



**SIMULASI DINAMIKA MOLEKULER ENZIM KROMAT REDUKTASE  
BAKTERI TANAH SERPENTIN KALIMANTAN SELATAN UNTUK  
EFEKTIVITAS BIOREMEDIASI KROMIUM HEKSAVALEN ( $\text{Cr}6^+$ )**

**SKRIPSI**

**untuk memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan  
Program Sarjana Strata-1 Biologi**

**Oleh :**

**ANDIFA ANUGERAH PUTRA**

**NIM. 1911013210004**

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT  
BANJARBARU**

**2023**



**SIMULASI DINAMIKA MOLEKULER ENZIM KROMAT REDUKTASE  
BAKTERI TANAH SERPENTIN KALIMANTAN SELATAN UNTUK  
EFEKTIVITAS BIOREMEDIASI KROMIUM HEKSAVALEN ( $\text{Cr}^{6+}$ )**

**SKRIPSI**

**untuk memenuhi persyaratan dalam menyelesaikan  
Program Sarjana Strata-1 Biologi**

**Oleh :**

**ANDIFA ANUGERAH PUTRA**

**NIM. 1911013210004**

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT  
BANJARBARU**

**2023**

**LEMBAR PENGESAHAN  
SKRIPSI**

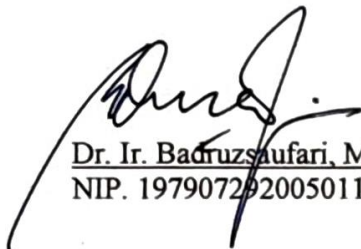
**SIMULASI DINAMIKA MOLEKULER ENZIM KROMAT REDUKTASE  
BAKTERI TANAH SERPENTIN KALIMANTAN SELATAN UNTUK  
EFEKTIVITAS BIOREMEDIASI KROMIUM HEKSAVALEN (Cr6+)**

Oleh:  
Andifa Anugerah Putra  
NIM. 1911013210004

Telah dipertahankan di depan Dosen Penguji pada tanggal: 4 September 2023

Susunan Dosen Penguji:

Pembimbing 1

  
Dr. Ir. Badruzsaufari, M.Sc.  
NIP. 197907292005011003


Dosen Penguji:

1. Dr. Dindin H. Mursyidin, S.Si., M.Si.

  
(.....)

2. Rani Sasmita, S.Si., M.P.

Pembimbing 2

  
Noer Komari, S. Si., M.Kes  
NIP. 196710101995021001

  
(.....)



Banjarbaru, 4 September 2023  
Program Studi Biologi FMIPA ULM  
Koordinator

  
Eyi Mintowati K., M.Si  
NIP. 196901012002122001

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar sarjana dalam suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan Saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam Daftar Pustaka.

Banjarbaru, 4 September 2023



Andifa Anugerah Putra  
NIM. 1911013210004

## ABSTRAK

### **SIMULASI DINAMIKA MOLEKULER ENZIM KROMAT REDUKTASE BAKTERI TANAH SERPENTIN KALIMANTAN SELATAN UNTUK EFEKTIVITAS BIOREMEDIASI KROMIUM HEKSAVALEN (Cr<sup>6+</sup>)**

**(Oleh: Andifa Anugerah Putra; Pembimbing: Badruzsauhari, Noer Komari; 2023; 227 halaman)**

Kromium heksavalen [Cr(VI)] adalah logam berat beracun yang menjadi polutan lingkungan. Lahan serpentin bekas tambang di Provinsi Kalimantan Selatan mengandung kromium (Cr) dengan konsentrasi 700 hingga 2645 mg/kg<sup>-1</sup>, dari ±7 mg/kg<sup>-1</sup> pada lahan tambang batu bara, hingga ±24 mg/kg<sup>-1</sup> pada lahan tambang kromat berada dalam bentuk Cr(VI) dengan rata-rata konsentrasi 0.73% – 1.35%. Hal ini melebihi baku mutu lingkungan kandungan Cr(VI) yaitu 0.1 mg/kg<sup>-1</sup>. Peningkatkan efektivitas bioremediasi Cr(VI) dianalisis melalui interaksi ligan flavin mononukleotida (FMN) yang berikatan dengan enzim kromat reduktase bakteri M2Cr10 (*Acinetobacter radioresistens*) atau M54Cr10 (*Bacillus tropicus*). Gen dari enzim kromat reduktase diisolasi pada metode PCR menggunakan primer spesifik Chr-76-848 berdasarkan pustaka *chrR* dari *Bacillus thuringensis*. Motif enzim termasuk kedalam famili *oxygen-insensitive NADPH nitroreductase* dengan kualitas struktur plot Ramachandran 93% region favoured. Docking FMN dengan enzim M2Cr10 atau M54Cr10 ditunjukkan energi ikatan terkecil berturut-turut -7.4 dan -7.0 Kcal/mol, ditemukan bahwa Tyr131 mempunyai pengaruh terbesar terhadap energi ikatan enzim kromat reduktase dalam mereduksi Cr(VI). Simulasi dinamika molekuler dengan *running 10 nanosecond* (ns) dibuktikan bahwa M2Cr10 memiliki struktur lebih stabil, dibandingkan dengan M54Cr10 yang lebih fleksibel. Penelitian ini dapat menjadi dasar perancangan enzim sebagai upaya pemecahan masalah lingkungan yang terkontaminasi Cr(VI).

