

**STUDI *DOCKING*, DINAMIKA MOLEKUL, DAN PREDIKSI
TOKSISITAS SENYAWA GOLONGAN ALKALOID SEBAGAI
INHIBITOR DIPEPTIDYL PEPTIDASE 4 (PADA PENYAKIT
DIABETES TIPE II)**

Laporan Akhir

**Yusril Ihza Mahendra
11171075**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2020**

ABSTRAK**STUDI *DOCKING*, DINAMIKA MOLEKUL, DAN PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA GOLONGAN ALKALOID SEBAGAI INHIBITOR DIPEPTIDYL PEPTIDASE 4 (PADA PENYAKIT DIABETES TIPE II)**

Oleh :

Yusril Ihza Mahendra**11171075**

Diabetes melitus (DM) merupakan kelainan metabolisme yang ditandai dengan resistensi terhadap insulin. Tujuan penelitian ini ialah untuk memperoleh kandidat senyawa yang potensial sebagai inhibitor DPP4 melalui studi *docking*, dinamika molekul dan prediksi toksisitas. Senyawa uji yang digunakan berasal dari basis data *CHEMBL Products*. Dari 16 senyawa uji, diperoleh 3 senyawa seperti CHEMBL3127986, CHEMBL2159749 dan CHEMBL460937 yang memiliki afinitas lebih baik dari ligan alami. Hasil *docking* terbaik yaitu senyawa CHEMBL3127986 menunjukkan nilai ΔG -9,04 kkal/mol dan nilai K_i 4,25 nM. Hasil simulasi dinamika molekul terhadap 3 senyawa selama 50ns, kemudian hasil simulasi dinamika molekul menunjukkan senyawa CHEMBL3127986 tidak menunjukkan kestabilan interaksi terhadap protein target *Dipeptidyl Peptidase 4* dibuktikan oleh grafik RMSD. Setelah itu dilakukan uji prediksi toksisitas dengan parameter meliputi tes Ames, tes karsinogenik dan prediksi kardiotoxikitas. Senyawa terbaik hasil *docking* CHEMBL3127986 diprediksikan bersifat mutagen. Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa CHEMBL3127986 dan 2 senyawa lainnya masih perlu dilakukan prediksi toksisitas secara komputasi terhadap parameter uji lainnya.

Kata kunci : Diabetes Mellitus, Dinamika Molekul, Docking DPP4 Reseptor, Prediksi Toksisitas.

ABSTRACT

***STUDY OF DOCKING, MOLECULAR DYNAMICS, AND TOXICITIES
PREDICTION OF ALKALOID COMPOUNDS AS DIPEPTIDYL PEPTIDASE 4
DPP-4 INHIBITORS (IN TYPE II DIABETES)***

By

Yusril Ihza Mahendra

11171075

***PREDICTION OF ALKALOID COMPOUNDS AS DIPEPTIDYL PEPTIDASE4
INHIBITORS (IN TYPE II DIABETES)***

By

Yusril Ihza Mahendra

11171075

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder characterized by insulin resistance. The purpose of this study was to obtain potential compound candidates as DPP4 inhibitors through studies docking, molecular dynamics and toxicity prediction. The test compounds used were derived from the ChEMBL Products database. From the 16 test compounds, 3 compounds [b1] were obtained, such as ChEMBL 3127986, ChEMBL2159749 and ChEMBL460937 which have better affinity than natural ligands. The result was docking best ChEMBL3127986 compound which showed G value 9.04 kcal/mol and Ki value 4.25 nM. The molecular dynamics simulation results for 3 compounds for 50ns, then the molecular dynamics simulation results show the ChEMBL3127986 compound does not show a stable interaction with the target protein Dipeptidyl Peptidase 4 as evidenced by the RMSD graph. After that, a toxicity prediction test was carried out with parameters including the Ames test, carcinogenic test and cardiotoxicity prediction. The best compound produced by docking ChEMBL3127986 is predicted to be a mutagen. So it can be concluded that the compound ChEMBL3127986 and 2 other compounds still need computational toxicity prediction for other test parameters.

Key words : Diabetes Mellitus, Docking, DPP4 Receptor, Molecular Dynamics, Toxicity Prediction.

