

TUTORIAL SOFTWARE YASARA

A. Pendahuluan

Pada sesi workshop ini, kita akan fokus pada penggunaan YASARA Structure sebagai aplikasi utama. YASARA Structure merupakan perangkat lunak komputasi canggih yang digunakan secara luas dalam bioinformatika dan biologi struktural. Software ini memungkinkan pengguna untuk melakukan analisis mendalam terhadap struktur molekul, dengan fokus khusus pada protein. YASARA (*Yet Another Scientific Artificial Reality Application*) menyediakan beragam fitur yang dirancang untuk mendukung berbagai kegiatan penelitian. Fitur-fitur ini mencakup visualisasi tiga dimensi dari struktur biomolekul, analisis interaksi molekuler, serta simulasi dinamis yang memungkinkan prediksi perilaku molekul dalam kondisi tertentu. Aplikasi ini tidak hanya mendukung analisis struktur protein, tetapi juga dapat digunakan untuk mempelajari struktur DNA, RNA, dan ligan.

Melalui workshop ini, peserta akan belajar bagaimana memanfaatkan berbagai alat yang tersedia dalam YASARA Structure untuk memodelkan dan menganalisis struktur biomolekul secara efektif. Kita akan membahas langkah-langkah praktis dalam mempersiapkan data, menjalankan simulasi, serta menginterpretasikan hasil untuk aplikasi dalam penelitian ilmiah.

B. Penambatan Molekul (Molecular Docking)

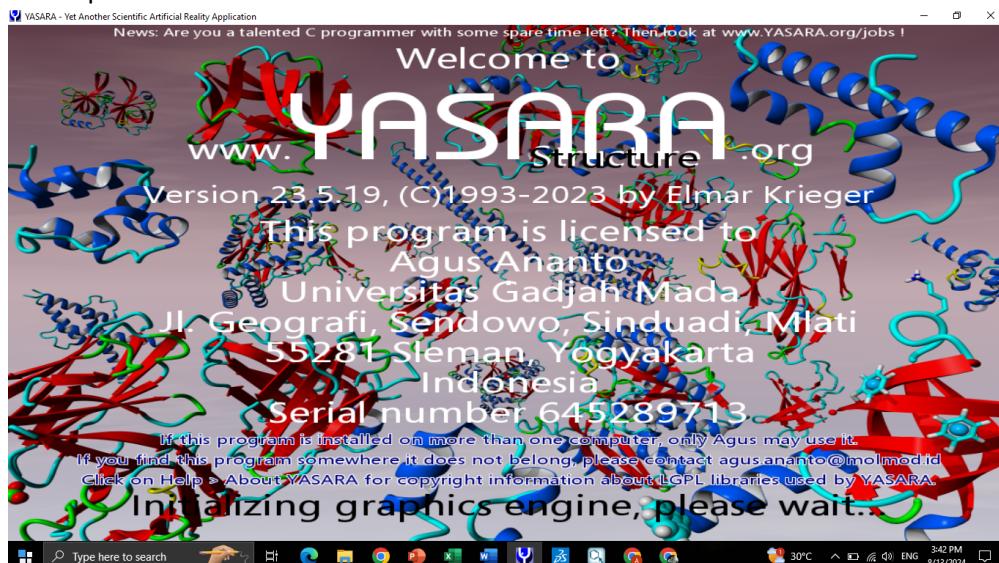
Target protein yang digunakan memiliki kode PDB ID: **4HJO**, diunduh melalui laman [RCSB Protein Data Bank \(PDB\)](https://www.rcsb.org/structure/4HJO). File yang diunduh berupa file dengan ekstensi .pdb.

a. Validasi metode/ validasi protokol penambatan molekul

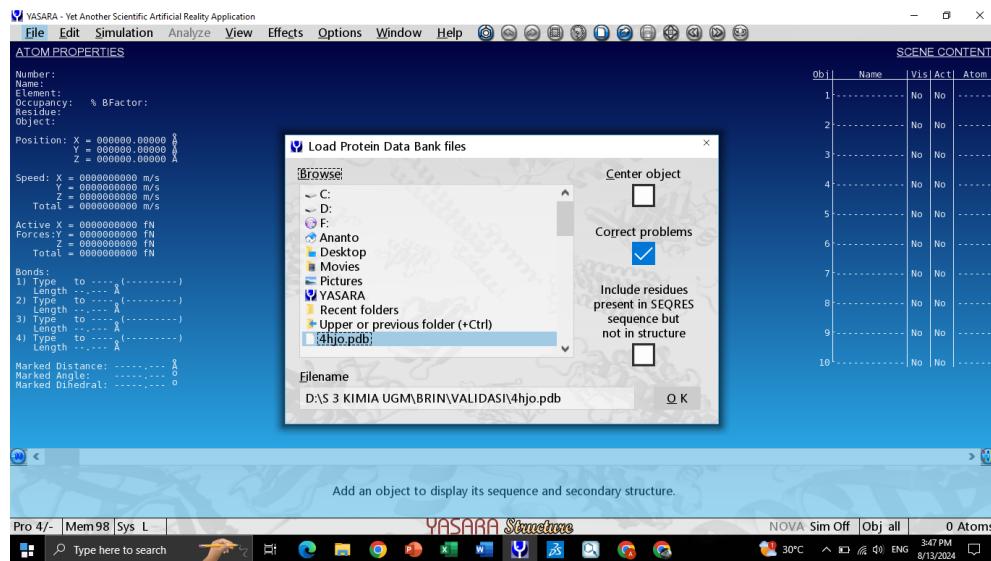
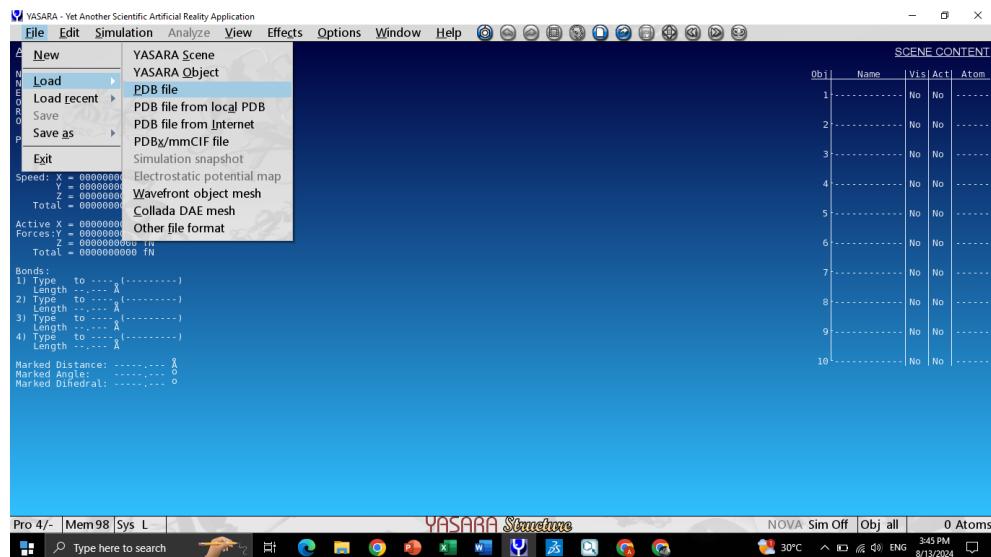
Proses validasi protokol penambatan molekul dilakukan melalui redocking sebanyak 100 kali terhadap ligan asli yang terdapat pada struktur 4HJO.

Tahapan proses validasi adalah sebagai berikut:

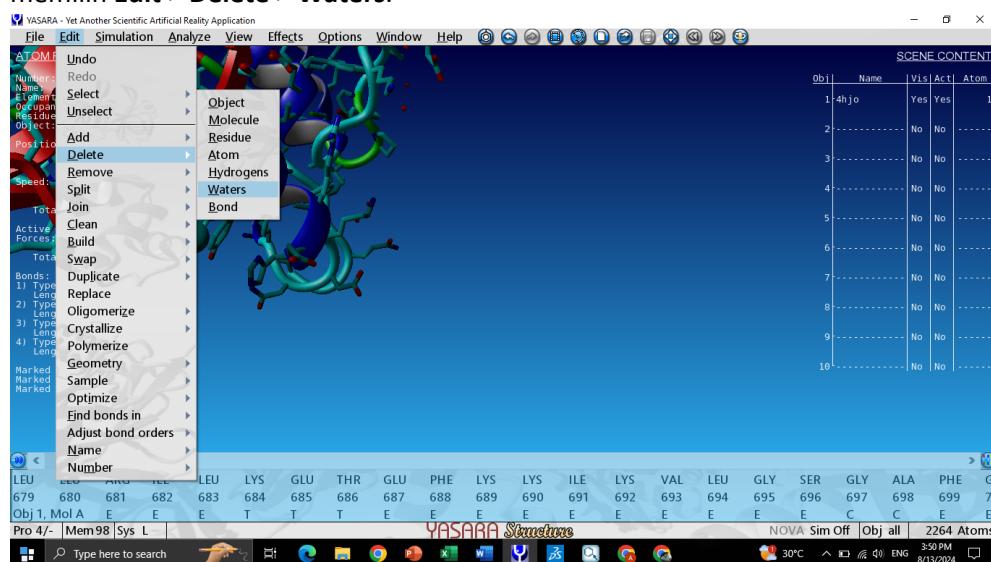
1. Buka aplikasi Yasara-structure



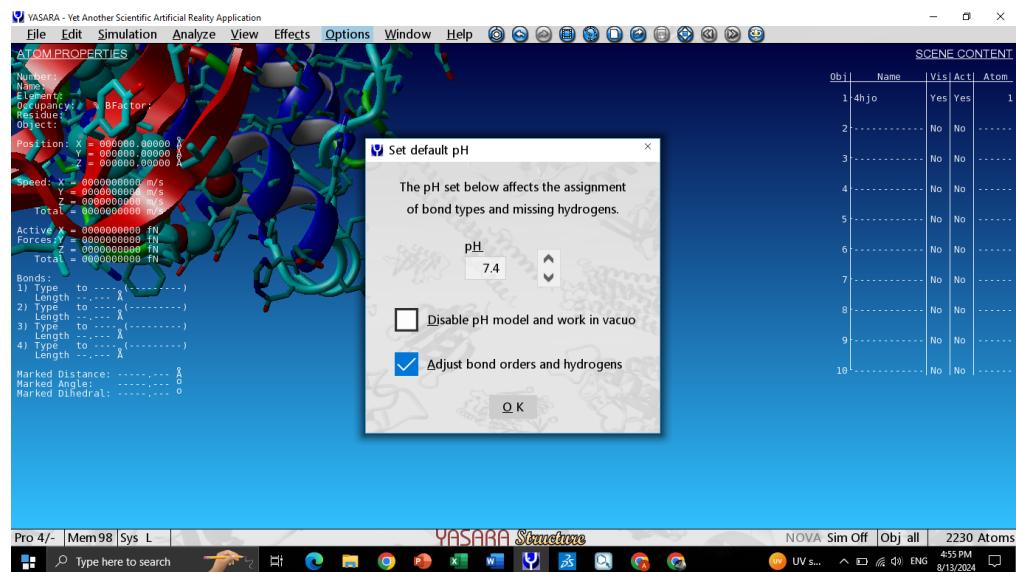
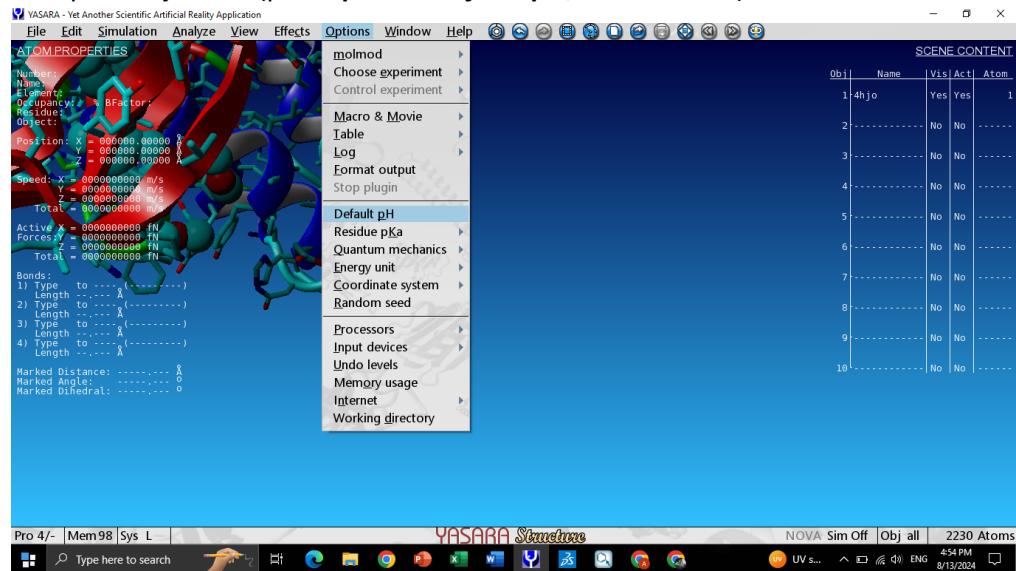
2. Lakukan preparasi makromolekul target dengan memuat file (*load file*) 4hjo.pdb. Pilih **File > Load > PDB File...**, kemudian cari direktori tempat file tersebut disimpan, dan klik **OK**.