Kata kunci: Bioremediasi, Dinamika Molekuler, Kromat Reduktase, Kromium Heksavalen, *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

## ABSTRACT

### MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION OF BACTERIA CHROMATE REDUCTION ENZYMES IN SOUTH KALIMANTAN'S SERPENTINE SOIL: ENHANCING HEXAVALENT CHROMIUM (Cr<sup>6+</sup>) BIOREMEDIATION EFFECTIVENESS

(By: Andifa Anugerah Putra; Supervisors: Badruzsaufari, Noer Komari; Year; 2023; 227 pages)

Hexavalent chromium [Cr(VI)] is a toxic heavy metal which becoming an environmental pollutant. Serpentine lands in South Kalimantan Province contain chromium (Cr) concentrations of 700 to 2645 mg/kg<sup>-1</sup>, compared to 7 mg/kg<sup>-1</sup> in coal mining lands and 24 mg/kg<sup>-1</sup> in chromate mining lands, predominantly as Cr(VI) with average concentrations of 0.73% - 1.35%. This exceeds the environmental quality standard for Cr(VI) (0.1 mg/kg<sup>-1</sup>). Enhancing the effectiveness of Cr(VI) bioremediation involves utilizing ligand flavin mononucleotide (FMN) bound to chromate reductase enzymes M2Cr10 (*Acinetobacter radioresistens*) or M54Cr10 (*Bacillus tropicus*). Genes of chromate reductase enzymes were isolated using PCR with specific primer Chr-76-848 based on reference chrR from *Bacillus thuringensis*. The enzyme motifs belong to oxygen-insensitive NADPH nitroreductase family with Ramachandran plot structure quality 93% in the favored region. Docking of FMN with M2Cr10 or M54Cr10 revealed the lowest binding energies -7.4 and -7.0 kcal/mol respectively, indicating Tyr131 has the greatest influence on energy binding in reducing Cr(VI). Molecular dynamics simulations running for 10 nanoseconds (ns) demonstrated that M2Cr10 has more stable structure compared to M54Cr10 which more flexible. This research provide a foundation for enzyme design aimed at mitigating environmental concerns associated with Cr(VI) contamination.

Keywords: Bioremediation, Chromate Reductase, Hexavalent Chromium, Molecular Dynamics, Polymerase Chain Reaction (PCR)

## PRAKATA

*Bismillahirrahmanirrahiim.* Puji syukur kepada Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah berupa skripsi yang berjudul “SIMULASI DINAMIKA MOLEKULER ENZIM KROMAT REDUKTASE BAKTERI TANAH SERPENTIN KALIMANTAN SELATAN UNTUK EFEKTIVITAS BIOREMEDIASI KROMIUM HEKSAVALEN ( $Cr6^+$ )”. Adapun karya tulis ilmiah berikut dapat selesai dengan tidak terlepas dari dukungan, bantuan, dan semangat dari berbagai pihak, sehingga pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Aulia Saputra, Dini Pusparini, M.Pd dan Padli, MM selaku keluarga yang senantiasa memberikan dukungan moral dan materil.
2. Dosen pembimbing Bapak Dr. Ir. Badruzsaufari, M.Sc, dan Bapak Noer Komari, S. Si., M.Kes atas arahan, koreksi, serta bantuan untuk penulisan skripsi.
3. Dosen penguji, Bapak Dr. Dindin H. Mursyidin, M.Si., dan Ibu Rani Sasmita, S.Si., M.P. atas saran dan masukan dalam penulisan skripsi.
4. Teknisi laboratorium Biologi Molekuler Albert Oriya Indra Gampung, S.Si telah membantu dalam hal pembekalan ilmu, administrasi, dan praktikum.
5. Tim molekuler Ridho Hairil Herdin Prasetyo, Madyan Akmal Hidayat, Muhammad Rasyid Azkia, Rinta Dwi Takarini, Nisriana Najla Huwaida, Nazrin Wahidi, Ahmad Fikri, Muhammad Ramadhan Alghifari, Muhammad Noor, Aulia Asri, dan Rizka Nur'ain yang selalui mendorong motivasi, dan kebersamaan dalam menggapai kelulusan.
6. Anggota dari perkumpulan lebah ganteng Azmi Al-ghifari, Irwanto, Muhammad Anggoro Triaji, Muhammad Azhar, Muhammad Faiza Rahman, Iqbal Amanullah Putra Gazali, Muhammad Rizal, Syahrizal Reza Fadhillah Pohan, dan Yhoe Alfianda dengan semangat juang mereka yang tinggi untuk meraih keberhasilan.
7. Rekan-rekan seperjuangan Biologi angkatan 2019 “Aquila” telah menjadi teman satu perjuangan selama 4 tahun perkuliahan di kampus.

