

***VIRTUAL SCREENING SENYAWA INHIBITOR β -SITE APP CLEAVING
ENZYME 1 (BACE-1) SEBAGAI ANTIALZHEIMER BERBASIS
PHARMACOPHORE MODELING DAN MOLECULAR DOCKING***

Laporan Tugas Akhir

**Moch Fauzi Anwar T
11171145**



**Universitas Bhakti Kencana
Fakultas Farmasi
Program Strata I Farmasi
Bandung
2021**

ABSTRAK***VIRTUAL SCREENING SENYAWA INHIBITOR β -SITE APP CLEAVING ENZYME 1 (BACE-1) SEBAGAI ANTIALZHEIMER BERBASIS PHARMACOPHORE MODELING DAN MOLECULAR DOCKING*****Oleh:****Moch Fauzi Anwar T****11171145**

Alzheimer adalah penyakit neurodegeneratif progresif kronis, Terakumulasinya peptida β -amiloid di otak merupakan ciri patologis Alzheimer. Satu orang berusia di atas 65 tahun dari sepuluh orang di dunia dengan penyakit Alzheimer, Indonesia peringkat keempat lansia terbanyak di dunia. Oleh sebab itu diperkirakan jumlah penderita Alzheimer setiap tahun akan meningkat, Pada pencarian senyawa obat baru yang dilakukan secara *in silico*, β -SITE APP CLEAVING ENZYME 1 (BACE-1) adalah enzim yang penting untuk pengobatan alzheimer. Penelitian ini bertujuan untuk mencari kandidat senyawa obat baru berdasarkan metode *virtual screening* berbasis *pharmacophore modeling* dan *molecular docking* menggunakan database ZINC Natural Product. Validasi berbasis farmakofor menunjukkan ada 4 jenis fitur farmakofor yaitu *Hyrophobic*, *Positive Ionizable*, *Hydrogen Bond Acceptor*, dan *Hydrogen Bond Donor* dengan nilai AUC 0,59 dan EF 30,60 menghasilkan 295 dari 151.837 senyawa. Untuk validasi berbasis *molecular docking* dengan *vina wizard* didapatkan nilai 0,84 dan EF: 51,11 menghasilkan 55 senyawa dari nilai binding affinity ligan alami yaitu -8,40 kkal/mol. Sedangkan validasi *autodock wizard* didapatkan nilai 0.55 dengan EF: 51.00 menghasilkan 22 senyawa dari nilai binding energy ligan alami yaitu -8,59 kkal/mol. Didapatkan yang diduga berpotensi sebagai antialzheimer, 3 hits terbaik yaitu ZINC32123980, ZINC85597385, dan ZINC85628869, memiliki ikatan *salt bridge* pada hits ZINC32123980 dan ZINC85628869 yang berikatan dengan residu asam amino ASP80.

Kata Kunci: Alzheimer, *molecular docking*, *pharmacophore modeling*, β -Site App Cleaving Enzyme 1, *virtual screening*.

ABSTRACT***VIRTUAL SCREENING OF β -SITE APP CLEAVING ENZYME 1 (BACE-1) INHIBITOR BASED ON PHARMACOPHORE MODELING AND MOLECULAR DOCKING***

By:
Moch Fauzi Anwar T
11171145

Alzheimer's is a chronic progressive neurodegenerative disease, Accumulation of β -amyloid peptide in the brain is a pathological feature of Alzheimer's. One person aged over 65 years out of ten people in the world with Alzheimer's disease, Indonesia ranks fourth in the world's most elderly people. Therefore, it is estimated that the number of Alzheimer's sufferers every year will increase every year. In the search for new drug compounds carried out in silico, β -SITE APP CLEAVING ENZYME 1 (BACE-1) is an enzyme that is important for the treatment of Alzheimer's. This study aims to find candidates for new drug compounds based on virtual screening methods based on pharmacophore modeling and molecular docking using the ZINC Natural Product database. Pharmacophore-based validation shows that there are 4 types of pharmacophore features, namely Hydrophobic, Positive Ionizable, Hydrogen Bond Acceptor, and Hydrogen Bond Donor with AUC values of 0.59 and EF 30.60 yielding 295 of 151,837 compounds. For molecular docking-based validation with Vina Wizard, the value was 0.84 and EF: 51.11 yielded 55 compounds from the binding affinity value of natural ligands, namely -8.40 kcal/mol. While the autodock wizard validation obtained a value of 0.55 with EF: 51.00 yielding 22 compounds from the binding energy value of natural ligands, namely -8.59 kcal/mol. It was found that the three best hits, namely ZINC32123980, ZINC85597385, and ZINC85628869, had salt bridge bonds in hits ZINC32123980 and ZINC85628869 which bind to the amino acid residue ASP80.

Keywords: *Alzheimer, molecular docking, pharmacophore modeling, β -Site App Cleaving Enzyme 1, virtual screening.*

LEMBAR PENGESAHAN

***VIRTUAL SCREENING SENYAWA INHIBITOR β -SITE APP CLEAVING
ENZYME 1 (BACE-1) SEBAGAI ANTIALZHEIMER BERBASIS
PHARMACOPHORE MODELING DAN MOLECULAR DOCKING***

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

**Moch Fauzi Anwar T
11171145**

Bandung, 23 Juni 2021

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



(Dr. apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si.)
NIDN. 0424117601



(apt. Deden Indra Dinata, M.Si.)
NIDN. 0417097602

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum warrohmatullohi wabarokatuh

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena berkat rahmat, hidayah dan karunia-NYA maka penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan tepat waktu. Shalawat serta salam semoga tercurahkan kepada Rasulullah SAW, keluarga dan sahabatnya.

Penulisan tugas akhir ini merupakan suatu persyaratan untuk menyelesaikan Program Studi Sarjana Strata Satu pada Program Studi Farmasi di Universitas Bhakti Kencana Bandung.

