

***VIRTUAL SCREENING SENYAWA OBAT
PENURUN GULA DARAH DARI DATABASE
TANAMAN HERBAL TERHADAP PYRUVATE
DEHIDROGENASE KINASE ISOFORM-1
BERBASIS PHARMACOPHORE MODELLING DAN
MOLECULAR DOCKING***

LAPORAN TUGAS AKHIR

**INDAH OKI PERTIWI H.
13151017**



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

ABSTRAK

Virtual Screening Senyawa Obat Penurun Gula Darah dari Database Tanaman Herbal terhadap Pyruvate Dehidrogenase Kinase Isoform-1 Berbasis Pharmacophore Modelling dan Molecular Docking

Indah Oki Pertiwi H. 13151017

Diabetes Mellitus (DM) merupakan salah satu kelompok penyakit metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia (kadar gula darah meningkat) karena gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya. Pyruvate dehidrogenase Kinase merupakan salah satu enzim yang mengatur kerja regulasi gula darah. Penapisan virtual sebagai salah satu metode pendekatan *in silico* telah digunakan pada pencarian senyawa penuntun dari basis data senyawa bahan alam sebagai inhibitor Pyruvate dehidrogenase kinase. Pada penelitian ini dilakukan penapisan virtual basis data senyawa tanaman obat pada Pyruvate dehidrogenase kinase dengan ZINC senyawa bahan alam. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan kandidat senyawa aktif sebagai penghambat Pyruvate dehidrogenase kinase serta untuk mengetahui interaksi molekular senyawa hasil dengan protein target. Penelitian ini dilakukan dengan metode *pharmacophore modelling* dan *molecular docking*. Validasi *virtual screening* berbasis *pharmacophore modelling* menggunakan 6 fitur tervalidasi dengan nilai AUC dan EF berturut-turut adalah 0,5 dan 2. Validasi *virtual screening* berbasis *molecular docking* tervalidasi dengan nilai AUC dari Vina dan Autodock Wizar berturut-turut adalah sebesar 0,582 dan 0,543. Dari hasil *pharmacophore modelling* didapatkan sebanyak 849 senyawa dan hasil *molecular docking* didapatkan 39 senyawa. Dari 39 senyawa terdapat 15 senyawa yang memiliki interaksi residu asam amino dan 2 diantaranya memiliki residu asam amino yang sama dengan ligan alami. Interaksi reseptor dengan ligan alami adalah asam amino SER75 pada reseptor berikatan dengan atom O pada ligan alami. Pada senyawa hasil IBS ZINC02126814 dan IBS ZINC08792130 juga didapatkan interaksi yang sama yaitu asam amino SER75 pada reseptor berikatan dengan atom O pada senyawa hasil.

Kata Kunci: Penapisan virtual, Pyruvate dehidrogenase kinase, Pharmacophore Modelling, Molecular Docking, Tanaman Herbal.

ABSTRACT

Virtual Screening of Glucose-Lowering Drug from Natural Product Database with Pyruvate Dehydrogenase Kinase Isoform-1 Based on Pharmacophore Modeling and Molecular Docking

Indah Oki Pertiwi H. 13151017

Diabetes Mellitus (DM) is one of the groups of metabolic diseases characterized by hyperglycemia (elevated blood glucose) due to impaired insulin secretion, insulin work, or both. Pyruvate dehydrogenase Kinase is one of the enzymes that regulate the work of blood sugar regulation. Virtual screening as one of the in silico approach method has been used in the search of the lead compound from the natural product database as the Pyruvate dehydrogenase kinase inhibitor. In this study, a virtual database of plant compounds in Pyruvate dehydrogenase kinase was performed with ZINC natural product. The purpose of this study was to obtain candidates of active compounds as an inhibitor of Pyruvate dehydrogenase kinase as well as to know the molecular interaction of the resultant compound with the target protein. This research was done by pharmacophore modeling and molecular docking method. Validation of virtual screening based on pharmacophore modelling was carried out using 6 features and gave AUC and EF value of 0,5 and 2. Validation of virtual screening based on molecular docking gave the AUC value of Vina and Autodock Wizard of 0,582 and 0,543 respectively. The results of pharmacophore modeling obtained as many as 849 compounds and molecular docking results obtained 39 compounds. Of the 39 compounds there are 15 compounds that have interactions of amino acid residues and 2 of them have the same amino acid residues as natural ligands. The receptor interaction with natural ligand is the SER75 amino acid at the receptor binding to the O at natural ligand. In the compounds of IBS ZINC02126814 and IBS ZINC08792130 also obtained the same interaction of SER75 amino acids on receptors bonded to the O atoms on the yield compound.

Keywords :Virtual Screening, Pyruvate dehydrogenase kinase, Pharmacophore Modelling, Molecular Docking, Natural Product

**VIRTUAL SCREENING SENYAWA OBAT PENURUN GULA
DARAH DARI DATABASE TANAMAN HERBAL
TERHADAP PYRUVATE DEHIDROGENASE KINASE
ISOFORM-1 BERBASIS PHARMACOPHOR MODELLING
DAN MOLECULAR DOCKING**

LAPORAN TUGAS AKHIR

Diajukan untuk memenuhi persyaratan kelulusan
Program Strata Satu

INDAH OKI PERTIWI H.

13151017

Bandung, Agustus 2017

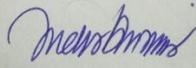
Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II



(Dr. Ida Musfiroh, M.Si., Apt.)



(Deden Indra D., M.Si., Apt.)

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.

Dipersembahkan kepada mama dan abang tercinta

KATA PENGANTAR

Penulis panjatkan puji syukur dan kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala limpahan berkat dan kasih karuniaNya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan Tugas Akhir dengan judul “*Virtual Screening* Senyawa Obat Penurun Gula Darah dari *Database* Tanaman Herbal terhadap *Pyruvate Dehydrogenase Kinase Isoform-1* Berbasis *Pharmacophore Modelling* dan *Molecular Docking*” dengan baik

Penyusunan Tugas Akhir ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana pada Program Studi Strata I Farmasi di Sekolah Tinggi Farmasi Bandung. Dalam penulisan Tugas Akhir ini penulis telah berusaha semaksimal mungkin untuk memberikan yang terbaik. Tugas akhir ini dapat terwujud berkat dorongan, bimbingan, semangat, motivasi serta bantuan baik moril maupun material dan doa sari berbagai pihak. Karena itu penulis pada kesempatan ini mengucapkan terimakasih kepada:

1. Mama dan abang tercinta atas doa, dukungan, semangat, motivasi, materi dan cinta kasih yang telah diberikan kepada penulis.
2. Dr. Ida Musfiroh, M.Si., Apt., dan Deden Indra Dinata, M.Si., Apt., sebagai dosen pembimbing Tugas Akhir
3. Segenap dosen dan staff Sekolah Tinggi Farmasi Bandung yang telah banyak memberikan ilmu dan pelajaran berharga.