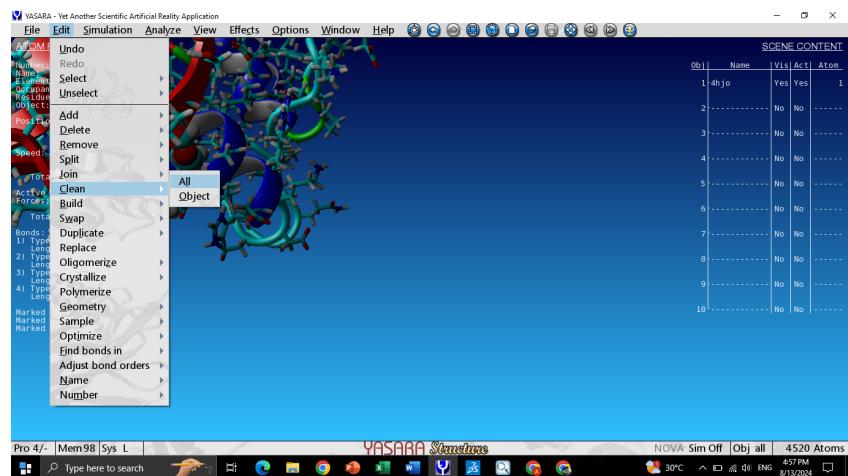
3. Hapus bagian dari sistem yang tidak diperlukan dalam protokol validasi dengan memilih **Edit > Delete > Waters**.



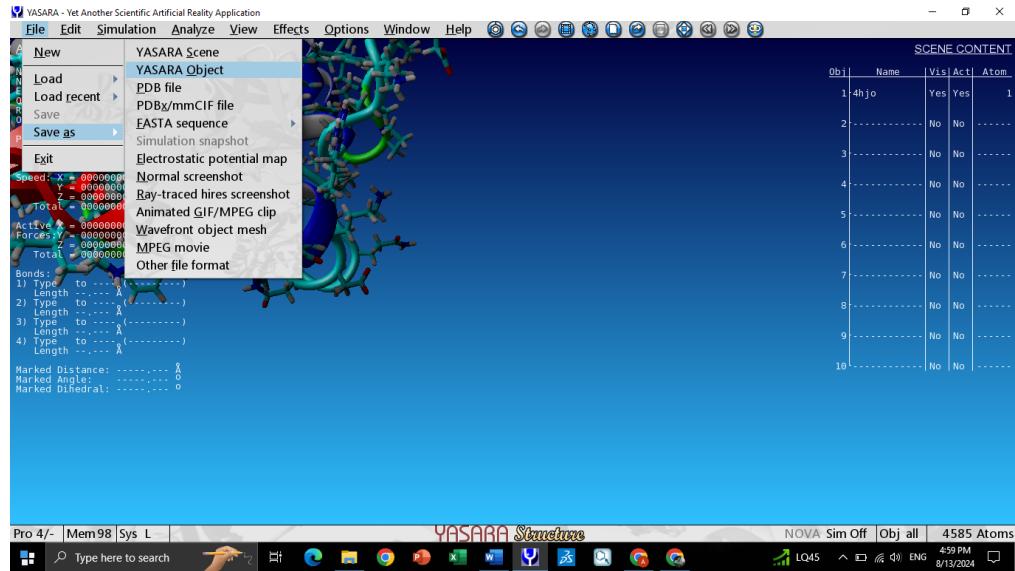
4. Atur pH menjadi 7.4 (pilih **Option > Default pH**, lalu klik "OK").



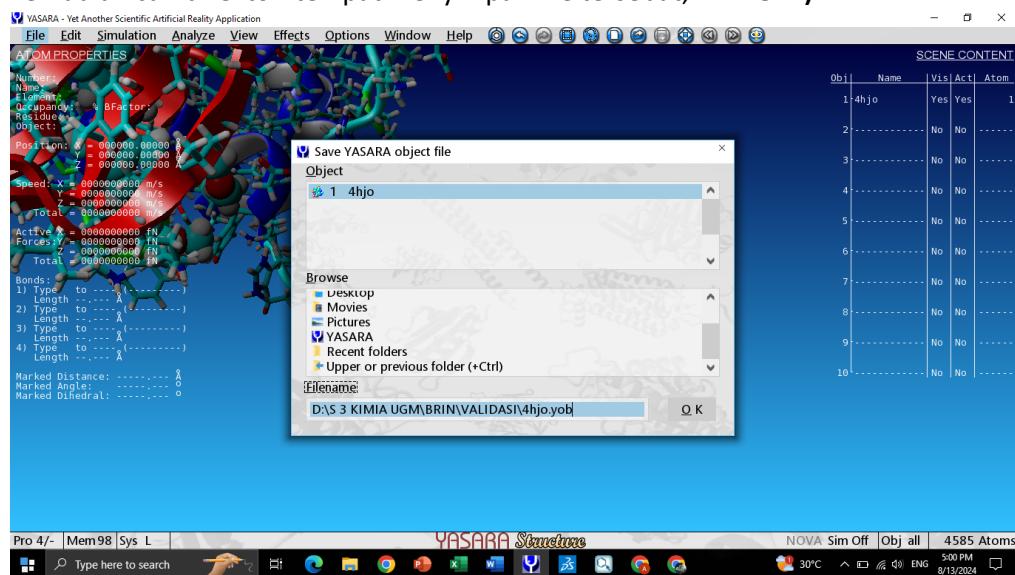
5. Pastikan tidak ada kesalahan dalam sistem (pilih **Edit > Clean > All**).



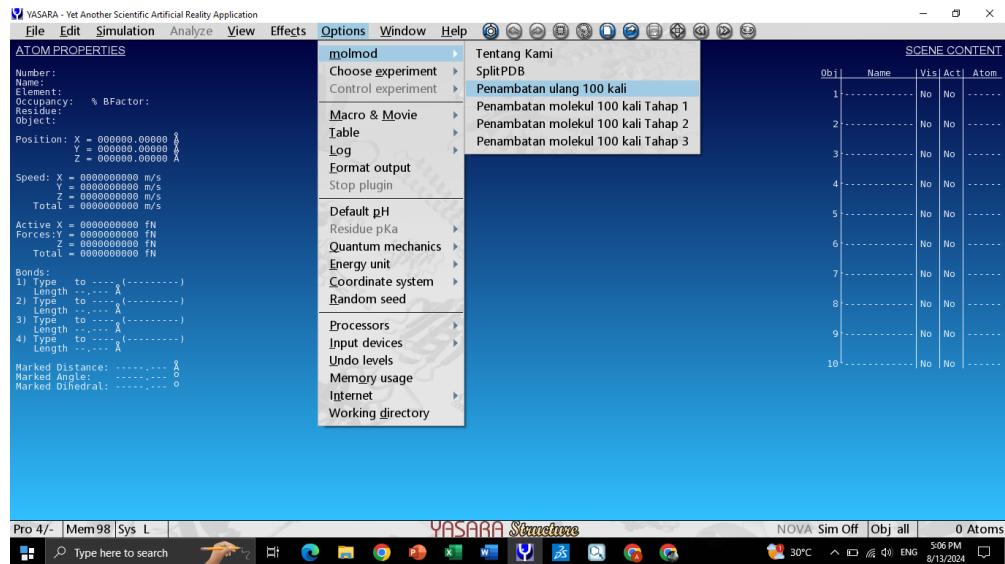
6. Simpan file dalam format .yob (pilih *File > Save as > Yasara Object*).



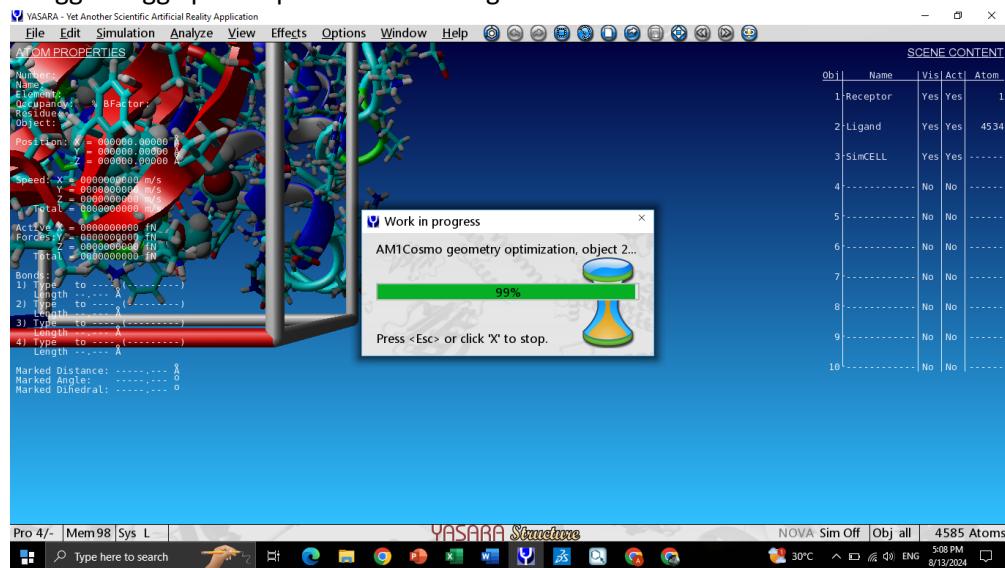
7. File disimpan dengan nama **4hjo.yob** (pada bagian object jangan lupa klik 4hjo, kemudian cari direktori tempat menyimpan file tersebut, klik "OK")



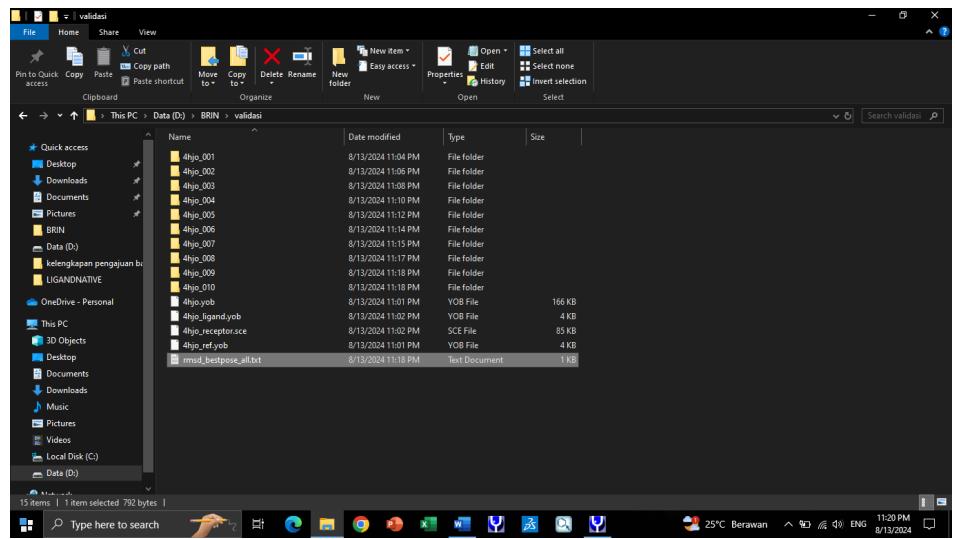
8. Setelah preparasi makro target selesai, gunakan file tambahan (add-on) MolMod pada aplikasi Yasara-Structure untuk melakukan penambatan ulang sebanyak 100 kali (pilih *Option > MolMod > Penambatan ulang 100 kali*).