Laporan tugas akhir yang berjudul : **“Virtual Screening Senyawa Inhibitor β -Site App Cleaving Enzyme 1 (Bace-1) Sebagai Antialzheimer Berbasis Pharmacophore Modeling dan Molecular Docking”**. Dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan, bimbingan serta dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu dalam kesempatan ini penulis dengan senang hati menyampaikan terimakasih kepada :

1. Bapak H. Mulyana, SH, M.Pd., MH.Kes. selaku ketua Yayasan Adhiguna Kencana
2. Bapak Dr. apt. Entris Sutrisno, S.Farm., MH, Kes., selaku rektor di Universitas Bhakti Kencana Bandung
3. Dr. apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si. selaku pembimbing utama yang telah menyempatkan waktu, pikiran dan arahan mulai dari awal penulisan sampai akhir.
4. apt. Deden Indra Dinata, M.Si. selaku pembimbing serta yang telah menyempatkan waktu, pikiran dan arahan mulai dari awal penulisan sampai akhir.
5. Orangtua, nenek, kakek dan keluarga yang selalu memberikan dukungan moril, materil serta motivasi dan doanya.
6. Keluarga besar organisasi PFC terkhusus angkatan 2017 yang selalu memberi dukungan moril.
7. Dosen-dosen Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana Bandung yang telah memberikan ilmunya dengan penuh sabar kepada kami.
8. Rekan-rekan kelas FA4 terkhususnya rekan FISABILILLAH yang bersedia menjadi pendengar dan memberikan dukungan serta semangat dalam menyelesaikan skripsi.
9. Kang M. Fatan Antafani, S.Farm dan teh Syifa Ayu Wiguna, S.Farm selaku mentor yang selalu membantu dan membimbing penulis dalam proses penelitian
10. Rekan-rekan satu angkatan 2017 yang telah memberikan semangat serta dukungan selama penyusunan Tugas Akhir ini.
11. Rekan-rekan seperjuangan Kimia Medisinal yang bersama-sama berjuang dalam segala hal dan semua pihak yang telah membantu yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Atas segala kekurangan dan ketidaksempurnaan skripsi ini, penulis sangat mengharapkan masukan, kritik dan saran yang bersifat membangun kearah perbaikan dan penyempurnaan skripsi ini. Alhamdulillah dapat penulis atasi dan selesaikan dengan baik. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT.

Bandung, 23 Juni 2021

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR.....	iv
DAFTAR ISI.....	i
DAFTAR GAMBAR.....	iv
DAFTAR TABEL.....	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG.....	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Identifikasi Rumusan Masalah	2
I.3 Tujuan Penelitian dan manfaat penelitian.....	2
I.4 Hipotesis Penelitian	2
I.5 Waktu dan Tempat	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Penyakit Alzheimer.....	4
II.1.1 Epidemiologi dan Etiologi.....	5
II.1.2 Patofisiologi	6
II.1.3 Terapi Alzheimer	6
II.2 Peran Inhibitor beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE-1) pada penyakit Alzheimer.....	7
II.3 Kimia Komputasi.....	8
II.3.1 <i>Active set compound</i>	9
II.3.2 <i>Decoy Set Compound</i>	10
II.3.3 <i>Molecular Docking</i>	10
II.3.4 <i>Validasi Virtual Screening</i>	10
II.3.5 <i>Database</i>	13
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	14
BAB IV ALAT DAN BAHAN.....	15
IV.1 Alat	15
IV.2 Bahan	15
BAB V PROSEDUR PENELITIAN.....	16

V.1. Preparasi struktur protein target.....	16
V.1.1. Pencarian dan pengunduhan struktur protein	16
V.2. Preparasi dataset	16
V.2.1. Pemilihan dataset senyawa aktif	16
V.2.2. Konversi hasil dataset senyawa aktif	16
V.2.3. Pencarian dataset senyawa tidak aktif.....	16
V.3. Penapisan virtual berbasis farmakofor	16
V.3.1. Konversi dataset senyawa aktif dan senyawa tidak aktif.....	16
V.3.2. Optimasi ligan alami.....	17
V.3.3. Pemodelan farmakofor.....	17
V.3.4. Validasi model farmakofor	17
V.3.5. Penapisan virtual database dengan model farmakofor.....	17
V.3.6. Analisis hasil virtual screening	18
V.4. Penapisan virtual berbasis <i>molecular docking</i> menggunakan <i>PyRx Screening Tool 0.8</i>	18
V.4.1. Pemisahan struktur protein dengan ligan	18
V.4.2. Lokasi target penambatan menggunakan <i>autodock wizard</i>	18
V.4.3. Lokasi target penambatan menggunakan <i>vina wizard</i>	18
V.4.4. Validasi penapisan virtual menggunakan <i>vina wizard</i>	19
V.4.5. Validasi penapisan virtual menggunakan <i>autodock wizard</i>	19
V.5. Penapisan virtual database berbasis <i>docking</i>	20
BAB VI HASIL DAN PEMBAHASAN.....	21
VI.1. Struktur protein B -Site App Cleaving Enzyme.....	21
VI.2. Database, dataset senyawa aktif dan dataset senyawa pengecoh.....	21
VI.2.1 Database	21
VI.2.2 Dataset senyawa aktif dan senyawa pengecoh	22
VI.3. Penapisan virtual berbasis farmakofor	22
VI.3.1 Model farmakofor.....	22
VI.3.2 Validasi model farmakofor	23
VI.3.3 Penapisan Virtual Database Dengan Model Farmakofor	25
VI.4. Penapisan Virtual Berbasis <i>Molecular Docking</i> menggunakan <i>PyRx Screening Tool 0.8</i>	26
VI.4.1 Lokasi target penambatan	26
VI.4.2 Validasi penapisan virtual menggunakan <i>vina wizard</i>	28
VI.4.3 Penapisan virtual database berbasis <i>docking</i>	29
VI.5. Interaksi senyawa uji terbaik.....	30
BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN	34
VII.1. Kesimpulan	34

