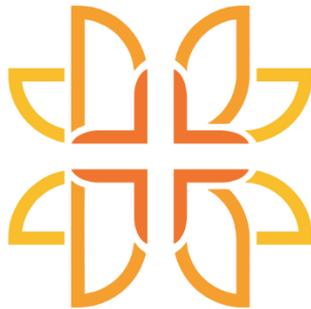


***VIRTUAL SCREENING SENYAWA AGONIS β 2 ADRENERGIK SEBAGAI
KANDIDAT BRONKODILATOR BERBASIS *PHARMACOPHORE MODELING* DAN
*MOLECULAR DOCKING****

Laporan Tugas Akhir

RIDWAN YUSUF ALFIANSYAH

191FF04062



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

ABSTRAK**VIRTUAL SCREENING SENYAWA AGONIS β 2 ADRENERGIK SEBAGAI
KANDIDAT BRONKODILATOR BERBASIS *PHARMACOPHORE MODELING*
DAN *MOLECULAR DOCKING*****Oleh:****Ridwan Yusuf Alfiansyah
191FF04062**

Asma merupakan penyakit pada saluran pernapasan yang bersifat kronis. Asma merupakan masalah kesehatan yang banyak ditemukan di masyarakat dan memiliki angka kesakitan dan kematian yang tinggi. Asma tidak hanya menyerang anak-anak melainkan seluruh kelompok usia. Saat ini diperkirakan sebanyak 235 juta orang menderita asma di dunia. Pada pencarian senyawa obat baru yang dilakukan secara *in silico*, agonis β 2 adrenergik adalah bronkodilator yang sangat efektif yang bekerja dengan meningkatkan aktifitas adenyl cyclase sehingga meningkatkan produksi intraseluler siklik AMP (*adenosine mono fosfat*). Beta 2 adrenergik ini dijumpai di sepanjang saluran pernapasan. 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 9 jenis fitur farmakofor yaitu 2 ikatan hidrofobik, 1 ikatan hidrogen acceptor, 1 ion positive ionizable dan 5 ikatan donor hidrogen dengan nilai AUC 0,57 dan EF 35,27 menghasilkan 163 dari 151.837 senyawa. Untuk validasi berbasis *molecular docking* dengan *vina wizard* dan *autodock wizard* didapatkan nilai AUC yaitu 0,628 untuk *vina wizard* dan 0,5 untuk *autodock wizard*. Nilai EF yang didapatkan yaitu 50,92 untuk *vina wizard* dan 52,02 untuk *autodock wizard*. Didapatkan 3 hits terbaik yang diduga berpotensi sebagai bronkodilator yaitu senyawa ZINC85594101, ZINC70705358, ZINC70704619

Kata Kunci: Asma, agonis β 2 adrenergik, molecular docking, pharmacophore modeling, *virtual screening*.

ABSTRACT**VIRTUAL SCREENING OF β 2 ADRENERGIC AGONIST COMPOUNDS AS A CANDIDATE FOR BRONCODILATOR BASED ON PHARMACOPHORE MODELING AND MOLECULAR DOCKING****By:****Ridwan Yusuf Alfiansyah
191FF04062**

Asthma is a chronic respiratory disease. Asthma is a health problem that is commonly found in the community and has a high mortality and mortality rate. Asthma not only attacks children, but all age groups. It is currently estimated that as many as 235 million people suffer from asthma in the world. In the in silico research for new drug compounds, 2 agonists are very effective bronchodilators that work by increasing adenyl cyclase activity thereby increasing the intracellular production of cyclic AMP (adenosine mono phosphate). This beta 2 adrenergic is found throughout the respiratory tract. This study aims to find new drug candidates based on a virtual screening method based on pharmacophore modeling and molecular docking of the ZINC Natural Product database. This shows that there are 9 pharmacophore features, namely 2 hydrophobic qualities, 1 valid hydrogen acceptor, 1 ionizable positive ion and 5 hydrogen hydrogen donors with AUC values of 0.57 and EF 35,27, produce 163 of 151,837 compounds. For molecular docking-based validation with vina wizard and autodock wizard, the AUC value is 0,628 for vina wizard and 0,5 for autodock wizard. The EF value obtained is 50,92 for the vina wizard and 52,02 for the autodock wizard. The best 3 hits that were suspected as bronchodilators were ZINC85594101, ZINC70705358, ZINC70704619 compounds.

