

**STUDI *MOLEKULAR DOCKING*
DAN PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA TURUNAN
VEMURAFENIB TERHADAP TARGET MOLEKUL
MELANOMA INHIBITORY ACTIVITY (MIA)
SEBAGAI ANTIMELANOMA**

LAPORAN TUGAS AKHIR

**ANITA PRAMUDYA RATNA SARI
13151002**



**SEKOLAH TINGGI FARMASI BANDUNG
PROGRAM STUDI STRATA I FARMASI
BANDUNG
2017**

**STUDI MOLEKULAR DOCKING
DAN PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA TURUNAN
VEMURAFENIB TERHADAP TARGET MOLEKUL
MELANOMA INHIBITORY ACTIVITY (MIA)
SEBAGAI ANTIMELANOMA**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan
Program Studi S1 Farmasi

ANITA PRAMUDYA RATNA SARI

13151002

Bandung, Agustus 2017

Menyetujui,

Pembimbing I



Dr. Fauzan Zein M, M.Si., Apt.

Pembimbing II



Fransiska Kurniawan, M.Si

Dipersembahkan untuk Ibu, Ayah, dan Kakak tercinta

Serta

Penderita Kanker Melanoma di Dunia

ABSTRAK

STUDI MOLEKULAR DOCKING DAN PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA TURUNAN VEMURAFENIB TERHADAP TARGET MOLEKUL *MELANOMA INHIBITORY ACTIVITY (MIA)* SEBAGAI ANTIMELANOMA

ANITA PRAMUDYA RATNA SARI
13151002

Melanoma merupakan salah satu tipe kanker paling ganas setelah kanker serviks dan kanker payudara yang sering ditemukan di Indonesia. Target potensial terbaru sebagai antimelanoma adalah *Melanoma Inhibitory Activity (MIA)*, tetapi target tersebut belum diketahui letak sisi pengikatannya. Vemurafenib telah diketahui secara *in vivo* aktif sebagai antimelanoma, sehingga dapat digunakan sebagai senyawa pemandu. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji letak sisi aktif dari *MIA* tersebut dan interaksi yang terjadi antara *MIA* dengan turunan Vemurafenib serta mengetahui potensi toksisitas senyawa uji. Dilakukan pendekatan secara *in silico* dengan metode *blind docking* antara Vemurafenib dengan makromolekul *MIA*. Diperoleh sisi aktif pada koordinat *grid box* (x,y,z) $-4,786; -12,689; 32,709$ dengan nilai ΔG $-11,06$ kkal/mol serta diketahui residu asam amino yang berperan yaitu MET31 yang menghasilkan interaksi hidrogen serta TYR30 dan PRO33 yang menghasilkan interaksi hidrofobik. Hasil *docking* pada 45 senyawa uji yang paling potensial yaitu senyawa-17 dengan nilai ΔG $-11,31$ kkal/mol dan residu asam amino yang berperan adalah TYR30 (interaksi senyawa hidrofobik). Interaksi senyawa hidrofobik tersebut yang bertanggung jawab dalam mekanisme *MIA* sebagai penghambat metastasis sel melanoma dalam tubuh. Prediksi toksisitas menunjukkan senyawa-17 tidak toksik dan tidak bersifat mutagenik. Berdasarkan hasil-hasil di atas maka dapat disimpulkan bahwa sisi pengikatan *MIA* untuk senyawa turunan Vemurafenib telah diketahui dan senyawa-17 diprediksikan sebagai senyawa yang paling potensial sebagai antimelanoma yang tidak toksik dan tidak bersifat mutagenik.

Kata kunci : *Blind docking*, melanoma, *MIA*, TYR30, sisi pengikatan, Vemurafenib.

ABSTRACT

STUDY OF MOLECULAR DOCKING AND TOXICITY PREDICTION OF VEMURAFENIB DERIVATE COMPOUNDS WITH MELANOMA INHIBITORY ACTIVITY (MIA) AS TARGET FOR ANTIMELANOMA

ANITA PRAMUDYA RATNA SARI
13151002

Melanoma is one of the most vicious types of cancer after cervical cancer and breast cancer are often found in Indonesia. The latest potential target for an antimelanoma is Melanoma Inhibitory Activity (MIA), but there is no information its binding pocket. Vemurafenib has already known as an antimelanoma agent by in vivo test, so it can be used as a lead compound. The aim of this study was to determine the location of binding side and study the interaction between MIA with the Vemurafenib derivate compounds and to know the toxicity of Vemurafenib derivate compounds. The blind docking method was performed between Vemurafenib with MIA. The best simulation was resulted the binding pocket on grid box coordinate (x,y,z) -4.786; -12.689; 32.709 with a value of ΔG -11,06 kcal/mol and important amino acid residues were MET31 which resulted hydrogen interaction and TYR30 also PRO33 which resulted hydrophobic interaction. The result docking of 45 Vemurafenib derivate compounds showed that compound-17 with value of ΔG -11,31 kcal/mol and the important amino acid residues was TYR30 (hydrophobic interaction). The hydrophobic interaction was responsible as an inhibitor of the MIA in metastatic melanoma. Toxicity prediction showed that compound-17 was not toxic and mutagenic. Based on these result, so it can be concluded that the binding pocket of MIA for Vemurafenib derivate compounds has already known and compound-17 was predicted as the most potential compound as antimelanoma which was not toxic and mutagenic.

Kata kunci : *Binding pocket, blind docking, melanoma, MIA, TYR30, Vemurafenib.*

PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi yang tidak dipublikasikan terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, dan terbuka untuk umum.

Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh skripsi haruslah seizin Ketua Program Studi di lingkungan Sekolah Tinggi Farmasi Bandung.

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur Penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, karena atas rahmat dan karunia-Nya lah Penulis Studi *Molecular Docking* dan Prediksi Toksisitas Senyawa Turunan Vemurafenib terhadap Target Molekul *Melanoma Inhibitory Activity* (MIA) sebagai Antimelanoma” tepat pada waktu yang telah ditentukan walaupun tidak sedikit hambatan dan kesulitan yang dihadapi oleh Penulis.

Dalam penulisan laporan penelitian ini Penulis mendapatkan bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak, dengan segala kerendahan hati, perkenankanlah Penulis mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada yang terhormat :

1. Ketua Sekolah Tinggi Farmasi Bandung Bapak Entris Sutrisno, S.Farm., MH.Kes., Apt.
2. Bapak Dr. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si., Apt dan Ibu Fransiska Kurniawan, M.Si., selaku dosen pembimbing utama dan pembimbing serta yang telah bersedia meluangkan waktu, pikiran dan perhatiannya untuk memberikan masukan dan bimbingan pengarahan dengan tulus kepada Penulis selama penulisan laporan penelitian ini.
3. Bapak Dr. Aiyi Asnawi, M.Si yang telah membantu serta meluangkan waktunya untuk membantu Peneliti dalam menyelesaikan laporan penelitian ini.
4. Seluruh dosen yang telah memberikan ilmu dan bimbingan selama perkuliahan di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung yang telah memberikan bantuan selama perkuliahan

5. Keluarga tercinta, yang telah memberikan dorongan, baik secara moril maupun material serta doa yang tiada henti terus mengalir.
6. Serta teman-teman Ekstensi angkatan 2015 yang telah memberikan semangat dan motivasi kepada Penulis sehingga dapat menyelesaikan laporan ini dengan tepat waktu.