LEMBAR PENGESAHAN

**STUDI *DOCKING*, DINAMIKA MOLEKUL, DAN PREDIKSI TOKSISITAS
SENYAWA GOLONGAN ALKALOID SEBAGAI INHIBITOR DIPEPTIDYL
PEPTIDASE 4 (PADA PENYAKIT DIABETES TIPE II)**

Laporan Tugas Akhir

**Yusril Ihza Mahendra
11171075**

Bandung, 20 Juni 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Dr. Apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si.)

NIDN. 0424117601



(apt. Purwaniati, M.Si.)

NIDN. 0403018206

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmannirrahim

Assalamu'alaikum Wr. Wb

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan laporan tugas akhir dengan judul “STUDI DOCKING, DINAMIKA MOLEKUL DAN PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA GOLONGAN ALKALOID SEBAGAI INHIBITOR DIPEPTIDYL PEPTIDASE 4 (PADA PENYAKIT DIABETES TIPE II)”

Dalam laporan tugas akhir ini penulis tidak lepas dari bimbingan serta dorongan dari berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Bapak Dr. apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si selaku dosen pembimbing utama yang telah mencurahkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan arahan serta saran didalam penulisan laporan tugas akhir ini.
2. Ibu Apt. Purwaniati, M.Si. selaku dosen pembimbing serta yang juga telah mencurahkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan arahan serta saran didalam penulisan laporan tugas akhir ini.
3. Bapak dan Ibu dosen selaku pengajar di fakultas farmasi Universitas Bhakti Kencana.
4. Yang tercinta Ibu, Umi, Ayah dan Teman-teman yang telah memberi dorongan moril dan materil selama penulisan laporan tugas akhir ini.
5. BEM STFB Kabinet Abhipraya Gajahsora yang telah memberikan banyak ilmu untuk saya.

Dalam penulisan tugas akhir ini penulis menyadari bahwa dalam tulisan ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk menyempurnakan tulisan ini.

Akhirnya penulis berharap semoga Allah Subhanahu wata'ala berkenan untuk memberikan balasan dan kemuliaan kepada pihak-pihak yang telah membantu penulis dalam pelaksanaan tugas akhir ini, dan kepada pihak-pihak yang telah memberikan kritik dan saran atas tersusun nya penelitian ini.

Bandung, 20 Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|------------|
| ABSTRAK | 2 |
| ABSTRACT | 3 |
| LEMBAR PENGESAHAN | i |
| KATA PENGANTAR | 2 |
| DAFTAR ISI | iii |
| BAB I. PENDAHULUAN | 5 |
| 1.1. Latar belakang | 5 |
| 1.2. Rumusan masalah..... | 6 |
| 1.3. Tujuan dan manfaat penelitian | 6 |
| 1.4. Hipotesis penelitian | 6 |
| 1.5. Tempat dan waktu Penelitian | 6 |
| BAB II. TINJAUAN PUSTAKA | 7 |
| II.1. Diabetes Melitus | 7 |
| II.2. Enzim DPP4 | 8 |
| II.3. Mekanisme Enzim DPP4 Terhadap Diabetes..... | 10 |
| II.4. Docking, Dinamika Molekul dan Prediksi Toksisitas | 10 |
| II.4.1. Docking..... | 11 |
| II.4.2. Simulasi Dinamika Molekul | 12 |
| II.4.3. Prediksi Toksisitas | 12 |
| BAB III. METODOLOGI PENELITIAN | 13 |
| BAB IV. PROSEDUR PENELITIAN | 14 |
| IV.1. Alat dan Bahan..... | 14 |
| IV.1.1. Alat | 14 |
| IV.1.2. Bahan..... | 14 |
| IV.2. Prosedur Penelitian | 14 |
| IV.2.1. Persiapan Target | 14 |
| IV.2.2. Persiapan Ligan | 15 |
| IV.2.3. Optimasi Geometri | 15 |
| IV.2.4. Penentuan Sifat Parameter Fisikokimia | 15 |
| IV.2.5. Validasi Docking..... | 15 |
| IV.2.6. Docking Senyawa Uji..... | 15 |