4. Sahabat-sahabat terbaik saya yang telah memberikan dukungan, motivasi, kesabaran, perhatian dan kasih sayangnya selama ini.
5. Teman – teman seperjuangan Ekstensi A angkatan 2015 atas kerjasama selama masa-masa kuliah.
6. Berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, atas segala dukungan, bantuan, dan yang telah diberikan dalam penulisan Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan Tugas Akhir ini. Untuk itu penulis mengharapkan adanya kritik dan saran yang membangun dari semua pihak untuk perbaikan sehingga akan menjadi bahan pertimbangan dan masukan untuk penyusunan tugas-tugas selanjutnya. Penulis berharap semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan dapat menjadi bekal bagi penulis dalam pengabdian Sarjana Farmasi di masyarakat pada khususnya.

Bandung, Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

| | |
|---|-----|
| Kata Pengantar..... | i |
| Daftar Isi..... | iii |
| Daftar Tabel..... | vi |
| Daftar Gambar..... | vii |
| Daftar Lampiran..... | vii |
| Bab I Pendahuluan..... | 1 |
| I.1 Latar Belakang Masalah..... | 1 |
| I.2 Rumusan Masalah..... | 4 |
| I.3 Tujuan Penelitian..... | 4 |
| I.4 Hipotesa Penelitian..... | 5 |
| I.5 Manfaat Penelitian..... | 5 |
| Bab II Tinjauan Pustaka..... | 5 |
| II.1 Diabetes Melitus..... | 5 |
| II.2 Piruvat Dehidrogenase Kinase..... | 5 |
| II.3 Penemuan Obat..... | 7 |
| II.4 Penapisan Virtual..... | 7 |
| II.5 <i>Virtual Screening</i> Berbasis <i>Pharmacopore Modelling</i> dengan <i>Software PyRx Screening Tool 0.8</i> | 15 |
| II.6 <i>Database</i> dan <i>Dataset</i> | 17 |
| Bab III Metodologi Penelitian..... | 24 |
| Bab IV Perangkat Keras, Perangkat Lunak, <i>Data Base</i> dan <i>Data Set</i> | |
| IV.1. Perangkat Keras..... | 26 |
| IV.2. Perangkat Lunak..... | 26 |
| IV.3. <i>Data Base</i> dan <i>Data Set</i> | 27 |

| | |
|---|----|
| Bab V Prosedur Penelitian..... | 28 |
| V.1. Pencarian <i>database</i> dari <i>ZINC Natural Product</i> | 28 |
| V.2. Pencarian reseptor kode PDB 2Q8G..... | 28 |
| V.3. Pencarian senyawa aktif secara biologis..... | 28 |
| V.4. Pencarian senyawa tidak aktif secara biologis menggunakan aplikasi Decoy Finder..... | 29 |
| V.5. Pemodelan farmakofor menggunakan <i>software</i> Ligand Scout..... | 29 |
| V.6. Validasi model farmakofor menggunakan <i>software</i> Ligand Scout..... | 30 |
| V.7. <i>Virtual Screening</i> menggunakan <i>software</i> Ligand Scout..... | 30 |
| V.8. Validasi metode <i>Molecular Docking</i> menggunakan <i>software</i> PyRx..... | 30 |
| V.9. <i>Molecular Docking</i> senyawa uji menggunakan <i>software</i> PyRx..... | 32 |
| V.10. Analisis Hasil..... | 33 |
| BAB VI Hasil dan Pembahasan..... | 34 |
| VI.1 Pencarian Target Reseptor..... | 34 |
| VI.2 Pencarian <i>Database</i> dari <i>ZINC Natural Product</i> | 35 |
| VI.3 Pencarian Senyawa Aktif Secara Biologis..... | 37 |
| VI.4 Pencarian Senyawa Tidak Aktif Secara Biologis (Decoy).... | 38 |
| VI.5 Pemodelan Farmakofor Menggunakan <i>Software</i> Ligand Scout..... | 38 |
| VI.6 <i>Pharmacophore Modelling</i> menggunakan Ligand Scout..... | 39 |

| | |
|--|----|
| VI.7 Validasi model farmakofor menggunakan Ligand Scout..... | 40 |
| VI.8 Skrining model farmakofor dengan data base | 42 |
| VI.9 <i>Molecular Docking</i> menggunakan PyRx..... | 45 |
| VI.10 Interaksi Ikatan | 52 |
| Bab VII Kesimpulan dan Saran..... | 57 |
| VII.1. Kesimpulan..... | 57 |
| VII.2. Saran..... | 57 |
| DAFTAR PUSTAKA..... | 58 |
| LAMPIRAN..... | 62 |

DAFTAR TABEL

| | |
|---|----|
| Tabel II.1 Fitur-fitur farmakofor dalam <i>Ligand Scout</i> 4.0..... | 13 |
| Tabel VI.1. Pustaka Struktur Reseptor Pyruvate Dehidrogenase Kinase..... | 35 |
| Tabel VI.2. Daftar Nama dan Jumlah Database..... | 36 |
| Tabel VI.3 Jumlah hasil senyawa skrining menggunakan database..... | 44 |
| Tabel VI.4. Parameter Perhitungan <i>Docking</i> Vina Wizard..... | 47 |
| Tabel VI.5. Parameter Perhitungan <i>Docking</i> Autodock Wizard..... | 47 |
| Tabel VI.6. Hasil <i>Molecular Docking</i> menggunakan <i>software</i> Pyrx..... | 51 |
| Tabel VI.7. Interaksi Ikatan Reseptor-Ligan Alami hasil Re- Docking..... | 53 |
| Tabel VI.8. Interaksi Ikatan Reseptor-Senyawa Uji..... | 54 |

DAFTAR GAMBAR

| | |
|---|----|
| Gambar II.1 Pengaturan Piruvate Dehidrogenase..... | 6 |
| Gambar VI.1 Kompleks Protein Pyruvate Dehidrogenase Kinase dengan ligan inhibitor..... | 34 |
| Gambar VI.2 Struktur dan fitur farmakofor ligan alami (2D)..... | 38 |
| Gambar VI.3 Struktur dan fitur farmakofor ligan alami (3D)..... | 39 |
| Gambar VI.4 Kurva ROC hasil validasi | 41 |
| Gambar VI.5. Struktur dan fitur farmakofor ligan alami yang sudah divalidasi..... | 41 |
| Gambar VI.6. Kurva ROC Validasi Senyawa Aktif-Decoy Vina Wizard..... | 49 |
| Gambar VI.7. Kurva ROC Validasi Senyawa Aktif-Decoy Autodock Wizard..... | 49 |
| Gambar VI.9. Interaksi Ikatan Reseptor-Ligan Alami hasil Re- Docking..... | 52 |

DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|--|----|
| Lampiran 1 Tabel 10 Daftar Nama Senyawa dan <i>Binding Energy</i> Hasil <i>Molecular Docking Database</i> IBS..... | 62 |
| Lampiran 2. Tabel 11 Daftar Nama Senyawa dan <i>Binding Energy</i> Hasil <i>Molecular Docking Database</i> Princeton..... | 64 |
| Lampiran 3. Gambar Struktur (2D) Senyawa Hasil <i>Molecular</i> <i>Docking Database</i> IBS..... | 66 |
| Lampiran 4. Gambar Struktur (3D) Senyawa Hasil <i>Molecular</i> <i>Docking Database</i> IBS..... | 71 |
| Lampiran 5. Gambar Struktur (2D) Senyawa Hasil <i>Molecular</i> <i>Docking Database</i> Princeton..... | 75 |
| Lampiran 6. Gambar Struktur (3D) Senyawa Hasil <i>Molecular</i> <i>Docking Database</i> Princeton..... | 82 |
| Lampiran 7. Gambar Interaksi Senyawa Hasil dengan Reseptor..... | 87 |

Bab I Pendahuluan

I.1 Latar Belakang

Diabetes Mellitus (DM) merupakan salah satu kelompok penyakit metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia (kadar gula darah meningkat) karena gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (ADA, 2014). Keadaan Hiperglikemia kronis dari diabetes berhubungan dengan gangguan fungsi dan kegagalan berbagai organ, terutama mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah (ADA, 2014).

Data dari WHO pada tahun 2013 menunjukkan bahwa 347 juta orang di seluruh dunia menderita diabetes. Indonesia merupakan Negara ke-7 dengan jumlah penderita diabetes terbanyak di dunia. Sekitar 7,6 juta penduduk Indonesia menderita diabetes, sementara 12,6 juta orang lainnya dalam kondisi prediabetes. Pada tahun 2030, diperkirakan populasi penderita diabetes di Indonesia mencapai angka 11,8 juta, dengan persentase pertumbuhan 6 % per tahun yang jauh melebihi pertumbuhan penduduk Indonesia secara keseluruhan (Novo Nordisk, 2013).

Meskipun obat-obat hipoglikemik oral dapat menurunkan kadar gula dalam darah, tetapi obat-obat tersebut secara umum dapat memberikan berbagai efek samping seperti toksisitas hati, mual, muntah, nyeri perut, dan lain sebagainya yang membuat pasien merasa tidak nyaman (Departemen Kesehatan RI, 2005). Oleh sebab itu, masih diperlukan penelitian-penelitian mengenai pengembangan terapi diabetes melitus tipe-2 dan obat antihiperglikemia. Salah

satunya adalah pengembangan obat dengan menggunakan bahan alam yang diharapkan dapat sebagai alternatif pengobatan dengan mekanisme kerja yang spesifik sehingga dapat memperkecil efek samping.

Piruvat dehidrogenase kompleks (PDC) merupakan target yang muncul untuk pengobatan sindrom metabolik. Untuk mempertahankan konsentrasi steady-state adenosin trifosfat selama siklus umpan-cepat, sel memerlukan pemanfaatan efisien dari asam lemak dan glukosa, yang dikendalikan oleh PDC. PDC mengkonversi piruvat, koenzim A (CoA), dan nicotinamide adenin dinukleotida (NAD⁺) teroksidasi menjadi asetil-CoA, mengurangi bentuk nicotinamide adenine dinukleotida (NADH), dan karbon dioksida. Aktivitas PDC adalah *up* dan *down* diatur oleh piruvat kinase dehidrogenase dan piruvat dehidrogenase fosfatase, masing-masing. Selain itu, piruvat adalah perantara utama oksidasi glukosa dan prekursor penting untuk sintesis glukosa, gliserol, asam lemak, dan asam amino nonesensial.

Sesuai dengan perkembangan teknologi, pengujian beberapa aktivitas obat dalam tubuh kini tidak hanya melalui uji *in vivo* ataupun *in vitro* saja melainkan dapat melalui uji *in silico* atau simulasi komputer. Uji *in silico* dilakukan dengan tujuan untuk memperkecil kegagalan pada uji *in vivo* ataupun *in vitro* dengan cara memprediksi kemungkinan-kemungkinan yang dapat terjadi seperti adanya afinitas suatu senyawa terhadap reseptor target tertentu, sifat toksisitas senyawa, karakterisasi fisikokimia, serta parameter farmakokinetik lainnya. Oleh karena itu, pengujian secara *in silico* dapat digunakan dalam pengembangan serta penemuan obat baru

(Ekins *et al.*, 2007).

Pengembangan obat baru yang dilakukan dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan metode *virtual screening* yang terdiri dari *pharmacophore modelling* dan *molecular docking*. Metode *pharmacophore modelling* dipilih karena metode ini dapat menyaring banyak molekul yang memiliki kesamaan dengan ligan alami. Dari senyawa yang sudah disaring dengan metode *pharmacophore modelling* selanjutnya dilakukan *virtual screening* dengan metode *molecular docking*, dimana dengan metode ini dilakukan untuk jumlah molekul yang lebih kecil. Metode *molecular docking* yaitu menskrining tempat ikatan ligan pada makromolekul serta dapat menentukan titik interaksi utama antara ligan dan makromolekul. Metode *structure-based pharmacophore design* sendiri dibagi menjadi 2 sub kategori, yaitu berbasis kompleks ligan dan makromolekul serta berbasis makromolekul (tanpa ligan) (Yang, 2011).

Berdasarkan latar belakang yang ada, maka pada Penelitian ini dikerjakan dengan metode *virtual screening* yang terbagi atas *pharmacophore modelling* dan *molecular docking*. Pengerjaan *pharmacophore modelling* menggunakan aplikasi LigandScout dan *molecular docking* menggunakan aplikasi PyRx. Dimana dalam aplikasi metode ini bertujuan agar mendapatkan kandidat obat yang aktif sehingga dapat dijadikan dasar dalam pengujian aktivitas yang lebih lanjut.