VII.2. Saran.....	34
DAFTAR PUSTAKA	35
LAMPIRAN.....	38

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Struktur reseptor β -site APP cleaving enzyme 1 (6FGY).....	8
Gambar 6. 2 Protein β -site app cleaving enzyme (6FGY) (a) dan ligan D9W (b).....	21
Gambar 6. 3 Fitur awal farmakofor ligan alami D9W	23
Gambar 6. 4 fitur farmakofor model 14 dan ROC	25
Gambar 6. 5 Visualisasi <i>overlay</i> ligan alami hasil <i>re-docking</i> menggunakan <i>autodock wizard</i>	27
Gambar 6. 6 Visualisasi <i>overlay</i> ligan alami hasil <i>re-docking</i> menggunakan <i>vina wizard</i>	28
Gambar 6. 7 Kurva ROC hasil validasi penapisan virtual menggunakan <i>Vina Wizard</i> (a) dan <i>Autodock Wizard</i> (b).....	29

DAFTAR TABEL

Tabel VI. 1 Database ZINC <i>Natural Products</i>	21
Tabel VI. 2 Parameter Validasi Model Farmokofor.....	24
Tabel VI. 3 Hasil Penapisan Virtual Terhadap Database ZINC <i>Natural Product</i> Berdasarkan Pemodelan Farmakofor Model 14	26
Tabel VI. 4 Ukuran <i>Gridbox</i> Dan <i>Grid Center</i> Untuk Validasi <i>Re-Docking</i> Menggunakan <i>Autodock Wizard</i>	27
Tabel VI. 5 Ukuran <i>gridbox</i> dan <i>grid center</i> untuk validasi <i>re-docking</i> menggunakan <i>vina wizard</i>	27
Tabel VI. 6 Hasil penapisan virtual database berbasis <i>docking</i> menggunakan <i>vina wizard</i>	29
Tabel VI. 7 Interaksi Senyawa Uji Terbaik Dengan Residu Asam Amino.....	30
Tabel VI. 8 Visualisasi interaksi senyawa uji terbaik	32

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Dataset senyawa aktif.....	38
Lampiran 2 Kandidat Hits Terbaik <i>Autodock Wizard</i>	39

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	MAKNA
2D	Dua Dimensi
3D	Tiga Dimensi
ACC	<i>Accuracy</i>
AUC	<i>Area Under Curve</i>
BACE-1	<i>β-Site App Cleaving Enzyme 1</i>
EF	<i>Enrichment Factor</i>
GH	<i>Goodness of Hit-list</i>
KEMENKES	Kementrian Kesehatan
Kkal	<i>Kilo Kalori per Mol</i>
NDMA	<i>N-Methyl-D-aspartate</i>
nM	<i>Nano Molar</i>
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
ROC	<i>Receiving Operating Curve</i>
SE	<i>Sensitivitas</i>
SP	<i>Spesifitas</i>
Ya	<i>Yield of actives</i>

BAB I PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Penyakit Alzheimer adalah penyakit neurodegeneratif progresif kronis yang menyerang sebagian besar orang di dunia (Alzheimer's Statistic, 2015). Pada tahun 2015 Menurut statistik penyakit Alzheimer, sekitar 44 juta orang di seluruh dunia menderita penyakit Alzheimer. Diperkirakan tahun 2050 jumlahnya akan meningkat tiga kali lipat di (AAIC, 2015). Saat ini, satu orang berusia di atas 65 tahun dari sepuluh orang di dunia, dan kebanyakan orang dengan penyakit Alzheimer termasuk dalam kelompok usia tersebut (Alzheimer's Association, 2015). Indonesia menduduki peringkat keempat untuk jumlah lansia terbanyak di dunia dengan peningkatan keseluruhan lansia jauh lebih pesat dibanding negara lain, yakni tahun 2010 naik ke angka 9,77% dari 7,18% pada tahun 2000. Angka ini diperkirakan akan meningkat menjadi 11,34% ($\pm 28,8$ juta jiwa) pada tahun 2020. Meskipun prevalensi Alzheimer di Indonesia belum diketahui, dengan peningkatan ini, diperkirakan jumlah penderita Alzheimer setiap tahun akan meningkat $\pm 3,4\%$ - 4% (Kemenkes RI, 2012).

Alzheimer juga menjadi penyebab utama kematian bagi lansia di atas 75 tahun. Di dunia, Alzheimer menduduki peringkat keempat penyebab kematian tertinggi. Di Australia, penyakit Alzheimer merupakan penyebab kematian nomor tiga setelah penyakit jantung dan stroke, dengan angka prevalensi 7% (10.369 orang). Bahkan di Amerika Serikat, Alzheimer termasuk dalam 6 penyebab kematian yang tidak dapat dicegah, diobati, atau pun diperlambat progresivitasnya (Alzheimer's Association, 2015). Selain itu, Alzheimer menimbulkan beban finansial akibat tingginya biaya pengobatan dan perawatan yang dibutuhkan oleh penderita Alzheimer. Di Amerika Serikat, biaya ini berjumlah ± 226 miliar US dolar pada tahun 2015 dan diperkirakan akan mencapai $\pm 1,1$ triliun US dolar pada tahun 2050 (Alzheimer's Association, 2015).

Demensia telah menyebar secara universal dan menjadi masalah sosial utama yang bahkan menimbulkan beban moneter bagi penderitanya dan orang-orang di sekitarnya. Demensia dapat dibagi menjadi beberapa bentuk yang menyebabkan penyakit Alzheimer (AD), demensia vaskular (VaD), dan demensia dengan badan Lewy (Muller *et al.*, 2007). Alzheimer menimbulkan berbagai gangguan medis yang meliputi gangguan memori, berpikir, disorientasi waktu, tempat dan orang, gangguan visuospasial, gangguan bicara dan menulis, kehilangan motivasi dan inisiatif hingga, perubahan mood, perilaku dan kepribadian. Semua gejala ini berlangsung secara bertahap, progresif, dan tidak dapat disembuhkan, sehingga penderita akan mengalami 2 kesulitan dalam menjalankan kegiatan harian dan tidak bersosialisasi (Duran-Gonzales *et al.*, 2013).