9. Tunggu hingga proses penambatan ulang 100 kali selesai ...



10. Hasil dari proses penambatan ulang 100 kali berupa nilai RMSD. Nilai RMSD tersebut dapat dilihat pada file atau direktori yang sama (klik dua kali file "rmsd_bestpose_all.txt").



```
rmsd_bestpose_all.txt - Notepad
File Edit Format View Help
Object 1 (4hjo_ref) and Object 2 (dock_001) have 1.5334 A RMSD over 29 matched atoms
Object 1 (4hjo_ref) and Object 2 (dock_001) have 1.6599 A RMSD over 29 matched atoms
Object 1 (4hjo_ref) and Object 2 (dock_001) have 1.5966 A RMSD over 29 matched atoms
Object 1 (4hjo_ref) and Object 2 (dock_001) have 1.5983 A RMSD over 29 matched atoms
Object 1 (4hjo_ref) and Object 2 (dock_001) have 1.5361 A RMSD over 29 matched atoms
Object 1 (4hjo_ref) and Object 2 (dock_001) have 1.7591 A RMSD over 29 matched atoms
Object 1 (4hjo_ref) and Object 2 (dock_001) have 1.5736 A RMSD over 29 matched atoms
Object 1 (4hjo_ref) and Object 2 (dock_001) have 1.6783 A RMSD over 29 matched atoms
Object 1 (4hjo_ref) and Object 2 (dock_001) have 1.6532 A RMSD over 29 matched atoms
Object 1 (4hjo_ref) and Object 2 (dock_001) have 1.5620 A RMSD over 29 matched atoms
```

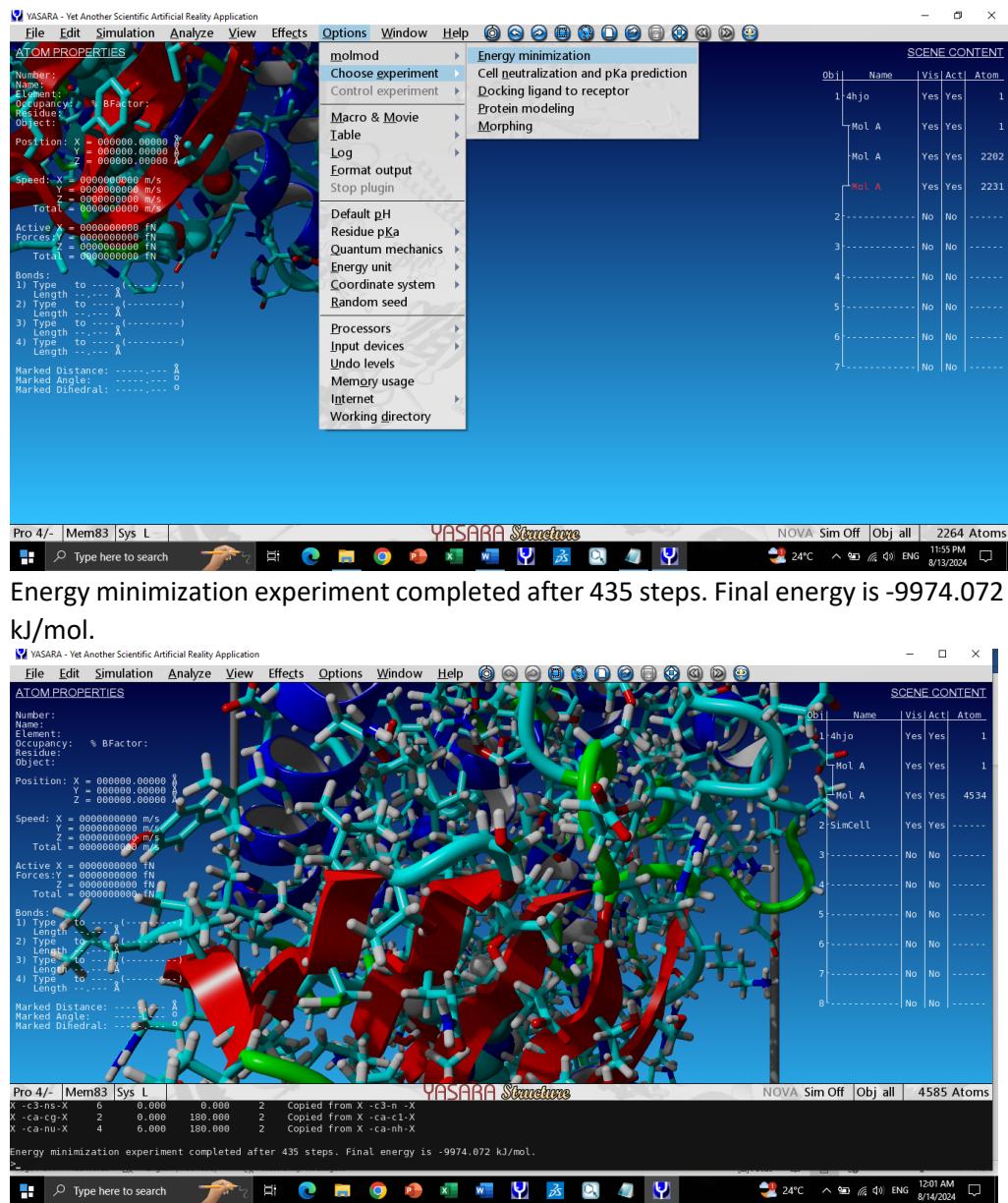
11. Nilai RMSD dari 100 kali proses penambatan ulang berada di bawah 2 Å. Hal ini menunjukkan bahwa protokol docking yang digunakan dapat dianggap valid dan siap digunakan untuk melakukan penambatan molekul pada ligand lainnya.

b. Penambatan molekul

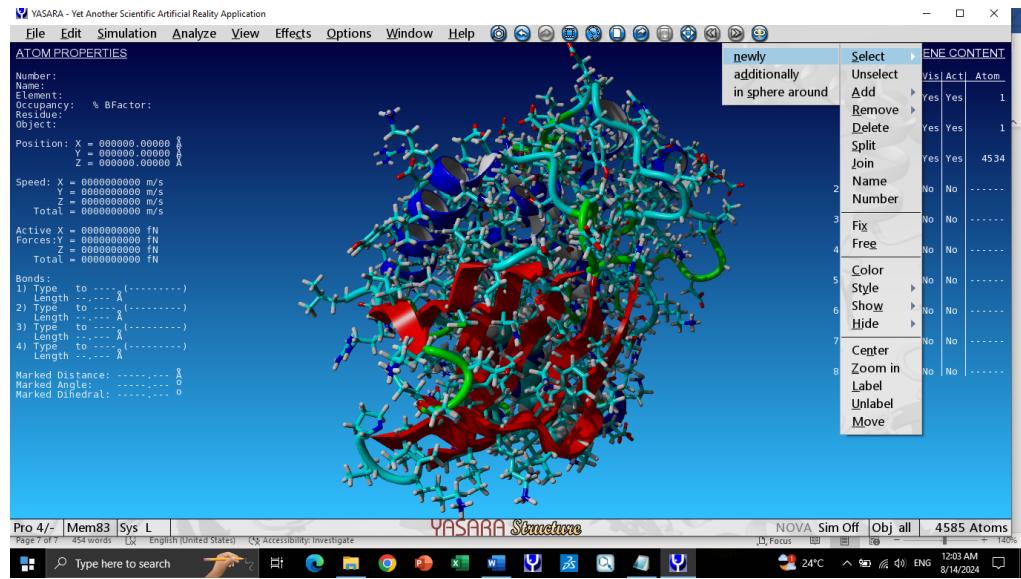
Proses penambatan molekul dimulai dengan mempersiapkan file yang dibutuhkan, seperti **4hjo.pdb** dan perintah makro yang terdapat pada aplikasi Yasara (**dock_run.mcr**).

Penambatan molekul ligan asli

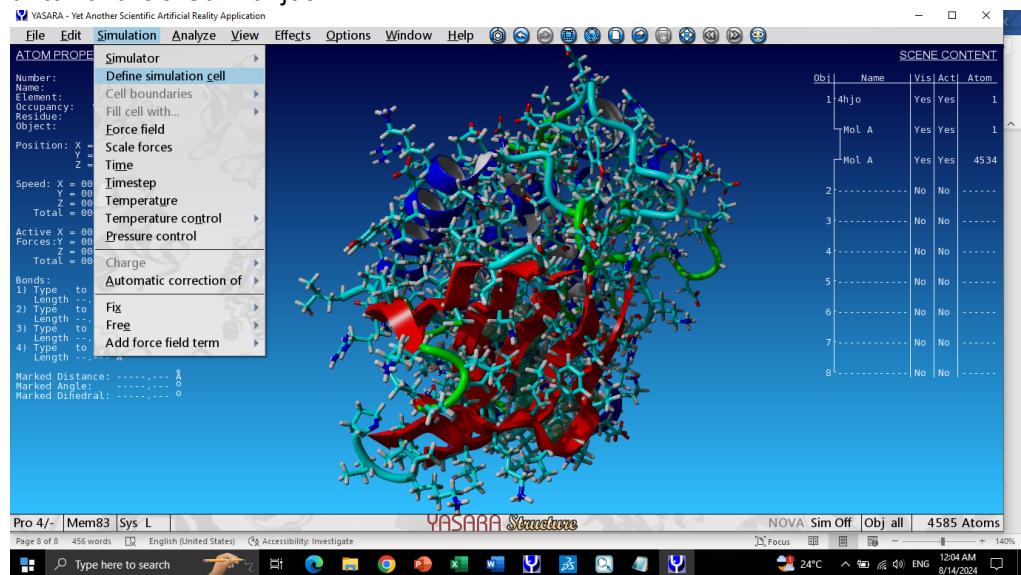
- Buat file atau direktori bernama LN yang berisi **4hjo.pdb**. Lakukan preparasi dengan mengikuti tahapan yang telah dijelaskan pada proses "Validasi Metode/Validasi Protokol Penambatan Molekul" sebelumnya, khususnya tahap 1 hingga 6.
- Setelah file **4hjo.yob** siap, lakukan minimasi energi untuk memastikan struktur berada dalam keadaan paling stabil. Langkah ini dilakukan dengan memuat file **4hjo.yob**, kemudian menjalankan minimasi energi (pilih *Option > Choose experiment > Energy minimization*). Proses ini akan menyesuaikan posisi atom untuk mengurangi energi total sistem, sehingga menghasilkan konformasi yang lebih stabil dan siap untuk digunakan dalam tahap penambatan berikutnya.



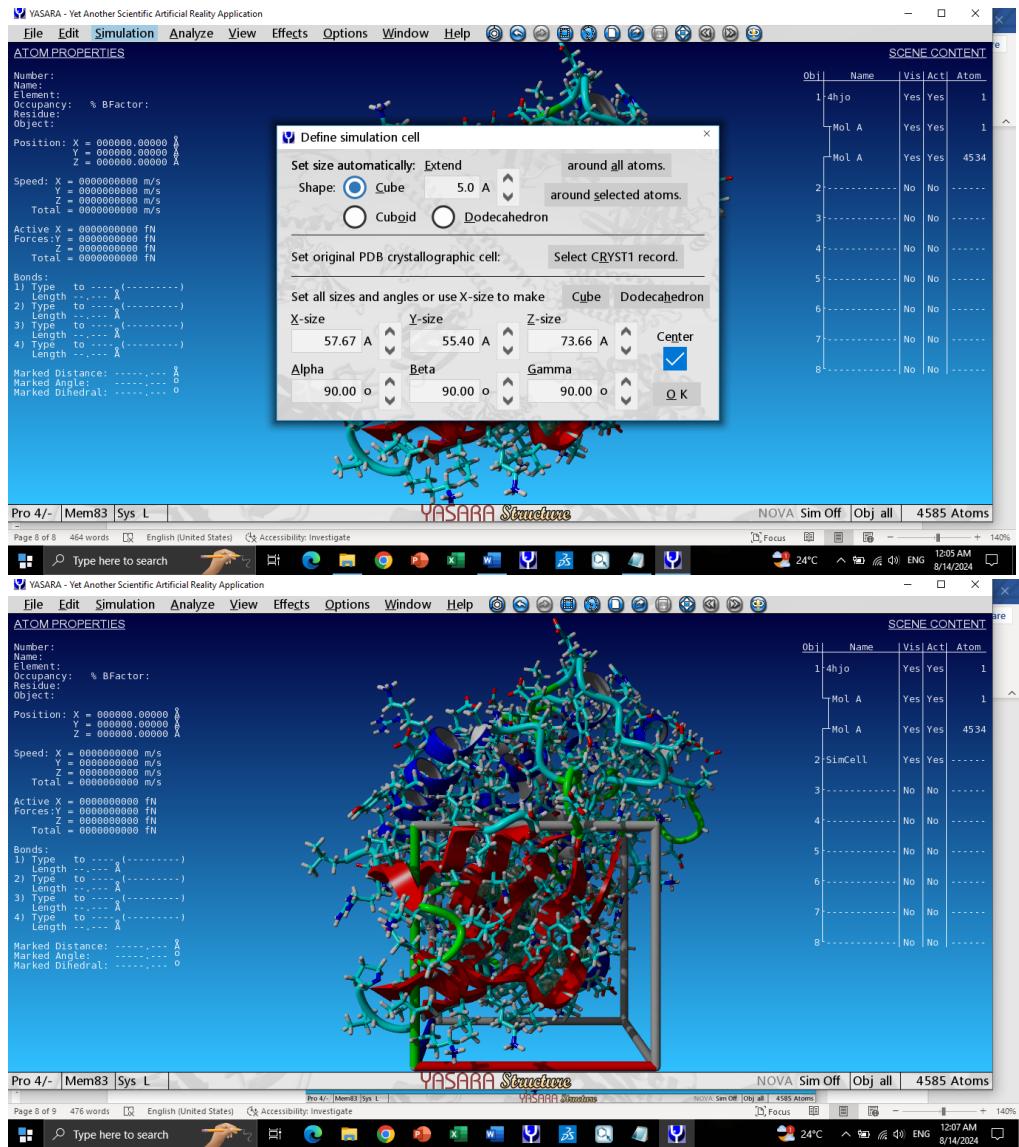
3. Buat kantong ikatan pada reseptor target dengan memilih molekul A kedua dalam daftar. Klik kanan pada molekul tersebut, lalu pilih *Select > Newly* untuk menentukan area yang akan digunakan sebagai kantong ikatan pada reseptor. Langkah ini memastikan bahwa proses penambatan dilakukan pada lokasi yang tepat.



