

STUDI INTERAKSI KOMPLEKS INULIN DAN FRAKSI KASEIN MELALUI ANALISIS *IN-SILICO* DAN *MOLECULAR DOCKING* SEBAGAI DASAR PENGEMBANGAN *PREBIOTIC FERMENTED MILK*

Study on the Interaction of Inulin Complex and Casein Fraction Using The In-Silico Analysis and the Molecular Docking as the Basis of the Development of Prebiotic Fermented Milk

Manik Eirry Sawitri¹⁾, Sasangka Prasetyawan²⁾

¹⁾ Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Jl. Veteran, Ketawanggede, Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur 65145

²⁾ Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya. Jl. Veteran, Malang, Jawa Timur, Indonesia, 65145

Email: maniksawitri@gmail.com

Diterima 13 Februari 2019 ; diterima pasca revisi 5 Maret 2019
Layak diterbitkan 1 April 2019

ABSTRACT

This research was carried out to determine the best inulin complex interaction with casein fraction, namely casein- α , casein- β and casein-kappa as the basis for fermented prebiotic milk development. The materials used in this research were the protein structure data, which is a casein fraction modeled with I-TASSER web service and inulin structure data samples obtained from PUBCHEM database with ID: CID 24763. Molecular Docking was performed with PatchDock algorithm and the molecular visualization was observed with PyMol 1.3 (Educational version). The results showed that the required binding energy to metabolize a bound system into separate parts was lower than its constituent parts. The inulin complex interaction with casein-kappa produced the lowest binding energy (-36.81 Kcal/mol) compared to the inulin complex interaction with casein- α or with casein- β , which were -29.55 Kcal/mol and -29.88 Kcal/mol, respectively. The binding complex of inulin molecules with casein-kappa was found on the surface of casein-kappa, stabilized with hydrogen bonds and hydrophobic interactions, such as GLN-75, ALA-92, ASN-74, ASN-73, ILE-72 , PHE 38, ARG-37, LYS-34, ASP-35 and GLU-36. The research concluded that molecular docking could demonstrate the best inulin complex interaction with casein-kappa fraction for the development of prebiotic fermented milk.

Keywords: *Inulin; casein fraction; molecular docking; prebiotic fermented milk.*

ABSTRAK

Penelitian ini dilakukan untuk menentukan interaksi terbaik kompleks inulin dengan fraksi kasein yaitu kasein- α , kasein- β dan kasein-kappa sebagai dasar pengembangan prebiotic fermented milk. Materi penelitian berupa sampel data struktur protein yaitu fraksi kasein dimodelkan menggunakan webservice I-TASSER dan sampel data struktur Inulin diambil dari PUBCHEM database dengan ID:CID 24763. Molecular Docking dilakukan dengan PatchDock algorithm dan pengamatan Molecular Visualization dilakukan dengan PyMol 1.3(Educational version). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa Binding Energy yang diperlukan untuk memetabolisme sebuah sistem terikat menjadi bagian yang terpisah mempunyai energi potensial yang lebih rendah daripada bagian penyusunnya. Interaksi kompleks Inulin dengan kasein-kappa menghasilkan binding energy terendah yaitu sebesar -36,81 Kcal/mol dibandingkan dengan interaksi kompleks Inulin dengan kasein- α binding energynya sebesar -29,55 Kcal/mol dan interaksi kompleks Inulin dengan kasein- β binding energynya sebesar -29,88 Kcal/mol. Kompleks ikatan molekul Inulin dengan kasein-kappa berada dipermukaan kasein-kappa, distabilkan oleh ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik seperti GLN-75, ALA-92, ASN-74, ASN-73, ILE-72, PHE-38, ARG-37, LYS-34, ASP-35 dan GLU-36. Kesimpulan penelitian adalah molecular docking dapat dibuktikan bahwa interaksi terbaik yaitu Inulin membentuk kompleks dengan fraksi kasein-kappa untuk pengembangan prebiotic fermented milk.

Kata Kunci: Inulin; fraksi kasein; molecular docking; prebiotic fermented milk.