Tidak lupa Penulis panjatkan harapan semoga Allah SWT memberikan balasan yang setimpal atas kebaikan yang telah diberikan kepada Penulis.

Penulis menyadari bahwa laporan penelitian ini jauh dari kata sempurna karena keterbatasan pengetahuan dan kemampuan Penulis. Untuk itu Penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang sifatnya membangun hingga laporan penelitian ini akan menjadi lebih baik.

Bandung, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
Abstrak	i
<i>Abstract</i>	ii
Pedoman Penggunaan Skripsi	iii
Kata Pengantar	iv
Daftar Isi.....	vi
Daftar Lampiran	viii
Daftar Gambar	ix
Daftar Tabel.....	x
Bab I Pendahuluan.....	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Rumusan Masalah	3
I.3 Tujuan Masalah	3
I.4 Manfaat Penelitian	4
I.5 Hipotesa	4
Bab II Tinjauan Pustaka	5
II.1 Kanker Kulit dan Melanoma.....	5
II.2 Mutasi Genetik BRAF V600E	17
II.3 <i>Melanoma Inhibitory Activity</i> (MIA).....	18
II.4 Vemurafenib	20
II.5 Alkaloid Indol	21
II.6 <i>Docking Molekular</i>	23
II.7 <i>Blind Docking</i>	25
II.8 Ikatan Obat dengan Reseptor	26
Bab III Metodologi Penelitian	29
Bab IV Alat dan Bahan.....	31
Bab V Prosedur Penelitian.....	33
V.1 Preparasi Senyawa Pemandu dan Senyawa uji.....	33
V.2 Preparasi Makromolekul (MIA)/ 5IXB	33
V.3 Pencarian Sisi Pengikatan Makromolekul MIA/5IXB.....	34
V.4 <i>Docking</i> Terarah Makromolekul MIA dan Senyawa Uji.....	35
V.5 Analisis dan Visualisasi Interaksi Senyawa Uji terhadap Makromolekul MIA/5IXB	35
V.6 Prediksi Toksisitas dan Faktor Mutagenik.....	35
Bab VI Hasil dan Pembahasan	37
Bab VII Kesimpulan dan Saran	70
VII. 1 Kesimpulan	70
VII. 2 Saran	70

Daftar Pustaka	71
Lampiran	78

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Nama kimia senyawa turunan alkaloid indol	78
Lampiran B. Asam amino penyusun makromolekul MIA	98
Lampiran C. Hasil <i>docking</i> terarah pada senyawa uji turunan alkaloid indol	109
Lampiran D. Hasil prediksi mutagenik dan prediksi toksisitas	119
Lampiran E. Pembagian area <i>grid box</i> pada tahap pencarian sisi pengikatan.....	122
Lampiran F. Visualisasi interaksi residu asam amino makromolekul MIA dengan ligan pemandu.....	123
Lampiran G. Visualisasi interaksi residu asam amino makromolekul MIA dengan ligan uji turunan alkaloid indol	124

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar II.1 Letak melanosit di lapisan basal epidermis	7
Gambar II.2 Mekanisme mutasi genetik BRAF V600E	17
Gambar II.3 Kristalografi sinar-X makromolekul dengan MIA (5IXB)...	20
Gambar II.4 Struktur Vemurafenib	21
Gambar II.5 Struktur kimia turunan alkaloid indol	21
Gambar II.6 Bentuk kompleks ligan dengan makromolekul saat <i>molecular docking</i>	24
Gambar VI.1 Struktur makromolekul MIA pada PDB RSCB.....	38
Gambar VI.2 Struktur makromolekul MIA setelah dihilangkan molekul air	43
Gambar VI.3 Vemurafenib sebagai senyawa pemandu	44
Gambar VI.4 Visualisasi 2-D interaksi asam amino dengan ligan pemandu pada area <i>grid box</i> ke-3	53
Gambar VI.5 Ikatan residu asam amino dengan gugus fungsi pada senyawa pemandu secara 3-D.....	59
Gambar VI.6 Ligan uji S.U-17	65
Gambar VI.7 Visualisasi 2-D interaksi residu asam amino dengan gugus fungsi pada ligan uji S.U-17.....	65

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel II.1 Tahapan melanoma maligna kategori T.....	12
Tabel II.2 Tahapan melanoma maligna kategori N.....	13
Tabel II.3 Tahapan melanoma maligna kategori M.....	14
Tabel VI.1 Asam amino penyusun makromolekul MIA	40
Tabel VI.2 Hasil pengamatan sifat fisikokimia senyawa uji turunan alkaloid indol.....	46
Tabel VI.3 Pembagian area <i>docking</i> pada makromolekul MIA	52
Tabel VI.4 Hasil interaksi residu asam amino makromolekul MIA dengan ligan pemandu	54
Tabel VI.5 Tahapan ekstraksi pada area <i>grid box</i> wilayah ke-3.....	57
Tabel VI.6 Hasil pengamatan validasi <i>docking</i>	58
Tabel VI.7 Hasil pengamatan <i>docking</i> terarah pada senyawa uji	61
Tabel VI.8 Hasil prediksi toksisitas senyawa turunan alkaloid indol	66
Tabel VI.9 Hasil prediksi mutagenik senyawa turunan alkaloid indol	68

Bab I Pendahuluan

I.1 Latar Belakang

Melanoma merupakan salah satu tipe kanker paling ganas setelah kanker serviks dan kanker payudara yang sering ditemukan di Indonesia (Hendaria, 2013). Berdasarkan penelitian melanoma menduduki peringkat ketiga sebagai kanker mematikan setelah kanker payudara dan kanker serviks. Melanoma disebabkan oleh beberapa faktor seperti paparan sinar radiasi dari ultraviolet yang berlebihan, pola hidup yang tidak sehat, dan riwayat faktor genetik (Perera, et.al, 2014). Umumnya kanker kulit diklasifikasikan menjadi tiga jenis yang berdasarkan sel targetnya yaitu Karsinoma Sel Basal (KSB), Karsinoma Sel Skuamosa (KSS), dan Melanoma Maligna (MM). Prevalensi KSB dan KSS lebih sering dibandingkan melanoma maligna, tetapi melanoma maligna berpotensi menyebabkan angka kematian lebih tinggi sekitar 75% pada kasus kanker kulit (Du, et.al, 2013). Salah satu penyebab keganasan melanoma maligna diakibatkan adanya mutasi genetik dari protein BRAF sehingga menyebabkan sel kanker tersebut bermetastasis (Hernandez, et.al, 2015). Melanoma maligna metastasis dapat diterapi menggunakan inhibitor BRAF (BRAFi). BRAFi metargetkan protein V600E untuk menghambat mutasi sel protein tersebut. Pada umumnya terapi ini telah banyak diaplikasikan pada penderita melanoma yaitu dengan menggunakan obat Vemurafenib.