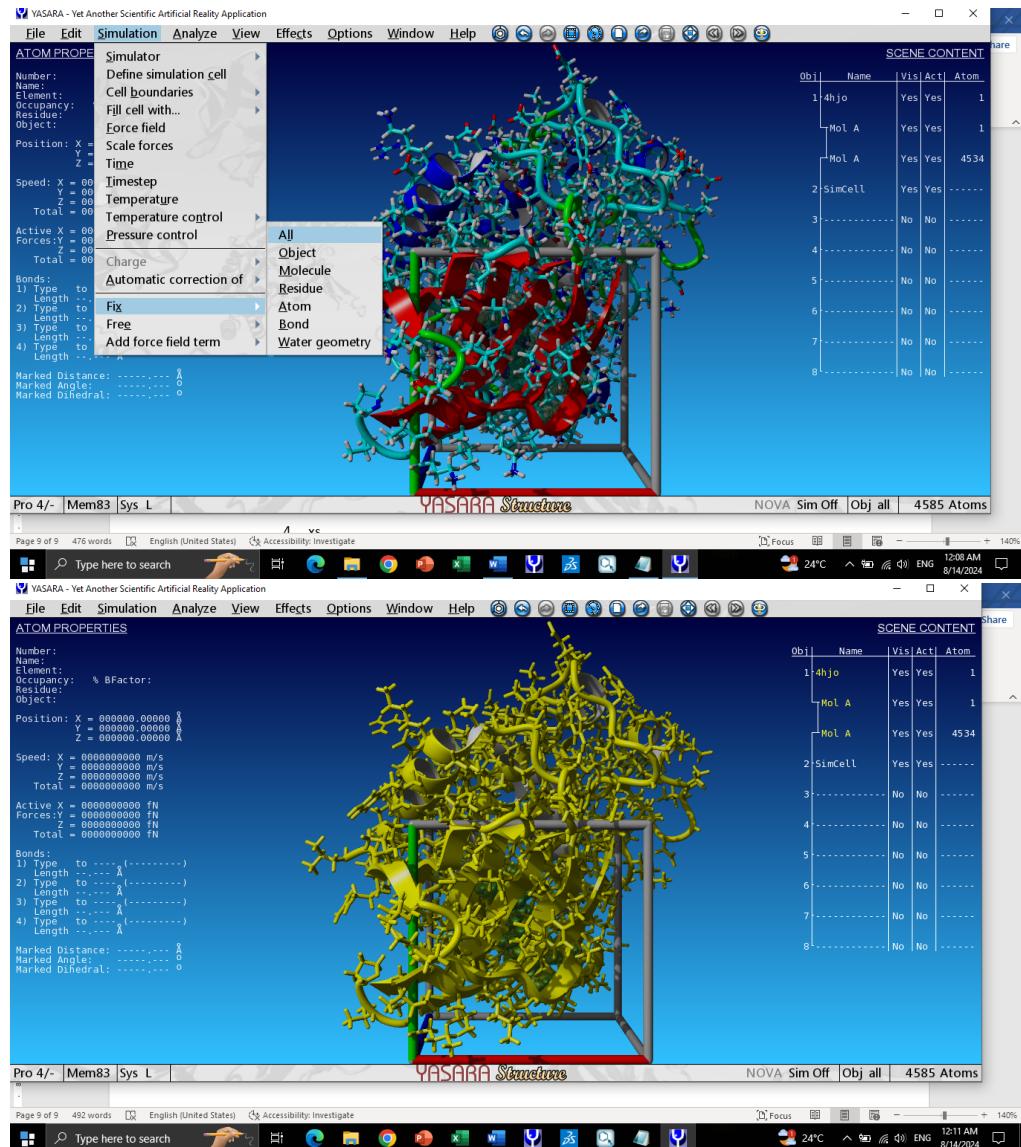
Selanjutnya, klik *Simulation > Define simulation cell* untuk menetapkan sel simulasi yang akan digunakan dalam proses penambatan. Langkah ini menentukan batasan area simulasi, memastikan bahwa molekul berada dalam lingkungan yang sesuai untuk analisis lebih lanjut.



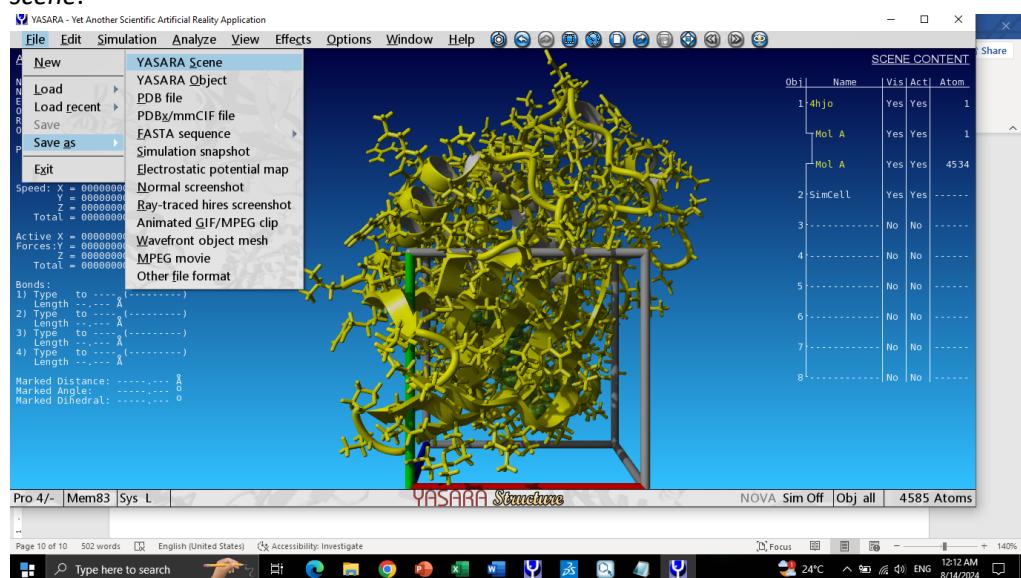
Pilih opsi *Set size automatically* dengan bentuk *cube*, lalu klik *Around selected atoms* untuk memastikan bahwa sel simulasi secara otomatis menyesuaikan ukuran dan bentuknya berdasarkan atom yang telah dipilih sebelumnya. Langkah ini membantu dalam mengoptimalkan area simulasi sehingga sesuai dengan kebutuhan penambatan molekul.



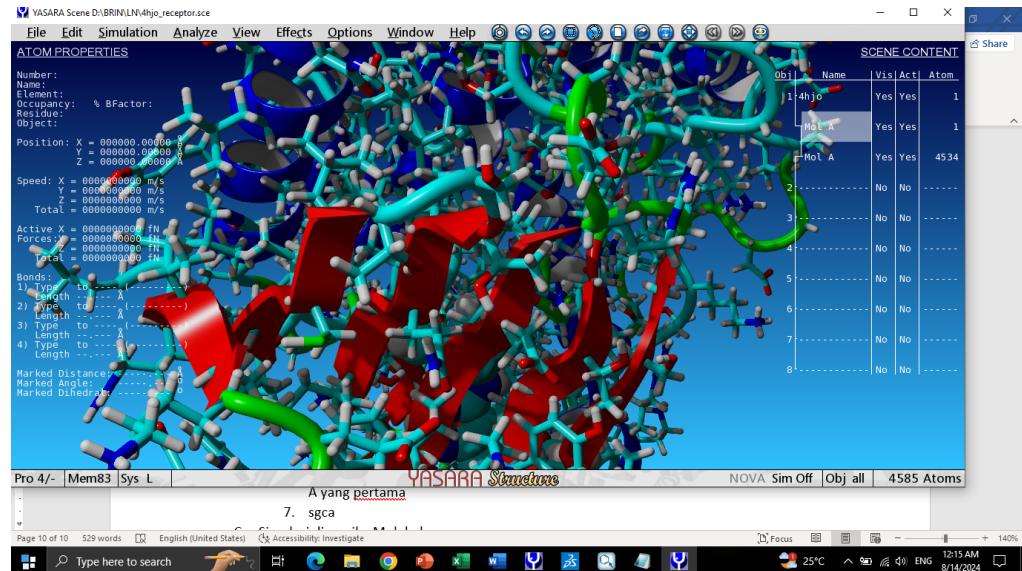
- Agar reseptor tetap dalam posisi yang tidak berubah selama proses docking, pilih opsi **Simulation > Fix > All**. Langkah ini memastikan bahwa seluruh atom dalam reseptor terkunci dan tidak mengalami pergeseran, sehingga penambatan hanya mempengaruhi ligand yang bergerak menuju kantong ikatan.



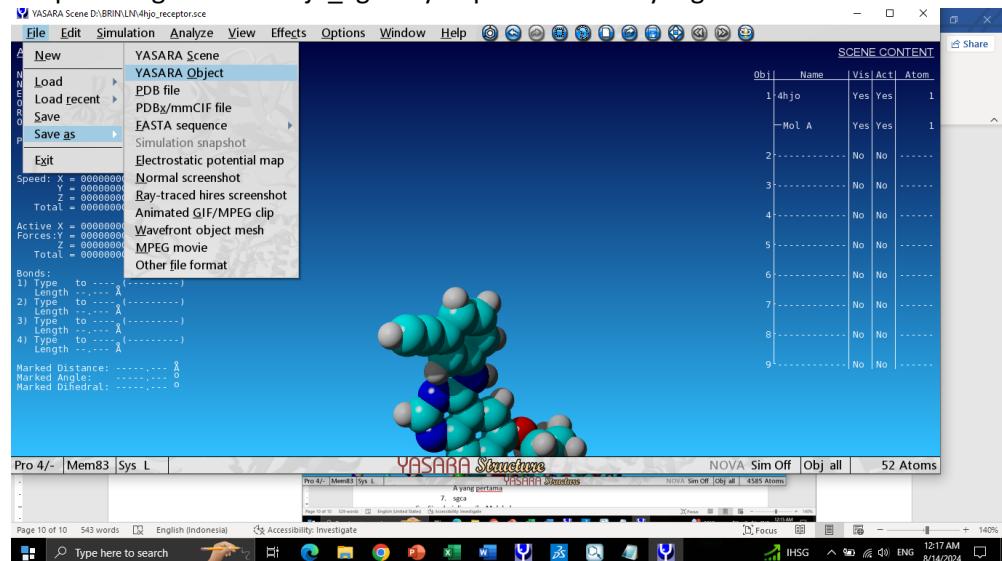
- Simpan reseptor yang sudah dipreparasi dengan nama `4hjo_receptor.sce` di direktori yang telah dibuat sebelumnya. Untuk melakukannya, pilih *File > Save as > Yasara scene*.



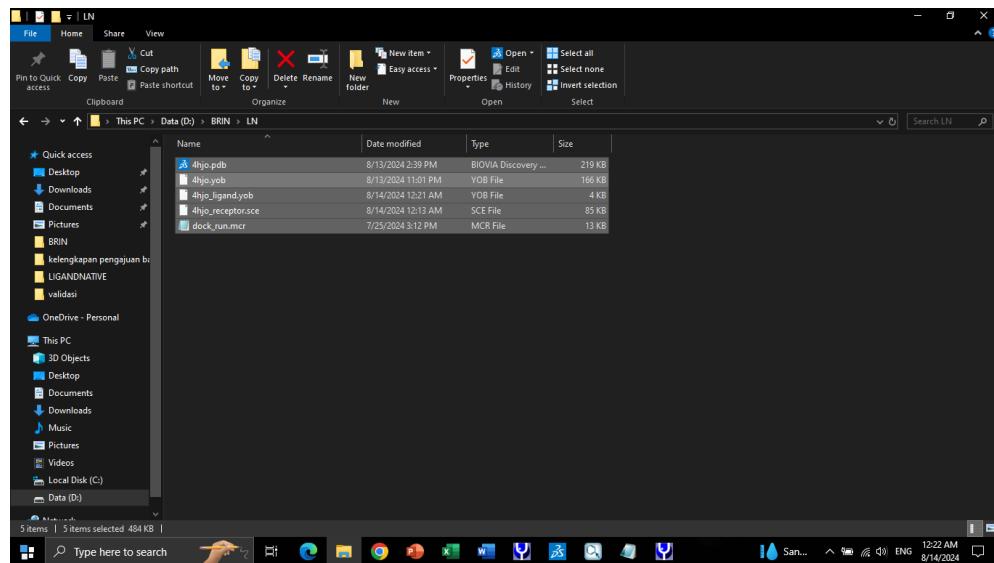
6. Untuk melakukan preparasi ligand, pertama-tama muat file (*load file*) 4hjo.yob. Setelah file terbuka, hapus molekul A yang pertama dengan cara klik kanan pada molekul tersebut dan pilih *Delete*. Langkah ini memastikan bahwa hanya ligand yang diperlukan yang akan digunakan dalam proses docking, sehingga tidak ada interferensi dari molekul lain.