I.2 Rumusan Masalah

- (1) Apakah dapat dihasilkan model farmakofor yang memberikan potensi sebagai obat penurun gula darah dari *database* senyawa tanaman herbal?
- (2) Interaksi apa yang terjadi antara senyawa tanaman herbal yang berpotensi sebagai obat penurun gula darah dengan reseptor Pyruvate Dehidrogenase Kinase Isoform-1?

I.3 Tujuan Penelitian

- (1) Untuk menyeleksi senyawa aktif dari *database* senyawa tanaman herbal berbasis *pharmacophore modelling* dan *molecular docking* terhadap reseptor Pyruvate Dehidrogenase Kinase Isoform-1 untuk menurunkan kadar gula darah.
- (2) Untuk mengetahui interaksi antara reseptor Pyruvate Dehidrogenase Kinase Isoform-1 dengan senyawa yang terpilih.

I.4 Hipotesa Penelitian

Hipotesa dari penelitian ini adalah didapatkan senyawa dari *database* tanaman herbal yang dapat menghambat piruvat dehidrogenase kinase untuk pengobatan gula darah.

I.5 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk menghasilkan model farmakofor yang dapat digunakan dalam proses skrining virtual terhadap obat penurun gula darah dari *database* Tanaman Herbal sehingga dapat dijadikan dasar dalam pengembangan obat untuk mengatasi penyakit diabetes.

Bab II Tinjauan Pustaka

II.7 Diabetes Melitus

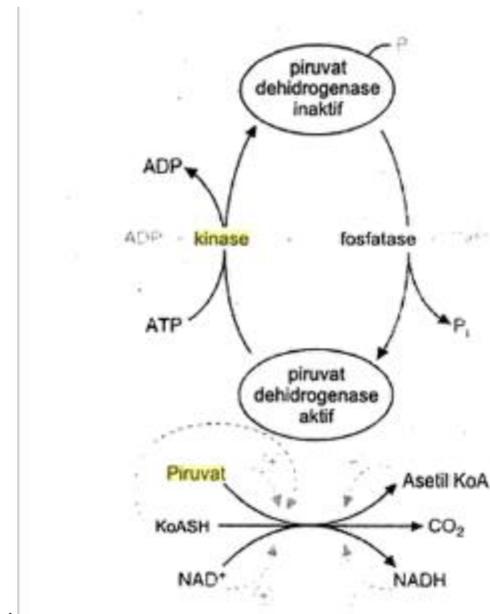
Diabetes Mellitus (DM) merupakan salah satu kelompok penyakit metabolik yang ditandai oleh hiperglikemia (kadar gula darah meningkat) karena gangguan sekresi insulin, kerja insulin, atau keduanya (ADA, 2014). Fungsi insulin adalah untuk mengatur kadar normal glukosa darah (Wilcox,2005).

Keadaan Hiperglikemia kronis dari diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang, gangguan fungsi dan kegagalan berbagai organ, terutama mata, ginjal, saraf, jantung, dan pembuluh darah (ADA, 2014). Keadaan ini juga dapat menyebabkan komplikasi kronik mikrovaskular, makrovaskular, dan neuropatik (Schwinghammer,2009). Kadar glukosa puasa pada pasien diabetes adalah > 126 mg/dl atau postprandial > 200 mg/dl atau glukosa sewaktu > 200 mg/dl (Suherman, 2009).

II.8 Piruvat Dehidrogenase Kinase

Piruvat dengan bantuan piruvat dehidrogenase terbentuk asetil-KoA, yang merupakan sumber karbon utama untuk pembentukan asam lemak. Penumpukan gliserol-3-fosfat dan asetil-KoA, kemudian dikonversi menjadi asil-KoA 15 kemudian masuk ke dalam jalur lipogenesis de novo dan membentuk asam lemak rantai panjang yang mana akan diesterifikasi menjadi trigliserida. Ketika tidak terjadi glikolisis oleh glukosa, maka fruktosa akan masuk secara tidak terkontrol sehingga tetap menghasilkan laktat dan piruvat (Basciano *et al.*, 2005).

Kompleks piruvat dehidrogenase kinase merupakan enzim yang dapat mengubah piruvatdehidrogenase menjadi inaktif. Kinase ini dihambat oleh ADP.



Gambar II.1: Pengaturan Piruvate Dehidrogenase (Marks, dkk., 2000)

II.9 Penemuan Obat

Secara umum terdapat tujuh tahap dalam proses penemuan obat: pemilihan penyakit, hipotesis target, identifikasi senyawa (penapisan), percobaan praklinik, percobaan klinik, serta optimisasi farmakogenomik. Teknologi telah berkembang untuk melakukan penelusuran serta penapisan terhadap ribuan senyawa perharinya untuk menemukan senyawa obat. Pustaka senyawa kimia yang beragam dapat mengandung banyak senyawa tidak mirip obat (*non-drug-like*) sehingga mengurangi efisiensi apabila dilakukan pengujian dan sintesis terhadap keseluruhan pustaka. Dilakukan berbagai percobaan untuk memberikan hasil yang lebih efisien dalam penemuan obat. Metode yang banyak digunakan oleh perusahaan dan peneliti obat adalah menggunakan desain obat rasional (Xu & Hagler, 2002).

II.4 Penapisan Virtual

Penapisan virtual (*virtual screening*) ataupun dikenal juga sebagai *in silico screening* (penapisan *in silico*) adalah suatu metode pendekatan yang menarik khususnya untuk praktisi bidang farmasi industri sebagai suatu teknologi yang efektif biaya serta produktif dalam pencarian senyawa penuntun (*lead compound*). Penapisan virtual digambarkan sebagai penggunaan perhitungan komputasi kinerja tinggi untuk menganalisis suatu database dari banyak senyawa kimia untuk mengidentifikasi probabilitas kandidat obat. Pendekatan ini menjadi langkah komplemen terhadap pendekatan sintesis kimia secara *high-throughput screening* dan uji biologis (Waszkowycz *et al*, 2001).

II.4.1 Jenis-jenis Penapisan Virtual

a. *Pharmacophore Based*

Farmakofor didefinisikan sebagai kesatuan dari fitur senyawa kimia dengan karakteristik yang spesifik dalam aksinya terhadap sebuah ligan di sisi aktif dari makromolekul yang dapat dilihat secara 3 dimensi . Fitur-fitur kimia tersebut diantaranya adalah ikatan hidrogen, energi interaksi dan area hidrofobik. Farmakofor merupakan gugus fungsi dari struktur kimia yang dapat memberikan interaksi pada ligan dan makromolekulnya yang berperan dalam mekanisme kerja senyawa tersebut. Pencarian struktur kimia tersebut dalam database molekul yang besar dapat membantu dalam mencari kandidat senyawa obat baru dalam upaya pengembangan struktur pemandu.