Vemurafenib adalah obat generasi pertama golongan BRAFi yang berpotensi sebagai ant melanoma sangat menjanjikan pada melanoma fasa 1. Namun studi penelitian Madonna menyebutkan bahwa Vemurafenib mengalami resistensi terhadap pasien melanoma fase 3. Hal tersebut diketahui setelah Vemurafenib dibandingkan aktivitasnya dengan Decarbazine, Vemurafenib menunjukkan penurunan aktifitas terapi sebesar 63% dengan risiko kematian hingga 74% pada setiap pasien melanoma (Madonna, et.al, 2012).

Umumnya untuk mengantisipasi resistensi tersebut dilakukan terapi dengan obat-obatan golongan BRAFi dikombinasikan dengan golongan MEKi, namun kombinasi tersebut tidak menunjukkan angka kesembuhan yang signifikan. Oleh karena itu perlu dilakukan suatu pengembangan obat baru untuk menemukan kandidat obat ant melanoma yang lebih tepat.

Makromolekul MIA (*Melanoma Inhibitory Activity*) merupakan target molekul baru yang potensial sebagai ant melanoma (Yip, et.al, 2016). MIA adalah hasil sekresi dari sel melanoma yang terpapar oleh sel-sel karsinogenik dan merupakan kandidat ant melanoma maligna yang cukup efektif. Karena belum banyak penelitian mengenai target obat baru ini, maka dilakukan pengembangan senyawa obat baru secara *in silico* untuk mengkaji letak sisi pengikatannya dan jenis interaksi yang terjadi antara senyawa uji dengan molekul target tersebut (Schmidt, et.al, 2012).

Pada studi ini dilakukan *blind docking* untuk mengetahui letak sisi pengikatannya dan menggunakan senyawa pemandu yang telah teruji

secara *in vitro* maupun *in vivo* sebagai antimelanoma yaitu Vemurafenib. Vemurafenib adalah sebuah molekul kecil yang selektif menghambat mutasi BRAF V600E, dimana monomer Vemurafenib tersebut hanya selektif terhadap protein BRAF sehingga dapat menghambat dari aktivitas mutasinya. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa uji tersebut tidak memiliki aktivitas untuk agen penyebab melanoma lainnya seperti makromolekul MIA (Rosness, 2013).

Sedangkan senyawa uji yang akan ditambahkan pada makromolekul MIA adalah turunan alkaloid indol. Berdasarkan gugus farmakofornya, Vemurafenib memiliki kesamaan struktur dengan turunan alkaloid yaitu indol. Struktur kimia tersebut terdiri atas 2 cincin siklik yaitu benzene dan inti pirol yang menyatu pada posisi 2,3 (Kerzarea and Khedekar, 2016). Kesamaan gugus farmakofor yang pada kedua senyawa kimia tersebut diharapkan akan memiliki aktivitas yang sama atau bahkan lebih baik dan lebih selektif sebagai pengobatan antimelanoma baru.

I.2 Rumusan Masalah

1. Dimana letak sisi pengikatan MIA untuk senyawa Vemurafenib?
2. Bagaimana interaksi antara MIA dengan senyawa uji turunan alkaloid indol sebagai antimelanoma?
3. Bagaimana toksisitas senyawa uji turunan alkaloid indol?

I.3 Tujuan

1. Mengetahui letak sisi pengikatan MIA untuk senyawa Vemurafenib.

2. Mengetahui interaksi antara MIA dengan senyawa uji turunan alkaloid indol sebagai antimelanoma
3. Mengetahui toksisitas senyawa uji turunan alkaloid indol.

I.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi sisi pengikatan makromolekul dan senyawa pemandu serta interaksi antara makromolekul dan senyawa uji.
2. Memberikan pengetahuan bahwa senyawa uji turunan Vemurafenib (alkaloid indol) dapat digunakan sebagai pengembangan obat antimelanoma yang baru.

I.5 Hipotesa

Alkaloid indol memiliki gugus farmakofor yang sama dengan Vemurafenib, sehingga apabila turunan senyawa tersebut ditambatkan pada makromolekul MIA diharapkan memiliki aktivitas yang lebih baik daripada Vemurafenib.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.1 Kanker Kulit dan Melanoma

Kanker kulit adalah penyakit dimana kulit kehilangan kemampuannya untuk regenerasi dan tumbuh secara normal. Sel-sel kulit yang sehat secara normal dapat membelah diri secara teratur untuk menggantikan sel-sel kulit mati dan menumbuhkan sel kulit baru.

Melanoma adalah suatu penyakit yang disebabkan oleh berubahnya sifat-sifat penyusun sel kulit yang normal menjadi ganas, dimana sel-sel akan terus membelah menjadi bentuk yang abnormal secara tidak terkontrol akibat kerusakan DNA. Bila dilihat dari segi histopatologik memiliki struktur yang tidak teratur dengan diferensiasi sel dalam berbagai tingkatan pada kromatin, nukleus, dan sitoplasma (Hendaria *et al.*, 2013).

II.1.1 Epidemiologi dan Etiologi Melanoma

Kanker kulit memiliki tiga tipe utama yaitu Karsinoma Sel Basal (KSB), Karsinoma Sel Skuamosa (KSS) dan Melanoma Maligna (MM). Karsinoma Sel Basal menempati urutan pertama, diikuti Karsinoma Sel Skuamosa, dan Melanoma Maligna pada urutan ketiga. Walaupun jumlah insiden Melanoma Maligna lebih kecil dibanding Karsinoma Sel Basal dan Karsinoma Sel Skuamosa, angka kematian yang disebabkan cenderung lebih besar yaitu menyebabkan 75% kematian akibat kanker kulit. Australia merupakan salah satu negara dengan insiden kanker kulit tertinggi di

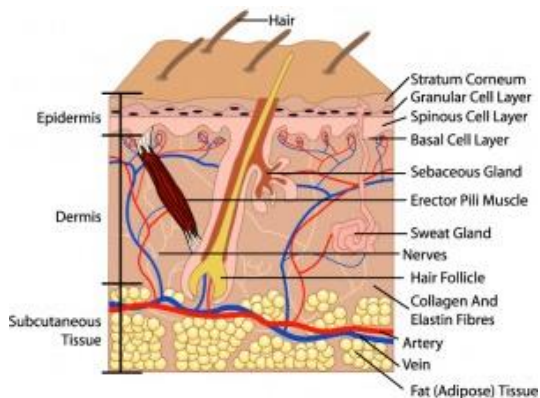
dunia, telah dilaporkan terjadi insiden kanker kulit empat kali lipat lebih tinggi dibandingkan Amerika Serikat, Inggris, dan Kanada. Melanoma merupakan jenis kanker kulit dengan insiden tertinggi pada usia 15-44 tahun di Australia (Perera *et.al*, 2014)

Secara umum, kanker kulit memiliki beberapa factor risiko yang potensial, antara lain: Terpapar oleh radiasi sinar ultraviolet secara berlebihan (baik Ultraviolet A maupun Ultraviolet B). Disebabkan luka yang lama tidak sembuh (*chronic non-healing wounds*), khususnya luka bakar, diantaranya adalah *Marjolin's ulcer* yang bisa berkembang menjadi Karsinoma Sel Skuamosa. Faktor lainnya adalah karena predisposisi genetik seperti tahi lalat yang berukuran lebih besar dari 20 mm berisiko tinggi berekmbang menjadi kanker melanoma. *Human papilloma virus* (HPV) sering dihubungkan dengan karsinoma sel skuamosa pada genital, anus, mulut, faring, dan pada jari serta tangan. Selain itu dapat pula diakibatkan oleh adanya toksin arsenic yang merupakan salah satu risiko peningkatan insiden karsinoma sel skuamosa. Dimana hal ini diakibatkan oleh kekurangan beberapa vitamin dan mineral tertentu serta aktivitas merokok.

