

PEMODELAN ENZIM GLUTATHIONE S-TRANSFERASE ANOPHELES FARAUTI SEBAGAI INHIBITOR INSEKTISIDA GOLONGAN ORGANOFOSFAT

Semuel Sandy

Pusat Riset Kesehatan Masyarakat Dan Gizi

*Alamat: Kawasan Kerja Bersama (KKB) Brin Papua, Jl. Isele, Kampung Waena, Distrik Heram, Jayapura-
Papua 99225.*

semu002@brin.go.id

ABSTRAK

Enzim *Glutathione S-Transferase* (GST) (EC 2.5.1.18) terdiri dari golongan enzim multifungsi yang mengkatalisis konjugasi glutathione (GSH) menjadi senyawa elektrofilik. Isozim ini dianggap memainkan peran penting dalam detoksifikasi *xenobiotic*. Studi mengenai resistensi insektisida golongan organofosfat dan organoklorin terkait dengan peningkatan aktifitas enzim GST. Penelitian ini bertujuan menganalisis struktur pemodelan homologi enzim GTS *Anopheles farauti*. metode penelitian ini menggunakan data sekunder dari server UniProt, data urutan protein dianalisis menggunakan aplikasi ProtParam, dan SOPMA. Pemodelan homologi enzim GTS menggunakan server *Swiss Model*, dan validasi atau evaluasi struktur tiga-dimensi menggunakan MolProbity, ProSA dan SAVES v6.0 (ERRAT, Verfy 3D, PROCHECK). Hasil prediksi sifat fisikokimia diperoleh Panjang urutan protein 210, dengan berat molekul 24311.98 Dalton, titik isoelektrik 6.17, Enzim GTS bersifat stabil (Indeks stabilitas 33.07), dan enzim GTS bersifat hidrolik (*Grand average of hydropathicity* (GRAVY) -0.278. Prediksi struktur sekunder diperoleh *Alpha helix* (Hh) 107 (50.95%), *Extended strand* (Ee 31 (14.76%), *Beta turn* (Tt) 9 (4.29%) dan *Random coil* (CC) 63 (30.00%). Hasil pemodelan model struktur tiga-dimensi diperoleh model Refine #01 yang tervalidasi dimana ProSA -8.58, ERRAT 97%, Verfy 3D 86.33%, PROCHECK Ramacandran plot diperoleh *most favoured regions* 353 (92.2%); *allowed regions* 29 7.(6%); *generously allowed regions* 1 (0.3%); *disallowed regions* 0 (0.0%), dan *G-factors* 0.12 .

Kata Kunci: *Anopheles farauti*, Enzim, Homologi, Insektisida

ABSTRACT

The enzyme Glutathione S-Transferase (GST) (EC 2.5.1.18) consists of a class of multifunctional enzymes that catalyze the conjugation of glutathione (GSH) into electrophilic compounds. This isozyme is thought to play an important role in xenobiotic detoxification. Studies on insecticidal resistance of organophosphate and organochlorine groups are associated with increased GST enzyme activity. This study aims to analyze the homology modeling structure of the enzyme Anopheles farauti GTS. This research method uses secondary data from the UniProt server, protein sequence data is analyzed using the ProtParam application, and SOPMA. Modeling of GTS enzyme homology using the Swiss Model server, and validation or evaluation of the three-dimensional structure using MolProbity, ProSA and SAVES v6.0 (ERRAT, Verfy 3D, PROCHECK). Prediction results of physicochemical properties obtained protein sequence length 210, molecular weight 24311.98 Dalton, isoelectric point 6.17, GTS enzyme is stable (Stability index 33.07), and GTS enzyme is hydrolytic (Grand average of hydropathicity (GRAVY) -0.278. Secondary structure prediction is obtained. Alpha helix (Hh) 107 (50.95%), Extended strand (Ee 31 (14.76%), Beta turn (Tt) 9 (4.29%) and Random coil (CC) 63 (30.00%). Modeling results of three-dimensional structure model a validated Refine #01 model was obtained where ProSA -8.58, ERRAT 97%, Verfy 3D 86.33%, PROCHECK Ramacandran plot obtained most favored regions 353 (92.2%); allowed regions 29 7.(6%); generously allowed regions 1 (0.3 %); disallowed regions 0 (0.0%), and G-factors 0.12 .