Keywords: *Asthma, β 2 adrenergic agonists, molecular docking, pharmacophore modeling, virtual screening.*

LEMBAR PENGESAHAN

***VIRTUAL SCREENING SENYAWA AGONIS β 2 ADRENERGIK
SEBAGAI KANDIDAT BRONKODILATOR BERBASIS
PHARMACOPHORE MODELING DAN MOLECULAR
DOCKING***

Laporan Tugas Akhir

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan Sarjana Farmasi

**Ridwan Yusuf Alfiansyah
191FF04062**

Bandung, 16 Januari 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



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



(Apt. Purwaniati, M.Si.,)
NIDN. 0403018206

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Warohmatullohi Wabarokatuh

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat Rahmat dan Karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi ini dengan tepat waktu. Shalawat serta salam semoga tercurahkan kepada Rasulullah SAW, keluarga dan para sahabatnya.

Penulisan Tugas Akhir ini merupakan suatu persyaratan untuk menyelesaikan Program Studi Sarjana Strata Satu pada Program Farmasi di Universitas Bhakti Kencana Bandung. Laporan Tugas Akhir yang berjudul "*Virtual Screening Senyawa Agonis β_2 Adrenergik Sebagai Kandidat Bronkodilator 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 terima kasih kepada yang terhormat:

1. Dr. apt. Fauzan Zein M., M.Si selaku pembimbing utama yang telah menyempatkan waktu, pikiran dan arahan mulai dari awal penulisan sampai akhir.
2. Apt. Purwaniati, M.Si selaku pembimbing serta yang telah menyempatkan waktu, pikiran dan arahan mulai dari awal penulisan sampai akhir.
3. Seluruh jajaran dosen Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana yang telah memiliki pengaruh besar terhadap proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.
4. Kedua orangtua penulis, Bapak Dudy Hariady dan Ibu Ria Laela serta keluarga yang selalu mendoakan dan memberi semangat dalam bentuk moril maupun materil.
5. Mochamad Fauzi Anwar selaku rekan *virtual screening* yang selalu bertukar informasi serta memberikan dukungan yang sangat luarbiasa
6. Teman-teman seperjuangan Kimia Medisinal dan Angkatan 2017 yang selalu memberikan semangat dan dukungan dan telah berjuang bersama-sama untuk menyelesaikan studi di Universitas Bhakti Kencana.
7. Saudari Ernawati dan rekan Poltekkes Kemenkes Bandung selaku rekan penulis yang selalu menemani hari-hari, memberi semangat dan motivasi.

8. Semua pihak yang telah membantu kelancaran Tugas Akhir ini yang tidak bisa penulis sebutkan satu per satu.

Penulis menyadari bahwa tugas akhir ini belum sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun dari rekan-rekan sangat dibutuhkan untuk penyempurnaan skripsi ini. Dan penulis berharap semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat khususnya bagi penulis dan pembaca umumnya serta dapat menambah ilmu pengetahuan di masa mendatang.

Bandung, 23 Juni 2021



Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	x
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Manfaat Penelitian	2
1.5 Waktu dan Tempat Penelitian	2
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	3
II.1 Penyakit Asma	3
II.1.1 Pengertian	3
II.2 β2 Agonis	3
II. 3 <i>Dataset dan Database</i>	4
II. 3. 1 <i>Active set compound</i>	4
II. 3. 2 ChEMBL	5
II. 3. 3 <i>Decoy Set Compound</i>	5
II. 4 <i>Virtual Screening</i>	5
II. 5 <i>PyRx</i>	6
II. 6 <i>Protein Data Bank</i>	6
II. 7 Model Farmakofor	7
II. 8 <i>Molecular Docking</i>	8
II. 9 <i>Validasi Molecular Docking</i>	8
II. 10 <i>Validasi Virtual Screening</i>	8
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	12
BAB IV. ALAT DAN BAHAN	13
IV. 1 Alat	13
IV. 2 Database dan Dataset	13