Penyakit Alzheimer adalah gangguan neurologis yang berdampak pada neuron otak dan transmisi saraf, mengakibatkan hilangnya memori, kerusakan dalam perubahan perilaku bahasa dan masalah dengan pencarian spasial visual dll (Wu *et al.*, 2012). Terakumulasinya peptida β -amiloid di otak merupakan ciri patologis Alzheimer. Penelitian selama 30 tahun terakhir telah menunjukkan bahwa pembentukan abnormal atau akumulasi *peptida β -amiloid* ($A\beta$) mungkin merupakan kejadian awal utama dalam perkembangan patologis Alzheimer. β -amiloid diproduksi oleh pembelahan proteolitik dari *amiloid protein prekursor* (APP) oleh β -1 APP lyase (BACE1). Dalam penelitian pada hewan dan uji coba pada manusia, telah terbukti bahwa penghambatan kimiawi BACE1 dapat mereduksi β -amiloid (Das & Yan, 2017).

Metode pengembangan obat paling mutakhir salah satunya Berdasarkan metode *in silico*. Metode kimia komputasi telah dikembangkan dan digunakan secara luas dalam pengembangan dan pengujian hipotesis farmakologis (Ekins *et al.*, 2007). Metode kimia komputasi memberikan hasil pengujian yang jauh lebih memadai dari prediksi teoritis, mudah untuk digunakan, tidak mahal dan aman (Rode *et al.*, 2007). Metode yang di gunakan yaitu virtual skrining.

Virtual Screening adalah teknik komputasi yang digunakan untuk menyaring senyawa potensial terhadap protein target spesifik dari perpustakaan senyawa kimia. Tujuannya untuk mengurangi jumlah senyawa obat, menghambat protein target secara lebih efisien, hingga jumlah yang dapat dikelola.

I.2 Identifikasi Rumusan Masalah

1. Senyawa apakah yang berpotensi sebagai *Inhibitor β -site APP cleaving enzyme 1* (BACE-1) ?
2. Bagaimana interaksi senyawa herbal dengan *β -site APP cleaving enzyme 1* (BACE-1) yang berperan untuk penyakit Alzheimer ?

I.3 Tujuan Penelitian dan manfaat penelitian

1. Untuk mendapatkan kandidat senyawa aktif sebagai *Inhibitor β -site APP cleaving enzyme 1* (BACE-1) pada penyakit Alzheimer menggunakan metode *virtual screening*.
2. Untuk mengetahui interaksi yang terjadi antara senyawa yang terpilih dan *Inhibitor β -site APP cleaving enzyme 1* (BACE-1).

I.4 Hipotesis Penelitian

Diduga *Inhibitor β -site APP cleaving enzyme 1* (BACE-1) berpotensi sebagai kandidat senyawa obat terbaik sebagai terapi antialzheimer.

I.5 Waktu dan Tempat

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Maret 2021 – Juli 2021. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Komputasi Universitas Bhakti Kencana Jl. Soekarno Hatta No. 754 Bandung, Jawa Barat.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Penyakit Alzheimer

Penyakit Alzheimer adalah cedera otak yang ditandai dengan penurunan konsentrasi, daya ingat, dan kepribadian. Fungsi kognitif penderita penyakit Alzheimer tidak akan hilang sekaligus. Fungsi tereduksi pertama adalah konsentrasi dan memori. Ketika pasien menjadi kurang spontan, lebih apatis dan menarik diri, perubahan kepribadian terjadi. Ketika pasien menjadi sering dan hilang, orang kurang memperhatikan masalah diri dan perilaku. Pasien akan tersesat saat memperhatikan waktu, lokasi, dan identitasnya. Jika penderita kurang berbicara atau memiliki riwayat alkoholisme atau penyakit syaraf, seperti stroke atau penyakit Parkinson, kondisi ini akan semakin parah (Sarafino E. P., 2006).

Memori adalah proses menyimpan dan mengeluarkan informasi yang diperoleh dari proses pembelajaran. Penyimpanan dan penarikan kembali informasi yang disimpan dilakukan oleh sinyal saraf (melewati neuron ke neuron berikutnya melalui batas antara neuron yang disebut sinapsis) (Lynch, 2004).

Penyakit Alzheimer merupakan manifestasi dari penyakit seperti demensia yang lambat laun akan bertambah parah dan menyebabkan kematian. Dipercaya bahwa penyakit Alzheimer terjadi karena penumpukan β -amiloid, yang mengarah ke plak di jaringan otak. Normalnya, β -amyloid tidak membentuk plak yang dapat menyebabkan kerusakan sistem saraf otak. Namun, akibat misfolding protein, plak dapat merangsang kematian sel saraf. Para ahli percaya bahwa penyakit Alzheimer, seperti penyakit kronis umum lainnya, disebabkan oleh banyak faktor. Adapun alasan atau faktor penyebab seseorang menderita penyakit Alzheimer antara lain:

A. Usia

Merupakan faktor terbesar penyakit Alzheimer. Rata - rata penderita pada usia 65 tahun bahkan lebih. Meskipun begitu pada usia kurang dari 65 tahun dapat terkena Alzheimer tetapi jarang terjadi, oleh karena itu faktor risiko terbesar adalah usia

B. Riwayat Keluarga

Orang tua, saudara atau saudari kandung, dengan riwayat Alzheimer lebih mungkin terjangkit penyakit ini di bandingkan dengan orang tanpa riwayat keluarga dengan Alzheimer. Faktor keturunan (genetika) dengan faktor gaya hidup dan lingkungan atau keduanya bisa menjadi faktornya.

C. Pendidikan atau Pekerjaan

Sebagian peneliti percaya bahwa faktor lain dapat berperan dapat mengungkap peningkatan risiko demensia, pada orang dengan pendidikan rendah. Hal ini cenderung di karenakan pekerjaannya kurang membiasakan untuk stimulasi otak . Selain itu, tingkat pendidikan yang lebih rendah dapat mencerminkan status sosial ekonomi yang lebih rendah, yang dapat meningkatkan kemungkinan seseorang mengalami malnutrisi dan mengurangi kemampuan seseorang untuk membayar biaya pengobatan atau mendapatkan perawatan yang direkomendasikan.

D. *Traumatic Brain Injury* (TBI)

Peningkatan risiko penyakit Alzheimer akibat *Traumatic Brain Injury* (TBI), yaitu disfungsi otak normal yang disebabkan oleh benda asing yang mengenai kepala atau menembus kepala. Bisa juga didefinisikan sebagai cedera kepala yang menyebabkan hilangnya kesadaran. Dibandingkan dengan tanpa cedera kepala, cedera kepala dua risiko terjadinya penyakit, Alzheimer dan demensia lainnya (Alzheimer's Association, 2015).

