

**STUDI *DOCKING*, DINAMIKA MOLEKUL DAN PREDIKSI TOKSISITAS  
SENYAWA HASIL PENAPISAN VIRTUAL TERHADAP *ZINC NATURAL  
PRODUCTS DATABASE* SEBAGAI ANTAGONIS RESEPTOR A<sub>2A</sub> PADA  
PENYAKIT PARKINSON**

**Laporan Tugas Akhir**

**Tedi Kadarusman  
12161038**



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

**LEMBAR PENGESAHAN**

**STUDI *DOCKING*, DINAMIKA MOLEKUL DAN PREDIKSI TOKSISITAS  
SENYAWA HASIL PENAPISAN VIRTUAL TERHADAP *ZINC NATURAL  
PRODUCTS DATABASE* SEBAGAI ANTAGONIS RESEPTOR A<sub>2A</sub> PADA  
PENYAKIT PARKINSON**

**Laporan Tugas Akhir**

Diajukan untuk memenuhi syarat kelulusan Program Strata I Farmasi

**Tedi Kadarusman  
12161038**

Bandung, ... September 2020

Menyetujui,

Pembimbing Utama,

Pembimbing Serta,



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



(apt. Purwaniati, M.Si)

## ABSTRAK

### STUDI DOCKING, DINAMIKA MOLEKUL DAN PREDIKSI TOKSISITAS SENYAWA HASIL PENAPISAN VIRTUAL TERHADAP *ZINC NATURAL PRODUCTS DATABASE* SEBAGAI ANTAGONIS RESEPTOR A<sub>2A</sub> PADA PENYAKIT PARKINSON

Oleh :

**Tedi Kadarusman**

**12161038**

Penyakit Parkinson terjadi karena perubahan ekspresi reseptor adenosin A<sub>2A</sub> di ganglia basal, yang menunjukkan peran patologis pada reseptor ini. Antagonis reseptor adenosin A<sub>2A</sub> berpotensi efektif pada pengobatan penyakit Parkinson. Tujuan penelitian ini ialah untuk memperoleh kandidat senyawa yang potensial sebagai antagonis reseptor A<sub>2A</sub> melalui studi *docking*, dinamika molekul dan prediksi toksisitas. Senyawa uji merupakan hasil studi penapisan virtual terhadap basis data *ZINC Natural Products*. Dari 25 senyawa uji, diperoleh 11 senyawa yang memiliki afinitas lebih baik dari ligan alami. Hasil *docking* terbaik yaitu senyawa ZINC12560456 menunjukkan nilai  $\Delta G$  -10,50 kkal/mol dan nilai  $K_i$  20,18 nM. Dilakukan simulasi dinamika molekul terhadap 11 senyawa uji dengan afinitas terbaik dengan reseptor target selama 50 ns. Hasil simulasi dinamika molekul menunjukkan senyawa ZINC12560456 memiliki kestabilan interaksi terhadap reseptor adenosin A<sub>2A</sub>, dibuktikan oleh grafik RMSD yang konstan dan stabil dengan nilai energi bebas ikatan terkecil melalui analisis MM/PBSA dan MM/GBSA yaitu -58,593 kkal/mol. Parameter toksisitas yang diuji meliputi tes Ames, tes karsinogenik dan prediksi kardiotoxikitas. Senyawa ZINC12560456 diprediksikan bersifat non-mutagen, tidak bersifat karsinogenik dan memiliki risiko medium pada kardiotoxikitas. Disimpulkan bahwa senyawa ZINC12560456 dapat dijadikan sebagai kandidat senyawa yang berpotensi pada terapi Parkinson.

Kata Kunci : Antagonis adenosin A<sub>2A</sub>, Dinamika molekul, *Docking*, Parkinson, Prediksi toksisitas

## ABSTRACT

### **MOLECULAR DOCKING, MOLECULAR DYNAMICS AND TOXICITIES PREDICTION OF VIRTUAL SCREENING RESULT COMPOUNDS OF ZINC NATURAL PRODUCTS DATABASE AS A<sub>2A</sub> ADENOSINE RECEPTOR ANTAGONISTS IN PARKINSON'S DISEASE**

By :

**Tedi Kadarusman  
12161038**

*Parkinson's disease occurs due to changes in A<sub>2A</sub> adenosine receptor expression in the basal ganglia, which shows a pathological role in this receptor. A<sub>2A</sub> adenosine receptor antagonists are potentially effective in the treatment of Parkinson's disease. The purpose of this study is to obtain potential candidate compounds as A<sub>2A</sub> receptor antagonists through docking studies, molecular dynamics, and toxicities prediction. The test compound is the result of a virtual screening study of the ZINC Natural Products database. From 25 test compounds, obtained 11 compounds that have a better affinity than native ligands. The best docking result is ZINC12560456 which shows the value of  $\Delta G$  -10,50 kcal/mol and the value of Ki 20,18 nM. Molecular dynamics simulations were carried out on 11 test compounds with the best affinity and target receptors for 50 ns. Molecular dynamics simulation results show that ZINC12560456 has a stable interaction with the A<sub>2A</sub> adenosine receptor, as evidenced by a constant and stable RMSD graph with the smallest free binding energy values from MM/PBSA and MM/GBSA analysis which is -58,593 kcal/mol. The toxicity parameters tested included the Ames test, carcinogenic test, and cardiotoxicity prediction. ZINC12560456 is predicted to be non-mutagenic, non-carcinogenic, and has a medium risk of cardiotoxicity. It was concluded that ZINC12560456 could be used as a potential candidate compound for Parkinson's therapy.*