BAB V. PROSEDUR	14
V.1 Preparasi struktur protein target	14
V.1.1 Pencarian dan pengunduhan struktur protein	14
V.2 Preparasi dataset	14
V.2.1 Pemilihan dataset senyawa aktif	14
V.2.2 Konversi hasil active set compound	14
V.2.3 Pencarian dataset senyawa tidak aktif	14
V.3 Penapisan virtual berbasis farmakofor	15
V.3.1 Konversi dataset senyawa aktif dan senyawa tidak aktif	15
V.3.2 Optimasi ligan alami	15
V.3.3 Pemodelan farmakofor	15
V.3.4 Validasi model farmakofor	15
V.3.5 Penapisan virtual database dengan model farmakofor	16
V.3.6 Analisis hasil virtual screening	16
V.4 Penapisan virtual berbasis <i>molecular docking</i> menggunakan <i>PyRx Screening Tool 0.8</i>	16
V.4.1 Pemisahan struktur protein dengan ligan	16
V.4.2 Lokasi target penambatan menggunakan <i>autodock wizard</i>	16
V.4.3 Lokasi target penambatan menggunakan <i>vina wizard</i>	16
V.4.4 Validasi penapisan virtual menggunakan <i>vina wizard</i>	17
V.4.5 Validasi penapisan virtual menggunakan <i>autodock wizard</i>	17
V.5 Penapisan virtual database berbasis <i>docking</i>	18
BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
VI.1 Struktur protein B2 Adrenergik	19
VI.2 Database, dataset senyawa aktif dan dataset senyawa pengecoh	19
VI.2.1 Database	19
VI.2.2 Dataset senyawa aktif dan senyawa pengecoh	20
VI.3. Penapisan virtual berbasis farmakofor	21
VI.3.1 Model farmakofor	21
VI.3.2 Validasi model farmakofor	22
VI.3.3 Penapisan virtual database dengan model farmakofor	24
VI.4. Penapisan virtual berbasis <i>molecular docking</i> menggunakan <i>PyRx Screening Tool 0.8</i>	25
VI.4.1 Lokasi target penambatan	25

VI.4.2 Validasi penapisan virtual menggunakan <i>vina wizard</i> dan <i>autodock wizard</i>	27
VI.4.3 Penapisan virtual database berbasis <i>docking</i>	28
VI.5. Interaksi senyawa uji terbaik	29
BAB VII. SIMPULAN DAN SARAN	33
VII.1. Kesimpulan	33
VII.2. Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	37

DAFTAR GAMBAR DAN ILUSTRASI

Gambar II.1 Struktur Beta 2 Adrenergik (2RH1)	4
Gambar VI.1 Fitur awal farmakofor ligan alami 2RH1	21
Gambar VI.2 Fitur farmakofor model 10 (a) dan ROC (b)	23
Gambar VI.3 Ukuran gridbox dan grid center untuk validasi docking menggunakan <i>vina wizard</i>	26
Gambar VI.4 Ukuran gridbox dan grid center untuk validasi docking menggunakan <i>autodock wizard</i>	28
Gambar VI.5 Kurva ROC hasil validasi penapisan virtual menggunakan <i>Vina Wizard</i> (a) dan <i>Autodock Wizard</i> (b).....	28

DAFTAR TABEL

Tabel II. 1 Fitur-fitur farmakofor dalam LigandScout 4.3.....	11
Tabel VI. 1 B2 Agonis adrenergik (2RH1) (a) dan ligan alami CAU408 (b)	19
Tabel VI. 2 Database ZINC Natural Products.....	20
Tabel VI. 3 Parameter validasi model farmokofor.....	23
Tabel VI. 4 Hasil penapisan virtual terhadap database ZINC Natural Product berdasarkan pemodelan farmakofor.....	25
Tabel VI. 5 Ukuran gridbox dan grid center untuk menggunakan Vina wizard...26	
Tabel VI. 6 Ukuran gridbox dan grid center untuk menggunakan Autodock wizard.....	29
Tabel VI. 7 Hasil penapisan virtual database berbasis docking menggunakan vina wizard.....	30
Tabel VI. 8 Interaksi senyawa uji terbaik dengan residu asam amino.....	31
Tabel VI. 9 Visualisasi interaksi senyawa uji terbaik	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Format Surat Pernyataan Bebas Plagiasi	Error! Bookmark not defined.
Lampiran 2 Format Surat Persetujuan untuk dipublikasikan di media on line ...	38
Lampiran 3 Dataset senyawa aktif	39
Lampiran 4 Kandidat hits terbaik	42

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

SINGKATAN	NAMA
2D	Dua Dimensi
3D	Tiga Dimensi
AUC	<i>Area Under Curve</i>
BP	<i>Blood Pressure</i>
EF	<i>Enrichment Factor</i>
JNC	<i>Joint National Committee</i>
LBVS	<i>Ligand Based Virtual Screening</i>
mmHg	milimeter merkuri (air raksa)
nM	<i>Nano Molar</i>
PDB	<i>Protein Data Bank</i>
RMSD	<i>Root Mean Square Deviation</i>
ROC	<i>Receiving Operating Curve</i>
SBVS	<i>Structure Based Virtual Screening</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asma merupakan penyakit pada saluran pernapasan yang bersifat kronis. Kondisi ini disebabkan oleh peradangan saluran pernapasan yang menyebabkan hipersensitivitas bronkus terhadap rangsang dan obstruksi pada jalan napas. Gejala klinis dari penyakit asma yang biasanya muncul berupa mengi (*wheezing*), sesak napas, sesak dada dan batuk yang bervariasi dari waktu ke waktu dengan keterbatasan aliran udara ekspirasi. Gejala Gejala tersebut biasanya akan memburuk pada malam hari, terpapar alergen (seperti debu, asap rokok) atau saat sedang mengalami sakit seperti demam (Global Initiative for Asthma, 2019).