II.1.1 Epidemiologi dan Etiologi

Konsensus Delphi bahwa prevalensi demensia telah meningkat 10% dibandingkan publikasi sebelumnya. Diperkirakan ada 35,6 juta orang dengan demensia pada tahun 2010, dua kali lipat setiap 20 tahun, 65,7 juta pada tahun 2030, dan 115,4 juta pada tahun 2050. Diperkirakan jumlah penderita demensia di Asia Tenggara akan meningkat dari 2 menjadi 48 juta pada tahun 2010 dan 5,3 juta pada tahun 2030. (PPK Diagnosis dan Penatalaksanaan Demensia, 2015).

Demensia Alzheimer meningkat pesat di seluruh dunia. Saat ini diperkirakan jumlah orang yang didiagnosis demensia di dunia mendekati 46,8 atau 50 juta, dan 20,9 juta di wilayah Asia-Pasifik, ada kurang lebih 10 juta kasus baru setiap tahunnya. Di Indonesia sendiri, diperkirakan 1,2 juta orang menderita demensia pada tahun 2016, yang akan meningkat menjadi 2 juta pada tahun 2030 dan 4 juta pada tahun 2050 (Alzheimer's Indonesia, 2019).

Genetika Penyebab pasti penyakit Alzheimer tidak jelas. Namun, beberapa faktor genetik dan lingkungan telah dieksplorasi sebagai penyebab potensial. Faktor genetik berhubungan dengan stadium awal dan akhir DA, meskipun bentuk herediter utama DA terjadi pada kurang dari 1% kasus. Lebih dari separuh onset dini, terutama DA herediter, dapat dikaitkan dengan perubahan pada kromosom 1, 14, atau 21. Perubahan ini sangat mempengaruhi pemrosesan protein membran besar yang disebut *amiloid protein prekursor* (APP). Protein prekursor amiloid biasanya dipecah oleh tiga sekretase utama- α -, β - dan γ -sekretase menjadi 38 hingga 43 fragmen β -*amiloid peptida* ($A\beta$) panjang peptida yang non-patologis dan potensial. Fragmen patologis. Di antara enzim ini, α -sekretase bertanggung jawab untuk memastikan bahwa APP

dipecah menjadi fragmen non-patologis. Perubahan relatif pada aktivitas sekretase β dan / atau γ mungkin terbukti patologis. Perubahan relatif dalam aktivitas β - dan / atau γ secretase dapat membuktikan patologis. Akibatnya, enzim ini dapat dianggap sebagai target terapi potensial (DiPiro *et al.*, 2020).

II.1.2 Patofisiologi

Lesi khas Alzheimer termasuk plak amiloid dan *neurofibrillary tangles* (NFT) yang terletak di korteks serebral dan struktur lobus temporalis medial. Dengan patologi ini, degenerasi neuron dan sinapsis dan atrofi kortikal terjadi. Tidak jelas apakah atau bagaimana lesi ini pada akhirnya terlibat dalam perkembangan gejala Alzheimer. Ini terutama benar, karena bahkan dalam kondisi penuaan normal, plak dan NFT ditemukan pada penyakit lain. Yang penting, bagaimanapun, dibandingkan dengan kelompok kontrol yang disesuaikan, subjek yang terkena Alzheimer tampak memiliki beban plak dan NFT yang lebih tinggi pada usia muda. Beberapa mekanisme telah diajukan untuk menjelaskan perubahan otak yang menyebabkan gejala Alzheimer, termasuk kesalahan pelipatan protein (agregasi dan deposisi $A\beta$ menyebabkan pembentukan dan kekusutan plak), kegagalan sinaptik dan penipisan neurotrofin dan neurotransmitter, serta disfungsi mitokondria. (stres oksidatif, gangguan sinyal insulin di otak, cedera vaskular, proses inflamasi, hilangnya regulasi kalsium, dan kerusakan metabolisme kolesterol) (DiPiro *et al.*, 2020).

II.1.3 Terapi Alzheimer

1. Terapi Farmakologis

Penghambat *ChE* (Donepezil, *Rivastigmine* dan *Galantamine*) adalah pengobatan farmakologis untuk gejala kognitif. Penghambat *ChE* telah disetujui oleh FDA untuk pengobatan Alzheimer. Pedoman merekomendasikan penggunaan inhibitor *ChE* sebagai pengobatan yang berharga untuk Alzheimer, dan penggunaan *memantine* untuk mengobati Alzheimer sedang hingga berat. Beberapa studi head-to-head yang membandingkan inhibitor *ChE* telah menyimpulkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan dalam hasil klinis, jadi seseorang harus memilih satu *ChE* daripada yang lain berdasarkan mekanisme kerja yang berbeda, reaksi yang merugikan, dan jadwal titrasi. Antagonis reseptor *NMDA Memantine* adalah antagonis non-kompetitif dari reseptor glutamat tipe *NMDA*, yang terletak di seluruh otak. Ini mengatur aktivitas seluruh otak dengan mengontrol jumlah kalsium yang memasuki sel saraf, yang merupakan proses penting untuk membangun lingkungan yang diperlukan untuk penyimpanan informasi. Glutamat yang berlebihan menstimulasi reseptor *NMDA* secara berlebihan sehingga

terlalu banyak kalsium yang masuk ke dalam sel dan mengganggu pemrosesan informasi. Memantine memblokir reseptor *NMDA* dapat melindungi neuron dari glutamat berlebihan tanpa mengganggu neurotransmisi normal (Marie A *et al.*, 2016).