PENDAHULUAN

Prebiotic fermented milk merupakan fortifikasi prebiotik ke dalam formulasi fermented milk yang dapat menstabilkan sistem koloid susu guna mencegah pemisahan fase, memperkuat jaringan kasein dan menurunkan sineresis (Hematyar *et al.*, 2012). Defect pada fermented milk sering terjadi dimana saat pH 4,6 tercapai, muatan negatif pada kasein berkurang, κ -casein yang berupa ‘rambut’ akan menyusut, menyebabkan gaya tolak elektrostatis dan stabilitas sterik menurun, kestabilan misel kasein terganggu sehingga struktur internal kasein misel melemah dan terjadi sineresis (Lee and Lucey, 2010). Inulin merupakan campuran oligo- dan polisakarida yang terdiri dari unit fruktosa dihubungkan dengan ikatan β -(2-1)

(Aghjani *et al.*, 2014), bermanfaat sebagai dietary fiber juga merupakan prebiotik alami dapat digunakan sebagai stabilizer.

Inulin tidak berbau, tidak berwarna, hambar, berupa bubuk putih, sangat mudah dikombinasikan dengan bahan lain tanpa memberikan perubahan flavor, menghasilkan jaringan partikel gel dengan tekstur kompleks tiga dimensi partikel submikron kristal yang menjamin kekuatan fisik (*physical strength*) (Saeed *et al.*, 2015). Inulin mempunyai *gelling capacity* dengan air, dan sebagai bahan tambahan pangan fungsional karena sifat prebiotiknya (Khalifa *et al.*, 2011), meningkatkan *thickness* pada produk olahan susu rendah lemak serta tidak memberikan perubahan flavor (Tarrega and Costell, 2006). Inulin sebagai stabilizer dapat di fortifikasi pada produk olahan susu untuk mempertahankan

*Corresponding author:

Manik Eirry Sawitri

Email: maniksawitri@gmail.com

Teknologi Hasil Ternak, Fakultas Peternakan Universitas Brawijaya, Jl. Veteran, Ketawanggede, Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur 65145

How to cite:

Sawitri, M. E., & Prasetyawan, S. (2019). Studi Interaksi Kompleks Inulin dan Fraksi Kasein Melalui Analisis In-Silico dan Molecular Docking Sebagai Dasar Pengembangan Prebiotic Fermented Milk. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*, 14 (1), 11-19

tekstur, konsistensi atau viskositas serta mencegah sineresis. Kasein sekitar 80% merupakan komponen utama protein susu (Bramanti *et al.*, 2003), terdiri dari α 1-casein, α 2-casein, β -casein, dan κ -casein, bercampur secara koloidal dan tertanam dalam misel.

Semua protein kasein mempunyai gugus hidrofobik dan hidrofilik di rantai proteinnya. α -kasein mengandung 8-10 gugus seril fosfat, β -casein mengandung 5 gugus fosfoserin, dan lebih hidrofobik daripada α -caseins dan κ -kasein. κ -kasein merupakan glikoprotein yang hanya memiliki satu gugus fosfoserin. Kasein tidak sensitif terhadap panas, pada suhu diatas 120°C mengakibatkan kasein secara bertahap menjadi tidak larut.

Kasein kaya asam amino, bersifat sebagai pengemulsi serta menstabilkan emulsi minyak dalam air. Lee and Lucey (2010) menyatakan mayoritas κ -kasein membentuk lapisan berbulu seperti rambut yang terdapat pada permukaan misel, bertugas sebagai penstabil bagi kasein misel sedangkan kasein lainnya berfungsi untuk mengangkut kalsium. Lapisan luar berambut κ -kasein memastikan stabilitas misel kasein melalui mekanisme stabilisasi sterik.

Bioactive peptide, conjugated linoleic acid, sphingolipid, fiber, butirat dan bakteri probiotik merupakan komponen fungsional alami yang dijumpai dalam susu fermentasi (Grajek *et al.*, 2005), oleh karena itu *fermented milk* dianggap sebagai *functional food*, yaitu makanan olahan mengandung nutrisi yang berfungsi secara spesifik pada tubuh yakni komponen biologis aktif (Toma and Pokrotnieks, 2006).

Prebiotic fermented milk disebut sebagai pangan fungsional jika kadar prebiotik minimal 1%, dan formula penambahan prebiotik inulin 2% memberikan kandungan prebiotik yang tepat dan ekonomis (Franck and de Leenheer, 2005). Sumber protein yang kaya akan asam amino esensial terutama yang dikandung susu sapi atau susu

kambing, dapat dimanfaatkan sebagai sumber peptida bioaktif. Setelah proses fermentasi, 80% dari protein susu yang berupa kasein akan menghasilkan metabolit berupa peptida bioaktif akibat hidrolisis dengan enzim yang berasal dari bakteri asam laktat.