Asma merupakan masalah kesehatan yang banyak ditemukan di masyarakat dan memiliki angka kesakitan dan kematian yang tinggi. Asma tidak hanya menyerang anak-anak melainkan seluruh kelompok usia. Saat ini diperkirakan sebanyak 235 juta orang menderita asma didunia (WHO 2017). Berdasarkan laporan WHO Desember 2016, tercatat pada tahun 2015 sebanyak 383.000 orang meninggal karena asma. Berdasarkan laporan Riset Kesehatan Dasar Nasional pada tahun 2018 jumlah pasien asma di Indonesia sebesar 2,4 % (Kementerian Kesehatan RI, 2018).

Terapi farmakologis yang tersedia untuk mananggulangi asma, terdiri atas obat pelega dan obat pengontrol. Golongan obat pelega yaitu agonis β -2 kerja cepat (salbutamol), antikolinergik (ipatropium bromida), metylxantin (teofilin) dan kortikosteroid sistemik (prednison), sedangkan obat pengontrol asma yaitu agonis β -2 kerja lama (salmeterol), antileukotrien (zafirlukast) dan kortikosteroid inhalasi (budesonide) (Global Initiative for Asthma, 2019).

β 2 agonis adalah bronkodilator yang sangat efektif yang bekerja dengan meningkatkan aktifitas adenyl cyclase sehingga meningkatkan produksi intraseluler siklik AMP (*adenosine mono fosfat*). Peningkatan siklik AMP menyebabkan relaksasi otot polos, stabilisasi sel mast dan stimulasi otot rangka. Pemberian β 2 agonis melalui aerosol akan meningkatkan bronkoselektivitas, mempercepat efek yang timbul serta mengurangi efek samping sistemiknya. Beberapa β 2 agonis (terutama yang kurang selektif) dapat merangsang β 1 yang berakibat peningkatan kontraksi dan frekuensi denyut jantung (Sutrisna, 2014).

Beta 2 adrenergik ini dijumpai di sepanjang saluran pernapasan, otot polos bronkus, dan di liver. Transduksi sinyalanya melalui ikatannya dengan protein 2s yang memicu aktifitas adenilat siklase. Aktivas resptor ini pada otot polos bronkus meningkatkan level cAMP

yang mengaktifkan PKA dan menghambat *myosin light chain kinase*, yang pada gilirannya menghambat interaksi aktin – myosin sehingga menyebabkan efek bronkodilatasi (Ikawati, 2014).

Dengan adanya kejadian tersebut maka dikembangkanlah obat baru untuk mengatasi asma dengan memanfaatkan senyawa bahan alam yang ada di Indonesia dengan mencari senyawa baru yang diduga memberikan efek yang lebih baik dari obat yang berada dipasaran. Selain itu tujuan penelitian ini adalah untuk menemukan fitur-fitur farmakofor senyawa yang bertanggung jawab atas aktivitas dan selektivitas agonis beta 2 adrenergik dan memperoleh kandidat senyawa agonis beta 2 adrenergik dengan cara virtual screening dari database sebagai tahap awal dari rangkaian proses pencarian obat asma.

Meskipun pengaturan saluran pernapasan tidak semata-mata oleh persarafan adrenergik, regulasi adrenergik ini memiliki kontribusi yang besar sehingga menjadi target aksi obat. Pada kondisi patologis dimana saluran napas mengalami kontraksi seperti pada penyakit asma dan PPOK, agonis beta 2 menjadi salah satu lini pertama pengobatan. Adrenalin sendiri sebagai agonis tidak selektif juga kerap digunakan pada keadaan darurat yang memerlukan efek bronkodilatasi yang cepat dan kuat.

1.2 Rumusan Masalah

Adakah senyawa dari database yang dapat menstimulasi agonis beta 2 adrenergik melalui *virtual screening* sehingga memiliki potensi dalam pengobatan penyakit asma?