8. Kaka tingkat Biologi angkatan 2018 “Phoenix” yang telah memberikan nasihat untuk menghadapi perkuliahan, Adek tingkat Biologi angkatan 2020 “Biothic”, Biologi angkatan 2021 “Amoebio”, dan Biologi angkatan 2022 “Bioacynonyx” yang telah memberi support yang tak pernah terlupakan.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Terlepas dari segala keterbatasan dalam penulisan, penulis berpandangan ke depan agar karya tulis ilmiah berikut dapat bermanfaat bagi penulis dan berkontribusi dalam kemajuan teknologi biologi di masa yang akan datang.

Banjarbaru, 4 September 2023

Penulis

Andifa Anugerah Putra  
NIM. 1911013210004



## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	i
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	ii
<b>PERNYATAAN</b> .....	iii
<b>ABSTRAK</b> .....	iv
<b>PRAKATA</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	x
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xi
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	xiii
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	5
2.1 Sumber Daya Alam Industri dan Lingkungan Hidup.....	5
2.2 Bahaya Kromium dan Aplikasinya di Bidang Industri .....	6
2.3 Mekanisme Reduksi Kromium Heksavalen oleh Bakteri .....	9
2.4 Bakteri Pereduksi Kromium dan Jenis-Jenis Kromat Reduktase.....	11
2.5 Flavin Mononucleotide .....	14
2.6 Analisis Bioinformatika .....	16
2.7 Penambatan Molekul ( <i>Molecular Docking</i> ).....	18
2.8 Dinamika Molekuler .....	20
2.8.1 Gromacs .....	22
2.8.2 AmberTools21 .....	23
2.8.3 <i>Minimization, Heating, Equilibration, dan Production.</i> .....	24
2.8.4 <i>Root Mean Square Deviation (RMSD)</i> .....	25
2.8.5 <i>Root Mean Square Fluctuation (RMSF)</i> .....	25
2.8.6 GAFF2 .....	26

2.8.7	Conda .....	27
2.8.8	Acpype .....	27
2.8.9	Solvent Accessible Surface Area (SASA) .....	28
2.8.10	<i>Radius of Gyration</i> (Rg).....	29
2.8.11	Ikatan Hidrogen .....	30
2.8.12	<i>Force Field</i> (FF) .....	31
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>		<b>33</b>
3.1	Waktu dan Tempat .....	33
3.2	Alat dan Bahan .....	33
3.3	Prosedur Penelitian.....	34
3.3.1	Isolasi Gen Kromat Reduktase.....	34
3.3.2	Identifikasi Produk PCR Gen Kromat Reduktase.....	35
3.3.3	Prediksi Struktur dan Analisis Kualitas Protein.....	37
3.3.4	Simulasi Docking dan Dinamika Molekuler.....	39
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>		<b>42</b>
4.1	Isolasi Gen Kromat Reduktase.....	42
4.1.1	Amplifikasi Gen Pereduksi Cr(VI) dengan PCR .....	42
4.2	Identifikasi Produk PCR.....	43
4.2.1	Analisis Hasil Sekuensing.....	43
4.2.2	Analisis BLAST Ribosomal RNA Sekuens 16S .....	44
4.2.3	Identifikasi Urutan Asam Amino dan Motif Protein .....	45
4.2.4	Prediksi Struktur 3D dan Analisis Kualitas Protein.....	57
4.3	Simulasi Docking dan Dinamika Molekuler .....	74
4.3.1	Interaksi Molekular Docking .....	74
4.3.2	Simulasi Dinamika Molekuler .....	82
<b>BAB V PENUTUP.....</b>		<b>92</b>
5.1	Kesimpulan.....	92
5.2	Saran.....	92
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>		<b>93</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>		<b>112</b>