II.1.2 Patofisiologi Melanoma

Kanker kulit dapat terjadi karena proliferasi sel melanosit yang mengalami pertumbuhan abnormalitas. Suatu sel melanosit mempunyai dendrit-dendrit yang mengadakan kontak dengan keratinosit-keratinosit disekitarnya sampai ke stratum spinosum bagian tengah (gambar II.1).

Kegiatan melanosit sebagian besar dipengaruhi oleh sinyal-sinyal dari keratinosit yang berdekatan dan beberapa faktor lingkungan termasuk sinar ultraviolet (Bologna dan Orlow, 2008).



Gambar II.1 Letak melanosit di lapisan basal epidermis. Sumber: (Bologna dan Orlow,2008)

Melanoma berawal dari pertumbuhan kulit baru yang kecil dan berpigmen pada kulit normal. Melanoma paling sering tumbuh pada kulit yang terpapar sinar matahari, tetapi hampir separuh kasus tumbuh dari tahi lalat yang berpigmen.

Melanoma mudah menyebar ke bagian tubuh yang jauh (bermetastase), sel kulit tersebut akan terus tumbuh dan menghancurkan jaringan tubuh lainnya. Semakin kecil pertumbuhan melanoma ke dalam kulit, maka semakin besar peluang untuk menyembuhkan kanker melanoma. Begitupun sebaliknya apabila melanoma telah tumbuh jauh ke dalam jaringan kulit, penyebaran akan terjadi melalui pembuluh getah bening dan pembuluh darah

serta dapat menyebabkan kematian dalam beberapa bulan atau tahun setelah jaringan tersebut terinfeksi sel kanker melanoma. Perjalanan penyakit melanoma bervariasi dan tampaknya dipengaruhi kekuatan pertahanan oleh sistem kekebalan tubuh. Beberapa penderita dengan sistem pertahanan tubuh yang baik, bisa bertahan hidup selama bertahun-tahun meskipun sel kanker telah menyebar ke dalam beberapa jaringan tubuh (Schmidt *et al.*, 2012)

II.1.3 Klasifikasi Melanoma

Kanker kulit dapat diklasifikasikan dalam tiga tipe terbanyak yaitu Karsinoma Sel Basal, Karsinoma Sel Skuamosa, dan Melanoma Maligna.

- 1) Karsinoma Sel Basal (Basalioma) adalah tipe kanker kulit terbanyak, bersifat lokal invasif, jarang bermetastasis namun tetap memiliki peluang untuk menjadi maligna karena dapat merusak dan menghancurkan jaringan sekitar. Karsinoma Sel Basal muncul akibat radiasi sinar ultraviolet, biasanya di bagian wajah. Karsinoma Sel Basal jarang menyebabkan kematian serta mudah diterapi dengan pembedahan maupun radiasi.
- 2) Karsinoma Sel Skuamosa adalah tipe kedua terbanyak setelah Karsinoma Sel Basal, berasal dari sel skuamosa pada lapisan epidermis kulit. Karsinoma Sel Skuamosa bermetastasis lebih sering dari Karsinoma Sel basal, namun angka metastasisnya tidak terlalu tinggi kecuali pada telinga, bibir, dan pada pasien immunosupresi.
- 3) Melanoma Maligna adalah tumor yang berasal dari sel melanosit dan merupakan salah satu tumor yang paling

ganas pada tubuh dengan risiko metastasis yang paling tinggi. Melanoma maligna dapat diklasifikasikan menjadi empat bagian yaitu : *Superficial Spreading Melanoma* (SSM), *Nodular Melanoma* (NM), *Lentigo Malignant Melanoma* (LMM), dan *Acral Lentiginous Melanoma* (ALM).

Superficial spreading melanoma (SSM) merupakan jenis melanoma terbanyak (70%) dari setiap kasus yang terjadi di Indonesia. Pada umumnya timbul dari nervus atau pada kulit normal (*de novo*). Berupa plak *archiformis* berukuran 0,5-3 cm dengan tepi meninggi dan *irreguler* (tidak rata). Terdapat berbagai macam campuran warna pada permukaan melanoma, seperti coklat, abu-abu, biru, hitam, dan sering kali berwarna kemerahan. Pada umumnya lesi berukuran 2 cm dalam waktu 1 tahun, selanjutnya tumbuh secara vertikal dan berkembang menjadi nodula biru kehitaman. Pasien mengalami regresi spontan dengan meninggalkan bercak hipopigmentasi. Predileksi pada wanita dijumpai pada area tungkai bawah, sedangkan pada pria sering kali berada di badan dan leher (Putra, 2008).

Nodular melanoma (NM) merupakan jenis melanoma kedua terbanyak setelah SSM (15-30%), sifat dari melanoma jenis ini terlihat lebih agresif. Timbul pada kulit normal (*de novo*) dan jarang dari suatu nevus. Berupa nodul terbentuk setengah bola (*dome shaped*) atau polipoid dan eksofitik

dengan warna coklat, kemerahan tua biru sampai kehitaman. Pertumbuhan melanoma jenis ini menginvasi secara vertical, dapat mengalami ulserasi, perdarahan, dan timbul lesi satelit. Metastasis limfogen dan hematogen. Predileksi pada pria dan wanita adalah 2:1 dengan kemunculan pada daerah punggung (Putra, 2008).

Lentigo Maligna Melanoma (LMM) merupakan kelainan yang jarang (4-10%) ditemukan pada setiap angka kasus kejadiannya. Pertumbuhan sel kanker secara vertical dan sangat lambat dengan lokasi terbanyak pada muka (pipi dan pelipis) atau pada bagian lain yang lebih sering terkena paparan sinar matahari. Sel kanker dapat berupa macula coklat sampai kehitaman, berukuran beberapa sentimeter dengan tepi tidak teratur. Melanoma jenis ini dapat berkembang menjadi nodul biru kehitaman yang invasif dan sedikit hiperkeratotik, terutama pada wanita usia lanjut. Perbandingan terjadinya melanoma jenis ini antara pria dan wanita adalah 1:2 atau 1:3 (Putra, 2008).