1.3 Tujuan Penelitian

Untuk mendapatkan kandidat senyawa terbaik dengan cara penapisan virtual dari database sebagai stimulasi agonis beta 2 adrenergik untuk pengobatan pada penyakit asma melalui *virtual screening*

1.4 Manfaat Penelitian

Memberikan pengetahuan dan data tambahan senyawa – senyawa baru yang diduga aktif memiliki aktivitas sebagai stimulasi agonis beta 2 adrenergik untuk kandidat obat pada pengobatan penyakit asma

1.5 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2021 – Juni 2021 di Laboratorium Kimia Komputasi Universitas Bhakti Kencana Jl. Soekarno Hatta No. 754 Bandung

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Penyakit Asma

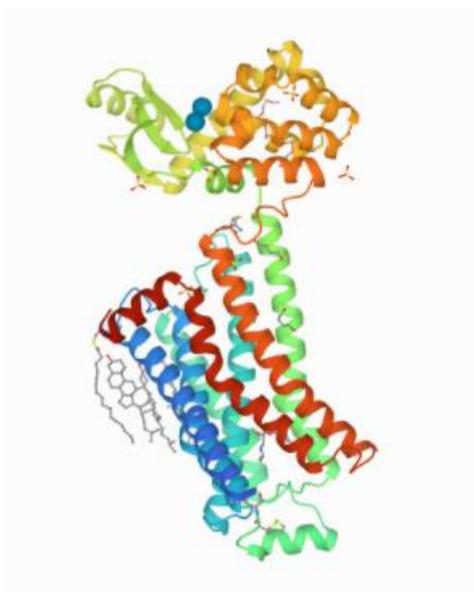
II.1.1 Pengertian

Asma adalah gangguan pada saluran bronkhial dengan ciri bronkospasme periodic (kontraksi spasme pada spasme saluran pernafasan). Bronkus mengalami inflamasi atau peradangan dan hiperresponsif sehingga saluran nafas menyempit dan menimbulkan kesulitan dalam bernafas. Asma adalah penyakit obtruksi saluran pernafasan yang bersifat reversible dan berbeda dari obstruksi saluran pernafasan lain seperti pada penyakit bronchitis yang bersifat irreversible dan berkelanjutan (Mims, 2015).

II.2 Agonis β 2

Agonis β 2 adalah bronkodilator yang sangat efektif yang bekerja dengan meningkatkan aktifitas adenyl cyclase sehingga meningkatkan produksi intraseluler siklik AMP (adenosine mono fosfat). Peningkatan siklik AMP menyebabkan relaksasi otot polos, stabilisasi sel mast dan stimulasi otot rangka. Pemberian β 2 agonis melalui aerosol akan meningkatkan bronkoselektivitas, mempercepat efek yang timbul serta mengurangi efek samping sistemiknya. Beberapa β 2 agonis (terutama yang kurang selektif) dapat merangsang β 1 yang berakibat peningkatan kontraksi dan frekuensi denyut jantung (Sutrisna, 2014).

Berikut ini adalah struktur Beta 2 Adrenergik :



Gambar II. 1 Struktur Beta 2 Adrenergik (2RH1)

“High resolution crystal structure of human B2-adrenergic G protein-coupled receptor”

Classification	: Membrane Protein
Ligan Alami	: (2S)-1-(9H-Carbazol-4-yloxy)-3-(isopropylamino)propan-2-ol C ₁₈ H ₂₂ N ₂ O ₂
Organism	: Homo Sapiens
Method	: X-ray Diffraction
Resolution	: 2,4 Å
Released	: 2007-10-30

II. 3 Dataset dan Database

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. Pada ChEMBL, dipilih kelompok senyawa yang memiliki aktivitas yang sudah terbukti aktif

berdasarkan keterangan aktifitas yang dilihat pada dokumen terpilih dan diunduh dalam format *.xlsx agar dapat dibaca melalui Microsoft Office Excel pada kolom *Activity_Comment*. Dipilih 50 senyawa yang memiliki nilai IC_{50} dengan rentang 0-100.000 nM serta terbukti berpotensi aktif dari kolom *Standard_Type* (Gaulton et al., 2012).

II. 3. 2 ChEMBL

ChEMBL merupakan database terbuka yang berisi informasi, fungsional dan ADMET untuk sejumlah besar senyawa bioaktif seperti obat. Basis data ini berisi lebih dari 1 juta senyawa dan 12.482 target protein. ChEMBL dapat di akses secara bebas pada (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/db>)

II. 3. 3 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 (Cereto-Massagué et al., 2012).

II. 3. 4 Database Uji

Database uji merupakan kumpulan data yang telah diatur sehingga dapat digunakan untuk keperluan analisis. Database dapat diperoleh dari ZINC *Natural Product* yang terhitung terdapat 12 Database *Natural Product*. Dapat diunduh pada <http://www.zinc.docking.org> dengan format yang beragam termasuk SMILES, *.mol2, 3D SDF, dan format DOCK (Irwin, 2005). Masing-masing database *Natural Product* berasal dari negara yang berbeda-beda dan berisikan senyawa alami yang berasal dari tumbuh-tumbuhan.