| | |
|--|-----------|
| IV.2.7. Simulasi Dinamika Molekul..... | 16 |
| IV.2.8. Prediksi Toksisitas..... | 16 |
| BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 17 |
| V.1. Persiapan Reseptor..... | 17 |
| V.2. Persiapan Ligan..... | 18 |
| V.3. Optimasi Geometri..... | 22 |
| V.4. Penentuan Parameter Sifat Fisikokimia..... | 23 |
| V.5. Validasi Docking..... | 25 |
| V.6. Docking Senyawa Uji..... | 26 |
| V.7. Simulasi Dinamika Molekul..... | 27 |
| V.7.1. Analisis RMSD Ligan-Reseptor..... | 27 |
| V.7.2. Analisis RMSF Ligan-Reseptor..... | 29 |
| V.7.3. Analisis MM/PBSA dan MM/GBSA Ligan-Reseptor..... | 31 |
| V.8. Prediksi Toksisitas..... | 32 |
| BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN..... | 34 |
| VI.1 Kesimpulan..... | 34 |
| VI.2 Saran..... | 34 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 35 |
| LAMPIRAN..... | 37 |
| LAMPIRAN 1 Daftar Senyawa Uji yang digunakan sebagai bahan penelitian..... | 37 |
| LAMPIRAN 2 Pemodelan Struktur 2D dan 3D senyawa uji..... | 41 |
| LAMPIRAN 3 Visualisasi Interaksi Senyawa uji..... | 45 |
| LAMPIRAN 4 Prediksi Toksisitas Senyawa Uji..... | 47 |

BAB I. PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Diabetes melitus (DM) adalah sekelompok gangguan metabolisme yang ditandai dengan hiperglikemia dan kelainan metabolisme karbohidrat, lemak, dan protein. (Wells et al., 2015). Penyakit diabetes melitus yang paling umum diderita oleh manusia adalah diabetes melitus tipe 2, biasanya terjadi pada orang dewasa, terjadi saat tubuh menjadi resisten terhadap insulin atau tidak menghasilkan cukup insulin (WHO, 2019). Prevalensi DM di Asia Tenggara menurut *International Diabetes Federation* pada tahun 2019, 88 juta orang dewasa hidup dengan diabetes, Angka ini diperkirakan meningkat menjadi 153 juta pada tahun 2045. Lebih dari separuh penderita diabetes (57%) di Kawasan Asia Tenggara tidak terdiagnosis. adalah 8,3%, dengan kasus yang tidak terdiagnosis sebesar 52,8%. Menurut infoDATIN pada tahun 2019 Indonesia menjadi satu-satunya negara di Asia Tenggara yang masuk dalam 10 negara dengan penderita diabetes terbanyak didunia, dimana negara Indonesia menduduki peringkat ke-7 dengan kasus sebanyak 10,7 juta dari banyaknya 430 juta kasus diseluruh dunia.

Diabetes tipe 1 dan diabetes tipe 2 adalah penyakit heterogen di mana presentasi klinis dan perkembangan penyakit dapat sangat bervariasi. Klasifikasi penting untuk menentukan terapi, tetapi beberapa individu tidak dapat secara jelas diklasifikasikan sebagai penderita diabetes tipe 1 atau tipe 2 pada saat diagnosis. Paradigma tradisional diabetes tipe 2 yang hanya terjadi pada orang dewasa dan diabetes tipe 1 hanya pada anak-anak tidak lagi akurat, karena kedua penyakit tersebut terjadi pada kedua kelompok usia. Anak-anak dengan diabetes tipe 1 biasanya datang dengan gejala khas poliuria / polidipsia, dan sekitar sepertiganya datang dengan ketoasidosis diabetik (DKA) Selanjutnya timbulnya diabetes tipe 1 mungkin lebih bervariasi pada orang dewasa, dan mungkin tidak muncul dengan gejala klasik yang terlihat pada anak-anak. Kadang-kadang, pasien dengan diabetes tipe 2 mungkin datang dengan DKA, terutama etnis minoritas dan Meskipun kesulitan dalam membedakan tipe diabetes dapat terjadi pada semua kelompok usia saat onset, diagnosis sebenarnya menjadi lebih jelas dari waktu ke waktu. (Care and Suppl, 2018).