*Keywords : A<sub>2A</sub> adenosine antagonists, Docking, Molecular dynamics, Parkinson, Toxicities prediction*

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT., karena atas rahmat dan karunia-Nya, akhirnya penulis dapat menyelesaikan penyusunan Laporan Tugas Akhir yang berjudul “Studi *Docking*, Dinamika Molekul dan Prediksi Toksisitas Senyawa Hasil Penapisan Virtual Terhadap *ZINC Natural Products Database* Sebagai Antagonis Reseptor Adenosin A<sub>2A</sub> Pada Penyakit Parkinson” tepat pada waktu yang ditentukan walaupun tidak sedikit hambatan dan kesulitan yang dihadapi penulis.

Penulis menyadari bahwa dalam menyelesaikan penyusunan laporan tugas akhir ini tidak lepas dari bimbingan, bantuan dan dorongan dari berbagai pihak. Dengan rasa tulus, ikhlas serta segala kerendahan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tua dan keluarga yang senantiasa selalu memberikan dukungan dan do'a.
2. Bapak Dr. apt. Fauzan Zein Muttaqin, M.Si, selaku dosen pembimbing utama yang telah meluangkan waktunya, memberikan bimbingan beserta saran sampai Laporan Tugas Akhir ini selesai.
3. Ibu apt. Purwaniati, M.Si, selaku dosen pembimbing serta yang telah meluangkan waktunya, memberikan bimbingan beserta saran sampai Laporan Tugas Akhir ini selesai.
4. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana yang telah memberikan ilmunya.
5. Teman-teman RUBI AFKM, khususnya Kimia Medisinal yang telah membantu dan memberi masukan.
6. Kakak tingkat di Bidang Kimia Medisinal yang telah membantu dan memberikan informasi mengenai penelitian.
7. Semua pihak yang telah membantu, demi kelancaran dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.

Penulis menyadari bahwa Laporan Tugas Akhir ini masih banyak terdapat kekurangan. Untuk itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi perbaikan di masa yang akan datang. Semoga Laporan Tugas Akhir ini dapat bermanfaat untuk berbagai pihak.

Bandung, .... September 2020

Penulis

## DAFTAR ISI

<b>ABSTRAK</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	iv
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	vi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	vii
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	viii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b> .....	1
<b>I.1. Latar belakang</b> .....	1
<b>I.2. Rumusan masalah</b> .....	2
<b>I.3. Tujuan dan manfaat penelitian</b> .....	2
<b>I.4. Hipotesis penelitian</b> .....	3
<b>I.5. Tempat dan waktu Penelitian</b> .....	3
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
<b>II.1. Penyakit Parkinson</b> .....	4
<b>II.1.1. Etiologi</b> .....	4
<b>II.1.2. Patofisiologi</b> .....	4
<b>II.2. Reseptor Adenosin</b> .....	5
<b>II.3. Alkaloid</b> .....	7
<b>II.4. Docking, Dinamika Molekul dan Prediksi Toksisitas</b> .....	8
<b>II.4.1. Molecular Docking</b> .....	9
<b>II.4.2. Simulasi Dinamika Molekul</b> .....	10
<b>II.4.3. Prediksi Toksisitas</b> .....	12
<b>BAB III. METODOLOGI PENELITIAN</b> .....	13
<b>BAB IV. ALAT DAN BAHAN</b> .....	14
<b>IV.1. Alat</b> .....	14
<b>IV.2. Bahan</b> .....	14
<b>BAB V. PROSEDUR PENELITIAN</b> .....	15
<b>V.1. Persiapan Reseptor</b> .....	15
<b>V.2. Persiapan Ligan</b> .....	15
<b>V.3. Optimasi Geometri</b> .....	15
<b>V.4. Penentuan Parameter Sifat Fisikokimia</b> .....	15
<b>V.5. Validasi Docking</b> .....	16
<b>V.6. Docking Senyawa Uji</b> .....	16