II. 4 Virtual Screening

Virtual screening merupakan metode komputasi performa tinggi yang digunakan untuk menganalisa suatu set database dan senyawa kimia untuk mengidentifikasi kandidat senyawa obat. Metode ini mengurangi biaya penelitian dan mengefisienkan waktu dibandingkan dengan *screening* secara farmakologi (Gupta et al., 2011).

Virtual screening atau *in silico screening* bertujuan untuk mencari senyawa pemandu dengan mereduksi sejumlah besar senyawa kimia untuk dilihat interaksinya terhadap protein target tertentu. Pada penerapannya dibatasi oleh sifat-sifat dari senyawa yang dapat

dihitung secara komputasi. Sehingga perlu dilakukan pertimbangan lebih lanjut pada perhitungan untuk database yang cukup besar atau mencapai satu juta senyawa (Vyas et al., 2008).

Jenis-jenis dari *virtual screening* yaitu *structure based virtual screening* dan *ligand based virtual screening*.

1. *Structure Based Virtual Screening* (SBVS)

Structure based virtual screening digunakan untuk memprediksi ikatan protein target dengan metode komputasi. 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*) (Maia et al., 2020).

2. *Ligand Based Virtual Screening* (LBVS)

Ligand based virtual screening 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 interaksi antara suatu molekul sebagai ligan dengan suatu reseptor atau protein (Maia et al., 2020).

II. 5 PyRx

PyRx merupakan perangkat lunak desain obat secara komputasi dari program *AutoDock* dan *Vina* untuk melakukan otomatisasi preparasi, *screening* dan analisis. Digunakan sebagai pustaka senyawa terhadap sasaran obat yang potensial. PyRx merupakan perangkat *docking* untuk *Computer-Aided Drug Design* (CADD) (Aldisa et al., 2017).

II. 6 *Protein Data Bank*

Protein Data Bank (PDB) adalah basis data untuk data struktural tiga dimensi dari molekul biologis besar, seperti protein dan asam nukleat. Data biasanya diperoleh dengan kristalografi sinar-X, spektroskopi NMR, *cryo-electron microscopy*, dan diserahkan oleh ahli biologi dan ahli biokimia dari seluruh dunia, dapat diakses secara bebas di Internet melalui situs web organisasi anggotanya (PDBe, PDBj, RCSB dan BMRB). PDB diawasi oleh organisasi bernama *Worldwide Protein Data Bank* (wwPDB) (Burley et al., 2019).

RCSB *Protein Data Bank* (<http://www.rcsb.org>) merupakan situs yang mengembangkan alat deposisi, anotasi, permintaan, analisis dan visualisasi, dan sumber daya pendidikan yang digunakan dengan arsip PDB (Burley et al., 2019). Pada situs PDB terdapat parameter-parameter yaitu parameter organisme terdiri dari *Homo sapiens* dan *Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *Escherichia coli*, *Ovis aries*, *Bos taurus*, *Drosophila melanogaster*, *Oryctolagus cuniculus*, *Bacillus amyloliquefaciens*. Parameter metode experimental terdapat X-ray, NMR, mikroskopik elektron. Sedangkan pada struktur protein tersebut secara umum resolusi yang paling baik adalah kurang dari 2 Å.

II. 7 Model Farmakofor

Model farmakofor merupakan metode *virtual screening* yang digunakan untuk mengevaluasi jutaan senyawa dengan komputer yang bertujuan untuk membentuk fitur interaksi ligan-protein yang paling penting untuk mengikat dan aktivitas biologis dan metode berbasis ligan yang tidak memerlukan informasi struktural tentang target tetapi menggunakan data yang dihasilkan dari pengujian molekul dalam biokimia atau tes fungsional dari target yang sesuai dengan model empiris yang menghubungkan atribut senyawa untuk diuji hasil (Liu et al., 2020).

Beberapa pendekatan yang telah dikembangkan untuk mendapatkan model farmakofor berbasis protein dan berbasis ligan yang menerapkan model farmakofor dalam *virtual screening* (Liu et al., 2020).