Metode *analisis In-silico* dan *molecular docking* digunakan untuk memprediksi interaksi dan konformasi makromolekul suatu kompleks yang stabil, berdasarkan energi interaksi elektrostatik, ikatan hidrogen dan antar unit hidrofobik (Pang *et al.*, 2005). Luaran *molecular docking* berupa *score* yang dinyatakan sebagai *energy binding score* yang semakin rendah nilainya menunjukkan semakin stabil interaksi ligan-reseptor sehingga afinitas ligan terhadap reseptor semakin kuat (Lukitaningsih dkk., 2015). Penelitian ini ditujukan untuk menentukan interaksi yang terbaik antara inulin dengan fraksi kasein yaitu kasein- α , kasein- β dan kasein-kappa sebagai dasar pengembangan *prebiotic fermented milk*.

MATERI DAN METODE

Materi Penelitian

Data struktur protein yaitu urutan protein α -kasein, β -kasein dan κ -kasein diunduh dari UNIPROT (<http://uniprot.org>) dan data struktur inulin diunduh dari Pubchem.

Peralatan Penelitian

I-TASSER, OpenBabel serta algorithm PatchDock (*rigid docking*).

Metode Penelitian

a. *Molecular modelling*

Sekuen (urutan) protein kasein- α (PO2662), kasein- β (PO2666) dan kasein-kappa (PO2668) diunduh dari UNIPROT (<http://uniprot.org>). Model kasein-kappa hasil eksperimen protein 3D dibangun menggunakan webservice I-Tasser server. Struktur model 3D inulin dikonstruksi oleh OpenBabel dengan dasar struktur 2D yang diunduh dari PUBCHEM database dengan ID: CID 24763.

b. *Molecular Docking*

Proses *docking* dilakukan dengan *PatchDock algorithm* untuk menghitung dan memprediksi kemungkinan interaksi inulin dengan kasein- α , kasein- β dan kasein-kappa. Hasil dari *molecular docking* dimurnikan dengan menggunakan Fire Dock, yang disesuaikan dengan fungsi energi. Struktur dengan *binding energy* bebas yang terendah dianggap sebagai hasil *docking* yang terbaik.

c. *Molecular Visualization*

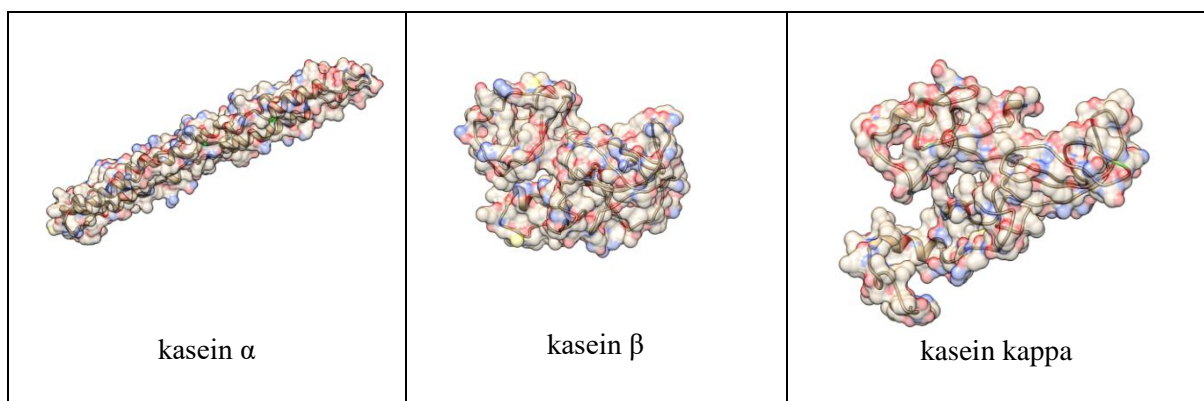
Semua biomolekul divisualisasi oleh PyMol 1.3 (Educational version).