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 1.</b>	Bakteri pereduksi kromium dengan enzim kromat reduktase.....	13
<b>Tabel 2.</b>	Database protein yang mengandung zat besi (metalloprotein) .....	18
<b>Tabel 3.</b>	Perancangan Primer Spesifik .....	34
<b>Tabel 4.</b>	Hasil analisis BLAST Ribosomal RNA Sekuens 16S menggunakan NCBI.....	44
<b>Tabel 5.</b>	Identifikasi motif dan sekuens protein .....	46
<b>Tabel 6.</b>	Hasil BLAST protein pada NCBI.....	47
<b>Tabel 7.</b>	Motif dan klasifikasi famili protein .....	48
<b>Tabel 8.</b>	Analisis parameter fisiko-kimia sekuens protein .....	49
<b>Tabel 9.</b>	Identifikasi jumlah, dan komposisi asam amino .....	51
<b>Tabel 10.</b>	Daftar 10 Template terbaik untuk protein M2Cr10 .....	58
<b>Tabel 11.</b>	Daftar 10 template terbaik untuk protein M54Cr10.....	59
<b>Tabel 12.</b>	Identifikasi kualitas struktur 3D yang telah diprediksi .....	60
<b>Tabel 13.</b>	Perhitungan residu pada region-region di plot ramachandran .....	72
<b>Tabel 14.</b>	Perbandingan energi ikatan pada kedua enzim terhadap ligan dengan mode (lokasi ligand) tertentu.....	75
<b>Tabel 17.</b>	Situs ikatan aktif FMN pada mode energi terendah.....	77
<b>Tabel 15.</b>	Jenis interaksi dan jarak protein dan ligand enzim M2Cr10.....	79
<b>Tabel 16.</b>	Jenis interaksi dan jarak protein dan ligand enzim M54Cr10.....	81

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar</b>		<b>Halaman</b>
<b>Gambar 1.</b>	Peta wilayah pertambangan di Kalimantan Selatan tahun 2018.....	6
<b>Gambar 2.</b>	Penggunaan Cr(III), Toksisitas Cr(VI), dan metode remediasi .....	8
<b>Gambar 3.</b>	Mekanisme reduksi Cr(VI) di dalam bakteri .....	10
<b>Gambar 4.</b>	Enzim oksidoreduktase pereduksi Cr(VI).....	14
<b>Gambar 5.</b>	Struktur 2D (A) dan 3D (B) Flavin Mononucleotida (FMN) .....	16
<b>Gambar 6.</b>	Representasi skematis metode Dinamika Molekuler (merah) dibandingkan metode Monte Carlo (biru).....	20
<b>Gambar 7.</b>	Algoritma MD standar saat integrator tipe prediktor-korektor digunakan dengan gaya yang berasal dari potensial antar-atom klasik atau metode mekanika kuantum. ....	22
<b>Gambar 8.</b>	Flowchart metode komputasi Gromacs.....	23
<b>Gambar 9.</b>	Luas permukaan yang diakses pelarut .....	29
<b>Gambar 10.</b>	Salah satu bentuk geometri dari ikatan hidrogen antara donor D dan aseptor A .....	30
<b>Gambar 11.</b>	Alur pengembangan Medan Gaya seperti AMBER, CHARMM, OPLS, dan GROMOS .....	32
<b>Gambar 12.</b>	Representasi diagram alat komputasi untuk analisis bioinformatika..	37
<b>Gambar 13.</b>	Diagram alir simulasi dinamika molekuler menggunakan GROMACS.....	41
<b>Gambar 14.</b>	Visualisasi hasil PCR dengan elektroforesis.....	43
<b>Gambar 15.</b>	Identifikasi tipe asam amino penyusun protein.....	52
<b>Gambar 16.</b>	Penyejajaran dan identifikasi struktur sekunder protein M2Cr10, M1CC10, dan M54Cr10 terhadap NfrA1 .....	56
<b>Gambar 17.</b>	Struktur 3D Enzim M2Cr10 (A) dan M54Cr10 (B) .....	59
<b>Gambar 18.</b>	Posisi rotamer outliers (A) dan bad angle (B) yang terdapat pada enzim M2Cr10 .....	60
<b>Gambar 19.</b>	Posisi bad angles yang terdapat pada struktur enzim M54Cr10 .....	62