Keywords: , *Anopheles farauti*, Enzyme, Homology, Insecticide.

PENDHULUAN

Secara global, diperkirakan terdapat 241 juta kasus malaria pada tahun 2020 di 85 negara endemis malaria (termasuk wilayah Guyana Prancis), meningkat dari 227 juta pada tahun 2019, dengan sebagian besar peningkatan ini

berasal dari negara-negara di Wilayah Afrika WHO. Pada baseline Strategi Teknis Global/*Global technical strategy* (GTS) untuk malaria 2016–2030 tahun 2015, diperkirakan ada 224 juta kasus malaria. Wilayah Asia Tenggara WHO menyumbang

sekitar 2% dari beban kasus malaria secara global. Kasus malaria berkurang 78%, dari 23 juta pada tahun 2000 menjadi sekitar 5 juta pada tahun 2020. (WHO, 2021)

Upaya pengendalian penularan malaria dilakukan dengan pengendalian vektor malaria nyamuk *Anopheles* spp salah satu cara dengan menggunakan insektisida. Penggunaan insektisida yang tidak terkontrol dan tidak tepat dapat menyebabkan permasalahan baru yaitu terjadinya resistensi.

Tahun 2010-2020 terdapat 88 negara endemik malaria yang telah mendeteksi resistensi terhadap setidaknya satu golongan insektisida dan satu jenis vektor malaria. Terdapat 29 negara telah mendeteksi resistensi terhadap piretroid, organoklorin, karbamat, dan organofosfat di berbagai lokasi; dan 19 negara telah mengkonfirmasi resistensi terhadap keempat golongan ini di setidaknya satu wilayah dan setidaknya satu jenis vektor lokal.

Enzim Glutathione S-transferase (GTS) merupakan enzim detoksifikasi yang terdapat pada semua organisme. Enzim ini membantu melindungi sel dari stres oksidatif dan racun kimia dengan membantu ekskresi senyawa elektrofilik dan lipofilik dari sel. (Ranson et al., 2001). Peningkatan aktifitas enzim ini terkait dengan adanya resistensi insektisida golongan organoklorin dan organofosfat (Grant et al., 1991). Enzim GST diduga juga terkait dengan terjadinya resistensi insektisida piretroid (Ranson et al., 2001).

Pada penelitian ini dilakukan pemodelan homologi enzim GST untuk melihat prediksi sifat fisikokimia, struktur sekunder enzim GST *Anopheles farauti*, serta membuat model tiga dimensi enzim GST serta melakukan validasi struktur tiga-dimensi enzim tersebut. Studi ini nantinya akan berprguna dalam melakukan virtual skrining *molecular docking* dan *molecular dynamic* dalam proses disain penemuan golongan insektisida baru.

METODE PENELITIAN

Penelitian menggunakan data sekunder yang tersedia pada server UniProt (<https://www.uniprot.org/>). Pemodelan homologi enzim *Glutathione S-transferase* (GST) *Anopheles farauti* menggunakan

urutan protein dari data bank server UniProt dengan urutan sebagai berikut:

```
>tr|A0A182Q1I1|A0A182Q1I1_9DIPT  
Glutathione S-transferase OS=Anopheles farauti OX=69004 PE=4 SV=1  
MDYYYSLLISPPCQSA YLLAKKLGITLNL  
KVTNVHDPVQRDALTKLNPQHTIPTLV  
DNGHVWVWESYAIPTYLAETYAKDDTL  
YPKDPKVRISVNRQLFFDIGTLYKQIIDII  
HLVFKKEQPSDEQMEKLTALDLLERF  
VTERPYAAADHLTVADFCLLSSVSALS  
WLKHDLEPFPHIRAWLERVKAELPEYE  
EFRKQVEAETKAYVASRK
```

Urutan protein tersebut dilakukan analisis sifat fisikokimia menggunakan server ExPasy Swiss Model dengan aplikasi ProtParam (Gasteiger et al., 2005). Analisis prediksi struktur sekunder urutan protein dianalisis menggunakan server PRABI-GERLAND Rhone-Alpes Bioinformatic Pole Gerland Site, Institute of Biology and Protein Chemistry (https://npsa-prabi.ibcp.fr/NPSA/npsa_sopma.html) dengan aplikasi *Self-Optimized prediction From Multiple Alignment* (SOPMA) (Geourjon & Deleage, 1995). Pemodelan homologi struktur tiga dimensi enzim GTS *Anopheles farauti* menggunakan server Swiss Model