HASIL DAN PEMBAHASAN

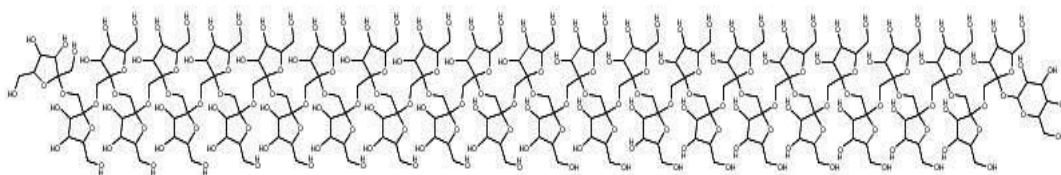
Sekuen protein kasein- α (PO2662), kasein- β (PO2666) dan kasein-kappa (PO2668) seperti terlihat pada Gambar 1. Ligan dalam penelitian ini adalah inulin (a) yang mengikat protein reseptor yaitu kasein α (b) dan mengubah konformasi kimia, mempengaruhi orientasi bentuk 3D. Karitas dan Fatchiyah (2013) membuktikan bahwa bobot molekul kasein α sebesar 34 – 38

kDa dimana 1 kDa = 1000 Da dan Susilowati dkk. (2015) mendapatkan bahwa bobot molekul inulin 174 – 185 Da. *Molecular docking* merupakan metode untuk simulasi probabilitas interaksi ligan dengan bobot molekul yang lebih kecil yaitu inulin dengan reseptor yaitu kasein dengan bobot molekul yang lebih besar. Metode *molecular docking* merupakan metode untuk menggambarkan posisi ligan pada sisi aktif reseptor (Lukitaningsih dkk., 2015).

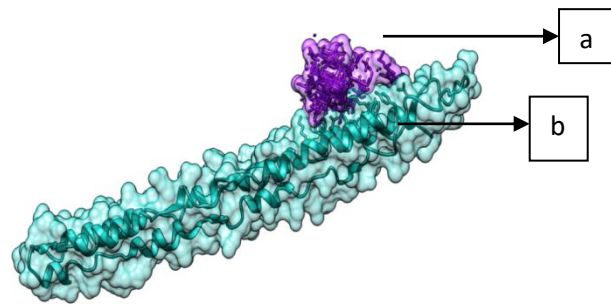
Ligan dalam penelitian ini adalah inulin (a) yang mengikat protein reseptor yaitu kasein β (c) dan mengubah konformasi kimia, mempengaruhi orientasi bentuk 3D. Karitas dkk (2013) membuktikan bahwa bobot molekul kasein β sebesar 30 - 31 kDa dimana 1 kDa = 1000 Da dan Susilowati dkk (2015) mendapatkan bahwa bobot molekul inulin 174 – 185 Da. Simulasi probabilitas interaksi ligan yaitu inulin dengan bobot molekul yang lebih kecil dengan reseptor yaitu kasein β dengan bobot molekul yang lebih besar dilakukan dengan *molecular docking*.



Gambar 1. Struktur 3D protein kasein α , kasein β dan kasein kappa.

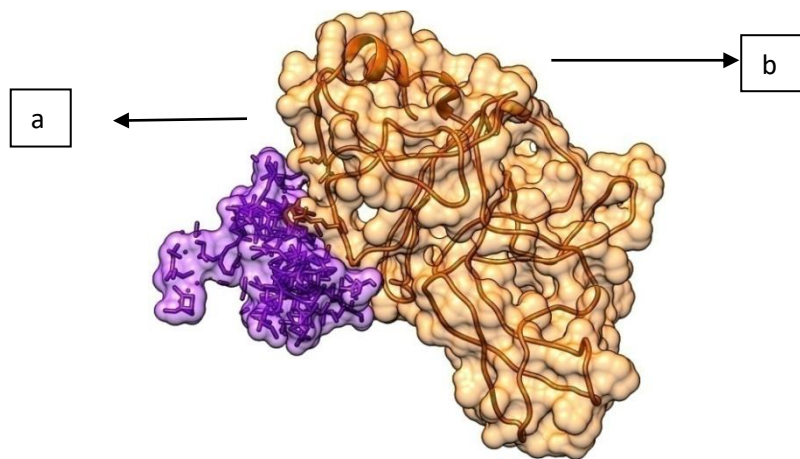


Gambar 2. Struktur 3D inulin dikonstruksi oleh *OpenBabel* dengan dasar struktur 2D yang di download dari PUBCHEM database dengan ID: CID 24763