Acaral Lentiginous Melanoma (ALM) jenis melanoma yang tumbuh pada kulit normal, berupa nodul dengan warna yang bervariasi dan pada permukaannya dapat timbul papula, nodul serta ulserasi. Predileksi melanoma ini terjadi pada area telapak kaki, tumit, telapak tangan, dasar kuku (terutama bagian ibu jari kaki dan tangan). Tipe ini banyak sekali dijumpai pada orang negro dan bangsa lain yang

tinggal pada iklim tropik. Afrika memiliki angka kejadian tertinggi lebih kurang 35-60% (Putra, 2008).

II. 1.4 Tingkatan Melanoma Maligna

Staging (tingkatan) adalah suatu proses untuk mengetahui seberapa jauh kanker tersebut bermetastasis. Tingkatan melanoma maligna diperoleh melalui pemeriksaan fisik, biopsi, dan juga proses pencitraan. Tingkatan tersebut juga membantu untuk menentukan terapi yang tepat dan prognosis penyakit pada pasien. *Staging* pada Melanoma Maligna yang paling sering digunakan adalah sistem *TNM* dari *American Joint Commission Cancer (AJCC)*. Sistem *TNM* terdiri atas T (Tumor) , N (Nodus limfe) dan M (Metastasis) . Berikut merupakan tahapan melanoma maligna berdasarkan *AJCC* (Tan *et al.*, 2015).

Tabel II.1 Tahapan melanoma maligna kategori T

Kategori T	Kedalaman (mm)	Status Ulserasi
T1	$\leq 1,0$	a. Tanpa ulserasi dan level II/III b. Dengan ulserasi atau level IV/V
T2	1,01 – 2,0	a. Tanpa ulserasi b. Dengan ulserasi
T3	2,01 – 4,0	a. Tanpa ulserasi b. Dengan ulserasi
T4	$>4,0$	a. Tanpa ulserasi b. Dengan ulserasi

Keterangan:

Clark: Level I lesi hanya meliputi epidermis; Level II invasi pada pars papilar dermis, tapi tidak mencapai permukaan *papillaryreticular dermis*; Level III invasi masuk dan meluas pada dermis papilar, tetapi tidak memasuki dermis retikuler; Level IV invasi masuk ke dermis retikuler; Level V invasi sampai ke dalam jaringan subkutis.

Tabel II.2 Tahapan melanoma maligna kategori N

Kategori N	Jumlah Kelenjar Limfe yang Termetastasis	Massa Kelenjar Limfe yang Termetastasis
N1	Metastasis ke-1 kelenjar limfe	a.Mikrometastasis ^a b.Makrometastasis ^b
N2	Metastasis ke-2 atau 3 kelenjar limfe	a. Mikrometastasis ^a b.Makrometastasis ^b c. Metastasis in transit atau satelit tanpa metastasis kelenjar limfe
N3	Metastasis ke-4 atau lebih kelenjar limfe atau metastasis in transit atau satelit dengan metastasis kelenjar limfe	-

Keterangan:

- a. Mikrometastasis bila terdiagnosis setelah tindakan *lymphadenectomy*;
- b. Makrometastasis bila kelenjar getah bening ditemukan bermetastasis pada saat pemeriksaan fisik kemudian dikonfirmasi oleh tindakan *lymphadenectomy*.
Lymphadenectomy adalah suatu bentuk tindakan pembedahan atau diseksi untuk mengeluarkan kelenjar getah bening. Tindakan ini dapat dilakukan untuk memeriksa kelenjar getah bening panggul dan para-aorta untuk sel-sel yang telah terinvansi kanker. Penghapusan dan pemeriksaan kelenjar getah bening kanker akan menentukan tahapan yang tepat dan kelas kanker serta dapat mengurangi penyebaran penyakit.

Tabel II.3 Tahapan melanoma maligna kategori M

Kategori M	Lokasi	Kadar Serum Laktat Dehidrogenase
M1a	Metastasis ke kulit yang jauh dari lesi atau metastasis ke jaringan kulit yang lebih dalam, yaitu subkutis, atau ditemukan metastasis kelenjar getah bening	Normal
M1b	Metastasis ke paru-paru Normal	Metastasis ke organ viseral meningkat
M1c	Metastasis ke organ viseral	Meningkat

II.1.5 Terapi Melanoma

Terapi pada kanker kulit terdiri atas terapi pembedahan dan non pembedahan. Terapi pembedahan terdiri atas pembedahan dengan eksisi, pembedahan dengan menggunakan teknik *Mohs Micrographic Surgery (MMS)*, *curretage and cautery*, dan *cryosurgery*.

1) Pembedahan dengan eksisi

Pada teknik ini, tumor dieksisi beserta dengan jaringan normal disekitarnya dengan batas yang telah ditentukan sebelumnya untuk memastikan seluruh sel kanker sudah terbuang.

2) Pembedahan dengan Teknik *Mohs Micrographic Surgery (MMS)*

Mohs Micrographic Surgery (MMS) adalah sebuah teknik pembedahan yang pertama kali dilakukan oleh Frederic

Mohs di tahun 1940. Pada teknik ini, tumor dieksisi beserta dengan jaringan normal disekitarnya dengan batas yang telah ditentukan sebelumnya.

Indikasi penggunaan teknik *Mohs Micrographic Surgery* (MMS) antara lain: Lokasi tumor yang berada di bagian tengah wajah, sekitar mata, hidung, dan telinga. Tumor yang memiliki ukuran berapapun, tetapi pada umumnya adalah memiliki diameter > 2 cm. Tumor yang memiliki sub tipe histologi : morfoik, infiltratif, mikronodular, dan sub tipe basoskuamosa. Definisi dari batas tumor yang kurang baik melalui klinis adalah lesi yang berulang (rekuren) karena ada keterlibatan perivaskular dan perineural.

3) *Curretage and cautery*

Merupakan metode tradisional dalam terapi pembedahan kanker kulit. Metode ini merupakan metode kedua terbanyak yang dilakukan setelah metode eksisi. *Curretage and cautery* bila dilakukan untuk terapi pada lesi yang terdapat di wajah akan mengakibatkan angka rekurensi yang tinggi, sehingga merupakan suatu kontraindikasi untuk pasien dengan melanoma di wajah.

4) *Cryosurgery*

Cryosurgery menggunakan cairan nitrogen dalam temperature 50°C - 60°C untuk menghancurkan sel kanker. Teknik *double freeze* direkomendasikan untuk lesi yang terdapat di wajah. *Fractional cryosurgery* direkomendasikan untuk lesi yang berukuran besar dan

lokasinya tersebar. Keberhasilan dari teknik ini tergantung dari seleksi jaringan tubuh dan kemampuan operator.

a) *Photodynamic therapy*

Photodynamic therapy melibatkan penggunaan reaksi fotokimia dimediasi melalui interaksi agen *photosensitizing*, cahaya, dan oksigen. Karena fotosensitizer diarahkan secara langsung ditargetkan pada jaringan lesi, *photodynamic therapy* dapat meminimalkan kerusakan pada struktur sehat berdekatan. Metode ini efektif untuk lesi pada wajah dan kulit kepala yang bersifat primer dan superfisial.