Inhibitor Dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) adalah agen antihyperglikemik yang menghambat pemecahan bentuk aktif hormon incretin seperti peptida 1 glukagon (GLP-1). Hal ini menghasilkan peningkatan kadar plasma utuh, bentuk biologis aktif hormon incretin, yang menghasilkan peningkatan kontrol glikemik terutama melalui sekresi insulin yang dipicu glukosa dan penghambatan pelepasan glukagon oleh sel beta dan sel alfa pankreas. Penghambatan farmakologis dari DPP-4 mungkin merupakan pendekatan yang efektif untuk pengobatan diabetes tipe 2, beberapa inhibitor DPP-4 yang secara struktural beragam telah ditetapkan secara terapeutik, yang paling luas di antaranya adalah sitagliptin, vildagliptin, saxagliptin, linagliptin dan alogliptin. (Berger et al. 2018).

Docking dan dinamika molekul termasuk ke dalam bagian dari metode *in silico*, yang merupakan desain rasional dimana senyawa obat baru dirancang atau ditemukan menggunakan metode komputasi. Pada metode *in silico* dilakukan pendekatan pada suatu kondisi atau keadaan nyata ke dalam simulasi komputer menggunakan program-program tertentu dalam mendesain obat atau dikenal dengan computer-aided drug design (CADD) (Geldenhuis et al. 2006). Docking digunakan untuk memprediksi mode ikatan dua atau lebih molekul. Pada dua dekade penelitian, banyak metode yang berhasil untuk docking ligan untuk target makromolekul telah dikembangkan (Cosconati et al. 2010).

1.2. Rumusan masalah

1. Apakah senyawa turunan alkaloid *imidazole*, *indole* dan *pyrolidine* memiliki potensi sebagai inhibitor DPP-4 pada terapi diabetes mellitus tipe 2?
2. Apakah senyawa turunan alkaloid *imidazole*, *indole* dan *pyrolidine* memiliki potensi toksisitas yang berbahaya.

1.3. Tujuan dan manfaat penelitian

Mendapatkan kandidat senyawa potensial dengan pendekatan penambatan molekul, prediksi toksisitas pada 16 senyawa turunan alkaloid *imidazole*, *indole* dan *pyrolidine* sebagai inhibitor DPP-4 pada terapi diabetes mellitus tipe 2.

1.4. Hipotesis penelitian

Senyawa turunan alkaloid *imidazole*, *indole* dan *pyrolidine* memiliki potensi sebagai inhibitor DPP-4 pada terapi diabetes mellitus tipe 2.

1.5. Tempat dan waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Komputasi Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana.

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1. Diabetes Melitus

Diabetes mellitus merupakan penyakit sindrom metabolik yang ditandai dengan hiperglikemia yang disebabkan oleh insufisiensi insulin parsial atau total. Paparan hiperglikemia kronis dapat menyebabkan komplikasi mikrovaskuler pada retina, ginjal, atau saraf perifer (Egan and Dinneen, 2019).

Diabetes melitus diklasifikasikan menjadi dua kategori umum yaitu, DM tipe 1 yang disebabkan oleh defisiensi absolut insulin, serta DM tipe 2 yang disebabkan oleh adanya resistensi insulin dan disfungsi sel β . Jenis diabetes melitus tipe 1 merupakan 5% -10% dari subyek yang didiagnosis dengan diabetes melitus, terutama disebabkan oleh kerusakan autoimun sel-sel β pankreas melalui respon inflamasi yang dimediasi sel-T (insulitis) serta respon humoral (sel B) (Kharroubi, 2015). Akibatnya, ada kekurangan absolut insulin. Kombinasi kerentanan genetik dan faktor lingkungan seperti infeksi virus, racun, atau beberapa faktor makanan telah terlibat sebagai pemicu autoimunitas. DM tipe 1 paling sering terlihat pada anak-anak dan remaja meskipun dapat berkembang pada usia berapa pun (Zheng et al., 2018)

Terdapat dua patofisiologi utama yang mendasari terjadinya kasus DM tipe 2 secara genetik adalah Terganggunya fungsi sel β pankreas yang menyebabkan resistensi insulin. Kondisi umum bagi penderita obesitas sama halnya dengan Resistensi Insulin. Dikarenakan terlalu memaksa pancreas mengkompensasi untuk memproduksi insulin lebih banyak, Insulin tidak dapat bekerja sebagaimana mestinya atau secara optimal. Kadar glukosa dalam darah akan meningkat dikarenakan terjadinya produksi insulin oleh sel β pancreas yang tidak optimal tersebut sehingga terjadinya hiperglikemia kronik. Penyebab rusaknya sel β pancreas dan disatu sisi lain memperburuk keadaan resistensi insulin ialah Hiperglikemia kronik yang terjadi pada DM tipe 2 sehingga penyakit DM tipe 2 semakin menunjukkan kemajuannya. Pada kasus DM tipe 2, *Reactive oxygen species* (ROS) akan diproduksi oleh peristiwa sel β pancreas yang mengalami hiperglikemia sehingga jika ROS mengalami peningkatan secara berlebihan akan menyebabkan kerusakan pada sel β pankreas (Decroli, 2019).