Keterangan : a : inulin b : kasein α

Gambar 3. Interaksi antara kompleks inulin dengan kasein α ,



Keterangan : a : inulin b : kasein β

Gambar 4. Interaksi antara kompleks inulin dengan kasein β

Molecular docking digunakan untuk mempelajari dan menggambarkan lebih jelas secara visual tentang interaksi dan konformasi makromolekul suatu kompleks, metode ini digunakan untuk memprediksi orientasi satu molekul dengan molekul yang lain jika berikatan satu sama lain membentuk kompleks yang stabil (Pang *et al.*, 2005). Luaran *molecular docking* dapat berupa *pose* dan *score*, dimana *pose* akan menentukan interaksi ligan dengan protein dan *score* biasanya dinyatakan sebagai *energy binding score* yang mana semakin rendah nilainya menandakan semakin stabil interaksi ligan-reseptor sehingga afinitas ligan terhadap reseptor semakin kuat (Lukitaningsih dkk., 2015). Hasil penelitian menunjukkan bahwa *binding energy* kompleks inulin-kasein α , kompleks inulin-

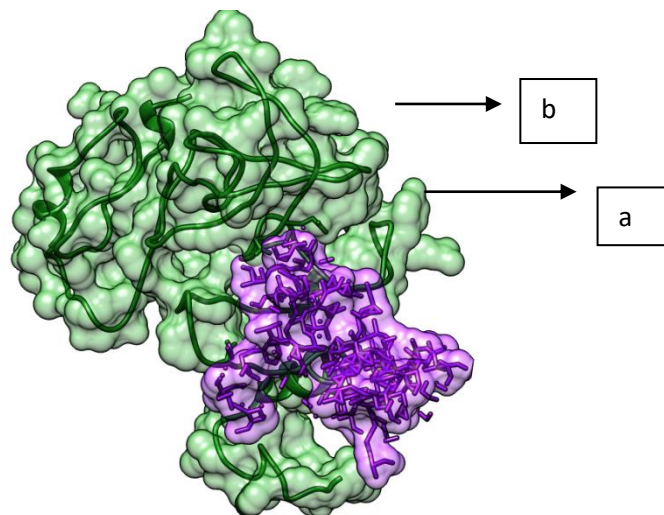
kasein β dan kompleks inulin-kasein kappa seperti terlihat pada Tabel 1. *Binding energy* merupakan energi yang dibutuhkan untuk membongkar seluruh sistem menjadi bagian-bagian yang terpisah, dimana sebuah sistem terikat biasanya mempunyai energi potensial yang lebih rendah daripada jumlah bagian-bagian penyusunnya.

Tabel 1 menunjukkan bahwa interaksi kompleks inulin dengan kasein kappa menghasilkan *binding energy* terendah yaitu sebesar -36,81 Kcal/mol dibandingkan dengan interaksi kompleks inulin dengan kasein α *binding energynya* sebesar -29,55 Kcal/mol dan interaksi kompleks inulin dengan kasein β *binding energynya* sebesar -29,88 Kcal/mol. Disajikan pula pada Gambar 6, 7 dan 8 bahwa yang terbaik interaksi inulin-kasein

dengan *binding energy* minimal -36,81 Kcal/mol untuk kasein kappa. Inulin lebih *favorable* (menguntungkan) untuk mengikat kasein kappa didominasi oleh ikatan hidrogen dan interaksi hidrofobik dengan inti hidrofobik dari kasein kappa. Tingkat mengikat disebut afinitas dan pengukuran ini menggambarkan kecenderungan atau kekuatan efeknya, hal ini menunjukkan bahwa inulin terbaik berinteraksi dengan kasein kappa dibandingkan dengan kasein α dan kasein β . Studi docking komputasi ini untuk memahami lokasi ikatan dan komformasi terbaik pengikatan inulin dengan kasein (Mehranfar *et al.*, 2015). Permukaan molekuler kasein kappa berikatan dengan inulin seperti pada Gambar 6 dan

diperjelas dengan sekuen kasein kappa berikatan dengan inulin seperti pada Gambar 7.

Hasil *molecular docking* menunjukkan bahwa molekul inulin mengikat kasein-kappa didominasi dengan ikatan hidrogen dan kelompok hidrophobik dengan inti hidrophobik dari kasein-kappa. Gambar 8 menunjukkan *molecular docking* yang merupakan kompleks ikatan molekul inulin dengan kasein kappa yang berada di permukaan kasein kappa, distabilkan oleh ikatan hidrogen dan interaksi hidrophobic seperti GLN-75, ALA-92, ASN-74, ASN-73, ILE-72, PHE-38, ARG-37, LYS-34, ASP-35 dan GLU-36. Sekuen kasein kappa yang berikatan dengan inulin seperti terlihat pada Gambar 8.

