:O6B (E)
32	C:LYS177:NZ - E:SGN7:O2S (H)
33	C:LYS177:NZ - E:SGN7:O3 (H)
34	C:LYS177:NZ - E:SGN7:O3S (E)
35	C:LYS177:NZ - E:UAP8:O6A (H)
36	C:LYS177:NZ - E:UAP8:O6B (E)
37	D:LYS207:CE - E:UAP8:O3 (H)
38	D:LYS207:NZ - E:IDS6:O6B (E)
39	D:LYS207:NZ - E:SGN5:O5S (E)
40	D:THR173:OG1 - E:UAP8:O2S (H)

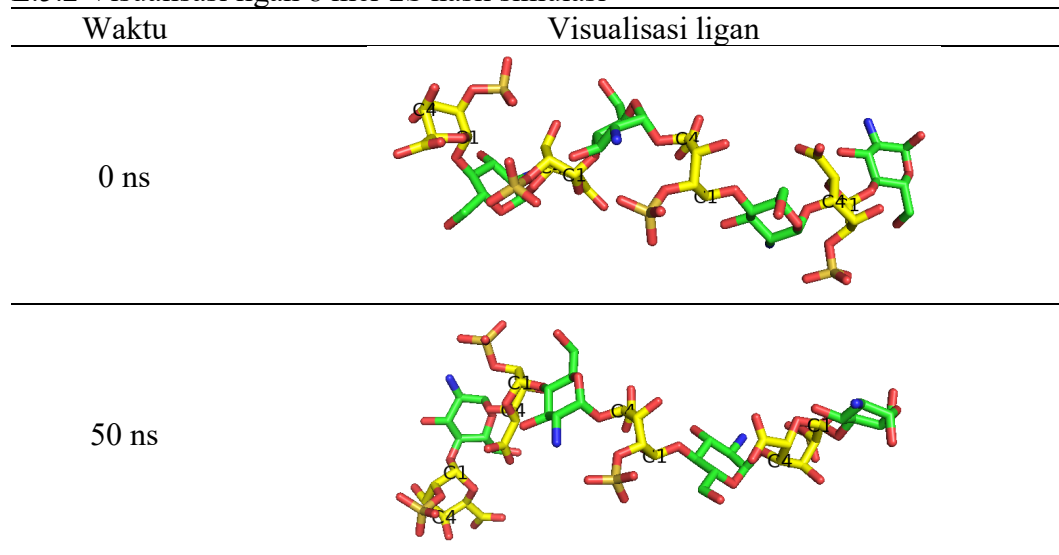
---

## Lampiran 5. Visualisasi Konformasi Asam Iduronat

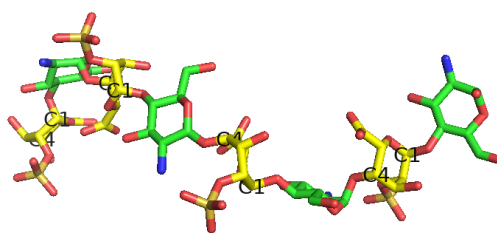
### L.5.1 Visualisasi konformasi ligan natif hasil simulasi



### L.5.2 Visualisasi ligan 8 mer 2S hasil simulasi



100 ns

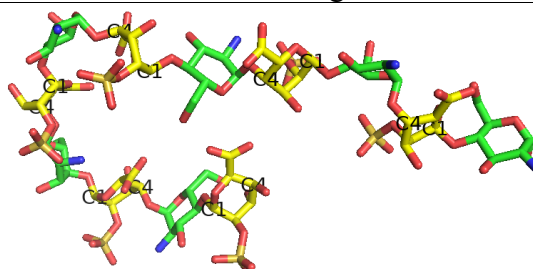


### L.5.3 Visualisasi ligan 12 mer 2S hasil simulasi

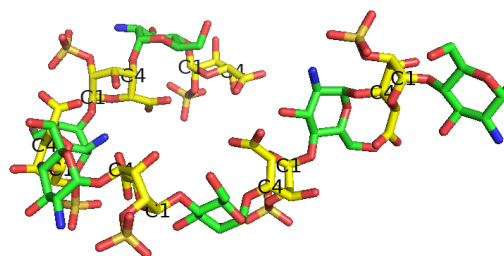
Waktu

Visualisasi ligan

0 ns



50 ns



100 ns