Penapisan berbasis farmakofor akan mengevaluasi jutaan senyawa dengan program komputer untuk mendapat struktur baru dari database. *Pharmacophore modeling* memberikan fungsi seleksi yang baik dalam *virtual screening* ketika struktur proteinnnya tidak diketahui. Pemodelan farmakofor 3D bertujuan penemuan senyawa aktif biologis, struktur molekul 3D yang digunakan untuk pemodelan farmakofor harus mewakili konformer senyawa terikat pada protein yang disebut konformasi bioaktif yang dapat diambil dari struktur kristal kompleks protein-ligan.

Pada fitur farmakofor ditentukan melalui tiga tahapan yaitu membuat database konformasi dengan menggunakan satu set senyawa yang telah dioptimasi, membuat *Query Pharmacophore* dengan memilih titik anotasi berdasarkan pengikatan ligan protein yang

hasil analisis PLIF, kemudian penyempurnaan struktur *Query* yang dapat dihitung dengan konformasi senyawa-senyawa aktif (Liu et al., 2020).

II. 8 *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., 2020).

Metode *docking* berdimensi tinggi secara efektif dan menggunakan fungsi skoring yang tepat untuk menyusun senyawa kandidat. *Docking* dapat digunakan untuk melakukan *virtual screening* pada pustaka besar senyawa, memberi peringkat hasil, dan mengusulkan hipotesis struktural tentang ligan yang menghambat target. 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 (Aldisa et al., 2017).

II. 9 Validasi *Molecular Docking*

Docking terhadap ligan dilakukan untuk mencari konformasi tiga dimensi ligan terhadap reseptor dengan memperhatikan koordinat pusat massa struktur dan besaran *gridbox* dari *binding site pocket* dalam satuan *Angstrom (Vina)* atau *number of points (Autodock)*. Hasil *docking* diperoleh dari hasil pengukuran yang dinyatakan dalam nilai *Root Mean Square Deviation (RMSD)*. Jika RMSD dibawah 2 Å, umumnya prediksi tersebut dianggap berhasil. Tujuannya adalah untuk menempati peringkat yang terbaik diantara rangkaian ligan yang dihasilkan (Vyas et al., 2008).

Selain dari nilai RMSD, parameter validasi juga bisa dilihat dengan menggunakan parameter validasi *virtual screening* atau sebagai parameter validasi retrospektif (Vyas et al., 2008).

II. 10 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 *software* yang biasa dengan senyawa hit, kurva plot hasil validasi, nilai AUC serta persentasi hasil EF (Mottin et al., 2018).

Validasi yang dilakukan pada *virtual screening* berbasis farmakofor dapat dilihat dari parameter-parameter yang berlaku pada LigandScout 4.3 yaitu *Enrichment Factor* (EF), *Sensitivitas* (Se), *Spesifitas* (Sp), Akurasi (ACC), Hasil akhir (Ya), dan *Goodness of Hit-list* (GH) (Mottin et al., 2018).

1. Faktor Pengayaan (EF)

Metode ukuran faktor pengayaan lebih baik dari daftar yang diurutkan secara acak. Cara yang paling sering digunakan dan paling sederhana untuk menghitung adalah pengayaan pada persentase tertentu dari database yang disaring. Pada *LigandScout* 4.3 nilai EF dapat diperoleh nilai EF secara otomatis yang dapat langsung dilihat pada kurva ROC. Nilai EF yang dikatakan valid dan memenuhi syarat ialah $EF > 1.0$ (Mottin et al., 2018)

2. Sensitivitas (Se)

Sensitivitas atau kepekaan merupakan ukuran untuk persentase dari senyawa yang benar-benar aktif yang dipilih selama penyaringan. Didefinisikan sebagai rasio dari senyawa positif sejati yang diambil (TP) untuk semua senyawa aktif dalam database, yang merupakan jumlah TP dan jumlah senyawa negatif palsu (FN) dan dirangkum sebagai proporsi dengan benar klasifikasi pengamatan positif. Kepekaan nilai dapat berkisar dari 0 hingga 1. Dimana $Se = 0$ berarti bahwa pencarian tidak menemukan salah satu dari senyawa aktif dalam database dan $Se = 1$ berarti pencarian menemukan semua senyawa aktif.