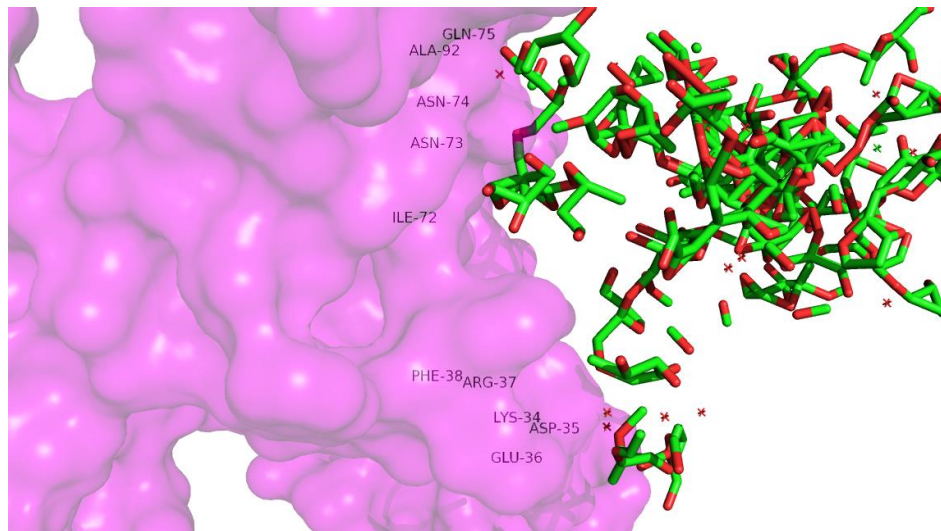


Keterangan : a : inulin b : kasein kappa

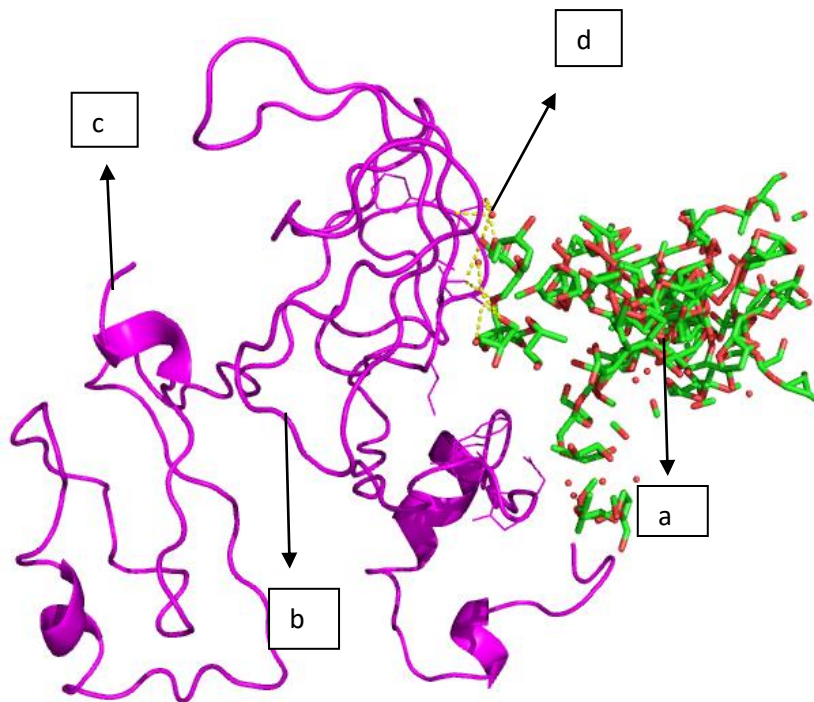
Gambar 5. Kasein kappa berikatan dengan inulin. Interaksi antara kompleks inulin dengan kasein kappa

Tabel 1. Nilai *Binding Energy* (Kcal/mol) Inulin dengan kasein- α , kasein- β dan kasein-kappa.

Molekul 1	Molekul 2	Binding Energy (Kcal/mol)
kasein α	Inulin	-29,55
kasein β	Inulin	-29,88
kasein kappa	Inulin	-36,81



Gambar 6. Permukaan molekuler interaksi Inulin dengan kasein kappa.