(<https://swissmodel.expasy.org/interactive>). Template model yang dihasilkan kemudian divalidasi menggunakan server Mol Probioty (<http://molprobioty.biochem.duke.edu/>) server SAVES v6.0 (<https://saves.mbi.ucla.edu/>) (Lushington, 2015) dan server Protein Structure Analysis/ProSA (Wiederstein & Sippl, 2007)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis pemodelan homologi enzim GST *Anopheles farauti* diperoleh karakteristik fisika-kimia seperti pada Tabel 1. Jumlah asam amino 210 dengan rumus molekul C₁₁₁₃H₁₇₃₆N₂₈₄O₃₁₈S₄, jumlah atom 3455 dan berat molekul 24311.98 Dalton. Titik iso-elektrik (pI) enzim GTS 6.17 sehingga enzim bersifat asam. Nilai pI adalah nilai pH dimana total muatan gugus bermuatan positif dan negatif mencapai kestabilan (sehingga total muatan asam amino tersebut adalah nol) (Buxbaum, 2015; Ruslin et al., 2019). Total jumlah residu yang memiliki muatan negative cenderung lebih

banyak (29) jika dibandingkan yang residu yang bermuatan positif (26) sehingga protein enzim dikategorikan sebagai protein intraselular (Filiz & Koç, 2014)

Extinction coefficients merupakan parameter jumlah cahaya yang diserap oleh protein pada Panjang gelombang tertentu. Hal ini berguna dalam menentukan kemurnia protein pada pengukuran menggunakan spectrophotometer. Indeks ketidakstabilan memberikan perkiraan stabilitas protein Anda pada saat mengalami reaksi. Protein yang indeks ketidakstabilannya lebih kecil dari 40 diprediksi stabil; nilai di atas 40 memprediksi bahwa protein mungkin tidak stabil. Hasil analisis diperoleh indeks kestabilan 33.07 sehingga diprediksi enzim GST bersifat stabil. Indeks alifatik protein didefinisikan sebagai volume relatif yang ditempati oleh rantai samping alifatik (alanin, valin, isoleusin, dan leusin). Ini dapat dianggap sebagai faktor positif untuk peningkatan termostabilitas protein globular. Hasil analisis diperoleh indeks alifatik 98.90. Nilai *grand average of hydropathy (GRAVY)* untuk peptida atau protein dihitung sebagai jumlah hidropati nilai semua asam amino, dibagi dengan jumlah residu dalam urutan. Indeks hidropati asam amino yang semakin

positif, maka akan bersifat hidrofobik. Hasil analisis *GRAVY* diperoleh indeks -0.278 maka asam amino tersebut bersifat hidrofilik. Hal ini sangat berpengaruh terhadap proses pelipatan suatu asam amino dalam pembentukan struktur tersiernya. Diketahui bahwa protein yang kaya akan residu asam amino yang bersifat hidrofilik sulit membentuk lipatan menjadi stuktur tersier yang baik. (Gasteiger et al., 2005; Nelson & Cox, 1982; Ruslin et al., 2019)

Analisis struktur sekunder pemodelan enzim GTS *Anopheles farauti* menggunakan SOPMA dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1. Hasil analisis diperoleh Struktur *Alpha helix* (Hh) 107 (50.95%), *Extended strand* (Ee) 31 (14.76%), *Beta turn* (Tt) 9 (4.29%) dan *Random coil* (CC) 63 (30.00%). Struktur *alpha helix* umumnya menggambarkan ciri protein transmembran karena ikatan hidrogen dari struktur alpha helix membentuk *backbone* molekul, sedangkan rantai samping struktur *alpha helix* memiliki sifat hidrofobik. Kumparan acak memiliki peranan dalam membentuk fleksibilitas dan stabilitas konformasi struktur protein(Filiz & Koç, 2014)

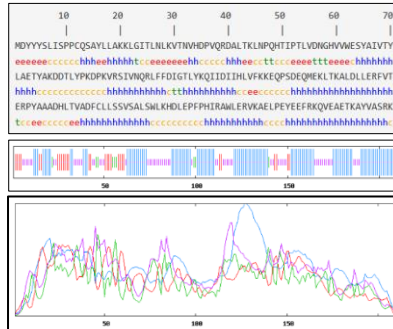
Tabel 1 Hasil analisis prediksi karakteristik sifat fisikokimia pemodelan homologi enzim GTS *Anopheles farauti*