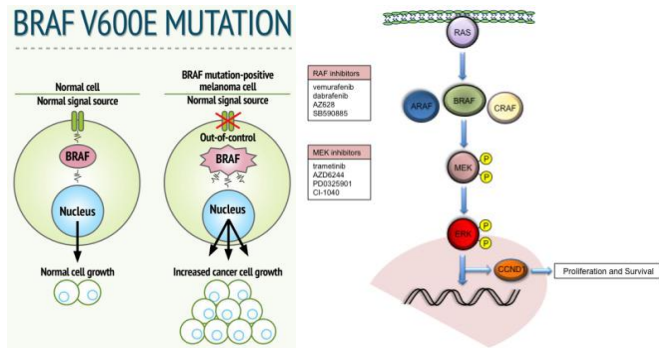
b) Radiasi

Teknik radiasi yaitu digunakan sinar-X dengan energi tinggi untuk membunuh sel kanker. Perlu diketahui bahwa, radiasi bukanlah untuk menyembuhkan kanker, melainkan sebagai terapi tambahan setelah pembedahan untuk mencegah rekurensi dari sel kanker atau untuk mencegah metastasis sel kanker.

c) Kemoterapi

Kemoterapi adalah metode dengan menggunakan obat-obatan untuk membunuh sel kanker khusus pada tipe Melanoma maligna. Hal ini disebabkan karena sifat dari Melanoma maligna yang sering melakukan metastasis ke organ atau jaringan tubuh yang lain. Beberapa jenis obat kemoterapi yang digunakan antara lain *Dacarbazine* (DTIC), Cisplatin yang dikombinasikan dengan Vinblastine, Temozolomide (Temodar), dan Paclitaxel. (Hendaria *et al.*, 2013) dan (Riechers and Bosserhoff, 2014)

II.2 Mutasi Genetik BRAF V600E



Gambar II.2 Mekanisme mutasi genetik BRAF V600E. Sumber : (Ascierto et al., 2012).

BRAF adalah protein kinase serin/treonin mengaktifkan MAP kinase/ERK-sinyal jalur. Sekitar 50% dari melanoma pelabuhan mengaktifkan mutasi BRAF, dimana lebih dari 90% disebabkan oleh mutasi V600E (Ascierto *et al.*, 2012). BRAF merupakan bagian integral dari RAS-RAF-MEK-ERK (mitogen-activated protein kinase) jalur transduksi sinyal, sebuah protein kinase cascade yang mengatur pertumbuhan seluler, proliferasi, diferensiasi, dan kelangsungan hidup dalam menanggapi sinyal ekstraseluler, termasuk faktor pertumbuhan, sitokin, dan hormones (Fisher and Larkin, 2012).

Mutasi RAS ditemukan sekitar 15% dalam kanker termasuk dalam melanoma, dan mutasi BRAF berpotensi terjadi pada sel yang sama dalam pola yang eksklusif. Mutasi BRAF umumnya disebabkan oleh substitusi asam amino tunggal valin (V) untuk glutamin pada kodon 600. Setidaknya 40 mutasi missense telah diidentifikasi pada BRAF

melalui pengelompokan mayoritas domain kinase yang menyebabkan aktivasi konstitutif (Fisher and Larkin, 2012).

Penentuan struktur kristal mutasi BRAF menunjukkan bahwa sebagian besar mutasi melibatkan asam amino yang menstabilkan interaksi antara loop yang banyak mengandung glisin dan segmen aktivasi yang mengarah pada konformasi aktif. Gangguan interaksi ini menyebabkan protein ditahan dalam keadaan aktif dan mengaktivasi kinase oleh 500-fold. Mutasi BRAF berpotensi sebagai onkogen, oleh karena itu daya tariknya sebagai target penting dalam terapi. Dikonfirmasi dalam studi lebih lanjut, semua yang menunjukkan BRAF mutan menjadi penggerak utama MEK-ERK sinyal dalam sel-sel kanker, secara independen dari RAS, mengakibatkan induksi proliferasi dan perlindungan dari apoptosis (Wn, 2004). Beberapa mutasi BRAF memiliki aktivitas kinase rendah, tetapi mampu untuk mengaktifkan MEK secara tidak langsung melalui ikatan kompleks dengan CRAF (Gidal, 2005).

II.3 *Melanoma Inhibitory Activity (MIA)*

Melanoma inhibitory activity (MIA) merupakan protein residu yang dihasilkan oleh sel melanoma melalui sel-sel tumor ganas melanoma, namun tidak dengan sel melanosit. Bobot makromolekul MIA lebih kurang sebesar 11 kDa dengan jumlah asam amino sebanyak 210 (Filho *et al.*, 2015)

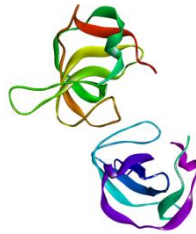
Peningkatan serum MIA pada plasma darah menunjukkan tingkat penyebaran melanoma pada pasien. Oleh karena itu MIA dapat pula digunakan sebagai detektor metastasis dari melanoma maligna

(Schmidt *et al.*, 2012). Hal tersebut disebabkan karena protein MIA berinteraksi dengan fibronektin, laminin, dan tenascin. Dimana ikatan antara matriks seluler (fibronektin, laminin, dan tenascin) tersebut dengan MIA membentuk suatu ikatan kompleks dengan integrins yang terletak pada membran melanosit. Melalui mekanisme inilah, MIA menginduksi penurunan sebesar 30 – 50% antara melanosit ganas dan berdekatan jaringan konjungtif. Akibatnya, konsentrasi tinggi serum MIA tampaknya menunjukkan adanya kloning tumor agresif dan keberadaan fenotipe tumor metastasis (Sandru *et al.*, 2014). Sedangkan MIA yang berikatan dengan adhesi sel reseptor seperti integrin $\alpha 4\text{-}\beta 1$ dan integrin $\alpha 5\text{-}\beta 1$, menyebabkan sel-sel tumor menyerang jaringan dalam fase metastasis (Riechers & Bosserhoff, 2014).

Diagnosa melanoma dapat dilakukan dengan hal lain yaitu menggunakan serum S 100 B, dimana serum tersebut bekerja pada sel tertentu. Berbeda dengan MIA yang bekerja langsung pada hasil metabolisme sel tumor ganas. Berdasarkan penelitian Tas *et al.* (2004) prevalensi untuk ketepatan dan keakuratan diagnosa melanoma maligna hasil lebih baik ditunjukkan pada sel MIA. Pada diagnosa Melanoma maligna banyak diantaranya untuk memilih mengkombiasi antara menggunakan serum S 100 B dan MIA secara bersamaan, bertujuan untuk menambah akurasi data (Riechers and Bosserhoff, 2014).

MIA merupakan target sel yang sangat menjanjikan untuk menghambat metastasis melanoma. Tujuan dari menghambat

metastasis melanoma agar sel kanker tidak menginduksi sel-sel pada organ lain. Serum MIA juga dapat digunakan sebagai monitoring terapi yaitu untuk mengetahui metastasis dari melanoma maligna (Lougheed *et al.*, 2001).