V.7. Simulasi Dinamika Molekul.....	16
V.8. Prediksi Toksisitas .....	17
<b>BAB VI. HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>	<b>18</b>
VI.1. Persiapan Reseptor.....	18
VI.2. Persiapan Ligan.....	20
VI.3. Optimasi Geometri.....	20
VI.4. Penentuan Parameter Sifat Fisikokimia .....	23
VI.5. Validasi <i>Docking</i> .....	25
VI.6. <i>Docking</i> Senyawa Uji.....	27
VI.7. Simulasi Dinamika Molekul .....	32
VI.7.1. RMSD.....	33
VI.7.2. RMSF .....	34
VI.7.3. Analisis Ikatan Hidrogen .....	35
VI.7.4 Analisis MM/PBSA dan MM/GBSA .....	36
VI.8. Prediksi Toksisitas.....	37
<b>BAB VII. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>39</b>
VII.1. Kesimpulan.....	39
VII.2. Saran .....	39
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>40</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>46</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 6.1. Total energi dan Gibbs senyawa uji hasil optimasi geometri.....	21
Tabel 6.2. Energi HOMO, energi LUMO dan <i>gap energy</i> senyawa uji.....	22
Tabel 6.3. Sifat fisikokimia senyawa uji dan ligan alami ZMA.....	24
Tabel 6. 4. Parameter <i>docking</i> yang digunakan.....	25
Tabel 6.5. Energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) dan konstanta inhibisi ( $K_i$ ) <i>docking</i> senyawa uji dan ligan alami .....	28
Tabel 6.6. Komponen energi selama simulasi dinamika molekul.....	36
Tabel 6.7. Prediksi toksisitas senyawa uji .....	38

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Distribusi neurotransmitter pada siklus motorik .....	5
Gambar 2.2. Struktur adenosin .....	6
Gambar 2.3. Struktur kristal reseptor adenosin A <sub>2A</sub> dalam kompleks dengan ZM241385 (PDB ID : 5IU4).....	6
Gambar 2.4. Klasifikasi senyawa alkaloid .....	8
Gambar 6.1. Kompleks reseptor adenosin A <sub>2A</sub> (5IU4) dan ligan alami ZM241385 .....	18
Gambar 6.2. <i>Sequence</i> asam amino reseptor adenosin A <sub>2A</sub> .....	19
Gambar 6.3. Visualisasi reseptor adenosin A <sub>2A</sub> sebelum dan sesudah pemodelan homologi .....	19
Gambar 6.4. Visualisasi <i>overlay</i> antara ligan alami sebelum dan sesudah <i>re-docking</i> ..	26
Gambar 6.5. Visualisasi interaksi ikatan antara reseptor dengan ligan alami sebelum dan sesudah <i>re-docking</i> .....	26
Gambar 6.6. Visualisasi interaksi hasil <i>docking</i> senyawa uji.....	29
Gambar 6.7. Grafik RMSD kompleks ligan selama 50 ns .....	33
Gambar 6.8. Grafik RMSF residu asam amino penyusun reseptor adenosin A <sub>2A</sub> selama 50 ns .....	34

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Daftar Senyawa yang Digunakan Sebagai Bahan Penelitian .....	46
Lampiran 2	Pemodelan Struktur 2D dan 3D Senyawa Uji.....	50
Lampiran 3	Plot Ramachandran Reseptor (PDB ID : 5IU4) Hasil Perbaikan Pemodelan Homologi.....	54
Lampiran 4	Tabel RMSD <i>Re-docking</i> Ligan Alami.....	55
Lampiran 5	Tabel Interaksi Reseptor dan Ligan Alami .....	58
Lampiran 6	Tabel Interaksi Reseptor dan Senyawa Uji .....	60
Lampiran 7	Grafik RMSD Kompleks Reseptor dan Ligan .....	73
Lampiran 8	Visualisasi Pergerakan Kompleks Reseptor dan Ligan ZINC12560456 Selama Simulasi .....	75
Lampiran 9	Tabel Nilai RMSF Pada Area <i>Binding Site</i> .....	76
Lampiran 10	Tabel Ikatan Hidrogen Selama Simulasi 50 ns .....	78
Lampiran 11	Rincian Prosedur Penelitian .....	84

## BAB I. PENDAHULUAN

### I.1. Latar belakang

Penyakit Parkinson adalah kondisi neurodegeneratif progresif yang dihasilkan dari kematian sel dopaminergik pada substantia nigra di otak (*Joint Formulary Committee*, 2018). Menurut data analisis dari *Global Burden of Disease* pada tahun 2016, sebanyak 6,1 juta individu di seluruh dunia mengidap penyakit Parkinson, dimana 2,9 juta individu (47,5%) adalah perempuan dan 3,2 juta individu (52,5%) adalah laki-laki. Prevalensi pada tahun 2016 menunjukkan antara usia 85 tahun sampai 89 tahun (1,7% untuk laki-laki; 1,2% untuk perempuan) (*GBD 2016 Parkinson's Disease Collaborators*, 2018). Di Indonesia, penyakit Parkinson diperkirakan menyerang 876.665 individu dari total jumlah penduduk sebesar 238.452.952 individu (Noviani et al., 2010).