2. Terapi non-farmakologis

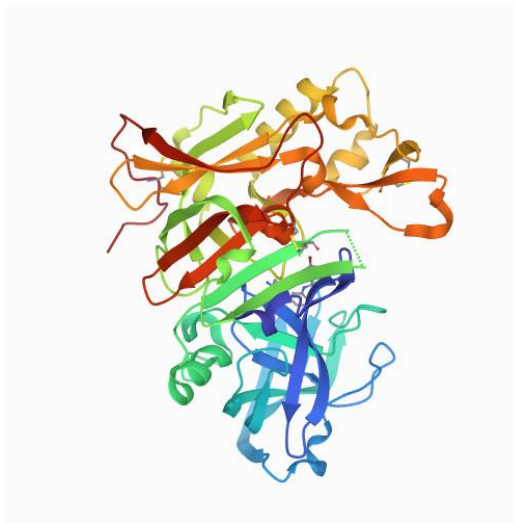
Penyakit Alzheimer berdampak besar pada pasien dan keluarganya. Intervensi non-farmakologis saat ini merupakan intervensi utama untuk mengelola Alzheimer, dan pengobatan harus digunakan dalam konteks intervensi multimodal. Gejala neuropsikiatri adalah salah satu gejala penyakit yang paling menantang dan menyusahkan, dan mungkin menjadi faktor penentu dalam keputusan keluarga untuk mencari perawatan di rumah sakit. Yang terbaik adalah menggunakan intervensi perilaku daripada terapi obat untuk mengontrol gejala gangguan tidur, pengembaraan, inkontinensia urin, kegelisahan dan agresi pada pasien dengan demensia. Setelah diagnosis awal, pasien dan pengasuh harus dididik tentang perjalanan penyakit, prognosis, perawatan yang tersedia, keputusan hukum, dan masalah kualitas hidup. Strategi pengasuhan juga harus dibahas, termasuk teknik manajemen stres dan pemilihan kelompok pendukung (DiPiro *et al.*, 2020).

II.2 Peran Inhibitor beta-site amyloid precursor protein cleaving enzyme 1 (BACE-1) pada penyakit Alzheimer

Hipotesis amiloid menunjukkan bahwa akumulasi dan oligomerisasi peptida A β di otak memainkan peran penting dalam patogenesis Alzheimer. Telah ditetapkan dengan jelas bahwa kelebihan produksi A β oleh protease aspartik BACE-1 dan oligomerisasi selanjutnya menghasilkan oligomer amiloid toksik yang memicu degenerasi saraf. BACE-1 membelah *β -amiloid protein prekursor* (APP) dan membentuk sekitar 90% *peptida A β* . Aktivitas BACE-1 endogen meningkat di otak pasien Alzheimer dengan sporadis. Selain itu, bukti yang muncul menunjukkan peningkatan signifikan BACE-1 dengan adanya faktor risiko Alzheimer lainnya, seperti cedera otak traumatis, stroke, dan kejadian kardiovaskular, yang menunjukkan bahwa BACE1 adalah protein respons stres dan aktivitasnya meningkat selama kejadian terkait faktor risiko AD (Jannat *et al.*, 2019).

BACE-1 (*Beta-site Amyloid precursor protein Cleaving Enzyme*) merupakan target utama pengobatan penyakit Alzheimer karena mengkatalisis langkah pertama dalam pemrosesan APP (*amiloid protein prekursor*). BACE-1 memproses *β amiloid peptida* (A β) yang diproduksi oleh APP dan sekretase gamma, yang diyakini memicu peristiwa downstream pada akhirnya mengarah pada hipotesis amiloid yang diterima secara luas yang mengarah pada neurodegenerasi (veenstra, 2018).

Enzim *beta-sekretase 1* (BACE1, memapsin-2, Asp-2; beta-site APP-cleaving enzyme 1) penting dalam pembentukan plak pikun; Pendekatan pengobatan dapat dilakukan dengan menargetkan situs aktifnya (Asp 32 dan Asp 228) untuk memblokir aktivitas enzim (Hwang *et al.*, 2008). Pendekatan pengobatan ini tidak dapat digunakan dengan jenis sekretase lain, seperti sekretase gamma, karena penghambatan sekretase gamma dapat memiliki beberapa efek samping yang mempengaruhi aktivitas reseptor Notch dan beta-sekretase 2 (BACE2, memapsin-1, Asp- 1; beta-site APP-cleaving enzyme 2), yang merupakan homolog dari BACE1 yang diekspresikan dalam jumlah kecil di neuron (Gravenfors *et al.*, 2012).



Gambar 2. 1 Struktur reseptor β -site APP cleaving enzyme 1 (6FGY)

“Crystal Structure of Human BACE-1 in Complex with amino-1,4-oxazine compound 4”

Classification : HYDROLASE

Organism : *Homo Sapiens*

Method : X-ray Diffraction

Resolution : 1.54 Å

Ligan alami : D9W (C₁₇ H₁₇ Br N₄ O₂)

~{N}-[3-[(3~{R})-5-azanyl-3-methyl-2,6-dihydro-1,4-oxazin-3-yl]phenyl]-5-bromanyl-pyridine-2-carboxamide

Released : 2018-06-06

II.3 Kimia Komputasi

Salah satu metode pengembangan obat terbaru adalah berdasarkan metode komputasi (*in silico*). Metode kimia komputasi telah dikembangkan dan digunakan secara luas dalam pengembangan dan pengujian hipotesis farmakologis (Ekins *et al.*, 2007). Kimia komputasi

merupakan ilmu yang menghubungkan kimia teori dengan kimia eksperimental, karena kimia komputasi memiliki kelebihan tersendiri dibandingkan dengan kimia eksperimental.

Virtual screening bagian dari kimia komputasi (*in silico*). Kimia komputasi merupakan cabang kimia dengan menggunakan hasil kimia teori yang diterjemahkan ke dalam program komputer untuk menghitung sifat-sifat molekul dan perubahannya maupun melakukan simulasi terhadap sistem-sistem besar (makromolekul seperti protein atau sistem banyak molekul seperti gas, cairan, padatan, dan kristal cair), dan program tersebut diterapkan pada sistem kimia nyata (Intan, 2011).