Untuk menggunakan model farmakofor dalam mencari senyawa yang berpotensi, model perlu divalidasi dan dioptimasi secara ekstensif. Validasi metode ini dibuat dengan pengumpulan ligan farmakofor (biasanya disebut dengan senyawa *training set*) yang terdiri dari 2 tahapan, yaitu membuat data kumpulan ligan yang sudah teruji aktif memiliki aktivitas terhadap reseptor makromolekul target (biasa disebut *active set compound*) dan data kumpulan ligan yang teruji tidak aktif terhadap reseptor makromolekul target (*decoy set compound*) (Yang, 2010).

Beberapa hal lain yang juga perlu dipertimbangkan ialah pemilihan senyawa aktif yang memberikan hipotesis farmakofor secara umum telah menyeimbangkan set data, pengklasifikasian data pada *training set* yang benar, menyesuaikan dan mengelompokkan *decoy set*

compound, model validasi, dan evaluasi seluruh performa komponen yang digunakan dalam pemodelan farmakofor (Braga, 2013).

Pharmacophore modelling bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa yang mengandung perbedaan *scaffold*, tapi dengan susunan yang serupa dengan 3D dari interaksi gugus fungsi yang biasa disebut sebagai fitur farmakofor dengan menyelidiki konformasi bioaktivasi dari kandidat senyawa. *Pharmacophore modelling* memberikan fungsi seleksi yang baik dalam *virtual screening* ketika struktur proteinnya tidak diketahui. Seleksi dengan farmakofor juga memberikan hasil yang lebih cepat dibandingkan dengan pendekatan *docking* dan mengalami proses reduksi yang lebih cepat jika jumlah senyawanya cukup banyak dibandingkan dengan simulasi *docking*. *Pharmacophore modelling* juga sering digunakan pada tahapan molekular dari studi molekular HKSA (Melo dkk, 2014). Program yang biasanya digunakan ialah Discovery Studio Catalyst, GALAHAD/GASP, PHASE, LigandScout dan MOE. Perangkat-perangkat lunak tersebut memiliki penilaian yang baik dalam kegunaannya di bidang *virtual screening* (Markt, 2011).

b. *Structure Based Virtual Screening (Docking)*

Metode komputasi yang memprediksi struktur 3D dari ligan kompleks dengan pendekatan *molecular docking*. Meskipun awalnya *docking* hanya dikembangkan sebagai alat pemodelan yang dijalankan secara komputasi, kini *docking* juga bisa digunakan untuk *virtual screening* dengan kecepatan pengujian sebanyak 100.000 perharinya. Nilai energi yang dievaluasi dari ikatan bebas antara ligan dan protein kadang-kadang bersifat heuristik. Oleh

karena itu, diperlukan fungsi-fungsi yang lebih luas untuk mendapatkan nilai energi tersebut diantaranya termasuk persiapan struktur protein, persiapan database liga, perhitungan *docking*, dan analisa hasil protein. Protein hanya disiapkan sebanyak satu kali dalam percobaan *virtual screening*, kecuali dengan protein yang memiliki konformasi yang berbeda. Sisi pengikatan terhadap reseptor harus ditentukan seakurat mungkin. Dikarenakan akan digunakan molekul dalam jumlah besar, thapan pembuatan database ligan tentunya harus dihilangkan. Dimulai dengan pembuatan struktur 2D, tipe ikatan harus diperiksa dan keadaan protonasinya juga harus ditandai, serta adanya penghapusan pelarut. Koordinasi secara 3D dapat menggunakan program seperti CORD atau CORINA. Penilaian/perhitungan mengacu pada fakta bawa setiap prosedur *docking* harus dievaluasi dan meninjau konformasi hasil simulasi. Skema penilaian terkait dengan “ab-initio” yang merupakan perhitungan energi bebas yang tidak terikat. Penilaian terdiri dari tiga aspek relevan untuk *docking* yang berbeda, yaitu:

- (a) Rangking dari konformasi dihasilkan oleh pencarian *docking* untuk satu ligan yang berinteraksi dengan protein tertentu. Aspek ini sangat penting untuk mendeteksi sisi ikatan yang mendekati hasil eksperimen terbaik.
- (b) Rangking ligan yang berbeda dengan satu protein, yaitu memprioritaskan liga berdasarkan afinitasnya. Aspek ini penting dalam *virtual screening*.
- (c) Rangking dari satu atau ligan yang berbeda dengan afinitas yang berbeda. Aspek ini penting untuk mempertimbangkan selektivitas dan spesifitas ligan (Vyas, 2013).

II.10 Penapisan Virtual Berbasis *Pharmacophore Modelling* dengan *Software LigandScout 4.0*

(a) *Software LigandScout 4.0*

Ligand scout adalah perangkat lunak yang memungkinkan penggunaanya untuk melakukan pemodelan farmakofor secara 3D dari kompleks ligand dan protein dari *training set* dan *test set* dari senyawa organik. Ligand scout mampu menjelaskan fitur-fitur pada struktur kimia 3D (seperti pendonor dan aseptor) ikatan hidrogen, daerah yang bersifat lipofil, serta grup yang memiliki sifat positif dan negatif yang menggambarkan interaksi ligand dan situs tambat di sekelilingnya (makromolekul) (Wolber,2005). Ligand scout juga mampu mensejajarkan farmakofor dan ligan tersebut pada senyawa yang memiliki gugus kromofor yang mirip (Wolber, 2005). Pada setiap senyawa yang disejajarkan dapat disisipkan gugus kromofor tambahan yang mampu member andil pada interaksi antara ligan dan protein (makromolekul). Software ini telah sukses digunakan dalam memprediksi senyawa penuntun dalam desain obat (Barecca, 2007).