Pergerakan normal pada dasarnya dikendalikan oleh keseimbangan antara efek rangsang dan penghambatan dari jalur langsung dan tidak langsung pada siklus motorik dalam ganglia basal. Respons gejala yang dihasilkan oleh agen dopaminergik dalam pengobatan penyakit Parkinson telah memfokuskan pada peran dopamin dalam patofisiologi penyakit Parkinson. Namun, terdapat sistem neurotransmitter lainnya yang sudah dikenali. Reseptor adenosin A<sub>2A</sub> terlokalisasi dengan reseptor dopamin D<sub>2</sub> pada jalur neuron tidak langsung, dimana stimulasi reseptor adenosin A<sub>2A</sub> merangsang pelepasan GABA (*Gamma-Aminobutyric Acid*), sedangkan stimulasi reseptor dopamin D<sub>2</sub> menghambat pelepasan GABA di globus pallidus. Pada penyakit Parkinson terjadi perubahan ekspresi reseptor adenosin A<sub>2A</sub> di ganglia basal, yang menunjukkan peran patologis untuk reseptor ini. Antagonis reseptor adenosin A<sub>2A</sub> memiliki potensi yang efektif untuk pengobatan penyakit Parkinson, terlebih lagi berpotensi menghindari beberapa efek samping (mis. Diskinesia) yang terkait dengan terapi dopaminergik (Kulisevsky & Poyurovsky, 2012; Chen et al., 2013).

Senyawa bahan alam banyak digunakan untuk mengobati kondisi patologis pada sistem saraf pusat (Girdhar et al., 2015). Salah satu golongan senyawa dari bahan alam ialah alkaloid. Alkaloid memiliki aktivitas farmakologis yang luas dan beragam dilihat dari struktur kompleks, meliputi bidang kardiovaskular dan sistem saraf pusat (Kar, 2007).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ramadhanty (2019), mengenai pencarian senyawa antagonis reseptor adenosin A<sub>2A</sub> melalui metode *Virtual Screening* yang diambil dari basis data *Princeton Natural Product* dan *IBScreen Natural Product*, diperoleh 50 senyawa yang didalamnya terdapat golongan alkaloid *imidazole*, *quinazoline* dan *quinolone* yang memiliki energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) lebih kecil dari ligan alami (-9,8 kkal/mol) dalam rentang -9,8 sampai -12,1 kkal/mol.

Dari data tersebut diketahui bahwa senyawa hasil penelitian sebelumnya memiliki potensi sebagai pilihan pada terapi penyakit Parkinson. Oleh karena itu, perlu dilakukan studi lanjutan untuk memprediksi afinitas yang terbentuk antara reseptor adenosin A<sub>2A</sub> dengan senyawa uji, dengan menggunakan analisis *molecular docking*. Namun, analisis *molecular docking* ternyata tidak dapat mengamati kestabilan ikatan yang terjadi terhadap ruang dan waktu, sehingga diperlukan simulasi dinamika molekuler untuk mengamati secara lebih lanjut sehingga terlihat interaksi dan kestabilan ikatan yang terjadi (Yanuar et al., 2014). Proses penemuan obat baru penuh dengan risiko, oleh karena itu dilakukan tes *in vitro* dan *in vivo* untuk mengetahui keamanan obat, termasuk toksisitas dan efek samping yang dapat terjadi. Tetapi, pendekatan eksperimental tersebut membutuhkan banyak waktu dan biaya. Prediksi toksisitas dengan metode komputasi memiliki keuntungan diantaranya lebih cepat, murah, akurat, ramah lingkungan dan dapat dilakukan sebelum senyawa disintesis (Yang et al., 2018; Segall & Barber, 2014).

## **I.2. Rumusan masalah**

1. Apakah senyawa turunan alkaloid *imidazole*, *quinazoline* dan *quinolone* hasil penelitian *virtual screening* memiliki potensi sebagai antagonis reseptor adenosin A<sub>2A</sub> pada terapi Parkinson?
2. Apakah senyawa turunan alkaloid *imidazole*, *quinazoline* dan *quinolone* hasil penelitian *virtual screening* memiliki potensi toksisitas yang berbahaya?

## **I.3. Tujuan dan manfaat penelitian**

Mendapatkan kandidat senyawa potensial dengan pendekatan *molecular docking*, simulasi dinamika molekul dan prediksi toksisitas pada senyawa turunan alkaloid *imidazole*, *quinazoline* dan *quinolone* hasil penelitian *virtual screening* sebagai antagonis reseptor adenosin A<sub>2A</sub> pada terapi Parkinson.

#### **I.4. Hipotesis penelitian**

Senyawa turunan alkaloid *imidazole*, *quinazoline* dan *quinolone* hasil penelitian *virtual screening* memiliki potensi sebagai antagonis reseptor adenosin A<sub>2A</sub> pada terapi Parkinson.