Keterangan : a : inulin b : kasein kappa
 c : struktur tersier protein d : ikatan interaksi

Gambar 7. 3D Interaksi Inulin dengan kasein kappa.



Gambar 8. Sekuen kasein kappa yang berikatan dengan inulin.

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah melalui metode *In-silico* dan *Molekular docking* dapat dibuktikan bahwa interaksi terbaik yaitu Inulin membentuk kompleks dengan kasein kappa sebagai dasar pengembangan *prebiotic fermented milk*.

DAFTAR PUSTAKA

- Aghjani, A. R., Pourahmad, R., & Adeli, H. R. M. (2014). The effect of oligofructose, lactulose and inulin mixture as prebiotic on physicochemical properties of synbiotic yogurt. *Journal of Food Biosciences and Technology*, 4(2), 33–40.
- Bramanti, E., Sortino, C., Onor, M., Beni, F., & Raspi, G. (2003). Separation and determination of denatured alpha(s1)-, alpha(s2)-, beta- and kappa-caseins by hydrophobic interaction chromatography in cows', ewes' and goats' milk, milk mixtures and cheeses. *Journal of Chromatography. A*, 994(1–2), 59–74.
- Franck, A., & De Leenheer, L. (2005). *Inulin dalam Steinbuechel, A. and Rhee, S. K* (1st ed.). Wiley-VCH, Weinheim: Polysaccharides and Polyamides in The Food Industry.
- Grajek, W., Olejnik, A., & Sip, A. (2005). Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods. *Acta Biochimica Polonica*, 52(3), 665–671.
- Hematyar, N., Samarin, A. M., Poorazarang, H., & Elhamirad, A. H. (2012). Effect of gums on yogurt characteristics. *World Applied Sciences Journal*, 20(5), 661–665.
- Khalifa, M., Elgasim, A., Zaghoul, A., & Mahfouz, M. (2011). Applications of inulin and mucilage as stabilizers in yoghurt production. *American Journal of Food Technology*, 6(1), 31–39. <https://doi.org/10.3923/ajft.2011.31.39>
- Karitas, M. U., & Fatchiyah, F. (2013). Profil protein yogurt susu kambing PE dengan kultur tunggal pada 30-60 kDa dengan SDS-PAGE. *Biotropika: Journal of Tropical Biology*, 1(2), 65–69.
- Lee, W. J., & Lucey, J. A. (2010). Formation and physical properties of yogurt. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(9), 1127–1136. <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.r05>

- Lukitaningsih, E., Wisnusaputra, A., & Sudarmanto, B. S. A. (2015). Scoring in silico active compound of pachyrrhizus erosus as antitirosinase on aspergillus oryzae (computational study with homology modeling and molecular docking). *Majalah Obat Tradisional*, 20(1), 7–15. <https://doi.org/10.22146/TRADMEDJ.7751>
- Mehranfar, F., Bordbar, A.-K., & Amiri, R. A. (2015). In vitro cytotoxic activity and binding properties of curcumin in the presence of β -casein micelle nanoparticles. *Biomacromolecular Journal*, 1(1), 69–79.
- Pang, J., Sun, Y., & Guan, Y. G. (2005). Molecular dynamic simulation of glucomannan solution. *Chinese Journal of Structural Chemistry*, 24, 841–845.
- Saeed, M., Yasmin, I., Pasha, I., Randhawa, M. A., Khan, M. I., Shabbir, M. A., & Khan, W. A. (2015). Potential application of inulin in food industry ; A review. *Pakistan Journal of Food Sciences*, 25(3), 110–116.
- Susilowati, A. S., Yeti M.I, Lotulung, P. D., Melanie, M., & Aspiyanto. (2015). Perbedaan komposisi dan oligomer fos inulin dari umbi dahlia merah (dahlia sp. L) menggunakan enzim inulinase dari kapang scopulariopsis sp.- CBS1 dan β -amylase sebagai anti kolesterol. *Jurnal Pangan*, 24(2), 107–116. <https://doi.org/10.33964/JP.V24I2.26>
- Tárrega, A., & Costell, E. (2006). Effect of inulin addition on rheological and sensory properties of fat-free starch-based dairy desserts. *International Dairy Journal*, 16(9), 1104–1112. <https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2005.09.002>
- Toma, M. M., & Pokrotnieks, J. (2006). Probiotics as functional food: microbiological and medical aspects. *Acta Universitatis Latviensis*, 710, 117–129.