Jumlah asam amino (<i>Number of amino acids</i>)	210
Berat Molekul (<i>Molecular weight</i>)	24311.98
Titik Isoelektrik (<i>Theoretical pI</i>)	6.17
Rumus kimia (<i>Formula</i>)	C ₁₁₁₃ H ₁₇₃₆ N ₂₈₄ O ₃₁₈ S ₄
Jumlah atom (<i>Total number of atoms</i>)	3455
<i>Total number of negatively charged residues (Asp + Glu):</i>	29
<i>Total number of positively charged residues (Arg + Lys):</i>	26
<i>Extinction coefficients:</i>	
• <i>Ext. coefficient</i>	34505 M ⁻¹ cm ⁻¹
• <i>Abs 0.1% (=1 g/l)</i>	1,419 assuming all pairs of Cys residues form cystines
• <i>Ext. coefficient</i>	34380 M ⁻¹ cm ⁻¹
• <i>Abs 0.1% (=1 g/l)</i>	assuming all Cys residues are reduced
Indeks stabilitas (<i>Instability index</i>)	33.07 This classifies the protein as stable.
Alifatik index (<i>Aliphatic index</i>)	98.90
<i>Grand average of hydropathicity (GRAVY):</i>	-0.278

Tabel 2. Analisis pediksi struktur sekunder pemodelan homologi enzim GST *Anopheles farauti* menggunakan aplikasi SOPMA

Struktur Sekunder	Jumlah (N)
Alpha helix (Hh)	107 (50.95%)
3 ₁₀ helix (Gg)	0 (0.00%)
Pi helix (Ii)	0 (0.00%)
Beta bridge (Bb)	0 (0.00%)
Extended strand (Ee)	31 (14.76%)
Beta turn (Tt)	9 (4.29%)
Bend region (Ss)	0 (0.00%)

Random coil (Cc)	63 (30.00%)
Ambiguous states (?)	0 (0.00%)
Other states	0 (0.00%)

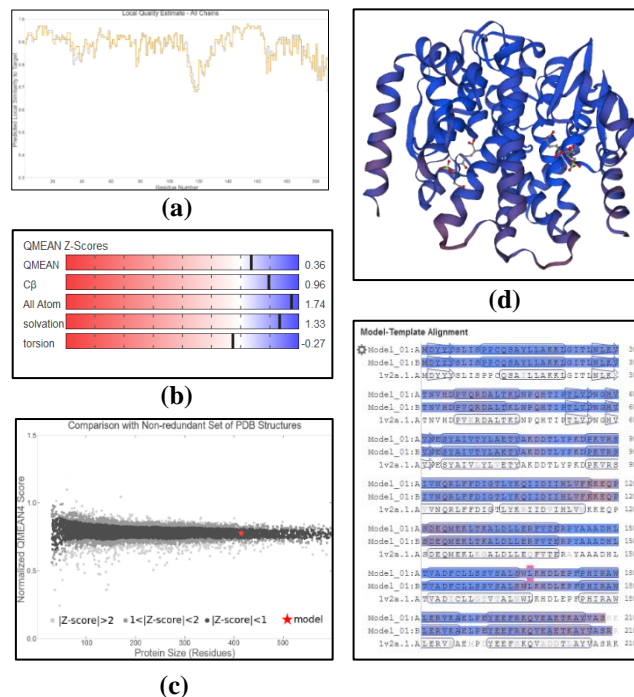


Gambar 1. Prediksi struktur sekunder enzim GST *Anopheles farauti* menggunakan server SOPMA

Pemodelan struktur tiga-dimensi enzim GST *Anopheles farauti* menggunakan aplikasi server *Swiss Model*. Pemodelan struktur tiga-dimensi protein memberikan pemahaman tentang fungsi, cara kerja protein dan membantu memfasilitasi dalam mendesain obat baru. *X-ray crystallography* dan *NMR spectroscopy* suatu protein memerlukan biaya yang mahal dan sangat sulit jika dibandingkan dengan metode komputasi dalam melakukan pemodelan. *Server Swiss Model* merupakan server yang banyak digunakan pemodelan homologi secara otomatis. Pemodelan

homologi enzim GST *Anopheles farauti* menggunakan data urutan protein dari server *UniProt* (A0A182Q1I1).