#### **I.5. Tempat dan waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Komputasi Fakultas Farmasi Universitas Bhakti Kencana dimulai pada bulan November 2019 sampai dengan selesai.

## **BAB II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **II.1. Penyakit Parkinson**

Penyakit Parkinson adalah kondisi neurodegeneratif progresif yang dihasilkan dari kematian sel dopaminergik dari substantia nigra di otak (*Joint Formulary Committee*, 2018). Penyakit Parkinson terjadi karena penurunan kadar dopamin yang masif akibat kematian neuron di *substantia nigra pars compacta* (SNc). Kerusakan progresif lebih dari 60% pada neuron dopaminergik substantia nigra merupakan faktor dasar munculnya penyakit Parkinson (Gunawan et al., 2017).

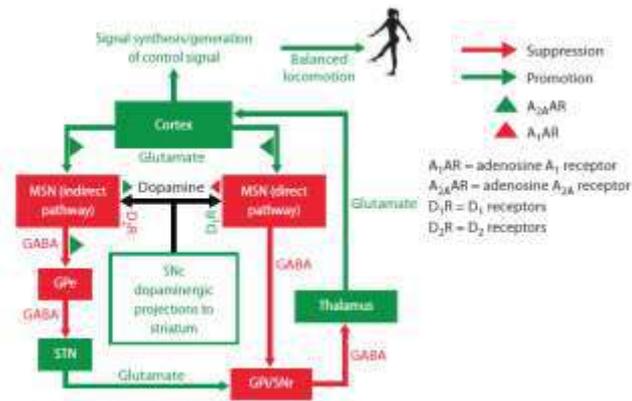
#### **II.1.1. Etiologi**

Penyebab dari penyakit Parkinson pada sebagian besar kasus yang diidentifikasi belum diketahui. Anggota pada keluarga tingkat pertama dari pasien yang terkena penyakit Parkinson memiliki risiko terkena 2 hingga 3 kali lipat (Sveinbjornsdottir et al., 2000; Savica et al., 2016).

Meskipun penyakit Parkinson masih jarang terjadi, genetika dapat menjadi salah satu faktor risiko untuk penyakit Parkinson (Rana et al., 2013). Penelitian epidemiologis mengaitkan faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi risiko penyakit, seperti pada perokok, konsumsi alkohol, paparan vitamin D dan kadar asam urat (Kalia & Lang, 2015).

#### **II.1.2. Patofisiologi**

Dalam SNc, dua ciri histopatologis yang khas dari penyakit Parkinson ialah depigmentasi neuron penghasil dopamin (yaitu, hilangnya neuron SNc) dan keberadaan badan Lewy (agregat filamen sitoplasma neuron yang terdiri dari protein presinaptik  $\alpha$ -synuclein) dalam neuron SNc yang tersisa. Kehilangan neuron dopamin nigrostriatal presinaptik dapat menghambat aktivitas thalamus dan mengurangi aktivasi korteks motorik (Dipiro et al., 2008).

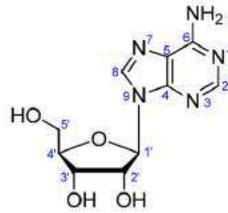


Gambar 2.1. Distribusi neurotransmitter pada siklus motorik (Kulisevsky & Poyurovsky, 2012)

Pada penyakit Parkinson terjadi degenerasi pada SNc dan neuron dopaminergik di nigrostriatal, sehingga tidak ada rangsangan terhadap reseptor D<sub>1</sub> (eksitasi) dan D<sub>2</sub> (inhibisi). Reseptor D<sub>2</sub> (inhibisi) tidak teraktivasi, sehingga jalur tidak langsung dari putamen ke GPe (*globus pallidus pars external*) tidak ada yang menghambat yang mengakibatkan inhibisi terhadap GPe berlebihan. Reseptor adenosin A<sub>2A</sub> terlokalisasi dengan reseptor dopamin D<sub>2</sub> pada jalur neuron tidak langsung, dimana stimulasi reseptor adenosin A<sub>2A</sub> merangsang pelepasan GABA, sedangkan stimulasi reseptor dopamin D<sub>2</sub> menghambat pelepasan GABA di globus pallidus. Fungsi inhibisi pelepasan GABA dari GPe ke STN (*subthalamic nucleus*) melemah dikarenakan reseptor D<sub>2</sub> tidak terstimulasi, sehingga kegiatan STN meningkat. Peningkatan STN diteruskan ke GPi (*globus pallidus pars interna*)/ SNr (*substantia nigra pars reticulata*) melalui glutamatergik sehingga aktivitasnya meningkat. Hal ini mengakibatkan output ganglia basalis yang bersifat GABAergik (inhibisi) meningkat ke thalamus, sehingga rangsangan dari thalamus ke korteks menurun menyebabkan proyeksi ke neuron motorik dan medula spinalis juga melemah dan terjadi hipokinesia/ sindroma Parkinson (Kulisevsky & Poyurovsky, 2012).