Virtual screening adalah perluasan logis berdasarkan pencarian basis data farmakofor tiga dimensi (3D) atau penggabungan molekul, yang secara otomatis dapat mengevaluasi basis data gabungan yang besar. Menurut pandangan ini, metode skrining virtual dapat dibagi menjadi dua kategori, *docking-based virtual screening* (DBVS) dan *pharmacophore-based virtual screening* (PBVS) (Chen *et al.*, 2009). Terdapat 2 kategori umum *virtual screening* yaitu :

1. *Ligan based virtual screening*

Yaitu bertujuan untuk menemukan kandidat suatu obat menggunakan model farmakofor. LBVS dipilih ketika tidak ada struktur tiga dimensi (3D) dari protein target yang tersedia. Metode LBVS menggambarkan suatu protein atau reseptor dengan suatu molekul sebagai ligan tentang interaksinya (Reddy *et al.*, 2007).

2. *Structure based virtual screening*

Yaitu Digunakan dengan metode komputasi untuk memprediksi ikatan protein target. Menggunakan struktur tiga dimensi (3D) dari target yang telah diketahui yang diperoleh dari X-Ray, NMR, atau pemodelan komputasi. Tujuan SBVS adalah memprediksi posisi ikatan molekul kecil (ligan) menggunakan penambatan molekuler (*docking*) dan memprediksi energi bebas dari molekul tersebut (*scoring*) (Alvarez & Shoichet, 2005).

II.3.1 *Active set compound*

Active set compound adalah senyawa yang sudah terbukti aktif dan memiliki aktivitas yang diinginkan dari database lain sesuai dengan data yang diinginkan. Untuk memilih *active set compound* yaitu dengan mengaksesnya secara langsung pada ChEMBL (Gaulton *et al.*, 2012). ChEMBL adalah database bioaktivitas skala besar terbuka yang berisi informasi yang sebagian besar diekstraksi secara manual dari literatur kimia kedokteran. Informasi mengenai senyawa yang diuji (termasuk strukturnya), uji biologis atau fisikokimia yang dilakukan pada senyawa ini, dan target uji ini dicatat dalam bentuk terstruktur, yang memungkinkan pengguna untuk menjawab berbagai pertanyaan tentang penemuan obat.

II.3.2 *Decoy Set Compound*

Decoy set compound merupakan dataset yang berisikan senyawa-senyawa yang sudah dipastikan tidak aktif dan tidak memiliki aktivitas sebagai obat yang diinginkan. *Decoy set compound* dapat diperoleh dengan bantuan perangkat lunak penunjang, yaitu DecoyFinder atau bisa juga diunduh melalui situs Dude.docking.org (A. Cereto-Massagué et al., 2012).

II.3.3 *Molecular Docking*

Molecular docking adalah suatu desain obat dan biologi molekuler struktural dengan bantuan komputer. Tujuannya untuk memprediksi model pengikatan dan interaksi dari ligan dengan protein struktur tiga dimensi yang dikenal (Liu et al., 2018).

Molecular docking adalah metode komputasi yang dapat memprediksi posisi dan mengoreksi konformasi antara ligan dan reseptor ketika dua molekul membentuk kompleks yang stabil, sehingga memberikan pengetahuan tentang afinitas pengikatan di antara keduanya. (Cerqueira et al., 2015). Proses *docking* dilakukan dengan berbagai persiapan perangkat lunak komputer seperti *Autodock* dan *Autodock Vina*. *Autodock* adalah sebuah perangkat lunak yang digunakan untuk melakukan suatu prosedur dalam memprediksikan interaksi sebuah molekul kecil dari suatu senyawa dengan molekul target. Sedangkan *Autodock Vina* tidak memerlukan penggunaan atau pemilihan jenis penanda atom dan pra-kalkulasi *grid* tetapi pada perhitungan *grid* dilakukan pada jenis atom yang diperlukan (Yanuar, 2012).

II.3.4 *Validasi Virtual Screening*

Validasi yang dilakukan pada metode permodelan farmakofor dengan LigandScout 4.3 adalah dengan melihat nilai AUC dan EF yang memenuhi standar dari hasil rasio antara satu set senyawa aktif dan satu set senyawa decoy yang ditampilkan dalam kurva ROC yang memberikan ringkasan visual serta numeric dari predictor yang berbeda dengan indeks kerja yang sederhana dapat diterima. Kurva ROC mewakili distribusi yang ideal, tidak ada tumpang tindih antara skor molekul senyawa aktif dan tidak aktif. Kurva ROC yang ideal dapat divisualisasikan sebagai garis lurus horizontal kearah sudut kanan atas dimana semua senyawa aktif dan tidak aktif diambil, yang sesuai dengan spesifitas dan sensitifitasnya.

Dari hasil kurva ROC akan menampilkan model farmakofor yang baik yang selanjutnya dapat dilanjutkan dalam proses skrining dengan database senyawa uji. Dalam kurva ROC akan ditampilkan beberapa informasi seperti jumlah senyawa yang dapat dikenali oleh Aplikasi yang biasa dengan senyawa hit, kurva plot hasil validasi, nilai AUC serta persentasi hasil EF (Braga & Andrade, 2013).

Parameter-parameter yang berlaku pada LigandScout 4.3 yaitu *Faktor Pengayaan (EF)*, *Sensitivitas (Se)*, *Spesifitas (Sp)*, *Accuracy (ACC)*, *Yield of actives (Ya)*, dan *Goodness of Hit-list (GH)* (Braga & Andrade, 2013).

1. Faktor Pengayaan (EF)

Daftar yang diurutkan secara acak tidak lebih baik dari pengukuran faktor pengayaan. Perhitungan persentase dari database yang di saring metode yang paling sering digunakan dan sederhana. kurva KOP menampilkan nilai EF dengan otomatis di *LigandScout* 4.3. jika $EF > 1.0$ berarti menunjukkan nilai EF berkualitas dan efektif.

2. Sensitivitas (Se)

Nilai presentase senyawa yang sangat aktif pada penyaringan adalah Kepekaan atau sensitivitas. Didefinisikan senyawa positif sejati dari yang diperoleh sebagai perbandingan (TP) pada seluruh senyawa aktif pada database, yaitu total TP dan senyawa negatif palsu (FN) dan Rangkum sebagai proporsi pengamatan positif yang diklasifikasikan dengan benar. Nilai sensitivitas bisa dalam kisaran 0 hingga 1. Dimana $Se = 0$ berarti pencarian tidak menemukan senyawa aktif apapun dalam database, dan $Se = 1$ berarti pencarian telah menemukan semua senyawa aktif.