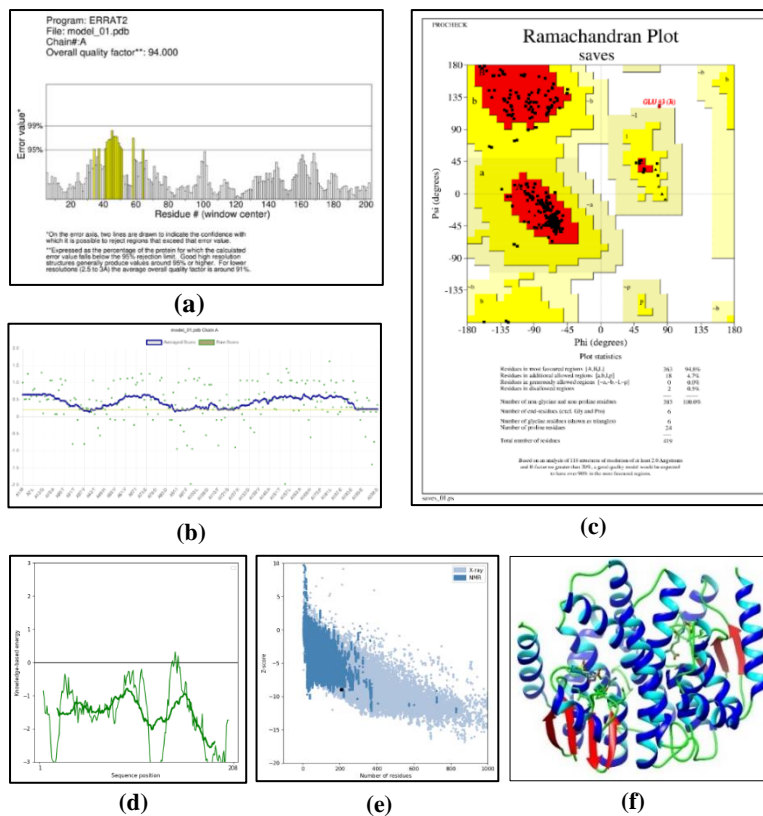
Hasil pemodelan diperoleh template model 1v2a.1.A *Glutathione Transferase gst1-6* dengan metode *BLAST* diperoleh *sequences identity* 87.62% dan *sequence smilarity* 0.58; X-ray 2.15 Angstrom, *Oligo state Homo-Dimer*. Hasil prediksi enzim GTS *Anopheles farauti* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil pemodelan homologi enzim GTS *Anophles farauti* (Model #01); (a) *Global Model Quality Estimate* (GMQE) 0.94; QMEANDisCo global score 0.88 ± 0.05 ; (b) dan (c) QMEAN Z-score analysis; (d) dan (e) struktur 3 dimensi template enzim GTS *Anopheles farauti*

Hasil pemodelan homologi struktur tiga dimensi enzim GTS *Anopheles farauti* yang diperoleh dari pemodelan *Swiss Model* (Model #01) dilakukan validasi menggunakan MolProbity, ProSA dan SAVES V6.0 (ERRAT, Verfy 3D, PROCHECK).

Hasil validasi pemodelan menggunakan MolProbity dapat dilihat pada Tabel 3, dan hasil validasi menggunakan aplikasi ProSA dan SAVES V6.0 dapat dilihat pada table 4. Visualisasi hasil validasi pemodelan struktur 3 dimensi dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Hasil analisis validasi pemodelan homologi struktur enzim GTS *Anopheles farauti* (Model #01); (a) Validasi menggunakan ERRAT; (b) Validasi menggunakan Verfy 3D; (c) Analisis validasi menggunakan PROCHECK; (d) dan (e) Validasi menggunakan ProSA; (f) Pemodelan homologi struktur 3 dimensi enzim GTS *Anopheles farauti*

Hasil validasi pemodelan homologi enzim GTS Model #01 menggunakan MolProbity diperoleh *poor rotamer* 5.32%, *favored rotamers* 88.86%, Ramachandran outliers 0.48%, Ramachandran *favored* 97.58%, C β deviations 0.49%, dan Bad angles 0.67% (Tabel 3). Nilai-nilai tersebut masih berada diluar yang dipersyaratkan sehingga dilakukan pemodelan homologi dengan melakukan Refine Model #01 menggunakan Protein structure refinement server/DeepRefine

(<http://watson.cse.eng.auburn.edu/DeepRefiner/>) sehingga diperoleh lima model hasil refine yaitu Refine #01 s/d Refine #05

Hasil refine pemodelan model Refine #01 s/d Refine #05 dari hasil analisis validasi menggunakan MolProbity, ProSA dan SAVES v6.0 maka digunakan model Rifene #1 untuk pemodelan homologi GST *Anopheles farauti* dikarenakan memiliki parameter validasi yang masih dalam nilai yang dipersyaratkan (Tabel 3 dan Tabel4).