## II.2. Reseptor Adenosin

Adenosin adalah mediator biologis kuat yang mempengaruhi banyak jenis sel, termasuk sel-sel neuron, trombosit, neutrofil, dan sel-sel otot polos. Adenosin merupakan salah satu neuromodulator terpenting tubuh manusia di sistem saraf pusat dan perifer (Ruiz et al., 2013).

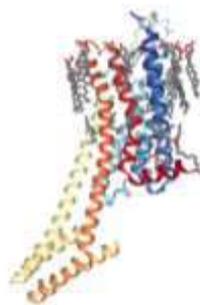


Gambar 2.2. Struktur adenosin (Ruiz et al., 2013)

Reseptor adenosin ditemukan pada tahun 1970-an, berdasarkan efek antagonis dari kafein. Reseptor adenosin dapat dibedakan berdasarkan jalur pensinyalan yang mereka aktifkan atau hambat. Sampai saat ini, empat reseptor adenosin telah diidentifikasi, diantaranya: Reseptor adenosin A<sub>1</sub>, A<sub>2A</sub>, dan A<sub>2B</sub> yang terdapat pada mamalia, sedangkan reseptor adenosin A<sub>3</sub> memiliki variabilitas struktural yang cukup banyak dalam spesies yang berbeda dan dibandingkan dengan reseptor adenosin lainnya (Grably, 2010).

Reseptor A<sub>2A</sub> banyak ditemukan di striatum otak, sel-sel kekebalan limpa, timus, leukosit dan trombosit darah, selain itu juga ditemukan di jantung, paru-paru dan pembuluh darah. Reseptor A<sub>2A</sub> di otak berinteraksi dengan beberapa neurotransmitter untuk mengatur aktivitas motorik, perilaku psikiatris, siklus tidur-bangun dan kematian sel neuron. Dalam jaringan perifer, reseptor A<sub>2A</sub> memiliki peran penting dalam modulasi peradangan, konsumsi oksigen miokard, aliran darah koroner, angiogenesis dan kontrol patogenesis kanker (Chen et al., 2013).

Berdasarkan ekspresi striatal terkonsentrasi pada reseptor A<sub>2A</sub>, interaksi antagonis terhadap reseptor A<sub>2A</sub> dan studi praklinis menunjukkan manfaat motorik pada model hewan tikus dan hewan primata non-manusia yang terjangkit Penyakit Parkinson. Antagonis reseptor A<sub>2A</sub> teridentifikasi sebagai obat non-dopaminergik untuk pengobatan pada Penyakit Parkinson (Chen et al., 2013).



Gambar 2.3. Struktur kristal reseptor adenosin A<sub>2A</sub> dalam kompleks dengan ZM241385 (PDB ID : 5IU4) (RCSB PDB, 2020)

Klasifikasi	: Protein membran
Organisme	: <i>Escherichia coli</i> , <i>Homo sapiens</i>
Sistem Ekspresi	: <i>Trichoplusia ni</i>
Metode	: Difraksi sinar-X
Resolusi	: 1,72 Å

### II.3. Alkaloid

Alkaloid adalah kelompok senyawa basa organik yang mengandung amina sekunder, tersier, atau siklik. Sekitar 5500 alkaloid telah diketahui, dimana golongan ini merupakan senyawa metabolit sekunder terbanyak pada tanaman. Definisi dari istilah alkaloid, pada umumnya ialah zat-zat dasar yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, biasanya dalam kombinasi sebagai bagian dari sistem siklik (Makkar et al., 2007).

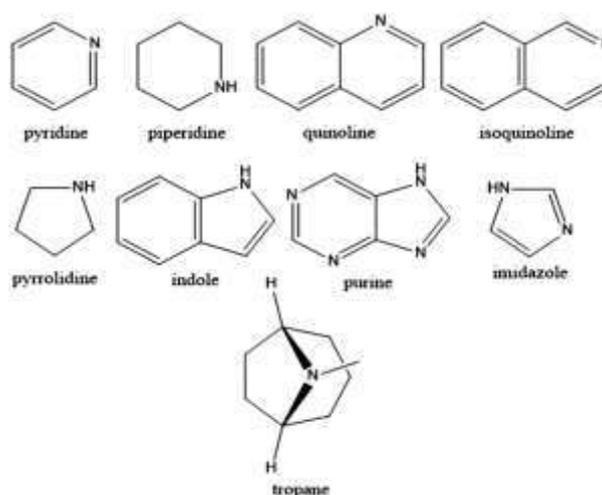
Beberapa alkaloid yang telah menunjukkan potensi untuk mengobati penyakit neurodegeneratif dalam studi praklinis, seperti *neurotransmitter modulatory*, antiamiloid, antioksidan, dan antiinflamasi (Girdhar, 2015).