7. Simpan dengan nama 4hjo_ligand.yob pada direktori yang sama

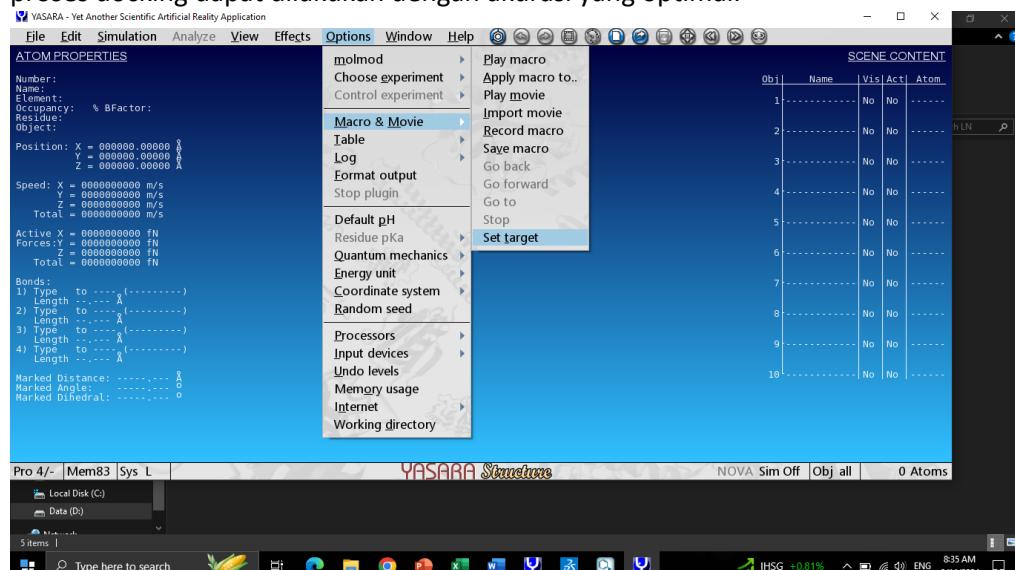


8. Setelah memeriksa kembali direktori LN, file atau direktori ligand asli akan berisi:

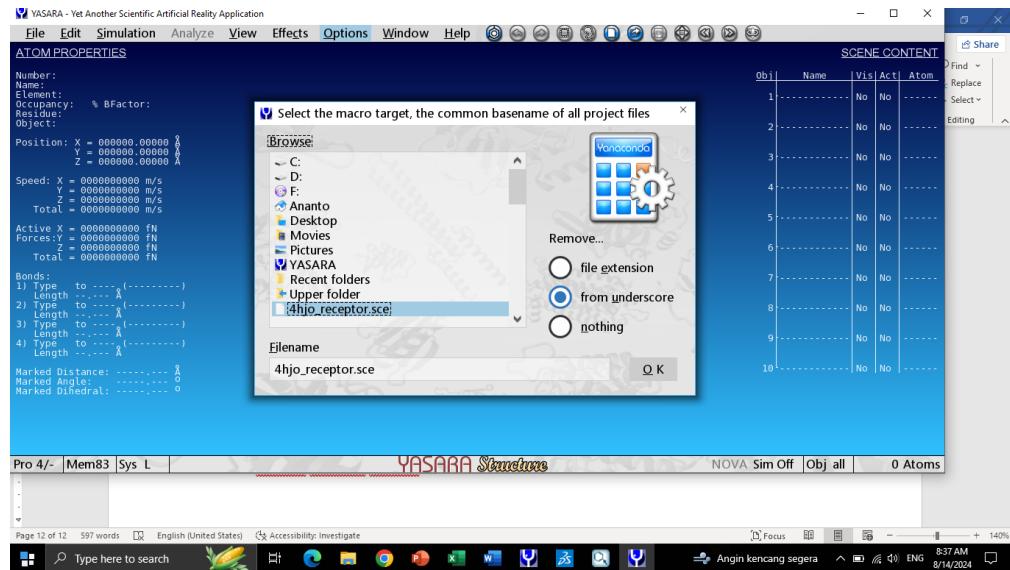


File tambahan dock_run .mcr dicopy dari file mcr bawaan aplikasi yasara.

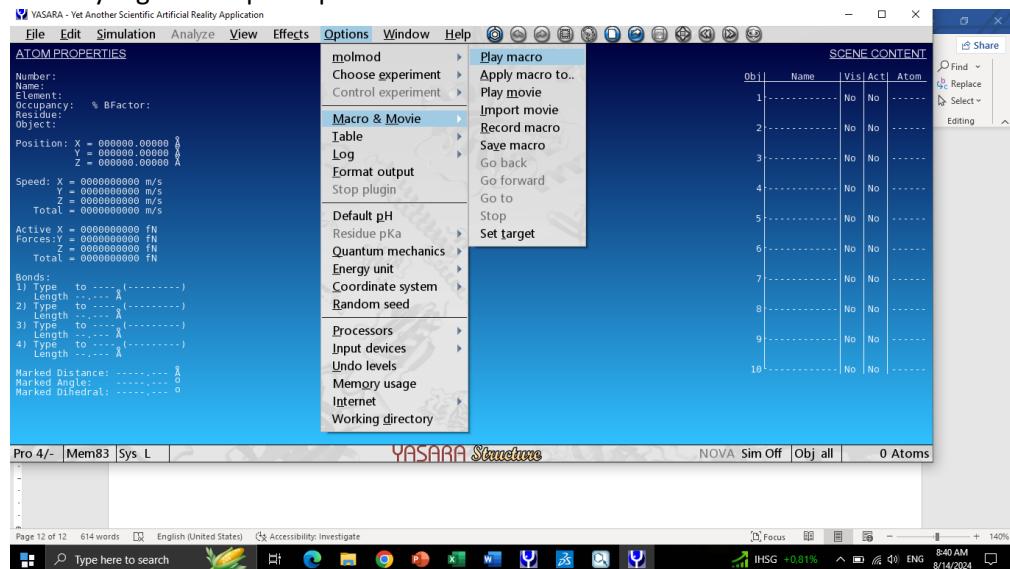
- Untuk memulai proses penambatan molekul, klik *Option > Macro & Movie > Set target*. Langkah ini akan menetapkan target reseptor yang telah dipreparasi, sehingga proses docking dapat dilakukan dengan akurasi yang optimal.



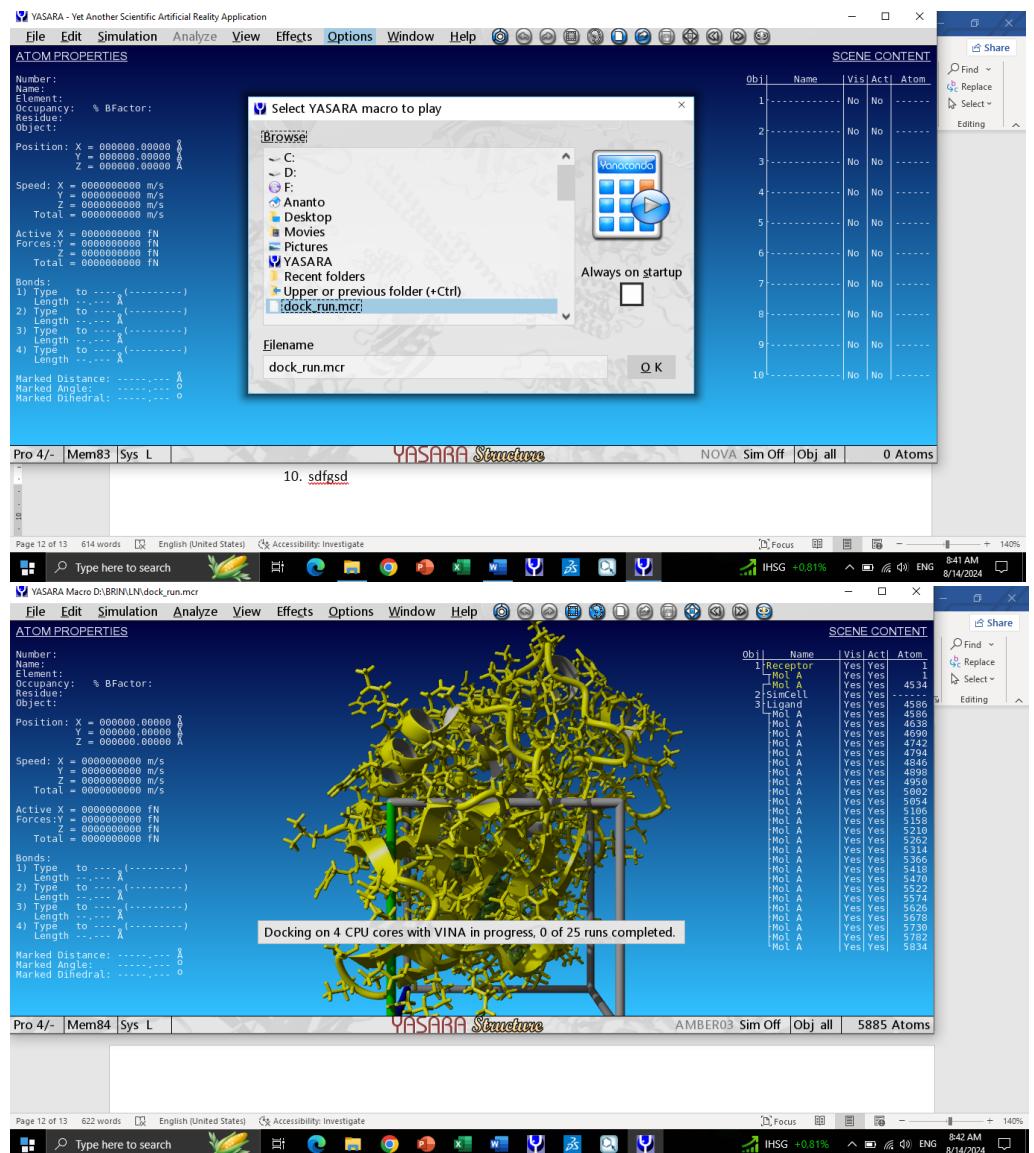
Pilih 4hjo_receptor.sce pada direktori LN > Remove from underscore > OK



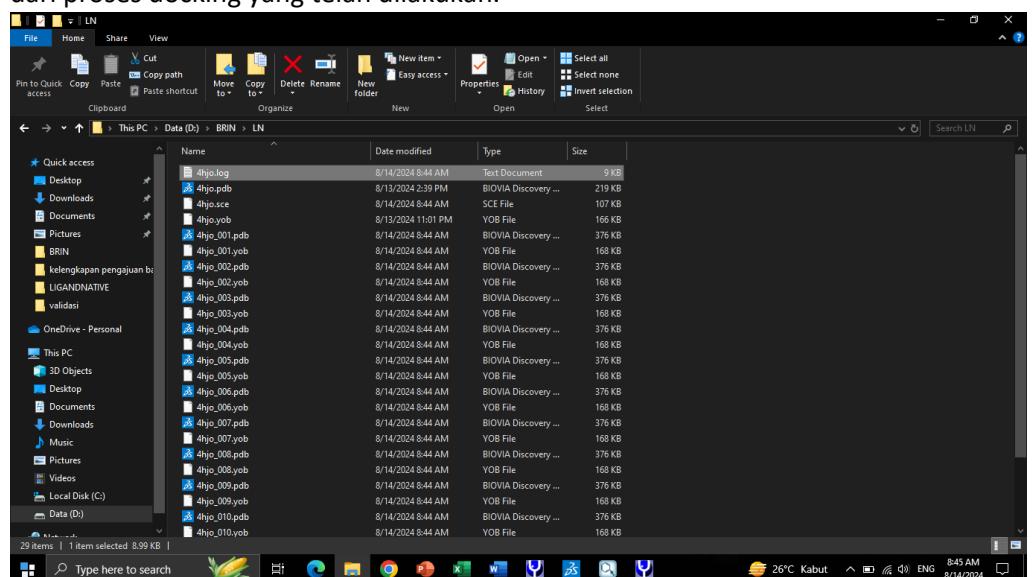
Langkah selanjutnya klik Option > Macro & Movie > Play macro untuk menjalankan makro yang telah dipersiapkan.



Cari direktori LN, kemudian pilih file *dock_run.mcr*, dan klik OK. Proses penambatan molekul akan dimulai. Tunggu hingga proses selesai untuk melanjutkan ke langkah berikutnya.