Tabel 3. Hasil analisis validasi struktur tiga-dimensi pemodelan homologi enzim GTS *Anopheles farauti* menggunakan aplikasi MolProbity

Struktur Parameter	Parameter	Model #01	Refine #01	Refine #02	Nilai Cut-off Parameter
All-Atom Contacts	Clashscore, all atoms, Clashscore is the number of serious steric overlaps (> 0.4 Å) per 1000 atoms	2.32	0.88	0.88	99th percentile* (N=1784, all resolutions)
Protein Geometry	Poor rotamers	20 (5.31%)	0 (0%)	0 (0%)	Goal: <0.3%
	Favored rotamers	335 (88.86%)	377 (100%)	376 (99.73%)	Goal: >98%
	Ramachandran outliers	2 (0.48%)	0 (0%)	1 (0.24%)	Goal: <0.05%
	Ramachandran favored	403 (97.58%)	405 (98.06%)	402 (97.34%)	Goal: >98%
	Rama distribution Z-score	1.00 ± 0.39	-0.29 ± 0.37	-0.70 ± 0.37	Goal: abs(Z score) < 2
	MolProbity score [^]	1.65	0.77	0.9	100th percentile* (N=27675, 0Å - 99Å)
	Cβ deviations >0.25Å	2 (0.49%)	0 (0%)	0 (0%)	Goal: 0
	Bad bonds:	0 / 3495 (0%)	0 / 3495 (0%)	0 / 3495 (0%)	Goal: 0%
Bad angles:	32 / 4760 (0.67%)	12 / 4760 (0.25%)	12 / 4760 (0.25%)	Goal: <0.1%	
Peptide Omegas	Cis Prolines:	2/24 (8.33%)	2/24 (8.33%)	2/24 (8.33%)	Expected: ≤1 per chain, or ≤5%
Low-resolution Criteria	CaBLAM outliers	2 (0.5%)	3 (0.7%)	2 (0.5%)	Goal: <1.0%
	CA Geometry outliers	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	Goal: <0.5%

Lanjutan Tabel.3

Struktur Parameter	Parameter	Refine #03	Refine #04	Refine #05	Nilai Cut-off Parameter
All-Atom Contacts	Clashscore, all atoms, Clashscore is the number of serious steric overlaps (> 0.4 Å) per 1000 atoms	0.44	1.02	0.44	99th percentile* (N=1784, all resolutions)
Protein Geometry	Poor rotamers	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	Goal: <0.3%
	Favored rotamers	376 (99.73%)	374 (99.20%)	377 (100%)	Goal: >98%
	Ramachandran outliers	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	Goal: <0.05%
	Ramachandran favored	402 (97.34%)	402 (97.34%)	402 (97.34%)	Goal: >98%
	Rama distribution Z-score	-0.33 ± 0.37	-0.37 ± 0.38	-0.25 ± 0.39	Goal: abs(Z score) < 2
	MolProbity score [^]	0.78	0.93	0.78	100th percentile* (N=27675, 0Å - 99Å)
	Cβ deviations >0.25Å	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	Goal: 0
	Bad bonds:	0 / 3495 (0%)	0 / 3495 (0%)	0 / 3495 (0%)	Goal: 0%
Bad angles:	13 / 4760 (0.27%)	12 / 4760 (0.25%)	12 / 4760 (0.25%)	Goal: <0.1%	
Peptide Omegas	Cis Prolines:	2/24 (8.33%)	2/24 (8.33%)	2/24 (8.33%)	Expected: ≤1 per chain, or ≤5%
Low-resolution Criteria	CaBLAM outliers	1 (0.2%)	2 (0.5%)	2 (0.5%)	Goal: <1.0%
	CA Geometry outliers	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	Goal: <0.5%