Alkaloid umumnya diklasifikasikan berdasarkan jalur biosintesis yang digunakan untuk membangun molekulnya. Dilihat dari struktur penyusunnya, alkaloid terbagi menjadi tiga jenis, yaitu alkaloid sejati, protoalkaloid dan pseudoalkaloid. Alkaloid sejati merupakan senyawa yang berasal dari asam amino dengan atom nitrogen terdapat dalam cincin heterosikliknya. Protoalkaloid ialah senyawa dengan atom nitrogen dari asam amino bukan merupakan bagian dari heterosiklik. Pseudoalkaloid merupakan senyawa berupa kerangka karbon dasar yang tidak berasal dari asam amino (Aniszewski, 2007).

Alkaloid sebagai metabolit sekunder memiliki perbedaan dalam strukturnya. Hal ini dikarenakan alkaloid memiliki prekursor dan sub-jalur yang berbeda. Berikut ini ialah penggolongan alkaloid (Aniszewski, 2007), diantaranya :

1. Alkaloid piperidin
2. Alkaloid indolizidin
3. Alkaloid kuinolizidin
4. Alkaloid pirolizidin
5. Alkaloid izidin
6. Alkaloid pirolidin
7. Alkaloid tropana

8. Alkaloid imidazol
9. Alkaloid quinazolin
10. Alkaloid asridon
11. Alkaloid piridin
12. Alkaloid piridin sesquiterpen
13. Alkaloid fenil dan fenilpropil
14. Alkaloid indol
15. Alkaloid manzamin



Gambar 2.4. Klasifikasi senyawa alkaloid (Robinson, 1995)

#### II.4. *Docking*, Dinamika Molekul dan Prediksi Toksisitas

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

CADD umumnya diklasifikasikan menjadi menjadi dua, yaitu *ligand-based drug design* (LBDD) dan *structure-based drug design* (SBDD). LBDD dilakukan apabila struktur 3D dari protein target tidak tersedia, sehingga desain obat dapat didasarkan dengan menggunakan ligan yang diketahui sebagai titik awal penelitian. Sedangkan pada SBDD dapat dilakukan jika terdapat informasi yang valid pada struktur 3D dan situs aktif dari protein target yang diperoleh dari kristalografi sinar-X, *nuclear magnetic resonance*

(NMR) atau basis data struktur 3D, dan dimasukkan ke dalam model komputasi, sehingga senyawa yang mengikat target dapat dirancang. Teknik yang sering digunakan pada pendekatan SBDD ialah *docking* dan simulasi dinamika molekul (Lee et al., 2011).

#### **II.4.1. Molecular Docking**

*Molecular docking* atau penambatan molekul digunakan karena kemampuannya untuk memprediksi konformasi ligan dalam reseptor target dengan tingkat akurasi yang tinggi (Ferreira et al., 2015). Tujuan *docking* ialah untuk memprediksi interaksi ikatan antara molekul kecil (ligan) dan reseptor target dengan afinitas terbaik (Trott & Olson, 2010).

Sebelum dilakukan studi *docking*, terlebih dahulu dilakukan optimasi geometri yang berfungsi untuk menentukan energi minimal atau terendah dari suatu molekul. Struktur senyawa dengan energi terendah dapat diinterpretasikan sebagai sistem dengan keadaan yang stabil. Senyawa hasil optimasi selanjutnya digunakan pada proses *docking* dan simulasi dinamika molekul. Optimasi geometri dapat dilakukan menggunakan metode mekanika molekul (MM) ataupun mekanika kuantum (MK). Pemilihan metode yang digunakan disesuaikan dengan kebutuhan penelitian (Leach, 2001; Pongajow et al., 2013).

Metode optimasi geometri yang dilakukan ialah *Density Functional Theory* (DFT) merupakan metode untuk menghitung energi dari suatu molekul berdasarkan kerapatan elektron dari molekul tersebut, penggunaan metode ini memberikan kemudahan karena dapat menghitung dengan tingkat ketelitian yang lebih akurat serta dapat memberikan data dalam tingkat mikroskopik yang berkorelasi signifikan dengan hasil eksperimen laboratorium namun waktu yang diperlukan lebih lama dan membutuhkan spesifikasi komputer yang tinggi (Pamungkas, 2013; Tomberg, 2013).

Menurut Leach (2006), Tahapan penambatan molekul terdiri dari :

1. Algoritma Pencarian, yakni menentukan pose optimal yang mungkin dari suatu ligan terhadap reseptor, sehingga diperoleh pose paling stabil dari kompleks ligan-reseptor yang terbentuk. Gugus fungsional ligan akan berinteraksi dengan residu asam amino reseptor sehingga akan membentuk ikatan.

2. *Scoring*, yakni bertujuan untuk menghitung atau memprediksi afinitas pengikatan antara reseptor dan ligan yang terbentuk. Skor penilaian diberikan pada masing-masing pose yang akan diurutkan. Senyawa aktif dengan skor tertinggi ditetapkan sebagai pose ligan terhadap protein yang paling sesuai.