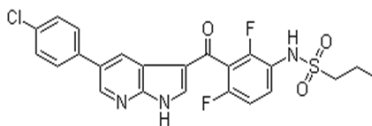
Gambar II.3 Kristalografi sinar-X makromolekul dengan MIA (5IXB).
Sumber:<http://www.rcsb.org/pdb/explore/explore.do?structureId=5ixb>

II.4 Vemurafenib

Mutasi BRAF terjadi pada lebih kurang 50% pasien melanoma maligna. Umumnya mutasi BRAF terjadi pada pasien yang memiliki masalah dengan sel kulit, tanpa diketahui penyebab kerusakannya, apakah karena paparan sinar matahari ataukah karena penyebab lain. Namun untuk melanoma pada jaringan sel mukosa dan situs acral jarang terjadi kasus mutasi BRAF. (Ascierto *et al.*, 2012).

Vemurafenib merupakan obat generasi pertama sebagai pilihan terapi untuk antimeelanoma yang disebabkan oleh mutasi genetik BRAF. (Fisher and Larkin, 2012). Vemurafenib (Zelboraf) adalah BRAF sebuah kinase inhibitor bahwa pertumbuhan blok tumor dengan menghalangi proliferasi sel pada sel melanoma dengan mutasi BRAF (AS Food and Drug Administration [FDA], 2011).

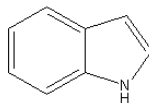
Namun hasil penelitian menunjukkan bahwa vemurafenib mengalami resistensi pada fase III relatif mengalami penurunan efek terapi lebih kurang 63% dengan angka kematian mencapai 74% pada kasus melanoma(Ascierto *et al.*, 2012). Oleh karena itu pada tahun 2011 oleh FDA dianjurkan terapi vemurafenib dikombinasikan dengan obat yang bekerja pada MEK.



Gambar II.4 Struktur Vemurafenib. Sumber: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/42611257>

- 1.) Indikasi : Melanoma metastatik
- 2.) Kontraindikasi : Hipersensitifitas terhadap vemurafenib
- 3.) Efek samping : Membentuk suatu kutil atau lesi, sakit kepala atau pusing, detak jantung cepat atau berdebar, perubahan visi, sakit mata atau bengkak.

II.5 Alkaloid Indol



Gambar II.5 Struktur kimia turunan alkaloid indol
Sumber: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/798#section=2D-Structure>.

Alkaloid adalah kelompok senyawa yang mengandung nitrogen (N) dalam bentuk gugus fungsi amin. Pada umumnya, alkaloid mencakup senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam gabungan sebagai bagian dari sistem siklik. Umumnya alkaloid beracun, sehingga banyak digunakan dalam bidang pengobatan. Alkaloid biasanya tidak berwarna, sering kali bersifat optis aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar. Pada umumnya, alkaloid tidak terlalu banyak terdapat dalam gymnospermae, paku-pakuan, lumut dan tumbuhan rendah (Harborne, 1997).

Indol adalah substansi induk dari sejumlah besar senyawa penting yang terdapat di alam. Indol dan *alkylindoles* sederhana berbentuk padatan kristal berwarna dengan bau yang khas dari naftalena. Beberapa alkaloid indol memiliki aktivitas farmakologi yang cukup penting misalnya, Strychnos alkaloid strychnine bertindak kuat dalam kontraksi otot, sedangkan toxiferines bertindak sebagai relaksan otot. Terdapat tiga kelompok yang terkenal dari turunan senyawa alkaloid indol yaitu:

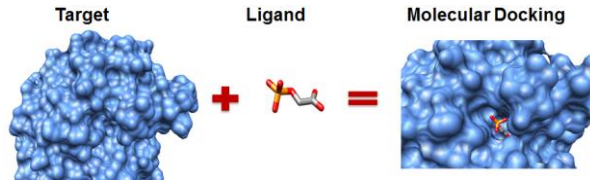
- 1.) Ergot alkaloid-ergometrine dengan aktivitas sebagai kontraksi otot rahim, ergotamin untuk bantuan migrain dan alkaloid diubah, bromokriptin, yang menekan laktasi dan memiliki beberapa aplikasi untuk pengobatan karsinoma mammae.
- 2.) Rauwolfia alkaloid dan secara khusus reserpin merupakan precursor dari obat penenang.
- 3.) Dimer alkaloid anti-leukemia Catharanthus, vinblastin dan vinkristin. Salah satu yang paling menarik penemuan dalam

bidang alkaloid indol telah pengakuan dari peran yang dimainkan oleh iridoid prekursor seperti *secologanin*. (Kaushik *et al.*, 2013)

II.6 Docking Molekular

Ilmu pengetahuan dalam dunia farmasi khususnya pengembangan dan penemuan senyawa obat baru semakin berkembang. Hal tersebut semakin memudahkan peneliti bidang farmasi untuk mendesain obat yang lebih baik. Desain obat baru yang diperbantukan dengan komputer sering disebut sebagai *Computer Aided Drug Design* (CADD). Salah satu dari metode CADD adalah *molecuar docking*, dimana dilakukannya penambatan senyawa molekular (ligan) pada suatu makromolekul (protein/reseptor) (Motiejunas & Wade, 2007). Dilakukan *molecuar docking* bertujuan untuk memprediksikan konformasi ikatan dan afinitas ikatan. Dalam metode *molecuar docking* terdapat dua aspek penting yaitu algoritme/pose *docking* dan *scoring function docking* (Yanuar, 2012).

Algorithms Pose merupakan suatu program *docking* yang digunakan untuk mencari situsambat atau sebuah konformasi yang paling tepat dan stabil dari kompleks antara ligan dan makromolekul yang terbentuk. Sebagian besar program *docking* menggunakan fleksibilitas ligan sebagai dasar pencarian dan beberapa menggunakan fleksibilitas makromolekul protein.

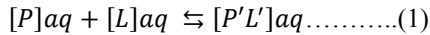


Gambar II.6 Bentuk kompleks ligan dengan makromolekul saat *molecular docking*. *Sumber:* (Hernandez-Davies *et al.*, 2015)

Berdasarkan interaksi yang terjadi terdapat beberapa jenis interaksi seperti, interaksi *docking* protein-protein, *docking* ligan-protein, *docking* ligan-DNA.

Gugus-gugus fungsional akan berinteraksi dengan residu asam amino protein makromolekul, sehingga membentuk ikatan intramolekuler, dimana ikatan tersebut yang dihitung dan diperingkatkan melalui *Scoring Function* [(Bourne, (2009) dalam Nugraha, 2012)]. Fungsi *Scoring* dapat memperkirakan afinitas ikatan antara makromolekul (makromolekul) dengan ligan. Dimana semakin negatif energi afinitas maka semakin rendah ikatan energi bebas tersebut. Menunjukkan bahwa ikatan reseptor-ligan semakin stabil karena semakin negatif suatu energi maka dibutuhkan energi lebih banyak untuk melepaskan atau memutuskan ikatan tersebut. Energi afinitas merupakan kecenderungan suatu senyawa untuk berikatan dengan senyawa lain. Apabila energi afinitasnya rendah maka ikatan senyawa obat tersebut dengan makromolekulnya semakin stabil, sehingga dapat memberikan efek terapi yang diharapkan (Frengki, Saura and Rinidar, 2013).