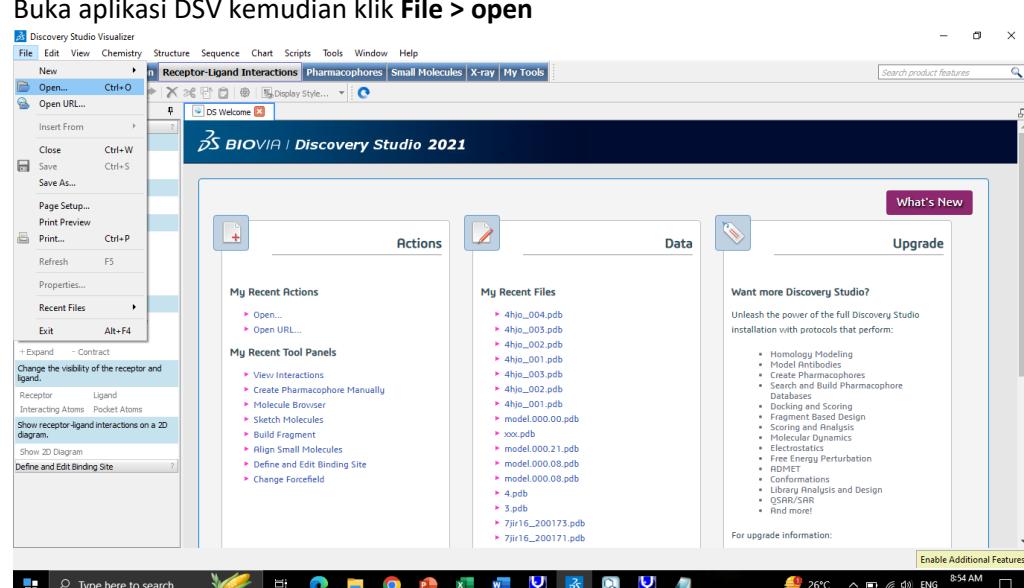


10. Proses docking untuk ligand asli ini dianggap selesai ditandai file dengan ekstensi .log (4hjo.log) yang muncul di direktori LN. File log ini mencatat seluruh aktivitas dan hasil dari proses docking yang telah dilakukan.

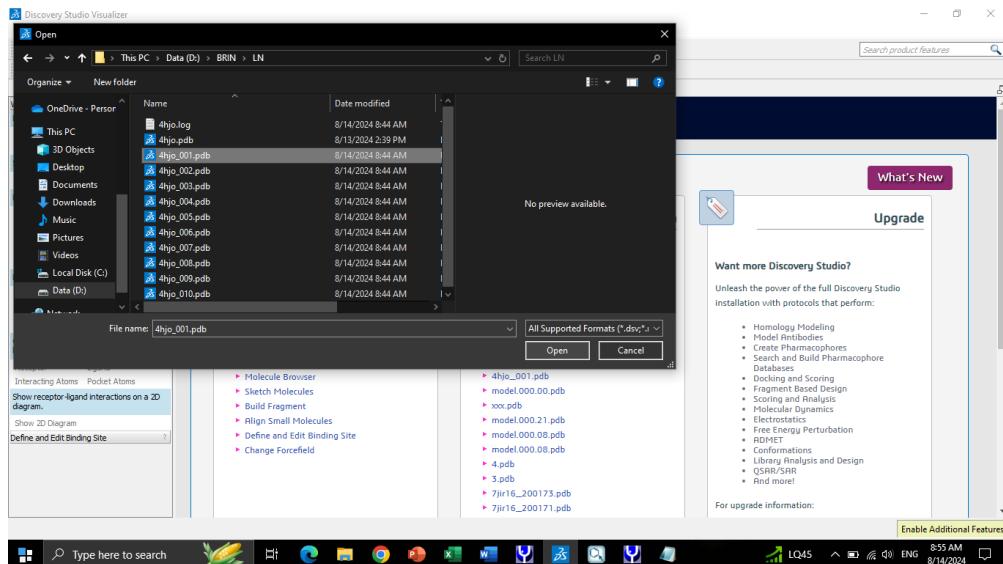


11. Nilai binding energi dari hasil penambatan molekul dapat dilihat dalam file *4hjo.log*. File ini berisi informasi detail tentang energi ikatan yang diperoleh selama proses docking, yang merupakan indikator penting dalam menilai kekuatan interaksi antara ligand dan reseptor.

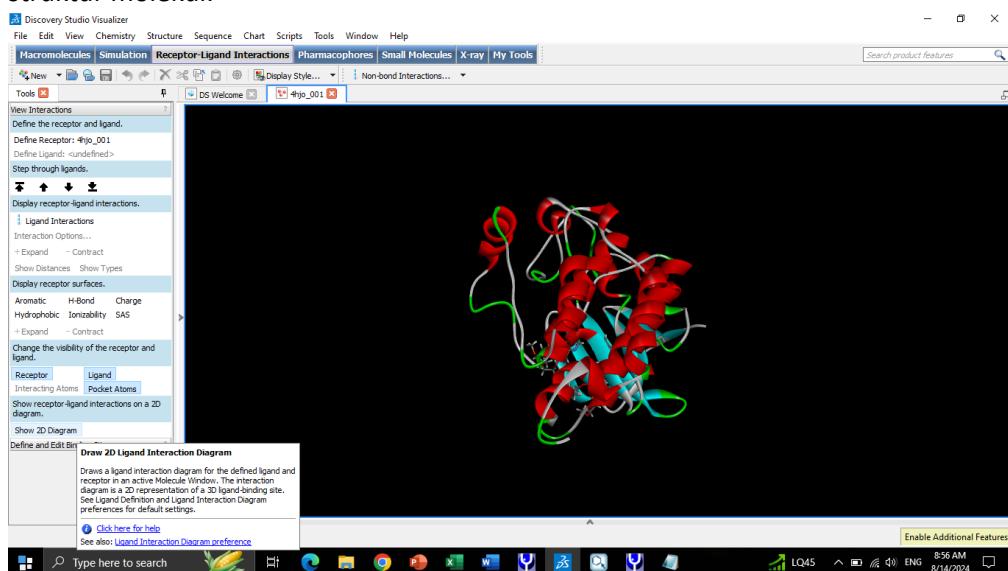
12. Dalam file *4hjo.log* ini juga terdapat informasi tentang cluster-cluster yang telah dibuat. Cluster-cluster ini dapat diperiksa dan divisualisasikan untuk melihat interaksi yang terbentuk setelah proses penambatan molekul selesai. Visualisasi ini membantu dalam menganalisis bagaimana ligand berinteraksi dengan reseptor dalam berbagai konformasi yang dihasilkan selama docking.
 13. Berdasarkan literatur, keberadaan ikatan hidrogen dengan residu asam amino pada situs aktif, seperti **Met768**, menunjukkan bahwa ligand memiliki potensi penghambatan yang baik. Visualisasi interaksi ini dapat dilihat dengan menggunakan software **Discovery Studio Visualizer (DSV)**.

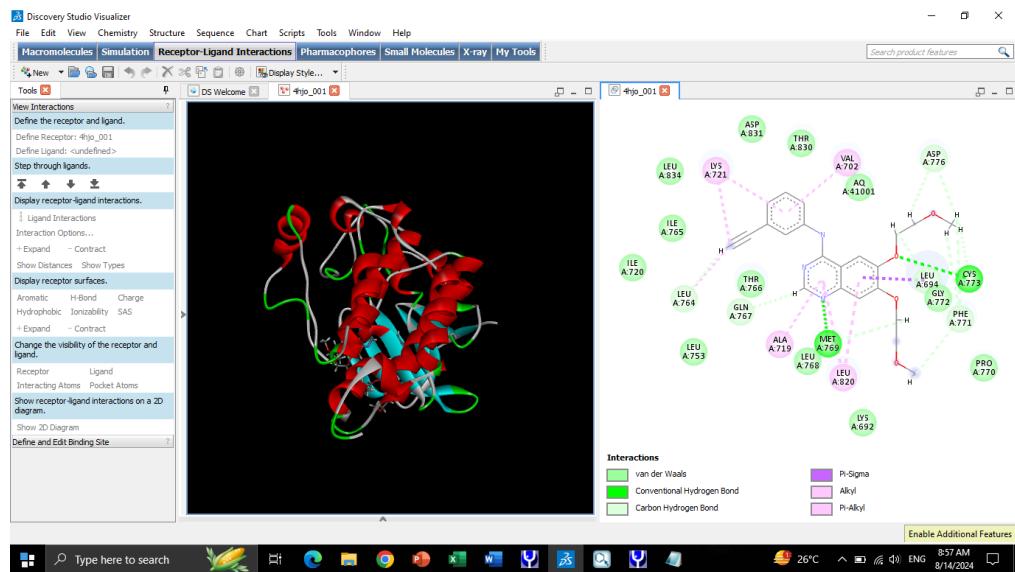


Cari file *4hj0_001.pdb* di direktori LN, kemudian klik *Open* untuk memuat dan menampilkan struktur molekul dalam software DSV. File ini berisi hasil docking yang akan divisualisasikan untuk analisis interaksi ligand dengan reseptor.



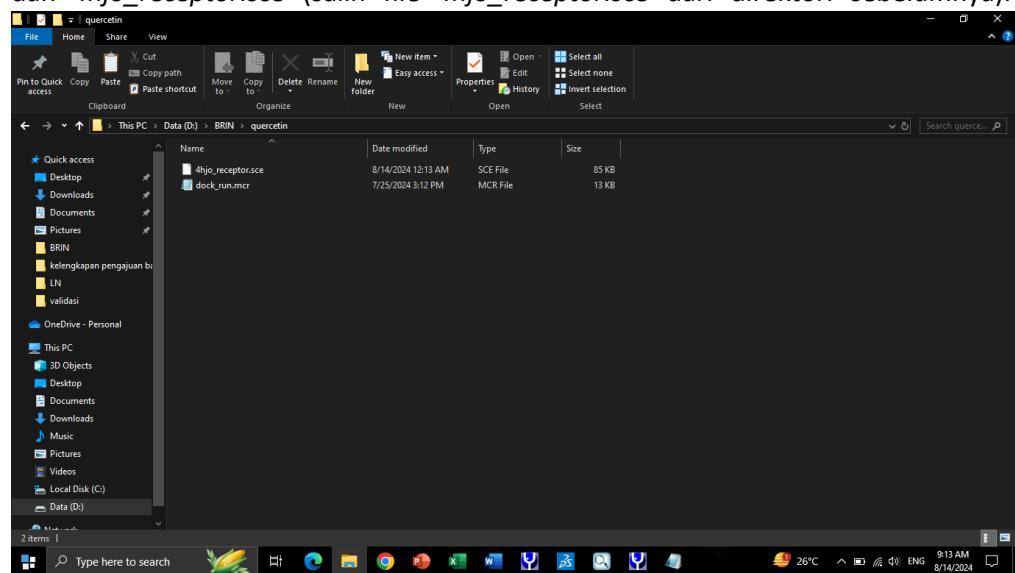
Klik **Show 2D Diagram** yang terletak di bagian kiri bawah software DSV. Langkah ini akan menampilkan diagram 2D yang memperlihatkan interaksi antara ligand dan reseptor, termasuk ikatan hidrogen dan interaksi lainnya yang penting untuk analisis struktur molekul.