Tabel 4. Hasil analisis validasi struktur tiga-dimensi pemodelan enzim GTS *Anopheles farauti* menggunakan ProSA dan SAVES v6.0

Model Protein	ProSA	ERRAT	Verf3D	PROCHECK				
				most favoured regions [A,B,L]	Additional allowed regions [a,b,l,p]	generously allowed regions [-a,-b,-l,-p]	disallowed regions	G-factors
MODEL #01	-8.97	94%	89.93%	363 (94.8%)	18 (4.7%)	0 (0.0%)	2 (0.5%)	-0.03
Refinel #01	-8.58	97%	86.33%	353 (92.2%)	29 7.(6%)	1 (0.3%)	0 (0.0%)	0.12
Refinel #02	-9.05	98.5%	88.49%	356 (93.0%)	26 (6.8%)	1 (0.3%)	0 (0.0%)	0.12
Refinel #03	-8.84	97.75	88.01%	356 (93.0%)	26 (6.8%)	1 (0.3%)	0 (0.0%)	0.12
Refinel #04	-8.82	97.25	86.57%	356 (93.0%)	26 (6.8%)	1 (0.3%)	0 (0.0%)	0.13
Refinel #05	-8.95	97	88.97%	356 (93.0%)	27 (7.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	0.12

SIMPULAN DAN SARAN

Enzim *Glutathione S-transferase* merupakan enzim yang berperan dalam detoksifikasi insektisida golongan organofosfat dan organoklorin. Studi pemodelan homologi Glutathione S transferase (GST) *Anopheles farauti* dapat digunakan dalam mempelajari struktur tiga-dimensi protein dan pengembangan insektisida baru melalui pendekatan model komputasi. Struktur model protein yang dihasilkan yaitu model Refine #01. Model ini selanjutnya dapat dikembangkan untuk pengembangan *insectisida discovery* melalui *molecular docking*, pendekatan pharmacophore dan *molecular dynamic*.

DAFTAR PUSTAKA

Buxbaum, E. (2015). Fundamentals of protein structure and function, second edition. Fundamentals of Protein Structure and Function, Second Edition, 1–521.

Filiz, E., & Koç, I. (2014). In silico sequence analysis and homology modeling of predicted beta-amylase 7-like protein in *Brachypodium distachyon* L. *J. BioSci. Biotech*, 3(1), 61–67.

Gasteiger, E., Hoogland, C., Gattiker, A., Duvaud, S., Wilkins, M. R., Appel, R. D., & Bairoch, A. (2005). Protein Identification and Analysis Tools on the ExPASy Server (J. M. Walker, Ed.; 1st ed., pp. 571–607.

Geourjon, C., & Deleage, G. (1995). SOPMA: significant improvements in protein secondary structure prediction by

consensus prediction from multiple alignments. In *CABIOS* (Vol. 11).

Grant, D. F., Dietze, E. C., & Hammock, B. D. (1991). Glutathione S-transferase isozymes in *Aedes aegypti*: Purification, characterization, and isozyme-specific regulation. *Insect Biochemistry*, 21(4), 421–433.

Lushington, G. H. (2015). Comparative modeling of proteins. *Methods in Molecular Biology*, 1215, 309–330.

Nelson, D. L., & Cox, M. M. (1982). Principles of Biochemistry. In *Cell Biology of Physarum and Didymium*.

Ranson, H., Rossiter, L., Ortelli, F., Jensen, B., Wang, X., Roth, C. W., Collins, F. H., & Hemingway, J. (2001). Identification of a novel class of insect glutathione S-transferases involved in resistance to DDT in the malaria vector *Anopheles gambiae*. *Biochemical Journal*, 359(2), 295–304.

Ruslin, R., Putri, S. R., & Arba, M. (2019). Pemodelan Homologi Protein Receptor Orphan Receptor-1 (ROR-1) Sebagai Target Terapi Chronic Lymphocytic Leukemia (CLL). *Pharmauho:Jurnal Farmasi, Sains, Dan Kesehatan*, 5(1), 1–6.

WHO. (2021). World malaria report 2021 (1st ed.). World Health Organization.

Wiederstein, M., & Sippl, M. J. (2007). ProSA-web: Interactive web service for the recognition of errors in three-dimensional structures of proteins. *Nucleic Acids Research*, 35(SUPPL.2), 407–410.