Sebelum dilakukan *docking* senyawa uji terhadap reseptor, terlebih dahulu dilakukan proses validasi *docking* (*re-docking*). Interpretasi hasil validasi *docking* dapat dilihat dari nilai RMSD (*Root Mean Square Deviation*). RMSD ialah parameter yang menggambarkan suatu metode *docking* dalam memproses maupun mengalkulasi interaksi antara ligan dengan reseptor (Tan, 2013). Metode *docking* dapat dinyatakan apabila nilai RMSD kurang dari 2 Å, artinya metode *docking* yang digunakan memberikan hasil simpangan yang tidak besar, sehingga dapat digunakan untuk melakukan *docking* senyawa uji (Tan, 2013; Lopez-Camacho et al., 2016; Ferwadi, 2017).

Setelah validasi *docking*, dilakukan *docking* dengan senyawa uji untuk mengetahui pose interaksi dan afinitas pengikatan senyawa uji pada sisi aktif reseptor target. Interpretasi hasil dapat dilihat dari nilai energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) dan konstanta inhibisi ( $K_i$ ). Keduanya berkaitan dengan afinitas pengikatan, serta analisis interaksi ikatan yang terjadi antara ligan dan reseptor target (misalnya ikatan ionik, ikatan hidrogen, ikatan hidrofobik dan lain-lainnya) (Syahputra et al., 2014; Marlina, 2017).

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

#### **II.4.2. Simulasi Dinamika Molekul**

Simulasi dinamika molekul merupakan simulasi yang digunakan menganalisis kestabilan interaksi ligan dengan reseptornya yang dikondisikan mendekati keadaan fisiologis tubuh dalam jangka waktu tertentu (Becker et al., 2001; Marlina, 2017).

Tahapan-tahapan dalam simulasi dinamika molekul (Simanjuntak, 2015) ialah :

1. Persiapan file ligand dan reseptor,
2. Pembuatan topologi dan koordinat,

3. Minimisasi,
4. Ekuilibrasi, dan
5. Produksi.

Parameter interpretasi hasil dari simulasi dinamika molekul ialah :

### **1. RMSD (*Root Mean Square Deviation*)**

RMSD merupakan ukuran yang sering digunakan dalam geometri molekul 3D untuk membandingkan perubahan atau pergerakan molekul. RMSD berguna untuk menganalisa gerakan dan memastikan stabilitas struktur pada waktu tertentu. Nilai dan gambaran RMSD, digambarkan dalam sebuah grafik yang diplot dengan waktu (Simanjuntak, 2015).

### **2. RMSF (*Root Mean Square Fluctuation*)**

RMSF merupakan ukuran dari deviasi antara posisi partikel dan beberapa posisi referensi. Berbeda dengan RMSD, RMSF ini dihitung terhadap masing–masing residu penyusun protein yakni melihat sejauh mana fluktuasi pergerakan masing–masing residu selama simulasi berlangsung (Simanjuntak, 2015).

Nilai RMSF menggambarkan pergeseran setiap residu asam amino yang memberikan fleksibilitas protein. RMSF ditentukan dari waktu saat energi potensial memiliki fluktuasi minimal yakni dimulai dari 1 ns sampai akhir simulasi. (Farkhani, 2012).

### **3. Analisis Interaksi Ikatan Hidrogen**

Interaksi ikatan yang dianalisis ialah ikatan hidrogen antara residu asam amino dengan senyawa. Ikatan hidrogen adalah ikatan antara atom H dengan atom yang bersifat elektronegatif dan memiliki pasangan elektron bebas seperti F, O dan N, kriteria jarak ikatan hidrogen yakni kurang dari 3.9 Å (Xu et al., 2012).

### **4. MM/PBSA dan MM/GBSA (*Molecular Mechanics combined with Poisson-Boltzmann or Generalized Born and Surface Area*) serta Energi Bebas Ikatan ( $\Delta G$ )**

MM/PBSA dan MM/GBSA ialah metode yang dapat memperkirakan energi bebas untuk mempelajari afinitas ikatan reseptor-ligan. Karena sifatnya perkiraan, sehingga lebih berlaku sebagai fungsi *scoring* dari afinitas pengikatan ligan daripada prediksi secara kuantitatif pada energi bebas ikatan absolut (Yunta, 2016).

Nilai energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) menunjukkan adanya afinitas antara senyawa uji dengan reseptor target. Apabila nilai energi bebas ikatan ( $\Delta G$ ) semakin negatif artinya afinitas antara ligan dengan reseptor semakin tinggi. Namun jika nilai semakin positif berarti afinitas ligan dengan reseptor semakin rendah (Ruswanto et al., 2015; Dias & Jr., 2008).

#### **II.4.3. Prediksi Toksisitas**

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