Sumber bahan bakar utama tubuh adalah glukosa. Terjadi dimana Sel melakukan metabolisme pada glukosa sepenuhnya melalui glikolisis dan siklus krebs, sehingga

terdapat adenosin trifosfat (ATP) yang dihasilkan oleh proses tersebut lalu dijadikan sebagai energi. Dalam upaya mempertahankan kadar glukosa darah agar tetap normal, pancreas dengan fungsi sel β mampu melakukan penyesuaian terhadap produksi insulin. Pada kasus DM tipe 2 sering terjadi pancreas tidak lagi dapat memproduksi insulin yang cukup yang disebabkan oleh keadaan dimana lebih banyak insulin yang dikeluarkan yakni untuk mempertahankan kadar glukosa darah normal. Resistensi terhadap insulin terjadi pada jaringan adiposa, otot rangka dan hati. Pada proses pengambilan glukosa, Hati menjadi tidak responsive terhadap insulin dikarenakan adanya dua kali lipat ancaman seperti resistensi insulin dalam hati sehingga menyebabkan tidak terhentinya produksi glukosa setelah makan sehingga menyebabkan peningkatan pada kadar glukosa darah puasa dan pasca makan. (Marie , 2016). Beberapa obat antidiabetes sebagai inhibitor protein target kerja obat diabetes mellitus yang digunakan dalam pengobatan untuk menurunkan kadar gula dalam tubuh yang telah diketahui diantaranya, *alphaglucosidase*, *dipeptidyl peptidase-4* (DPP4), *glucagon-like peptide-1* (GLP-1) *receptor*, dan *sodium-glucose co-transporter-2* (SGLT2) (Pereira et al., 2019).

II.2. Enzim DPP4

Dipeptidyl peptidase-4 merupakan enzim serin protease yang terdistribusi luas dalam tubuh. Enzim ini memecah dua asam amino dari peptida kecil yang mengandung alanin atau prolin di posisi kedua peptide N-terminus (Flock et al., 2007). Ekspresi DPP4 secara substansial disregulasi dalam berbagai keadaan penyakit salah satunya diabetes melitus. Hormon inkretin merupakan substrat utama DPP4 pengatur pelepasan insulin setelah asupan makanan. Inhibitor DPP4 mengarah pada ketersediaan hayati yang lebih besar dari enzim ini dan akan memperpanjang waktu kerja hormon inkretin. Peningkatan kadar GLP-1 dianggap menjadi sumber mayoritas efek yang ditimbulkan pada pengobatan inhibitor DPP4 (Röhrborn et al., 2015).

Dalam kompleks enzim DPP4 teridentifikasi beberapa gerakan fungsional yang berkontribusi pada situs pengikatan dan gerakan memutar yang menyatakan bagaimana dua rantai enzim saling berhubungan dalam bentuk bioaktif mereka, yang didefinisikan sebagai rantai A dengan residu asam amino 40-767 dan rantai B dengan residu asam amino 40-767. Berdasarkan penelitian *Structural Dynamics of DPP4 and Its Influence on the Projection of Bioactive Ligands* teridentifikasi tiga situs pengikatan dengan residu asam amino yang berbeda di masing- masing rantai A dan B dan direkomendasikan

desain struktur mirip dengan 16 molekul yang hasil pencarian situs pengikatan menggunakan *FTSite* dan *FTMap* untuk mendapatkan kandidat inhibitor DPP4 yang efisien (Pantaleão et al., 2018).