3. Spesifisitas (Sp)

Spesifisitas merupakan *virtual screening* dengan tepat menolak pengukuran fraksi senyawa yang sama sekali tidak aktif. Diartikan sebagai yang tertolak senyawa negatif (TN), dibagi oleh total TN dan total senyawa positif palsu (FP). Persentase Senyawa tidak aktif apabila berkisar 0-1 kekhususannya. Spesifisitas dapat berkisar dari 0 hingga 1. Kasus terburuknya adalah bahwa *inactives* semua salah dipilih sebagai aktif yang ditentukan karena $Sp = 0$, sedangkan selama proses penyaringan yang benar untuk semua senyawa tidak aktif akan tertolak dengan nilai $Sp = 1$.

4. Accuracy (ACC)

Accuracy (ACC) adalah menampilkan persentase molekul dan klasifikasikan dengan baik.

5. Yield of actives (Ya)

Evaluasi virtual screening dengan hasil aktif (Ya) ini paling populer digunakan, Senyawa aktif yang dibawa (TP) berkaitan dengan ukuran daftar hit yang ditunjukkan oleh ukuran deskriptor.











6. Goodness of Hit-list (GH)

Digabungkan hasil aktif, spesifisitas, dan sensitivitas oleh GH. Ukuran yang berguna mengevaluasi adalah model farmakofor karena dianggap keduanya rasio aktif dan rasio tidak aktif. Kuantitas senyawa aktif biasanya dari pada aktif dalam, Jumlah senyawa aktif biasanya berbobot lebih tinggi dari pada yang aktif dalam hit-list. Contohnya, Se yaitu 1 / 4 dan Ya yaitu 3/4. Jadi nilai rendah rasio negatif dan palsu tinggi aktif pada saat yang sama akan mencapai nilai GH yang tinggi (Braga & Andrade, 2013).

7. Area Under Curve (AUC)

AUC dapat dihitung sebagai jumlah dari semua persegi panjang yang dibentuk oleh sensitivitas dan spesifisitas dengan nilai untuk ambang batas yang berbeda. Sebuah nilai AUC yang tinggi menunjukkan klasifikasi yang lebih baik. Kinerja sempurna dari skrining secara komputasi memberikan AUC yang baik apabila menunjukkan nilai AUC pada rentang 0,50 = 1,0. Nilai AUC yang kurang dari 0,50 menunjukkan bahwa sejumlah senyawa inaktif lebih tinggi dibandingkan senyawa aktif yang dikenal *software* (Braga & Andrade, 2013).

Tabel II. 1 Fitur-Fitur Farmakofor dalam *LigandScout 4.3*

No.	Ikon Fitur	Fitur Farmakofor
1.		<i>Hydrogen Bond Donor</i> (Ikatan Donor Hidrogen)
2.		<i>Hydrogen Bond Acceptor</i> (Ikatan Akseptor Hidrogen)
3.		<i>Positive Ionizable Area</i> (Area Ionisasi Positif)
4.		<i>Negative Ionizable Area</i> (Area Ionisasi Negatif)
5.		<i>Hydrophobic Interactions</i> (Interaksi Hidrofobik)
6.		<i>Aromatic Ring</i> (Cincin Aromatik)
7.		<i>Iron Binding Location</i> (Lokasi Ikatan Besi)
8.		<i>Zinc Binding Location</i> (Lokasi Ikatan Seng)
9.		<i>Magnesium Binding Location</i> (Lokasi Ikatan Magnesium)
10.		<i>Excluded Volume</i>

II.3.5 Database

Database uji merupakan sekumpulan data yang susunannya dapat digunakan untuk memfasilitasi penggunaannya untuk tujuan analitis. *Database* bisa diperoleh dari *ZINC Natural Product* yang dapat diakses pada *zinc.docking.org* (Irwin *et al.*, 2012)

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

Pada pemilihan senyawa-senyawa dari database senyawa herbal yang diduga memiliki efek sebagai obat untuk penyakit Alzheimer dengan metode kimia komputasi (*in silico*). Senyawa-senyawa tersebut dipilih dari database ZINC *Natural Product*. Metode yang digunakan yaitu *pharmacophore modeling* dan *molecular docking*.

Pemodelan farmakofor dimulai dengan validasi senyawa antara *active set compound* dan *decoy set compound* terhadap fitur-fitur farmakofor yang terdapat pada ligan alami dari protein β -site APP cleaving enzyme 1 (ID PDB : 6FGY), yang kemudian akan digunakan sebagai fitur pemandu untuk pemilihan senyawa dari *database Natural Product*. Senyawa yang terbukti aktif diperoleh dari ChEMBL. Sedangkan untuk senyawa yang terbukti tidak aktif diperoleh dengan bantuan perangkat lunak *DecoyFinder*. Kemudian dilakukan pemodelan farmakofor dengan menggunakan perangkat lunak *LigandScout*.

Dilakukan validasi terhadap model farmakofor hingga memenuhi syarat menggunakan kurva ROC. Dinyatakan valid apabila kurva ROC yang dihasilkan menunjukkan nilai *Area Under Curve* (AUC) lebih dari 0,5 dan nilai *Enrichment Factor* (EF) lebih dari 1,0. Setelah memenuhi syarat, model farmakofor digunakan untuk menyaring *database* menggunakan parameter *virtual screening*.

Hasil *virtual screening* dari Aplikasi PyRx 0.8 digunakan untuk menyaring hasil virtual skrining dari pemodelan farmakofor melalui *molecular docking*, termasuk *wizard vina* dan *wizard docking* otomatis. Proses validasi *docking* dilakukan dengan melihat hasil RMSD melalui *vina wizard*. RMSD yang memenuhi persyaratan kurang dari 2Å. Sedangkan proses validasi *virtual screening* dilakukan menggunakan Aplikasi *autodock wizard*. Senyawa yang memiliki energi ikatan bebas lebih kecil dari ligan alami dapat dikatakan sebagai kandidat senyawa terbaik.