<b>Gambar 20.</b>	Analisis filogenetik enzim M2Cr10 dan M54Cr10 terhadap bakteri lain.....	63
<b>Gambar 21.</b>	Divergensi antar protein pada spesies bakteri.....	64
<b>Gambar 22.</b>	Plot psi ( $\psi$ ) dan phi ( $\phi$ ) M2Cr10 (A) dan M54Cr10 (B).....	65
<b>Gambar 23.</b>	Plot Chi-1 ( $\chi^1$ ) dan Chi-2 ( $\chi^2$ ) M2Cr10 (A) dan M54Cr10 (B).....	68
<b>Gambar 24.</b>	Kualitas geometri struktur enzim M2Cr10 dalam bentuk residu.....	69
<b>Gambar 25.</b>	Kualitas geometri struktur enzim M54Cr10 dalam bentuk residu.....	70
<b>Gambar 26.</b>	Plot Ramachandran enzim M2Cr10 (A) dan M54Cr10 (B).....	73
<b>Gambar 27.</b>	Visualisasi docking dalam bentuk 3D (A) dan 2D (B) M2Cr10.....	76
<b>Gambar 28.</b>	Visualisasi docking dalam bentuk 3D (A) dan 2D (B) M54Cr10.....	76
<b>Gambar 29.</b>	Analisis dekomposisi energi per-residu enzim M2Cr10 (A) dan M54Cr10 (B).....	77
<b>Gambar 30.</b>	Perubahan suhu sistem dalam kelvin (K) dalam suatu waktu (ps) .....	83
<b>Gambar 31.</b>	Grafik minimisasi energi potensial kedua enzim .....	84
<b>Gambar 32.</b>	Perubahan Tekanan Sistem (bar) seiring waktu (ps) .....	85
<b>Gambar 33.</b>	Fluktuasi RMS atom-atom .....	86
<b>Gambar 34.</b>	Fluktuasi RMS residu-residu .....	87
<b>Gambar 35.</b>	Grafik perbandingan luas permukaan molekul yang dapat diakses oleh pelarut.....	88
<b>Gambar 36.</b>	Grafik Radius of Gyration pada 3 sumbu (x, y, dan z) kedua enzim..	89
<b>Gambar 37.</b>	Grafik hasil analisis dinamika RMSD dalam 10 ns .....	90

## DAFTAR LAMPIRAN

<b>Lampiran 1.</b>	Hasil Sekuensing dari 1st BASE DNA Sequencing.....	112
<b>Lampiran 2.</b>	DNA Konsensus .....	114
<b>Lampiran 3.</b>	Sekuens 16S.....	115
<b>Lampiran 4.</b>	Analisis Blast DNA 16S .....	117
<b>Lampiran 5.</b>	Analisis Blast Sekuens Protein.....	119
<b>Lampiran 6.</b>	Analisis Famili dan Motif Protein .....	120
<b>Lampiran 7.</b>	Analisis Fisiko-Kimia menggunakan ProtParam .....	122
<b>Lampiran 8.</b>	Identifikasi Struktur 3D menggunakan Swiss Model.....	124
<b>Lampiran 9.</b>	Structure Assessment.....	125
<b>Lampiran 10.</b>	Analisis Overall Quality Factor menggunakan ERRAT 2 .....	126
<b>Lampiran 11.</b>	Analisis Profil 3D-1D struktur .....	127
<b>Lampiran 12.</b>	Problem Analysis Enzim menggunakan WHATCHECK .....	128
<b>Lampiran 13.</b>	Stereochemical Quality Protein menggunakan PROCHECK .....	128
<b>Lampiran 14.</b>	Analisis Docking menggunakan PyRx .....	130
<b>Lampiran 15.</b>	Instalasi Program untuk Simulasi Dinamika Molekuler .....	132
<b>Lampiran 16.</b>	Preparasi Input File.....	139
<b>Lampiran 17.</b>	Preparasi dan Simulasi Dinamika Molekuler.....	149
<b>Lampiran 18.</b>	Nilai RMSD dalam Waktu (ns).....	166
<b>Lampiran 19.</b>	Analisis Perubahan Suhu (K) dalam Waktu (ps).....	175
<b>Lampiran 20.</b>	Minimisasi Energi .....	177
<b>Lampiran 21.</b>	Analisis Perubahan Tekanan .....	187
<b>Lampiran 22.</b>	Analisis RMSF Atom .....	190
<b>Lampiran 23.</b>	RMSF Residu .....	198
<b>Lampiran 24.</b>	Analisis Radius of Gyration (Rg) pada dinamika molekuler .....	202
<b>Lampiran 25.</b>	Isolasi DNA Bakteri dengan Metode PCR.....	224