Pendekatan pengobatan diabetes melitus tipe 2 berdasarkan target pengobatan hormon *glucagon-like peptide* (GLP-1), merupakan hormon yang di sekresikan ke dalam peredaran darah seiring dengan masuk nya makanan ke dalam tubuh. GLP-1 memiliki kemampuan untuk menstimulasi sekresi insulin dan menekan pelepasan glucagon dan meningkatkan massa sel β pankreas. Namun hormon ini cepat terinaktivasi oleh enzim DPP4. Inhibitor DPP4 akan meningkatkan kadar GLP-1 yaitu dengan cara memperpanjang masa kerja dari hormone GLP- 1 dimana akan memperbaiki sel β pankreas serta sekresi insulin dan akan mengontrol kadar gula dalam darah (Sutton et al., 2012).

Menurut *US food* dan *Federation Drug Administration* (FDA) terdapat beberapa obat yang digunakan sebagai sebagai terapi diabetes mellitus tipe 2 dengan mekanisme DPP4 inhibitor ialah sitagliptin, vildagliptin, dan saxagliptin namun sitagliptin yang masih diedarkan. Obat ini mempunyai mekanisme kerja menghambat degradasi dari GLP-1 dan GIP, dengan demikian meningkatkan level hormon inkretin. Sebagai hasilnya glukosa dan glukagon menurun dan insulin meningkat (Meece, 2007).

Struktur enzim dikristalkan DPP4 dapat ditemukan di Protein Data Bank

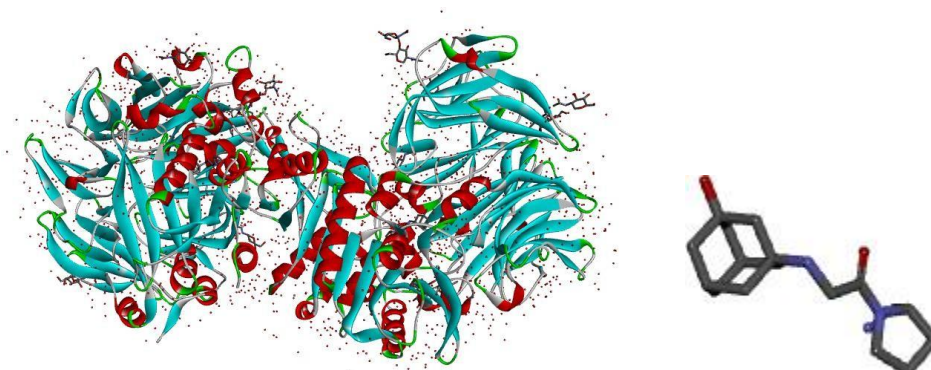
Enzim : *DPP4 – 6b1e*

Klasifikasi : *Hydrolase*

Organisme : *Homosapiens*

Metode : *X-Ray Diffraction*

Resolusi : 1,62Å



(a)

(b)

Gambar II.1. Enzim DPP4 (a) dan Ligan alami kode LF7 (b)

Sumber : <https://www.rcsb.org/structure/6B1E>

II.3. Mekanisme Enzim DPP4 Terhadap Diabetes

Glukagon-like peptide-1 (GLP1) merupakan hormon yang diekresikan dari sel-L usus ke dalam sirkulasi darah. Setelah mengikat reseptor G-protein berpasangan pada sel β , maka level cAMP intraseluler meningkat dan protein kinase, Epac 1 dan 2 diaktifkan, yang mengarah pada peningkatan sekresi insulin. Selanjutnya GLP-1 meningkatkan massa sel β dengan memediasi proliferasi dan diferensiasi serta menghambat apoptosis (Capuano et al., 2013).

Mekanisme kerja Inhibitor DPP4 adalah pada regulasi glukosa dengan memperpanjang efek GLP-1 dan GIP, maka akan meningkatkan sekresi insulin yang dimediasi glukosa dan menekan sekresi glukagon (Pratley and Salsali, 2007).

II.4. Docking, Dinamika Molekul dan Prediksi Toksisitas

Docking dan dinamika molekul termasuk ke dalam bagian dari metode *in silico*, yang merupakan desain rasional dimana senyawa obat baru dirancang atau ditemukan menggunakan metode komputasi. Pada metode *in silico* dilakukan pendekatan pada suatu kondisi atau keadaan nyata ke dalam simulasi komputer menggunakan program-program tertentu dalam mendesain obat atau dikenal dengan *computer-aided drug design* (CADD) (Geldenhuis et al., 2006).