$$Se = \frac{TP}{TP + FN}$$

3. Spesifisitas (Sp)

Spesifisitas merupakan ukuran untuk fraksi dari senyawa yang benar-benar tidak aktif ditolak dengan benar pada saat *virtual screening*. Didefinisikan sebagai jumlah yang ditolak senyawa negatif (TN) dibagi dengan jumlah TN dan jumlah senyawa positif palsu yang didapat (FP). Kekhususan berkisar dari 0 hingga 1 dan menunjukkan persentase senyawa yang benar-benar tidak aktif. Spesifisitas dapat berkisar dari 0 hingga 1. Dimana $Sp = 0$ menentukan skenario terburuk di mana semua *inactives* dipilih oleh kesalahan sebagai aktif, sedangkan $Sp = 1$ berarti semua senyawa tidak aktif telah ditolak dengan benar selama proses penyaringan.

$$Sp = \frac{TN}{TN + FP}$$

4. Accuracy (ACC)

Akurasi (ACC) adalah menggambarkan persentase molekul yang diklasifikasikan dengan benar.

$$ACC = \frac{TP + TN}{P + N}$$

5. Yield of actives (Ya)

Hasil aktif (Ya) adalah salah satu deskriptor yang paling populer untuk mengevaluasi metode *virtual screening*. Ukuran deskriptor menunjukkan jumlah senyawa aktif yang benar-benar diambil (TP) dalam kaitannya ke ukuran daftar hit.

$$Ya = \frac{TP}{n}$$

6. Goodness of Hit-list (GH)

GH menggabungkan sensitivitas, spesifisitas, dan hasil aktif. Ukuran yang berguna untuk evaluasi adalah model farmakofor karena menganggap keduanya rasio aktif dan rasio tidak aktif. Kuantitas senyawa aktif biasanya berbobot lebih tinggi dari pada aktif dalam hit-list (Mottin et al., 2018). Misalnya, Ya dengan 3/4 dan Se dengan hanya 1/4. Jadi, nilai GH yang tinggi hanya dapat dicapai dengan nilai tinggi aktif dan rendah rasio negatif palsu pada saat yang sama.

$$GH = \left(\frac{3}{4} Ya + \frac{1}{4} Se \right) \times Sp$$

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* (Mottin et al., 2018).

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>

BAB III. METODOLOGI PENELITIAN

Pemilihan senyawa-senyawa dari database senyawa herbal yang diduga memiliki efek sebagai obat untuk penyakit asma dengan metode kimia komputasi (*in silico*). Senyawa-senyawa tersebut dipilih dari database *ZINC natural product*. Tahapan penelitian terdiri dari pemodelan farmakofor, menskrining model farmakofor dengan database *ZINC natural product*, lalu dilanjutkan dengan penambahan molekul melalui aplikasi *PyRx Screening Tools*. Pemodelan farmakofor dimulai dengan validasi senyawa antara *activeset compound* dan *decoyset compound* terhadap fitur-fitur farmakofor yang terdapat pada ligan alami dari protein agonis β_2 adrenergik yang kemudian akan digunakan sebagai fitur pemandu untuk pemilihan senyawa dari database natural product. Proses validasi virtual screening dilakukan dengan cara menambahkan dataset *activeset compound* dan *decoyset compound* yang kemudian hasilnya diplotkan kedalam kurva ROC Hasil validasi pharmacophore modelling dinyatakan valid apabila kurva ROC yang dihasilkan menunjukkan nilai Area Under Curve (AUC) lebih dari 0,5 dan nilai *Enrichment* Faktor (EF) lebih dari 1.0. Hasil Validasi farmakofor yang telah dinyatakan valid, dilanjutkan dengan skrining model yang dipilih dengan menggunakan database *ZINC natural product*. Jika hasil skrining ini jumlah senyawanya dibawah 100 maka proses *virtual screening* cukup pada *software* LigandScout 4.3. tetapi jika diatas 100 maka dilanjutkan dengan penambahan molekul.

Hasil Virtual screening dari pemodelan farmakofor tersebut kemudian disaring dengan molecular docking menggunakan *PyRx Screening Tool* 0.8 yang didalamnya terdapat *Vina Wizard* dan *Autodock Wizard*. Untuk proses validasi docking, dilakukan menggunakan *Vina Wizard* terdahulu yang nantinya dilihat hasil RMSD. RMSD yang memenuhi persyaratan yaitu kurang dari 2Å. Sedangkan proses validasi virtual screening dilakukan dengan cara menambahkan *activeset compound* dan *decoyset compound* terhadap reseptor yang kemudian hasilnya di plotkan dalam kurva ROC, dengan persyaratan yaitu AUC lebih dari 0,5 dan EF lebih dari 1,0. Senyawa yang memiliki energi ikatan bebas lebih kecil dari ligan alami itulah senyawa yang dapat dikatakan dengan kandidat senyawa terbaik.