(b) Validasi dan Parameter *LigandScout 4.0*

Pada tahap ini, beragam senyawa dengan struktur berbeda-beda yang memiliki aktivitas biologi dinilai/ditentukan oleh struktur yang dapat dipelajari dengan optimasi kimia medisinal dengan mengikuti tahap desain obat. Untuk digunakan dalam pengembangan senyawa pemandu, gugus farmakofor yang baik harus dapat menggambarkan banyak aktivitas biologi dari hasil perbandingan dengan database macam-macam molekul yang memungkinkan dan dipilih juga senyawa yang terbukti tidak aktif. Berbagai referensi telah

menyebutkan bahwa validasi *pharmacophore modelling* ditentukan dengan kuantifikasi rasio perbandingan dari senyawa aktif terhadap senyawa inaktif dari database yang telah dibuat (Wolber, 2005)

Validasi yang dilakukan pada metode pemodelan farmakofor dengan *LigandScout* 4.0 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 satu tampilan yaitu kurva ROC. Kurva ROC adalah alat yang berguna dalam penilaian hasil validasi skrining dan menempati tempat khusus diantara klasifikasi algoritma yang dapat dipercaya. Hal ini terutama karena kurva ROC memberikan ringkasan visual serta numerik dari prediktor yang berbeda dengan indeks kerja yang sederhana. Kurva ROC menunjukkan sensitivitas dan spesifisitas sebagai ambang batas selama semua nilai yang muncul berada dalam rentang yang diterima. Sensitivitas adalah *True Positive Rate* (TPR) yang artinya adalah ukuran seberapa sering senyawa aktif diklasifikasikan sebagai senyawa aktif. Sedangkan spesifisitas adalah *False Positive Rate* (FPR) yang artinya ukuran seberapa sering senyawa diklasifikasikan sebagai senyawa inaktif.

Kurva ROC juga mewakili distribusi yang ideal dimana tidak ada tumpang tindih antara skor molekul senyawa aktif dan inaktif. Kurva ROC yang ideal dapat divisualisasikan sebagai garis lurus horisontal ke arah sudut kanan atas dimana semua senyawa aktif dan inaktif yang diambil, yang sesuai dengan spesifisitas dan sensitivitasnya. 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 presentasi hasil EF (Braga,2013).

Parameter-parameter yang berlaku pada *LigandScout* 4.0, yaitu (Sakkiah,2011):

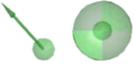
(a) *Area Under Curve* (AUC): merupakan ukuran yang akan mengukur kinerja pengklasifikasian dan diterapkan untuk metode perbandingan. AUC dapat dihitung sebagai jumlah dari semua persegi panjang yang dibentuk oleh sensitivitas dan spesifisitas dengan nilai untuk ambang batas yang berbeda. AUC dari kurva ROC memberikan ukuran yang objektif dari kinerja sistem yang pada dasarnya bersifat independen dari jumlah sebenarnya. Sebuah nilai AUC yang tinggi artinya menunjukkan klasifikasi yang lebih baik. Namun perbandingan antar AUC sering dilakukan tanpa analisis statistik yang tepat karena kurangnya alat yang relevan, kemudahan dalam akses dan penggunaan dalam tes statistik tersebut. 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 senyawa inaktif lebih tinggi dibandingkan senyawa aktif yang dikenal *software* (Braga,2013).

(b) *Enrichment factor* (EF) merupakan ukuran yang didapatkan dari hasil perhitungan fraksi senyawa aktif yang ditemukan pada persentase senyawa yang termasuk ke dalam list rentang, yang kemudian dibandingkan terhadap rasio antara senyawa aktif dan senyawa *decoy* dari database yang diuji. Pada *LigandScout* 4.0 dapat diperoleh nilai EF secara otomatis yang dapat langsung dilihat pada

kurva ROC. Nilai EF yang dikatakan valid dan memenuhi syarat adalah $EF > 1,0$ (Braga, 2013)

(c) Fitur-fitur Farmakofor pada *LigandScout* 4.0

Tabel II.1 Fitur-fitur farmakofor dalam *Ligand Scout* 4.0

| No | Ikona Fitur | Fitur Farmakofor |
|----|---|--|
| 1 |  | <i>Hydrogen Bond Donor</i> (Donor Ikatan Hidrogen) |
| 2 |  | <i>Hydrogen Bond Acceptor</i> (Akseptor Ikatan 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) |

Tabel II.1 (lanjutan)

| No | Ikon Fitur | Fitur Farmakofor |
|----|---|---|
| 6 |  | <i>Aromatic Ring</i> (Cincin Aromatik) |
| 7 |  | <i>Iron Binding Location</i> (Lokasi Pengikatan Besi) |
| 8 |  | <i>Zinc Binding Location</i> (Lokasi Pengikatan Zinc) |
| 9 |  | <i>Magnesium Binding Location</i> (Lokasi Pengikatan Magnesium) |
| 10 |  | <i>Excluded Volume</i> (Volume Pengecualian) |

II.11 *Virtual Screening Berbasis Pharmacopore Modelling dengan Software PyRx Screening Tool 0.8*

II.5.1 *Software PyRx Screening Tools 0.8*

PyRx adalah piranti lunak tambahan (*add ons*) penapisan virtual yang dapat digunakan untuk penapisan pustaka senyawa. PyRx memungkinkan pengguna untuk menjalankan penapisan virtual dalam berbagai platform dan membantu penggunaannya dalam setiap tahap proses. Proses yang dapat dilakukan menggunakan piranti lunak ini mencakup preparasi data ligan dan makromolekul, melakukan kalkulasi serta analisis hasil, PyRx dikembangkan oleh *Molecular Graphics Laboratory, The Scripps Research Institute* (Dallkyan, 2009).

PyRx menyediakan cekatan yang memudahkan penggunaannya melakukan penapisan virtual. Penapisan dapat dilakukan secara lokal (menggunakan GPU ataupun kluster) atau secara *remote* menggunakan servis web Opal toolkit. PyRx terdiri atas piranti lunak AutoDock4 dan AutoDock Vina yang digunakan sebagai piranti lunak penambatan, AutoDockTools untuk membuat berkas masukan, Python sebagai bahasa pemrograman/*scripting*, wxPython sebagai antarmuka pengguna grafis (*GUI/graphical user interface*) lintas platform, alat visualisasi, serta Open Babel untuk pengubah format berkas sdf dan mol (Wolf,2009).

II.5.2 AutoDock

AutoDock Vina adalah salah satu perangkat lunak yang tepat dan dapat diandalkan yang tersedia untuk penemuan obat, penambatan molekul dan skrining virtual yang dirancang dan diterapkan oleh Dr. Oleg Trott. Vina menawarkan fungsi yang beragam, tingkat kinerja tinggi dan meningkatkan akurasi untuk mempermudah penggunaan. Perangkat lunak ini dapat dioperasikan dengan bantuan AutoDockTools (ADT) atau instruksi *command line*.

Untuk hasil *input* dan *output* vina, *file type* yang digunakan adalah struktur molekul PDBQT seperti yang digunakan pada *software* Autodock. Untuk pengaplikasiannya, hanya diperlukan struktur molekul yang akan di docking dan spesifikasi *binding site* (Yanuar, 2012).

II.12 Database dan Dataset

Dalam pengerjaan *virtual screening* dengan menggunakan metode *pharmacophore modelling* diperlukan 3 dataset dan *database* utama, yaitu *active set compound*, *decoy set compound*, dan *database uji* yang dalam penelitian kali ini akan digunakan adalah *database natural product*.