CADD umumnya diklasifikasikan menjadi menjadi dua, yaitu *ligan-based drug design* (LBDD) dan *structure-based drug design* (SBDD). LBDD dilakukan apabila struktur 3D dari protein target tidak tersedia, sehingga desain obat dapat didasarkan dengan menggunakan ligan yang diketahui sebagai titik awal penelitian. Sedangkan pada SBDD dapat dilakukan jika terdapat informasi yang valid pada struktur 3D dan situs aktif dari protein target yang diperoleh dari kristalografi sinar-X, *nuclear magnetic resonance* (NMR) atau basis data struktur 3D, dan dimasukkan ke dalam model komputasi, sehingga senyawa yang mengikat target dapat dirancang. Teknik yang sering digunakan pada pendekatan SBDD ialah *docking* dan simulasi dinamika molekul (Lee et al., 2011).

II.4.1. Docking

Molecular docking atau penambatan molekul digunakan karena kemampuannya untuk memprediksi konformasi ligan dalam reseptor target dengan tingkat akurasi yang tinggi (Ferreira et al., 2015). Tujuan *docking* ialah untuk memprediksi interaksi ikatan antara molekul kecil (ligan) dan reseptor target dengan afinitas terbaik (Allouche, 2012).

Sebelum dilakukan studi *docking*, terlebih dahulu dilakukan optimasi geometri yang berfungsi untuk menentukan energi minimal atau terendah dari suatu molekul. Struktur senyawa dengan energi terendah dapat diinterpretasikan sebagai sistem dengan keadaan yang stabil. Senyawa hasil optimasi selanjutnya digunakan pada proses *docking* dan simulasi dinamika molekul. Optimasi geometri dapat dilakukan menggunakan metode mekanika molekul (MM) ataupun mekanika kuantum (MK). Pemilihan metode yang digunakan disesuaikan dengan kebutuhan penelitian (Stouten and Kroemer, 2006).

Menurut (Stouten and Kroemer, 2006), Tahapan penambatan molekul terdiri dari :

1. Algoritma Pencarian, yakni menentukan pose optimal yang mungkin dari suatu ligan terhadap reseptor, sehingga diperoleh pose paling stabil dari kompleks ligan-reseptor yang terbentuk. Ikatan akan terbentuk oleh peristiwa interaksi antara gugus fungsional dengan residu asam amino.
2. *Scoring*, yakni bertujuan untuk menghitung atau memprediksi afinitas pengikatan antara reseptor dan ligan yang terbentuk. Skor penilaian diberikan pada masing-masing pose yang akan diurutkan. Senyawa aktif dengan skor tertinggi ditetapkan sebagai pose ligan terhadap protein yang paling sesuai.

Sebelum dilakukan *docking* senyawa uji terhadap reseptor, terlebih dahulu dilakukan proses validasi *docking* (*re-docking*). Interpretasi hasil validasi *docking* dapat dilihat dari nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). RMSD ialah parameter yang menggambarkan suatu metode *docking* dalam memproses maupun mengalkulasi interaksi antara ligan dengan reseptor (Tan, 2013). Metode *docking* dapat dinyatakan apabila nilai RMSD kurang dari 2 Å, artinya metode *docking* yang digunakan memberikan hasil simpangan yang tidak besar, sehingga dapat digunakan untuk melakukan *docking* senyawa uji (López-Camacho et al., 2016).

Setelah validasi *docking*, dilakukan *docking* dengan senyawa uji untuk mengetahui pose interaksi dan afinitas pengikatan senyawa uji pada sisi aktif reseptor target. Interpretasi hasil dapat dilihat dari nilai energi bebas ikatan (ΔG) dan konstanta inhibisi (K_i).

Keduanya berkaitan dengan afinitas pengikatan, serta analisis interaksi ikatan yang terjadi antara ligan dan reseptor target (misalnya ikatan ionik, ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik dan lain-lainnya) (Syahputra et al., 2014; Marlina, 2017).

Metode penambatan molekul mengasumsikan bahwa reseptor dan ligan bersifat kaku, namun pada kenyataannya reseptor dan ligan bersifat fleksibel dan dinamik. Sehingga dilakukan metode simulasi dinamika molekul untuk mengeksplorasi pergerakan serta perubahan posisi yang terjadi (Farkhani, 2012).