Identifikasi energi ikatan didasarkan pada teori bebas Gibbs. Nilai Energi bebas Gibbs rendah menunjukkan bahwa konformasi yang terbentuk adalah stabil (Funkhouser. 2007). Ikatan antara makromolekul-ligan dapat ditunjukkan melalui persamaan berikut;



Dimana ikatan makromolekul-ligan ditentukan dengan variasi dari energi bebas pada proses pengikatan. Persamaan Gibbs dapat ditentukan sebagai berikut;

$$\Delta G = -RT \cdot \ln KA \dots\dots\dots(2)$$

$$KA = 1/K_i \dots\dots\dots(3)$$

$$1/K_i = \frac{[P'L']}{[P][L]} \dots\dots\dots(4)$$

Dimana T adalah temperatur *absolute*, R adalah konstanta gas molar (8,3145 J/mol K), K_A adalah konstanta ikatan, dan K_i adalah konstanta disosiasi dari interaksi ligan-protein (Fu. 2012).

II.7 *Blind Docking*

Tujuan dilakukannya *docking* adalah untuk mencapai konformasi makromolekul (protein) dan senyawa molekuler (ligan) yang optimal. Sehingga energi bebas dalam sistem dapat diminimalkan yang pada akhirnya ikatan antara makromolekul-ligan tersebut menjadi stabil. Pada prosesnya *docking* dibagi dalam dua jenis yaitu *blind docking* dan *oriented docking*. *Oriented docking* dilakukan untuk mengetahui jenis ikatan kompleks makromolekul-ligan, ketika posisi interaksi tersebut telah diketahui. oleh karena itu dalam pengaturan *grid box* yang digunakan disesuaikan area ikatan kompleks.

Berbeda dengan *blind docking*, dimana suatu *docking* dilakukan pada makromolekul tanpa diketahui ligan alaminya. Ligan alami adalah suatu senyawa molekuler yang memiliki aktivitas farmakologi terhadap makromolekul spesifiknya. Agar diketahui letak ikatan kompleks makromolekul dengan ligan, maka ketika mengatur parameter *grid box* dilakukan dengan ukuran maksimum. Hal ini bertujuan agar seluruh permukaan dari protein dapat tertutupi oleh *grid box*, sehingga dapat meningkatkan *docking* run secara signifikan (Seeberger and Rademacher, 2014).

II.8 Ikatan Obat dengan Reseptor

Ketika obat berinteraksi dengan reseptor, beberapa gaya tarik-menarik dapat terjadi pada awal interaksi. Senyawa yang berikatan dengan makromolekul reseptor memiliki afinitas pada reseptor lain dan dapat diklasifikasikan sebagai agonis atau antagonis. Senyawa yang memiliki afinitas inilah yang disebut dengan ligan. Interaksi agonis pada kompleks ligan dan reseptor merupakan senyawa yang memiliki afinitas pada reseptor dan mampu membentuk respon biologi. Kemampuan untuk membuat respon disebut efikasi, atau aktivitas intrinsik. Namun sebaliknya untuk obat-obat yang mampu berinteraksi dengan reseptor tanpa memberikan respon diklasifikasikan sebagai antagonis. Kekuatan afinitas senyawa saat membentuk ikatan kompleks dengan reseptornya bergantung pada karakteristik struktur 3 dimensinya (3D), antara lain ukurannya, orientasi stereokimia dari gugus fungsi, serta sifat fisika dan elektrokimianya (dapat dimisalkan seperti interaksi hidrogen dan hidrofobik) (Fang, 2012).

1.) Ikatan Kovalen

Ikatan terkuat yang terlibat dalam interaksi obat-reseptor adalah ikatan kovalen, dimana dua atom, satu atom dari ligand dan satu atom dari reseptor, saling berbagi pasangan elektron. Karena kekuatan ikatan yang signifikan (50-150 kkal/mol), ikatan kovalen sering kali bersifat ireversibel, hal ini menyebabkan destruksi melalui endositosis dan destruksi kimia. Perbaikan fungsi sel akibat destruksi, membutuhkan sintesis reseptor baru (Sax, 2015).

2.) Ikatan Ionik

Ketika dua ion yang berbeda muatannya saling tarik-menarik melalui gaya elektrostatik, terbentuklah ikatan ionik. Kekuatan ikatan ionik berkisar antara 5-10 kkal/mol, dan berkurang secara proporsional terhadap kuadrat jarak antara dua atom. Kemampuan obat untuk mengikat reseptor melalui interaksi ionik sehingga menambah secara signifikan sebagai molekul obat berdifusi lebih dekat dengan reseptor. Tidak seperti ikatan kovalen, ikatan ionik tidak cukup kuat untuk mencegah disosiasi kompleks obat-reseptor.

Kecenderungan atom dalam berpartisipasi pada ikatan ionik ditentukan oleh derajat elektronegativitas. Hidrogen sebagai standar, memiliki nilai elektronegativitas 2,1 (Unit Linus Pauling). Atom fluorin dan klorin serta gugus hidroksil, sulfidril, dan karboksil membentuk ikatan ionik yang kuat karena daya tarik yang lebih kuat terhadap elektron dibandingkan dengan hidrogen. Sementara itu, gugus alkil tidak berpartisipasi dalam ikatan ionik karena

kecenderungan yang lebih lemah dalam menarik elektron dibandingkan hidrogen (Nolan, 2015).

3.) Ikatan Hidrogen

Hidrogen terhubung via ikatan kovalen dengan atom yang memiliki elektronegativitas yang kuat, seperti oksigen, nitrogen, atau sulfur, membentuk muatan relatif positif dan akan berikatan dengan atom lain yang memiliki muatan relatif negatif, hal ini disebut dengan ikatan hidrogen. Molekul air yang berlaku sebagai dipol elektronik (hidrogen secara relatif positif karena tarikan elektron oleh oksigen) dengan mudah berikatan dengan molekul air yang lain melalui ikatan hidrogen. Pada 2 hingga 5 kkal/mol, ikatan hidrogen tunggal pada umumnya lemah dan tidak memungkinkan untuk mendukung interaksi obat dengan reseptor, namun ketika banyak ikatan hidrogen terbentuk di antara obat dan reseptor, interaksi obat-reseptor semakin banyak yang stabil (Sax, 2015).

4.) Ikatan hidrofobik

Ikatan hidrofobik antara senyawa organik nonpolar dapat berkontribusi pada gaya ikatan yang menarik ligan pada reseptor. Gaya pada ikatan ini sangat lemah (0,5-1 kkal/mol). Ikatan ini biasa disebut juga dengan gaya van der Waals atau gaya London, membutuhkan 2 molekul nonpolar yang saling berdekatan (Chaudhari *et al.*, 2016).