II.6.1 Active Set Compound

Active set compound dibuat dengan cara memilih senyawa-senyawa yang sudah terbukti memiliki aktivitas yang diinginkan dari *database* lain sesuai dengan data yang diinginkan, salah satu pemilihannya yaitu dengan mengaksesnya secara langsung pada ChEMBL. ChEMBL merupakan *database* bioaktivitas terbesar untuk penemuan obat yang mengandung informasi, kegunaan atau fungsional, dan ADMET untuk sejumlah besar senyawa bioaktif seperti obat. ChEMBL mengacu pada literatur primer seperti publikasi ilmiah sains, jurnal dan hasil penelitian. ChEMBL dibuat dengan tujuan untuk menjembatani keterbatasan data-data bioaktivitas dari jurnal dengan menyediakan cakupan yang luas di seluruh rangkaian target organisme, dan pengukuran bioaktivitas yang dilaporkan dalam literatur ilmiah dengan berbagai kemampuan pencarian yang mudah diakses oleh pengguna dan dapat diakses pada <http://www.ebi.ac.uk/chembl/db> (Bento *et al*,2013).

II.6.2 Decoy Set Compound

Decoy set compound merupakan dataset yang berisikan senyawa-senyawa yang sudah dipastikan tidak memiliki aktivitas sebagai obat

yang diinginkan. Pembuatan *decoy set compound* ini memerlukan perangkat lunak penunjang, yaitu DecoyFinder.

II.6.3 Database Uji

Basis data (*database*) adalah suatu kumpulan data yang telah diatur sedemikian rupa sehingga dapat digunakan untuk memudahkan penggunaannya untuk suatu keperluan analisis. Setiap berkas memiliki informasi yang terkait dan nomor akses yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi sekuens yang diinginkan (Utami, 2009).

Saat ini, terdapat basis dari *small molecules global*, seperti PubChem (NCBI), ZINC (Shoichet Lab, UCSF), dan drugbank (*University of Alberta*). Basis data senyawa tanaman obat Indonesia telah dibuat oleh beberapa sumber seperti yang disusun LIPI, IPTEK.net dan Fakultas Farmasi Universitas Sanata Dharma serta herbal db Universitas Indonesia (Yanuar dkk, 2011).

Database yang digunakan pada penelitian adalah database yang berasal dari ZINC *Natural Product* yang terdiri dari 12 database yang berasal dari sumber yang berbeda. Database yang digunakan antara lain:

(a) AfroDB *Natural Products*

AfroDB *Natural Products* merupakan suatu database senyawa alami yang memberikan informasi bioaktivitas dari senyawa-senyawa tanaman obat Afrika yang telah teruji dan terbukti memiliki aktivitas biologis yang luas dan berkhasiat sebagai obat. AfroDB *Natural Products* mengandung sekitar 1000 senyawa dataset yang beragam. Pengumpulan sumber tanaman, sisi letak geografis tanaman, struktur kimia dari senyawa murni yang memberikan aktivitas biologis

terbaik, diambil dari literatur yang secara resmi telah dipublikasikan dalam jurnal-jurnal senyawa alami dan informasi dari pakar tradisional tanaman herbal setempat. Prinsip pembuatan AfroDB *Natural Products* ini berdasarkan evaluasi dengan kriteria Lipinski yang juga dibandingkan dengan *Dictionary of Natural Products* (DNP). Selain itu, juga telah terkomputasi secara otomatis berbagai parameter-parameter yang berhubungan dengan obat seperti metabolisme dan farmakokinetik lainnya (Irwin dkk, 2013).

(b) *AnalytiCon Discovery Natural Product*

AnalytiCon Discovery NP dibuat dengan konsep *Biology Oriented Synthesis* (BIOS), yaitu sebuah teknologi untuk mengembangkan dan memproduksi kombinasi database senyawa berdasarkan struktur inti senyawa alami yang jarang mengandung unsur bioaktif. *AnalytiCon Discovery NP* diproduksi oleh “*AnalytiCon Discovery – The Natural Product*”, yaitu salah satu perusahaan ternama di Jerman yang berfokus pada senyawa-senyawa alami. Produk yang dihasilkan oleh perusahaan tersebut diantaranya MEGx, NATx, MACROx, dan FRGx.

(c) *Herbal Ingredients In-Vivo Metabolism*

Pembuatan database *Herbal Ingredients In-Vivo Metabolism* secara manual dikumpulkan dari informasi-informasi mendalam yang tersedia dari hasil uji *in-vivo* beberapa senyawa aktif herbal yang memiliki korespondensi yang baik, informasi distribusinya pada organ dan jaringan, informasi toksisitas, ADME dan profil penelitian secara klinisnya. Baru-baru ini, *Herbal Ingredients In-Vivo Metabolism* terdiri dari sekitar 361 komposisi dan 1104 datanya merupakan metabolit *in-vivo* dari 673 tanaman herbal. Didalamnya

juga disediakan struktur kimia, pencarian sub-struktur kimianya, serta aturan Lipinski. *Herbal Ingredients In-Vivo Metabolism* ini dapat diakses secara bebas oleh peneliti atau akademis lainnya pada <http://www.bioinformatics.org.cn/>. Database *Herbal Ingredients In-Vivo Metabolism* bisa digunakan untuk mendapatkan metabolit-metabolit dari bahan aktif yang diinginkan dalam proses penelitian. *Herbal Ingredients In-Vivo Metabolism* menyediakan informasi berharga bagi para peneliti yang tertarik dengan *Traditional Chinese Medicine* (TCM), desain obat, farmakognosi, metabolisme obat, dan lain sebagainya (Irwin dkk, 2013).

(d) Herbal Ingredients Targets

HIT adalah database yang komprehensif dan sepenuhnya curated untuk sumber daya yang tersedia pada target protein untuk obat yang disetujui FDA serta prekursor menjanjikan. Saat ini berisi tentang 1.301 dikenal target protein (221 protein dijelaskan sebagai target langsung) yang berasal dari lebih dari 3.250 literatur, yang mencakup sekitar 586 senyawa aktif dari lebih dari 1.300 ramuan Cina terkemuka. Informasi target molekuler melibatkan protein-protein yang langsung / tidak langsung diaktifkan atau dihambat, pengikat protein, dan enzim yang substrat atau produk adalah senyawa tersebut. nilai-nilai interaksi rinci seperti IC50 dan Kd / Ki dikumpulkan jika memungkinkan. Mereka up atau gen bawah diatur juga termasuk dalam pengobatan bahan individu. (Irwin dkk, 2017).