II.4.2. Simulasi Dinamika Molekul

Simulasi dinamika molekul merupakan simulasi komputer yang digunakan untuk menganalisis interaksi antara atom dan molekul sebagai fungsi waktu berdasarkan parameter hukum fisika. Simulasi dinamika molekul digunakan untuk menggambarkan pola, kekuatan, serta sifat aktifitas dari suatu protein tertentu. Protein target disini merupakan reseptor target suatu obat yang digunakan dalam desain obat baru. Kekuatan suatu molekul dihitung menggunakan komputer untuk mengetahui pergerakan molekul tersebut (Vlachakis et al., 2014)

Analisis hasil simulasi dinamika molekul diantaranya RMSD (Root Mean Square Deviation), RMSF (Root Mean Square Fluctuation), interaksi ikatan hidrogen antara reseptor dengan ligan, MM/PBSA dan MM/GBSA (Molecular Mechanics combined with Poisson-Boltzmann or Generalized Born and Surface Area) serta nilai energi bebas ikatan (ΔG).

II.4.3. Prediksi Toksisitas

Sistem biologi akan diuji dengan mendeteksi efek toksik suatu zat yang dinamakan uji toksisitas. Data yang diperoleh dapat memberi informasi derajat bahaya suatu zat apabila terpapar, yang ditunjukkan demi keamanan manusia (KB POM RI, 2014). Metode pengujian toksisitas secara *in silico* umumnya mengacu pada percobaan komputasi, perhitungan matematis dan analisis ilmiah suatu senyawa menggunakan algoritma komputasi yang dirancang untuk menghasilkan prediksi toksisitas, digunakan dalam pengujian hipotesis ilmiah atau analisis keamanan suatu senyawa (Vedani and Smiesko, 2009) Prediksi toksisitas berbasis web dilakukan meliputi tes ames, tes karsinogenisitas terhadap hewan pengerat dan prediksi risiko kardiotoxikisitas (*Yonsei Engineering Research*, 2017).

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

Metodologi yang digunakan pada penelitian ini meliputi metode *docking* dan simulasi dinamika molekul. Tahapannya antara lain persiapan reseptor, persiapan ligan, optimasi geometri senyawa uji, validasi metode *docking*, *docking* senyawa uji dengan reseptor, dan prediksi Toksisitas.

Persiapan target dilakukan dengan mengunduh struktur 3D Enzim DPP4 yang diperoleh dari www.rscb.org dengan kode 61BE dan dilakukan perbaikan terhadap enzim tersebut.

Persiapan ligan dilakukan dengan mengunduh struktur senyawa uji yang diperoleh dari basis data <http://zinc.docking.org/> dan digambar ulang dengan perangkat lunak *ChemOffice* v.12.0.2 meliputi pemodelan struktur 2D dan 3D. Optimasi geometri senyawa uji dengan metode *Density Functional Theory* (DFT) dengan basis set 6-31G dan fungsi B3LYP menggunakan perangkat lunak *Gaussian09*, selanjutnya dilakukan penentuan nilai HOMO-LUMO dan *gap energy* dilakukan beserta sifat fisikokimia untuk mengetahui karakteristik senyawa uji.

Validasi metode *docking* menggunakan perangkat lunak *Autodock* v.4.2.3 enzim DPP4 dengan ligan alami, dan interpretasi hasil dilihat dari nilai RMSD, dikatakan valid jika nilai RMSD kurang dari 2 Å. Selanjutnya dilakukan studi *docking* antara enzim DPP4 dan senyawa uji menggunakan parameter yang sudah tervalidasi, kemudian dilakukan interpretasi hasil antara lain nilai ΔG (energi bebas ikatan), nilai K_i (konstanta inhibisi) dan interaksi ikatan yang terbentuk antara ligan dengan reseptor.

Senyawa terbaik hasil dari studi *docking* dilanjutkan ke simulasi dinamika molekul menggunakan perangkat lunak AMBER v.18 untuk melihat kestabilan interaksi reseptor-ligan dari waktu ke waktu dan menyimulasikan interaksi keduanya pada keadaan yang mendekati fisiologis tubuh manusia, kemudian dilakukan interpretasi hasil antara lain RMSD, RMSF, interaksi ikatan hidrogen antara reseptor dengan ligan, MM/PBSA dan MM/GBSA serta nilai ΔG (energi bebas ikatan).