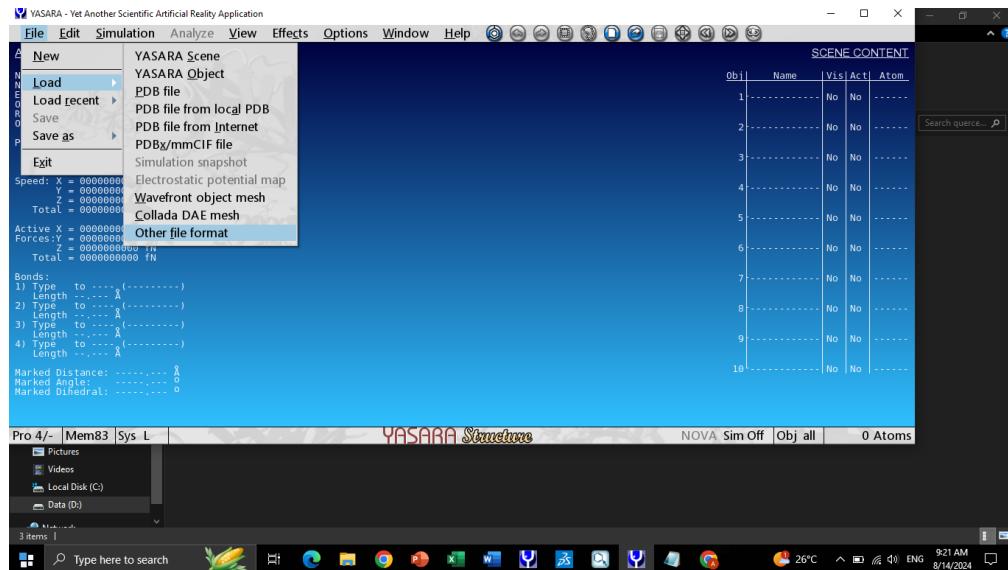


Penambatan molekul untuk senyawa quercetin

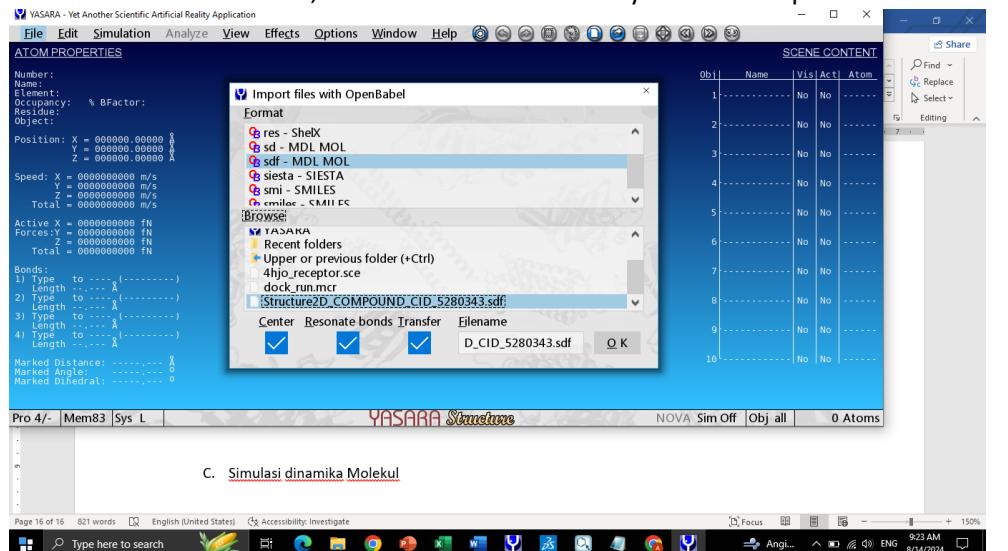
1. Buat folder atau direktori baru dengan nama *quercetin* yang berisi file *dock_run.mcr* dan *4hjo_receptor.sce* (salin file *4hjo_receptor.sce* dari direktori sebelumnya).



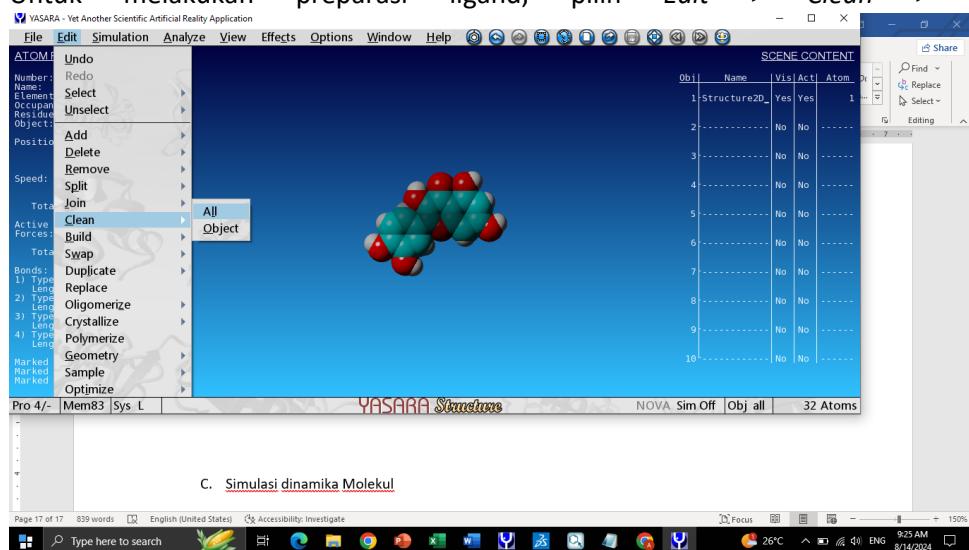
2. File ligand untuk quercetin bisa dibuat dengan menggambar struktur molekulnya secara manual atau dengan mendownloadnya dari website **pubchem** (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280343>). Simpan file yang diunduh dalam format .sdf untuk digunakan dalam proses docking selanjutnya.
3. Buka file quercetin yang telah diunduh pada tahap 2 menggunakan aplikasi Yasara. Pilih *File > Load > Other file format* untuk memuat file dalam format .sdf.



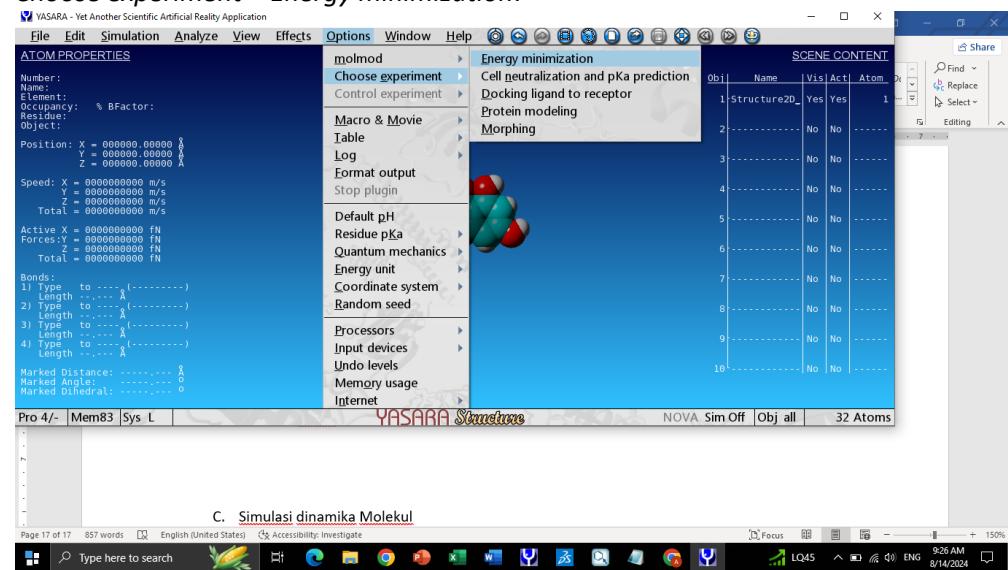
Klik *Format*, pilih opsi *sdf*, lalu cari file hasil unduhan sebelumnya. Setelah menemukan file tersebut, klik "OK" untuk memuatnya ke dalam aplikasi Yasara.



4. Untuk melakukan preparasi ligand, pilih *Edit* > *Clean* > *All*.



5. Selanjutnya, lakukan minimasi energi pada ligand tersebut dengan memilih *Option > Choose experiment > Energy minimization*.

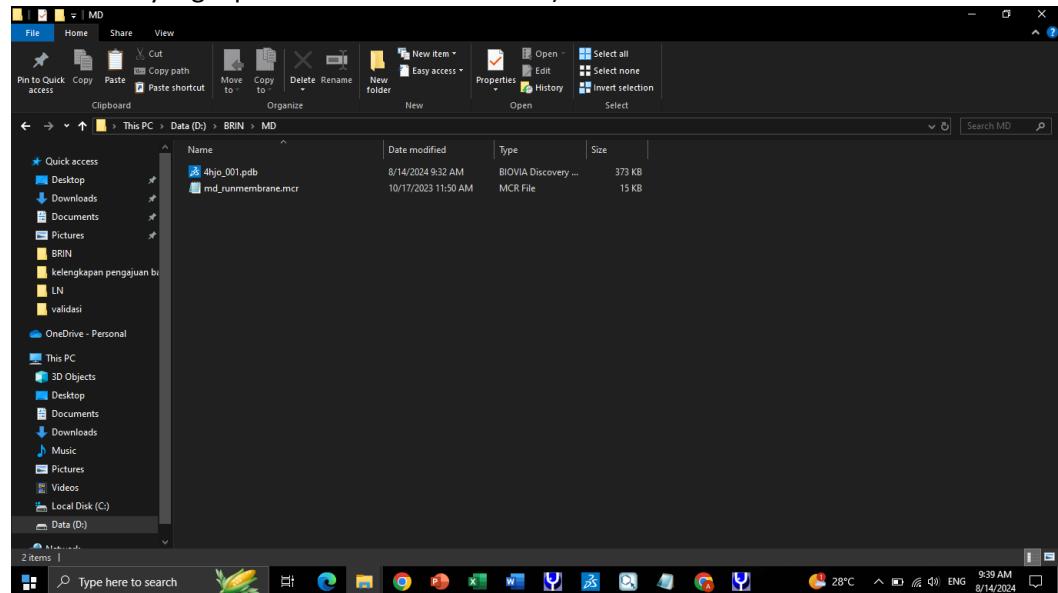


6. Simpan file ligand ke dalam direktori *quercetin* dengan nama *4hjo_ligand.yob*.
7. Proses penambatan molekul untuk ligand quercetin dapat dilakukan dengan mengikuti langkah-langkah 8 hingga 14 dari prosedur penambatan molekul ligand asli. Pastikan untuk menyesuaikan setiap referensi file dengan nama dan lokasi yang sesuai untuk quercetin.

C. Simulasi Dinamika Molekul (Simulasi MD)

Hasil penambatan molekul terbaik dapat dianalisis lebih lanjut untuk menilai kestabilannya melalui simulasi Dinamika Molekul (MD). Berikut ini adalah tahapan yang dapat dilakukan untuk menjalankan simulasi MD:

1. Buat direktori baru dengan nama *MD*. Salin file hasil penambatan molekul terbaik sebelumnya ke dalam direktori ini. Misalnya, jika menganalisis hasil penambatan terbaik dari quercetin, salin file *4hjo_001.pdb* ke dalam direktori *MD*. Selain itu, salin juga file *md_runmembrane.mcr* dan *md_analyze.mcr* dari aplikasi Yasara ke dalam direktori *MD*. (Dalam kegiatan ini, file-file perintah makro yang diperlukan sudah disediakan)



2. Buka file *md_runmembrane.mcr*, kemudian atur suhu menjadi 310 K dengan mengubah parameter menjadi **temperature='310K'**, dan tetapkan durasi simulasi MD selama 20 ns dengan mengatur parameter **duration='20000'**. Setelah melakukan perubahan ini, simpan file tersebut.

```

md_runmembrane.mcr - Notepad
File Edit Format View Help
# The ion concentration as a mass fraction, here we use 0.9% NaCl (physiological solution)
ions="Na,Cl,0.9"

# Forcefield to use (this is a YASARA command, so no '=' used)
ForceField AMBER14

# Simulation temperature, which also serves as the random number seed (see Temp command).
# If you increase the temperature significantly by XX, you also need to reduce the timestep by XX
# by changing the "tslist" that matches your speed below.
temperature="310K"

# Pressure at which the simulation should be run [bar].
pressure=1

# Cutoff
cutoff=8

# Equilibration period in picoseconds:
# During this initial equilibration phase, the membrane is artificially stabilized
# so that it can repack and cover the solute, while solvent molecules are kept outside.
equiperiod=250

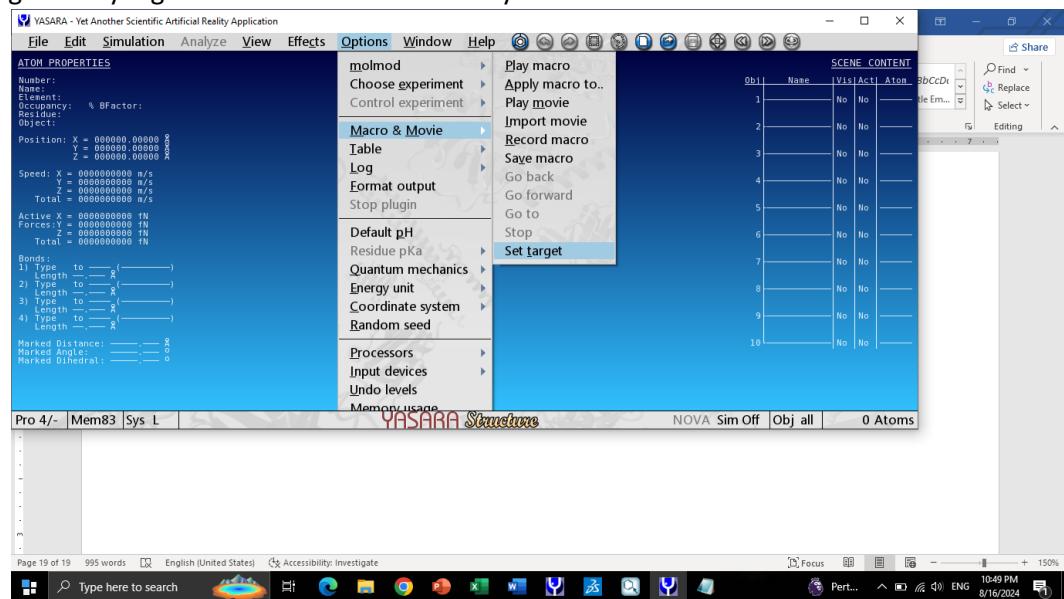
# Delay for animations, 1=maximum speed
delay=100

# The format used to save the trajectories: YASARA 'sim', GROMACS 'xtc' or AMBER 'mdcrd'.
# If you don't pick 'sim', a single *.sim restart file will be saved too, since the other
# two formats don't contain velocities, only positions.
format="sim"

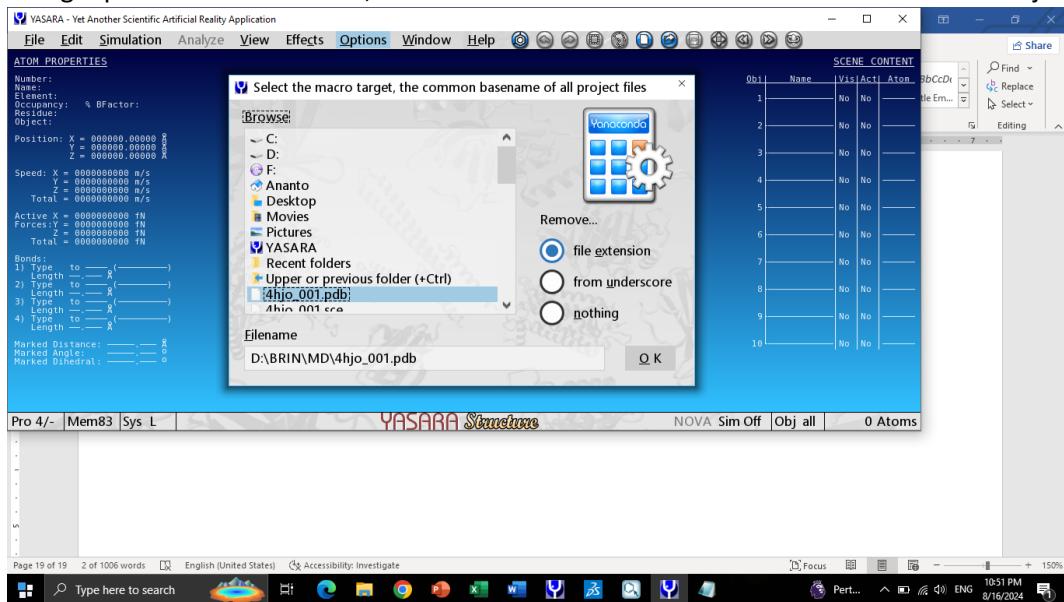
# Duration of the complete simulation, must be longer than equiperiod above.
# Alternatively use e.g. duration=5000 to simulate for 5000 picoseconds
# if !count duration simply checks if variable 'duration' as been defined previously (e.g. by an including macro)
if !count duration
duration="10000"