(e) IBScreen NP

Sebanyak 60 - 65% *database* IBScreen adalah senyawa yang berasal dari tumbuhan; 5-10% diisolasi dari mikroorganisme, sekitar 5% dari spesies laut dan sisanya dari sumber alami lainnya. Semua senyawa

memiliki kemurnian 92-98%. Struktur dan stereokimia yang dikonfirmasi oleh berbagai metode fisikokimia analitis, termasuk NMR (Bruker 300-500 MHz), spektroskopi massa dan dalam beberapa kasus analisis X-ray.

Kelas yang paling representatif meliputi berbagai jenis alkaloid (beberapa ribu senyawa), terpenoid (beberapa ribu), flavonoid dan kumarin (lebih dari 3 000 senyawa), peptida, glikosida dan nukleosida (lebih dari 1 000 senyawa), senyawa fenol (beberapa ratus). Koleksi ini juga kaya akan senyawa langka dan tidak biasa, seperti berbagai kelas phytoalexins, agen alelopati, penarik seks tertentu, racun alami, seskuiterpenoid biasa dan metabolit sekunder lainnya. (*Natural Compound Library*, 2017)

(f) *Indofine Natural Products*

(g) NPACT Database

Database *Naturally Occuring Plant-based Anti-cancer Compound Activity Target* (NPACT) merupakan database yang mengumpulkan informasi yang berhubungan dengan validasi percobaan turunan senyawa alami dengan aktivitas anti kanker yang telah diuji secara *in-vivo* dan *in-vitro* untuk melengkapi database-database lain yang sudah ada. NPACT Database mengandung sekitar 1574 senyawa dan masing-masing memberikan informasi struktur, data-data pengujian *in-vivo* dan *in-vitro* dengan referensi untuk pengguna, nilai inhibisi (IC50/ ED50/ EC50/ GI50), tipe kanker, *cell lines*, target protein, dan senyawa yang diduga memiliki efek seperti obat. NPACT dapat dengan mudah diakses pada alamat <http://crdd.osdd.net/raghava/npact> dengan berbagai macam browser yang tersedia secara online. Untuk memfasilitasi akses NPACT

Database lebih jauh, setiap komponennya juga terintegrasi dengan database serupa lainnya, seperti SuperNatural, *Herbal Ingredients Targets*, *Comparative Toxigenomics Database*, PubChem, dan NCI-60 GI50 (Irwin dkk, 2013)

(h) NuBBE *Natural Products*

NuBBEdb adalah database berbasis web baru yang memasukkan beragam kelas metabolit sekunder dan turunan keragaman senyawa produk alami di Brazil. Senyawa-senyawa yang terkandung dalam database ini yaitu produk alami yang tidak dimodifikasi, turunan dari produk alami, dan obat dengan desain yang terinspirasi dari produk alami. Database ini memberikan informasi botani, kimia, farmakologi, dan senyawa yang dapat memberikan efek toksik. NuBBEdb khusus disediakan untuk memberikan informasi kepada seluruh komunitas sains di dunia dan diharapkan dapat membantu dalam studi yang menghubungkan kimia dan biologi, termasuk *virtual screening*, dereplikasi, metabolomik, dan kimia medisinal. NuBBEdb dapat diakses secara bebas pada: <http://nubbe.iq.unesp.br/nubbeDB.html> (Irwin dkk, 2013).

(i) Princeton NP

(j) Specs *Natural Products*

(k) TCM Database @Taiwan

TCM Database adalah database gratis yang menampilkan seluruh senyawa-senyawa obat yang biasa digunakan dalam pengobatan tradisional di China. Sumber TCM Database ini adalah informasi yang dikumpulkan dari teks-teks medis China dan teks publikasi ilmiah. Berdasarkan tes laboratorium yang dilakukan, database TCM ini memiliki beberapa senyawa baru yang memiliki efek sebagai anti

virus, anti inflamasi, anti kanker, senyawa yang dapat mencegah stroke, dan obat-obatan hipnotis. TCM Database @Taiwan saat ini merupakan database TCM non-komersial yang tersedia dan dapat diunduh secara bebas. Database berbasis web ini dirancang dalam dua bahasa, yaitu Bahasa Inggris dan Bahasa Cina yang dapat diakses secara bebas pada <http://tcm.cmu.edu.tw>. Semua struktur dalam database ini dibuat secara 3D dalam format *.mol2 dan mudah digunakan untuk *virtual screening* (Chen, 2011).

(1) UEFS *Natural Products*

Bab III Metode Penelitian

III.1 Metodologi Penelitian

Tahap awal *virtual screening* dibutuhkan sekumpulan senyawa atau *database* yang didapatkan pada *ZINC Natural Product* yang digunakan sebagai kandidat senyawa obat baru. *Database* akan disaring menggunakan perangkat lunak *Ligand Scout*.

Untuk melakukan *virtual screening* diperlukan beberapa komponen seperti reseptor penyakit diabetes, senyawa yang terbukti sudah aktif dan senyawa yang terbukti tidak aktif. Reseptor *Pyruvate Dehydrogenase Kinase* didapatkan dari *Protein Data Bank* dari situs www.rcsb.org dengan kode PDB 2Q8G. Senyawa yang sudah terbukti aktif didapatkan dari *ChEMBL* dari situs www.ebi.ac.uk/chembl. Senyawa yang sudah terbukti tidak aktif didapatkan dengan menggunakan bantuan *software Decoyfinder*. Senyawa yang sudah terbukti aktif dan senyawa yang sudah terbukti tidak aktif dijadikan bahan dalam pemodelan farmakofor dengan menggunakan perangkat lunak *Ligand Scout*. Model farmakofor membutuhkan validasi hingga memenuhi syarat dengan menggunakan kurva ROC. Setelah memenuhi syarat validasi, model farmakofor ini digunakan dalam menyaring berbagai macam senyawa dari *data base* menggunakan beberapa parameter *virtual screening* seperti Parameter *Enrichment* klasik.

Kandidat senyawa obat baru (sebagai ligan) diabetes didapatkan berdasarkan hasil *virtual screening* kemudian dilakukan *molecular docking* dengan reseptor *Pyruvate Dehydrogenase Kinase Isoform-1* menggunakan perangkat lunak *Pyrx*. Hasil docking yang

menunjukkan nilai ikatan atau afinitas energi bebas yang paling rendah antara ligan dengan reseptor adalah ligan yang paling stabil. Ligan yang memiliki konstanta penghambatan (K_i) paling rendah adalah ligan yang memiliki aktivitas biologi yang paling tinggi terhadap reseptor *Pyruvate Dehidrogenase Kinase Isoform-1*.