```

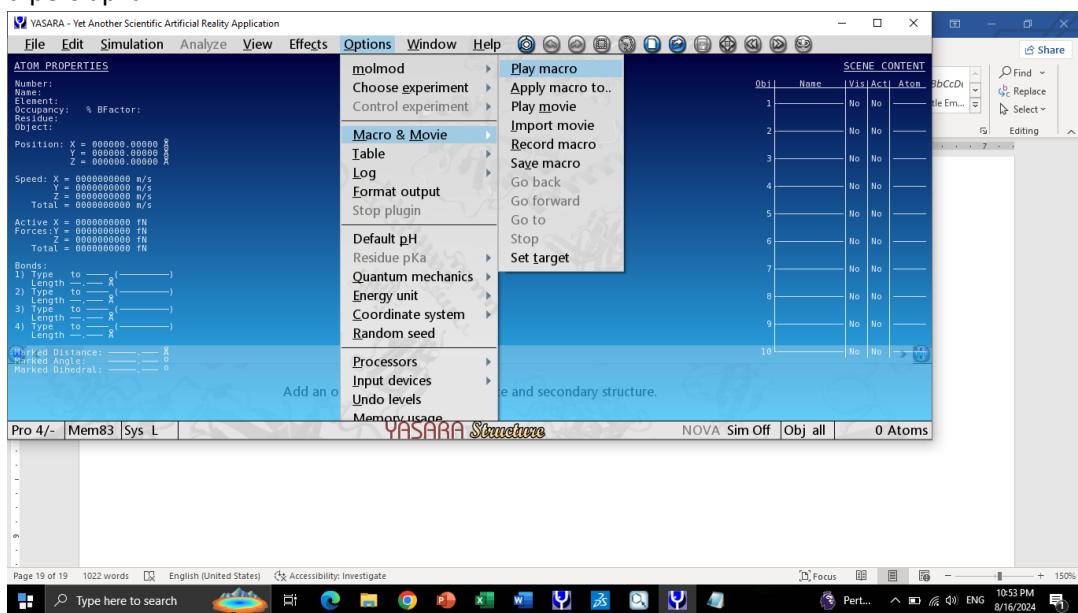
3. Selanjutnya, buka aplikasi Yasara. Untuk memulai tahap awal simulasi MD, klik *Option > Macro & Movie > Set Target*. Langkah ini akan menetapkan target untuk simulasi berdasarkan pengaturan yang telah disesuaikan sebelumnya.



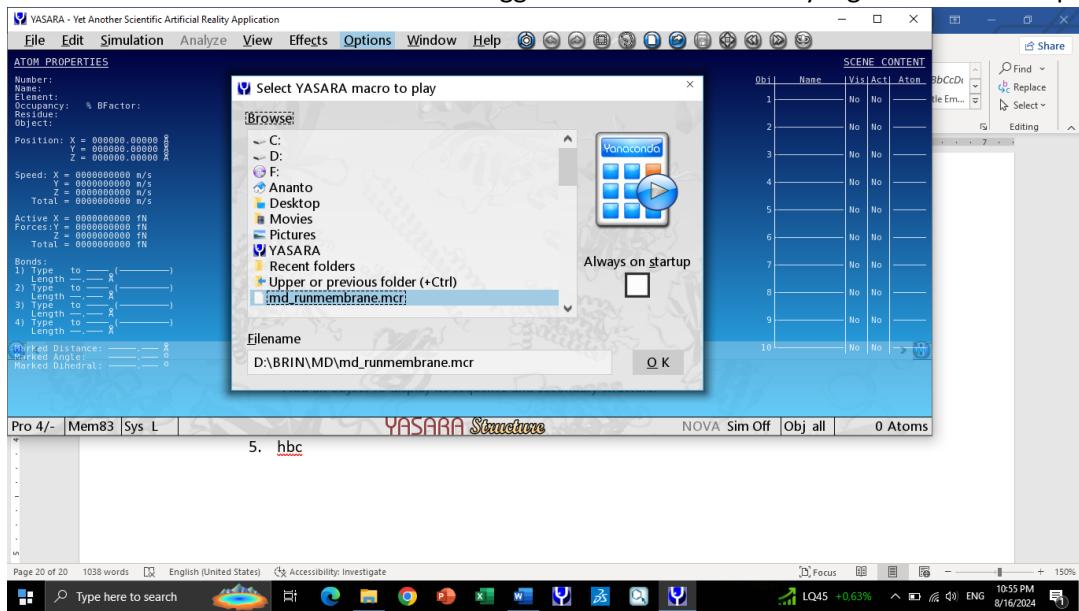
4. Cari direktori *MD*, lalu pilih file *4hjo_001.pdb*. Selanjutnya, pilih opsi *Remove* untuk menghapus ekstensi file, dan kemudian klik "OK" untuk melanjutkan.



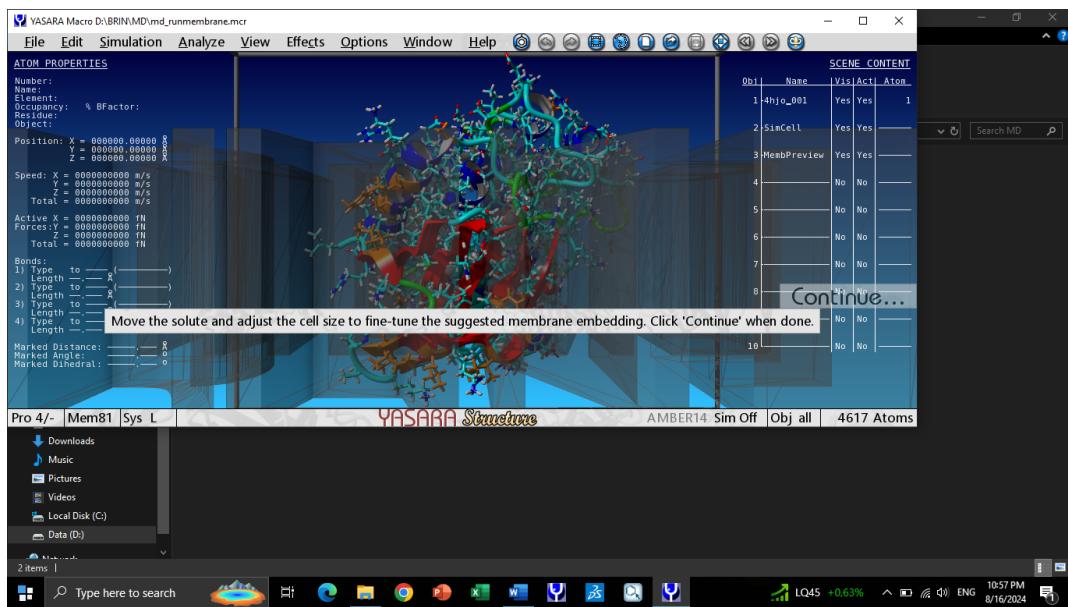
5. Selanjutnya, klik *Option > Macro & Movie > Play Macro* untuk menjalankan makro yang telah dipersiapkan.



6. Cari direktori *MD simulation*, kemudian pilih file *md_runmembrane.mcr*. Setelah itu, klik "OK" untuk memulai simulasi menggunakan makro yang telah dipilih.



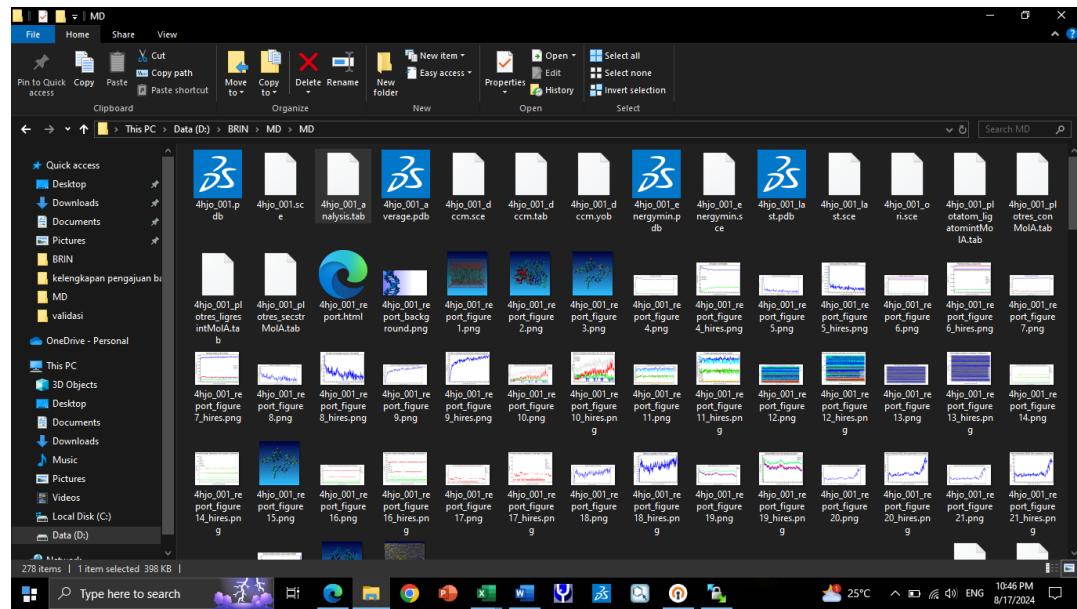
7. Proses simulasi MD akan segera dimulai setelah meneklik *Continue* pada layar bagian kanan bawah.



Setelah proses MD selesai, analisis hasil MD dapat dilakukan dengan langkah-langkah berikut:

1. Klik *File > New > Yes* untuk membuka halaman baru.
2. Setelah halaman baru muncul, mulai analisis hasil MD dengan memilih *Option > Macro & Movie > Set Target*. Pilih target yang sama seperti yang digunakan saat pengaturan target MD pada langkah sebelumnya.
3. Jalankan perintah makro untuk analisis dengan memilih *Option > Macro & Movie > Play Macro*. Kemudian pilih file *md_analyze.mcr*.
4. Tunggu hingga proses analisis selesai.

Setelah proses analyze selesai maka diperoleh beberapa file sebagai berikut:



Untuk melihat keseluruhan hasil analisis tersebut, buka file dengan nama *4hjo_001_report.html*. File ini akan menampilkan ringkasan dari hasil simulasi dan analisis yang telah dilakukan, termasuk grafik dan data penting yang dihasilkan selama proses simulasi

